



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

EVALUACIÓN DE LA AFECTACIÓN ÓSEA EN EL PACIENTE INFECTADO POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

Doctorando: Daniel Molina Morant

Servicio de Medicina Interna, Hospital del Mar. Parc De Salut Mar, IMIM. Universidad
Autónoma de Barcelona (UAB).

Director: Roberto Güerri Fernández

Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital del Mar. Parc De Salut Mar, IMIM.
Universidad Autónoma de Barcelona (UAB).

Tutor: Adolfo Díez Pérez

Servicio de Medicina Interna, Hospital del Mar. Parc De Salut Mar, IMIM. Universidad
Autónoma de Barcelona (UAB).



2017

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA

DEPARTAMENT DE MEDICINA

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA



Roberto Güerri Fernández, profesor asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona, y Adolfo Díez Pérez, profesor titular del Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona

Hacen constar:

Como director y tutor, respectivamente, que el proyecto de tesis doctoral titulado "Evaluación de la afectación ósea en el paciente infectado por el virus de la inmunodeficiencia humana" elaborado por el doctorando Daniel Molina Morant reúne los requisitos necesarios para ser defendida ante el oportuno tribunal calificador para aspirar al Grado de Doctor.

Dr. Roberto Güerri Fernández

Prof. Adolfo Díez Pérez

Daniel Molina Morant

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	4
LISTADO DE PUBLICACIONES.....	6
RESUMEN	7
ABSTRACT	9
ABREVIATURAS.....	11
1. LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA	15
1.1 Generalidades	15
1.2 Historia natural.....	18
1.3 Diagnóstico.....	23
1.4 Tratamiento antirretroviral	25
2. ALTERACIONES ÓSEAS ASOCIADAS A LA INFECCIÓN POR EL VIH	29
2.1 Fisiopatología y diagnóstico de la osteoporosis.....	29
2.1 Efecto tóxico del VIH	45
2.2 Efecto tóxico del TAR.....	47
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	59
4. MÉTODOS.....	60
4.1 Población de estudio.....	60
4.2 Variables medidas	61
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
5.1 Primer estudio.....	63
5.2 Segundo estudio.....	67
6. CONCLUSIONES	72
7. BIBLIOGRAFÍA.....	73
8. ANEXO: PUBLICACIONES	86

AGRADECIMIENTOS

¡GRACIAS!

En primer lugar, a Roberto. Por apadrinarme desde el primer momento, por empujarme y por creer en mí, pese a que a veces le di motivos para lo contrario. Por ayudarme siempre, por enseñarme queriendo y sin querer, y por haber hecho cosas por mí que no le tocaría hacer. Sin él, esto habría sido simplemente imposible. Es un orgullo haber realizado la primera tesis doctoral dirigida por él.

A Adolfo, por supuesto. Jefe de jefes y mi tutor de tesis, un ejemplo a seguir como persona, como científico y como médico. Siempre paciente y con las palabras adecuadas para hacerte crecer. Es un honor tener la oportunidad de trabajar con alguien como él.

A Hernando y a Xavi por confiar y darme la oportunidad de poder trabajar en sus equipos de investigación que tanto me han facilitado la realización de esta tesis.

A Sabina y Luisa, mis fieles consejeras. A Sabina, por ser la coR que nunca tuve y la mejor que podía haber tenido. Por ser mi amiga incondicional, por escucharme, por aconsejarme, por darme ese punto de vista femenino que tanto hace falta. Mi vida estos años habría sido muy diferente sin ella. Y a Luisa, por ser desde el principio no solo mi tutora, sino también mi amiga, mi hermana mayor y a veces casi madre. Por escucharme y darme siempre los mejores consejos, y por creer y apostar por mí de una manera también incondicional.

A Tere y Marisa, cómo no. Por ser como son, por su infinita paciencia y su sonrisa siempre disponible. Por ayudarme a organizar y a llamar a los pacientes, y nunca poner una mala cara. Una gran parte de esta tesis es gracias a ellas, sin las que esto no funcionaría de la misma manera.

A todos los integrantes de los servicios de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas del Hospital del Mar. Por ser mi casa durante tantos años, y por haber hecho realidad mi vocación por la medicina. A los pacientes, la parte más importante

de nuestro trabajo, cosa que nunca podemos olvidar. Nada de esto sería posible sin ellos, y todo nuestro esfuerzo debe ir dirigido a su bienestar.

A Israel, por darme la oportunidad de seguir creciendo en mi carrera profesional, y por ayudarme en algún que otro trámite burocrático.

A los prostis, Dani, Andrés, Albert, David, Pablo, Mar, Nacho y Guille. Por haber formado mi familia en un lugar alejado de la mía. Por haberme aportado ese punto de locura necesario en la vida para poder compaginarla con tu vida laboral.

Y por último, a mi familia. A mis padres, por quererme por encima de todo e intentar comprenderme en todas mis decisiones, aunque algunas no hayan sido de su agrado. Por apoyarme desde la distancia y dejarme volar a mi manera. A mis tres hermanos, Ángel, Rocío y Jose. Por ejercer siempre de hermanos mayores y haber sido mis referentes en la vida durante tantos años. A Ángel, por haber sido amigo además de hermano, guiarme y ayudarme en tantos momentos. Y a Jose y Rocío, por haberme dado la oportunidad de ser tío, lo cual ha hecho que mi vida sea mucho más feliz.

LISTADO DE PUBLICACIONES

1. Güerri-Fernández R, **Molina D**, Villar-García J, Prieto-Alhambra D, Mellibovsky L, Nogués X, González-Mena A, Guelar A, Trenchs-Rodríguez M, Herrera-Fernández S, Horcajada JP, Díez-Pérez A, Knobel H. HIV infection is associated with worse bone material properties, independently of bone mineral density. JAIDS-J Acquir Immune Defic Syndr. 2016 Jul 1;72(3):314-8.
2. Güerri-Fernández R, **Molina-Morant D**, Villar-García J, Herrera S, González-Mena A, Guelar A, Trenchs-Rodríguez M, Díez-Pérez A, Knobel H. Bone density, microarchitecture and tissue quality following long-term treatment with tenofovir/emtricitabine or abacavir/lamivudine. JAIDS-J Acquir Immune Defic Syndr. 2017 Jul 1;75(3):322-327.

RESUMEN

En la presente tesis doctoral se estudia la afectación del tejido óseo que sufren los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Se trata de un tema de gran actualidad debido al aumento de la esperanza de vida en esta población gracias al acceso al tratamiento antirretroviral (TAR), lo cual ha traído como consecuencia que estos pacientes presenten a largo plazo enfermedades crónicas que antes no se observaban. Dentro de ellas, la afectación ósea ocupa un lugar destacado, y conocer cómo se produce resulta de vital importancia para poder asegurar la salud a largo plazo de estos pacientes.

Se ha realizado un estudio exhaustivo por medio de métodos no invasivos de diferentes componentes de la resistencia ósea, en pacientes VIH con y sin TAR, tratando de diferenciar en la medida de lo posible cuál es el efecto tóxico que producen por separado la propia infección, el TAR y los factores de riesgo individuales.

Esta tesis doctoral se compone de dos estudios:

1. La infección por el VIH está asociada a un deterioro de las propiedades mecánicas óseas, independientemente de la densidad mineral ósea

Este primer estudio se realizó en un grupo de pacientes infectados por el VIH que nunca habían recibido TAR, y en un grupo control de voluntarios sanos con características basales comparables entre ellos. El objetivo fue evaluar el efecto tóxico óseo del VIH independientemente del tratamiento. Se encontró que el grupo de pacientes VIH presentaban valores de BMSi medidos por microindentación significativamente inferiores que el grupo control, mientras que los valores de DMO eran similares en ambos grupos. Además, se midieron los parámetros inflamatorios de laboratorio, observándose valores significativamente más elevados en el grupo de pacientes infectados. Se concluyó que el VIH se relacionaba con un efecto tóxico sobre el hueso que es independiente de la cantidad mineral ósea, y que estos pacientes

presentan un estado de inflamación crónica que podría ser la responsable de este efecto de deterioro de la salud ósea independiente del tratamiento antirretroviral.

2. Densidad mineral, microarquitectura y calidad tisular óseas tras tratamiento a largo plazo con tenofovir/emtricitabina o Abacavir/lamivudina

En este segundo estudio se compararon dos grupos de pacientes VIH con más de 50 años de edad y en TAR durante más de 5 años con TDF-FTC o con ABC-3TC. Se evaluaron diferentes componentes de la resistencia ósea: la cantidad de hueso mediante la DMO, la microarquitectura ósea a nivel lumbar mediante el “*trabecular bone score*”, y la resistencia mecánica mediante la microindentación. En el análisis univariante se observó que los pacientes tratados con TDF-FTC presentaban peores valores de DMO en la columna lumbar, no así en la medida en otras localizaciones, así como tampoco en los valores de BMSi y TBS. Este mismo grupo presentó además unos marcadores de remodelado óseo significativamente más elevados que el grupo tratado con ABC-3TC, lo cual podría explicar al menos en parte el mayor deterioro óseo sufrido con este fármaco. Cuando se realizó el análisis multivariante ajustado edad, sexo, IMC y [25(OH)D] se observó que los pacientes tratados con TDF-FTC presentaba valores de BMSi significativamente inferiores. Se concluyó que en general los pacientes VIH tratados con TDF-FTC tienen peor salud ósea que aquellos tratados con ABC-3TC, aunque es difícil discernir entre los efectos de la propia infección, el tratamiento y los factores de riesgo individuales. La medición de la DMO proporciona únicamente información sobre uno de los componentes de la resistencia ósea, y en este sentido tanto el TBS como la microindentación aportan información complementaria que podría ayudar identificar con mayor precisión qué pacientes presentan una mayor afectación ósea.

ABSTRACT

The aim of the present Doctoral Thesis is to assess the bone tissue involvement in patients infected by the Human Immunodeficiency Virus (HIV). This is a very topical issue as better access to antiretroviral therapy (ART) has increased the life expectancy of the people living with HIV/AIDS (PLHA). This situation has resulted in an increased of chronic long-term diseases in them that were not previously observed. Amongst the PLHA, bone involvement occupies a prominent place, and its etiology is vitally important to ensure their long-term health.

An exhaustive study was carried out using non-invasive methods of different components of bone resistance in ART naïve and experienced patients, trying to discern, as much as possible, the toxic effect of the infection itself, ART and individual risk factors.

This Doctoral Thesis consists of two studies:

1. HIV Infection Is Associated With Worse Bone Material Properties, Independently of Bone Mineral Density

The first study was performed with a group of HIV-infected patients who had never received antiretroviral treatment and with a control group of healthy volunteers. They had comparable baseline characteristics. The aim was to evaluate the toxic effect of HIV on bone tissue independent of the ART. The HIV patient group had BMSi values measured by microindentation significantly lower than the control group, whereas BMD values were similar in both groups. In addition, the laboratory inflammatory markers were significantly higher in the HIV patient group. It was concluded that HIV was associated with a toxic effect on bone that is independent of the bone mineral amount. The patients infected by HIV present with a chronic inflammatory condition that could be responsible for this ART-independent bone health deterioration attributed to HIV itself.

2. Bone Density, Microarchitecture, and Tissue Quality After Long-Term Treatment With Tenofovir/Emtricitabine or Abacavir/Lamivudine

This second study compared two groups of HIV patients over 50 years old and under antiretroviral therapy for more than 5 years with TDF-FTC or ABC-3TC. Different components of bone strength were evaluated: bone quantity through BMD, bone microarchitecture at the lumbar level using the trabecular bone score, and mechanical resistance through microindentation. In the univariate analysis patients treated with TDF-FTC had worse BMD values in the lumbar spine region, but not in the other locations. No differences were found in the BMSi and TBS values between groups. The TDF-FTC treated group also presented with higher bone turnover markers compared to the ABC-3TC treated group, which could explain in part the greater bone deterioration caused by this drug. When the multivariate analysis was performed adjusted by age, sex, BMI and [25 (OH) D], patients treated with TDF-FTC had significantly lower BMSi values. It was concluded that in general HIV patients treated with TDF-FTC have poorer bone health than those treated with ABC-3TC, although it is difficult to discern between the effects of the infection itself, the antiretroviral treatment and the individual risk factors. Measurement of BMD only provides information about one of the components of bone resistance, and in this sense both TBS and microindentation provide complementary information that could help to identify the patients having greater bone involvement more accurately.

ABREVIATURAS

ABC-3TC: abacavir-lamivudina

ADCC: *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*

AINES: antiinflamatorios no esteroideos

APC: células presentadoras de antígenos

ARN: ácido ribonucleico

ATV/r: atazanavir/ritonavir

BMSi: *bone Material Strength Index*

CDC: centros para el control y prevención de enfermedades

CMH: complejo mayor de histocompatibilidad

COBI: cobicistat

CTLA4: *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*

CTX: C – telopéptido

DM 1: diabetes mellitus tipo 1

DM 2: diabetes mellitus tipo 2

DE: desviación estándar

DMO: densidad mineral ósea

DRV/r: darunavir/ritonavir

DXA: densitometría o absorciometría de rayos X de doble energía

EFV: efavirenz

eGFR: tasa estimada de filtrado glomerular

EIA: enzima inmunoensayo

ELISA: *enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica

EVG: elvitegravir

FAO: fosfatasa alcalina ósea

FGF-21: factor de crecimiento de fibroblastos 21

FPV: fosamprenavir

GALT: *Gut-associated lymphoid tissue*

IDO: indoleamina 2,3-dioxigenasa

IDV: indinavir

IFA: inmunofluorescencia indirecta

iFMO: índice de Fuerza Mineral Ósea

IL-1: interleuquina 1

IL-6: interleuquina 6

IMC: índice de masa corporal

INI: inhibidores de la integrasa

IP: inhibidores de la proteasa

ISI: interfaz inmunoquelética

ITIAN: inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos

ITINAN: inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos

LPV/r: lopinavir/ritonavir

MRP4: *multidrug resistant protein 4*

NAT: *nucleid acid testing*

NFV: nelfinavir

NK: *natural killer*

[25(OH)D]: 25-hidroxi-vitamina D

[1,25(OH)₂D]: 1,25-dihidroxi-vitamina D

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPG: osteoprotegerina

OR: odds ratio

PTH: parathormona

PTHi: parathormona intacta

P1NP: propéptido amino-terminal del procolágeno tipo 1

PCRas: proteína C reactiva de alta sensibilidad

RANK: *receptor activator of NF-κB*

RANKL: Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand

RIQ: rango intercuartil

RMN: resonancia magnética nuclear

ROC: *Receiver Operating Characteristic*

RTV: ritonavir

SERM: modulador selectivo del receptor de estrógeno

SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida

SQV: saquinavir

TAC: tomografía axial computarizada

TAF: tenofovir alafenamida

TAR: tratamiento antirretroviral

TBS: *trabecular bone score*

TDF-FTC: tenofovir disoproxil-emtricitabina

TBS: *trabecular bone score*

TNF: factor de necrosis tumoral

TPH 1-34: teriparatida

VHB: virus de la hepatitis B

VHC: virus de la hepatitis C

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana

VIS: virus de la inmunodeficiencia del simio

VSG: velocidad de sedimentación globular

WB: *Western blot*

1. LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

1.1 Generalidades

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un retrovirus que forma parte del género *lentivirus*, el cual constituye un grupo dentro de la familia *Retroviridae* (1). Los retrovirus a su vez forman una familia compleja de virus de ARN en la cual se distinguen siete géneros. La principal característica de estos virus es la capacidad de infectar de manera crónica a una gran variedad de especies de mamíferos, entre los cuales se encuentran primates, ungulados y félidos (1). El VIH se caracteriza también por presentar una elevada diversidad genética y una alta frecuencia de recombinación. Estudios filogenéticos han dividido el virus en dos grandes tipos, el VIH-1 que a su vez se divide en cuatro grupos (M,N,O y P) y el VIH-2 que se divide en ocho (A,B,C,D,E,F,G y H). El origen filogenético de este virus se ha establecido a partir de lentivirus de primates denominados virus de la inmunodeficiencia del simio (VIS) africanos (1,2).

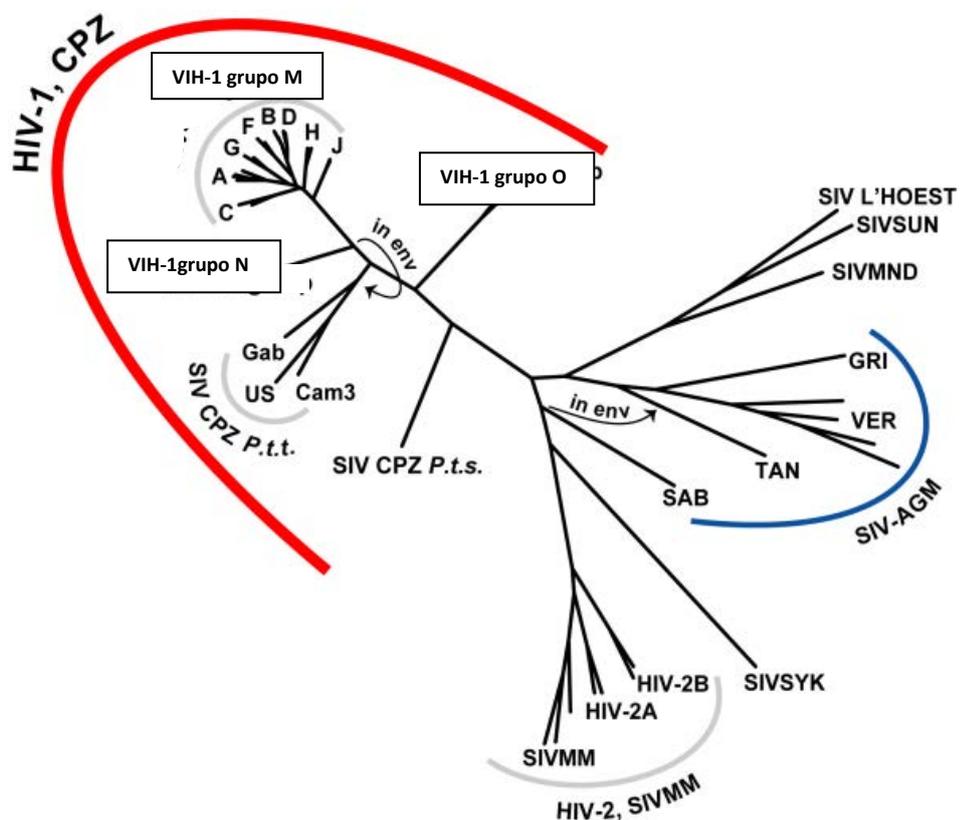


Gráfico 1. Árbol filogenético del VIH-1 y VIH-2. Obtenido y modificado de (2).

El virión del VIH tiene forma aproximadamente esférica y mide entre 80 y 120 nm de diámetro. Este se compone de dos copias de ARN de cadena positiva única con un tamaño de 9749 bases que codifican los genes del virus. Las cadenas de ARN están rodeadas por una cápside compuesta por unas 1200-2500 copias de la proteína viral p24. La cadena única de ARN se encuentra fuertemente unida a las proteínas de la nucleocápside p6 y p7, y a las enzimas implicadas en el desarrollo del virión, es decir, la transcriptasa inversa (TI), proteasa, nucleasa e integrasa (3,4). Estas enzimas son las principales dianas de acción de los fármacos antirretrovirales utilizados en la práctica clínica habitual. Además, la función de esta TI es la de replicar el ARN genómico y, a diferencia de otras TIs, no tiene dominio exonucleasa, por lo que carece de la función de corrección de errores. La consecuencia de este hecho es que la TI del VIH presenta una alta frecuencia de incorporación de mutaciones. La cápside está rodeada por una matriz compuesta por la asociación de la proteína viral p17 que es la encargada de asegurar la integridad de la partícula viral, y envuelta por una bicapa lipídica que se forma a partir de células del huésped (4). Las proteínas de la envuelta viral se organizan en espículas que son estructuras formadas por tres glicoproteínas de superficie (gp120) y tres glicoproteínas transmembrana (gp41) que sujetan la estructura al virus.

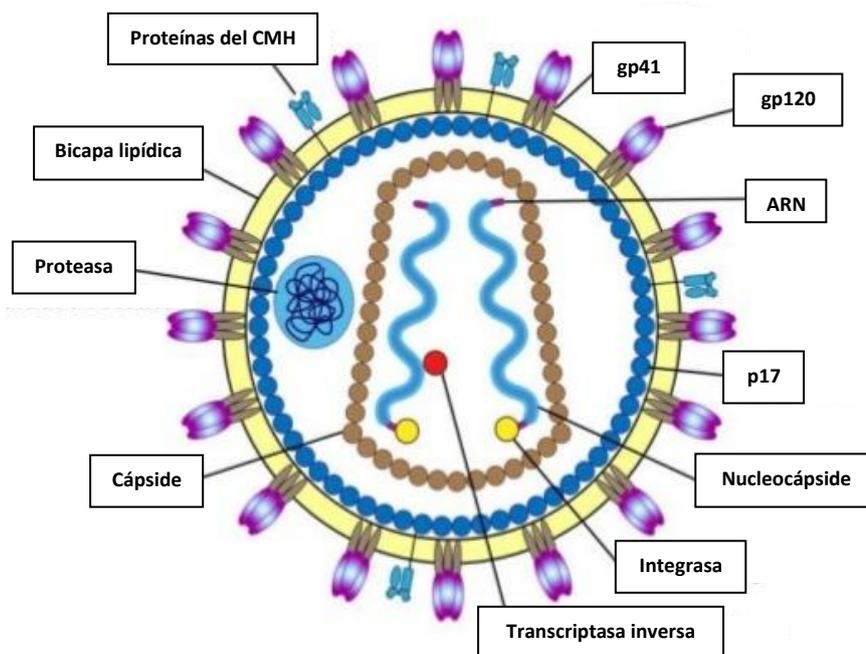


Gráfico 2. Estructura microscópica del VIH. Imagen obtenida y modificada de (5).

Como se ha mencionado anteriormente, el virus es capaz de infectar a la especie humana, con la capacidad de invadir las células del sistema inmune del huésped, principalmente los linfocitos T CD4+, y en menor medida los monocitos, macrófagos, las células dendríticas, las células de Langerhans y las células de la microglía del cerebro, siendo los ganglios linfáticos el lugar principal de replicación viral (6). La infección ocurre tras la transferencia entre personas de fluidos que contengan el virus como son la sangre, el semen, el flujo vaginal o la leche materna. Por tanto, las principales vías de transmisión son la sexual, parenteral y perinatal, siendo la primera de ellas la más frecuente y más conocida desde el punto de vista fisiopatológico (6,7). Inicialmente, las células dianas son las células dendríticas y de Langerhans de la submucosa, así como los linfocitos que forman los folículos linfoides de la lámina propia de las mucosas vaginal y rectal. Las células epiteliales no se infectan ya que no expresan receptores CD4 ni CD209 (6). Tras la infección aguda, el virus se replica dentro del huésped y deteriora progresivamente su sistema inmunológico, hasta finalmente producir el denominado síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), caracterizado por el desarrollo de infecciones oportunistas.

La epidemia del SIDA comenzó en 1981, cuando los Centros para el control y prevención de enfermedades de Estados Unidos (CDC) describieron cinco casos de neumonía por *Pneumocystis jirovecii*, en los cuales se reveló un cuadro de inmunodeficiencia caracterizado por la disminución de linfocitos T CD4+ (8). Pero no fue hasta 1983 cuando Barre-Sinoussi, Chermann y Montagnier, del Instituto Pasteur de París, aislaron en Francia el virus por primera vez, el cual posteriormente fue denominado VIH-1. Dos años después un segundo tipo de virus fue aislado en pacientes procedentes de África Occidental, el cual se denominó VIH-2. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2015 36,7 millones de personas estaban infectadas por el virus, y 1,1 millones murieron por enfermedades relacionadas con el SIDA (9).

1.2 Historia natural

La historia natural de la infección por el VIH se puede dividir en un total de 3 etapas, cada una con ciertas características temporales, clínicas y virológicas.

1.2.1 Fase aguda

La primoinfección o infección aguda por el VIH puede ser asintomática, pero hasta en un 70% de los casos se manifiesta clínicamente entre 1 y 4 semanas después de la infección, simulando a un cuadro mononucleósico (*mononucleosis-like*) o un cuadro gripal (10). Los síntomas más habitualmente presentes son fiebre, cefalea, mialgias, adenopatías y rash cutáneo. Analíticamente puede observarse leucopenia, trombopenia e hipertransaminasemia. La frecuencia de las manifestaciones varía de unas series a otras, y suele autolimitarse en 1-3 semanas. A este cuadro se le ha denominado síndrome retroviral agudo (11). En este momento se produce una inmunodepresión transitoria que puede llegar a ir acompañada de la aparición de infecciones oportunistas.

Durante los primeros 1 a 3 días, la infección predomina en células en reposo, existe escasa replicación y el virus no es capaz de sostener una diseminación eficaz (12). Entre los días 4 y 5, la replicación local del virus aumenta, posiblemente debido al reclutamiento de linfocitos T CD4+ memoria/efectores activados. Se inicia entonces la diseminación hacia todos los órganos linfáticos, cuyo pico ocurre entre los días 6 y 10, y que se corresponde con el pico de viremia que puede alcanzar varios millones de copias/ml en plasma (10). Esta amplia diseminación del virus se acompaña de elevada replicación a diferentes niveles, pero principalmente en el tejido linfático y el sistema nervioso central. Inicialmente se produce una diseminación masiva del virus en los linfocitos del sistema GALT, lo que provoca una depleción de más del 60% de los linfocitos CD4+ del epitelio intestinal (6). En sangre periférica, más del 1% de los linfocitos T CD4+ se infectan durante la fase aguda, produciéndose una caída inicial de su número total. Tras un periodo entre 4 y 12 semanas, se produce una respuesta inmunitaria específica tanto de linfocitos CD8 con actividad citotóxica como de anticuerpos específicos frente al VIH. Esta respuesta provoca una disminución de la

carga viral hasta conseguirse un equilibrio estable de esta a los 6-12 meses, conocido como “*steady-state*” o fase estacionaria (7). Esta viremia se ha observado que es superior cuando ha existido previamente síndrome retroviral agudo, y además será un predictor de la evolución posterior de la enfermedad (11).

1.2.2 Fase crónica

Durante esta fase el VIH mantiene una replicación constante en el huésped, deteriorando progresivamente el sistema inmune (6). Una vez alcanzado el “*steady-state*” la replicación viral disminuye de manera significativa pero no desaparece, sino que se mantiene de forma permanente, con un consecuente descenso progresivo de la cifra de linfocitos CD4+ (10). Los valores normales de linfocitos CD4+ en personas no infectadas oscilan dentro de un amplio rango, entre 500-1600/ μ l aproximadamente. En el paciente infectado por el VIH se estima que el tiempo medio desde la seroconversión hasta alcanzar una cifra de linfocitos CD4+ inferior a 500/ μ l es de 4,1 años, y por debajo de 200/ μ l, de 8 años (13).

La tasa de replicación constante del virus se produce incluso en presencia de tratamiento antirretroviral (TAR), y tiene como consecuencia directa una hiperactivación crónica del sistema inmune. Esta activación se mantiene en el tiempo gracias a diversos mecanismos inmunológicos, como son la activación policlonal de células B, el aumento del “*turnover*” de linfocitos T, monocitos y células NK, y el aumento de la producción y secreción de citoquinas proinflamatorias (14). El tejido linfoide constituye el gran reservorio del virus, y esto se traduce en la depleción de mucosas y de los compartimentos linfocitarios centrales, como ganglios, amígdalas, bazo, adenoides y placas de Peyer. Sin embargo, solo en una baja proporción de linfocitos infectados (<1%) el VIH se replica activamente, el resto contienen genoma proviral latente. Esta replicación activa es la responsable de la disminución continua en el recuento de linfocitos CD4+ (7). A partir de aquí, la mediana de tiempo de progresión a SIDA es de 9,8 años (10). Sin embargo, existe un grupo de progresores rápidos (5-10%) y otro de progresores lentos (5-15%). En la velocidad de esta progresión influyen factores relacionados con el virus y con el huésped, además de otros factores externos (15). Durante esta fase los pacientes suelen encontrarse

asintomáticos desde el punto de vista clínico, hasta que finalmente acaban progresando y desarrollando el conocido como síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

1.2.3 Fase final

La fase avanzada de la infección o SIDA se caracteriza por un aumento en la tasa de replicación viral y una disminución del recuento de linfocitos CD4+ hasta niveles inferiores a 200/ μ l. Este aumento de la replicación viral permite una mayor aparición de cepas virales mutantes, lo que a su vez aumenta las posibilidades de evasión viral a los mecanismos de control inmunológico del huésped, además de favorecer la aparición de cepas virales más citopáticas (16). Esto produce como consecuencia un descenso de la actividad de los linfocitos T citotóxicos anti-VIH y la destrucción de la arquitectura linfática, así como una disminución de la respuesta humoral y un deterioro en la actividad ADCC y NK (17). Desde el punto de vista clínico, en esta fase es cuando se van a producir infecciones oportunistas definitorias de SIDA, precedidas o no de síntomas constitucionales. Algunas de estas infecciones pueden incluso aparecer con un recuento de células CD4+ superior al límite establecido de 200/ μ l. Así, la probabilidad de sobrevivir a los 36 meses desde el diagnóstico de SIDA y sin tratamiento antirretroviral específico es del 15-30%, aproximadamente (16).

Las enfermedades definitorias de SIDA son las siguientes:

Neoplasias

- Cáncer de cérvix
- Linfoma no-Hodgkin
- Sarcoma de kaposi
- Linfoma cerebral primario

Infecciones bacterianas

- Mycobacterium tuberculosis pulmonar o extrapulmonar

- Micobacterias no tuberculosis diseminada o extrapulmonar
- Neumonía recurrente (2 o más episodios en 12 meses)
- Sepsis recurrente por Salmonella

Infecciones virales

- Retinitis o enfermedad por citomegalovirus (no hepática, esplénica ni linfática)
- Úlcera crónica (más de un mes) por herpes virus
- Bronquitis, neumonitis o esofagitis por herpes virus
- Leucoencefalopatía multifocal progresiva

Infecciones parasitarias

- Toxoplasmosis cerebral
- Diarrea por Criptosporidium (más de un mes)
- Isosporidiasis intestinal (más de un mes)
- Leishmaniasis atípica diseminada
- Reactivación de tripanosomiasis americana (Miocarditis o meningoencefalitis)

Infecciones micóticas

- Neumonía por Pneumocystis jirovecii
- Candidiasis esofágica, traqueal, bronquial o pulmonar
- Criptococosis extrapulmonar
- Histoplasmosis diseminada o extrapulmonar
- Coccidioidomicosis diseminada o extrapulmonar
- Penicilliosis diseminada

Otras

- Encefalopatía asociada al VIH
- *Wasting syndrome*

Existen también una serie de enfermedades que, pese a no ser definitorias, se encuentran fuertemente asociadas a la infección por el VIH, y son las siguientes:

Infecciones de transmisión sexual	Leucoplasia oral vellosa
Linfoma maligno	Psoriasis grave o atípica
Cáncer o displasia anal	Síndrome de Guillain-Barré
Displasia cervical	Mononeuritis
Herpes zóster	Demencia subcortical
Hepatitis B o C (aguda o crónica)	Enfermedad <i>esclerosis múltiple-like</i>
Síndrome <i>mononucleosis-like</i>	Neuropatía periférica
Leucopenia/trombopenia > 4 meses	Pérdida de peso no explicada
Dermatitis seborreica o exantema	Linfadneopatía no explicada
Enfermedad neumocócica invasiva	Meningitis linfocítica
Fiebre inexplicable	Diarrea crónica no explicada
Candidemia o candidiasis oral	Insuficiencia renal crónica no explicada
Leishmaniasis visceral	Hepatitis A
Cáncer pulmonar primario	Neumonía adquirida en la comunidad

Sin embargo, gracias al aumento progresivo del acceso al TAR posterior al inicio de la epidemia, la historia natural de la enfermedad y la situación clínica de los pacientes infectados por el VIH han cambiado radicalmente a nivel mundial, y la esperanza de vida de estos ha aumentado de manera muy significativa. Este aumento de supervivencia de los pacientes infectados por el VIH ha puesto de manifiesto la aparición de complicaciones no esperadas que se incluyen dentro de los denominados “eventos no-sida”, como son las enfermedades cardiovasculares, nefropatías, neoplasias u osteoporosis (18). Esta última, con el consiguiente incremento en el riesgo de fractura ocupa un lugar destacado. La fisiopatología de la enfermedad ósea en el paciente con infección por el VIH es muy compleja, ya que en ella intervienen tanto factores de riesgo comunes a la población general como factores propios de la

infección VIH, entre los que se incluyen los efectos del VIH y el efecto osteotóxico de algunos antirretrovirales (19).

1.3 Diagnóstico

Una de los principales motivos por los que pese a la mejora del acceso al TAR de hoy en día aún no se consigue controlar la epidemia de VIH/SIDA es porque un importante porcentaje de personas infectadas lo desconocen y no se consiguen diagnosticar, o se diagnostican de manera tardía cuando hay un estado avanzado de inmunosupresión (20). Este hecho ayuda a que la transmisión de la infección se siga perpetuando entre personas. Además, hay que tener en cuenta que los métodos clásicos de diagnóstico de la infección como Enzima Inmunoensayo (ELISA) en poblaciones con baja prevalencia de infección por VIH-1 se asocia a un alta tasa de falsos positivos (21). Actualmente nos encontramos en una época de transición desde los algoritmos clásicos de diagnóstico basados en la realización de dos ELISAs como test de *screening* y posteriormente un Western blot (WB) o de inmunofluorescencia indirecta (IFA) como prueba confirmatoria, a los nuevos algoritmos basados en inmunoensayos de 4ª generación, que no requieren de la confirmación posterior (20). Estas técnicas permiten realizar el diagnóstico de la infección por VIH a partir del día 10 desde el momento de la infección, y tienen una sensibilidad y especificidad cercanas al 100%.

La evolución de los marcadores virológicos y serológicos tras la infección por el VIH permite dividir la infección en los siguientes periodos:

- a) **Periodo de eclipse:** es el periodo correspondiente a los primeros 10 días desde la infección. En este tiempo no es posible detectar ningún marcador ni viral ni serológico para detectarla.
- b) **Ventana de seroconversión:** es el intervalo de tiempo entre el momento de la infección y la primera detección de anticuerpos frente al virus. En el caso

de los inmunoensayos de 3ª y 4ª generación, detectan anticuerpos de IgM en un tiempo menor a 30-40 días aproximadamente.

- c) **Infección aguda por el VIH:** es el periodo de tiempo comprendido entre la detección de ARN viral (que se puede llegar a detectar a partir del día 10 postinfección) y la detección de los primeros anticuerpos.
- d) **Infección VIH establecida:** se inicia con la aparición de anticuerpos IgG frente al VIH.

Marcador definitorio		Duración media (rango) en días	
Estadío		Fase individual	Duración acumulada
Eclipse	-	10 (7-21)	10 (7-21)
I	ARN (+), EIA (-)	7 (5-10)	17 (13-28)
II	P24 (+)	5 (4-8)	22 (18-34)
III	EIA (+), WB (-)	3 (2-5)	25 (22-37)
IV	EIA (+), WB indeterminado	6 (4-8)	31 (27-43)
V	EIA (+), WB (+), p31 (-)	70 (40-122)	101 (71-154)
VI	EIA (+), WB (+), p31 (+)	Indefinida	-

Tabla 1. Evolución de los marcadores virológicos y serológicos en la infección VIH

En el año 2014, en las guías clínicas de los CDC se modificó el algoritmo clásico del diagnóstico de la infección por el VIH (22). En una primera aproximación, y para realizar el diagnóstico de la infección aguda se debe realizar un primer test con un inmunoensayo combinado con antígeno p24 y anticuerpos para VIH-1 y VIH-2. Si este test resulta no reactivo, se considera que la persona no está infectada dada la alta sensibilidad que presentan. Si se sospechara un contacto de alto riesgo en los 7 días previos a la prueba, o si la prueba de diferenciación entre VIH-1 y VIH-2 no fuera concluyente, se debe utilizar una técnica NAT (*nucleid acid testing*).

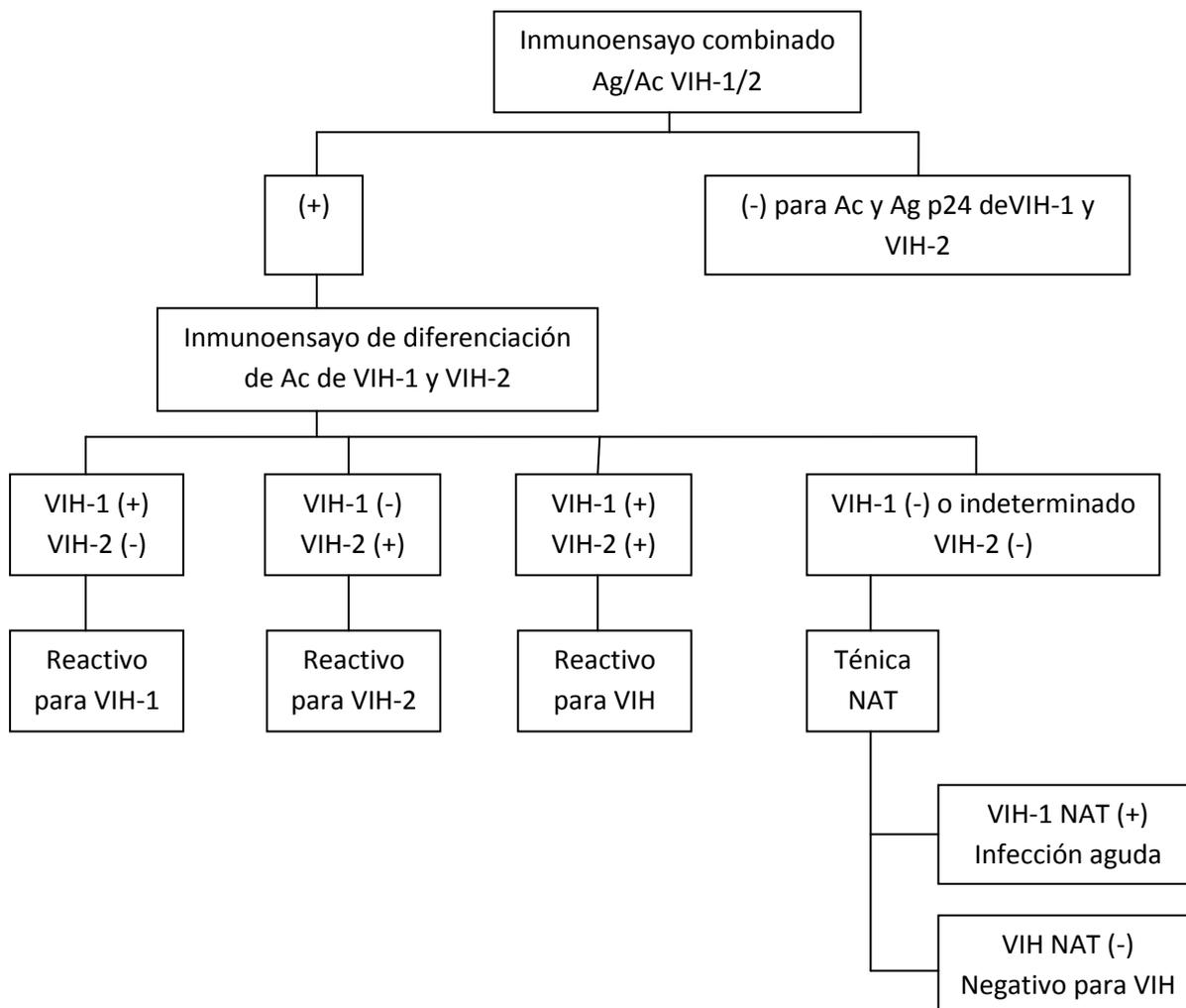


Gráfico 3. Algoritmo diagnóstico de la infección por el VIH actualizada por los CDC en 2014 (22)

1.4 Tratamiento antirretroviral

Dado que actualmente existen numerosos fármacos antirretrovirales de alta eficacia para el tratamiento de la infección por el VIH, este tratamiento ha logrado grandes aportes en la disminución de la morbilidad asociada a la infección y de la transmisión de ella entre individuos. Desde la aprobación del primer fármaco antirretroviral, la zidovudina (AZT) en 1987, se han ido desarrollando numerosos nuevos medicamentos de diferentes familias diferentes, lo cual ha hecho que en la actualidad el TAR un tratamiento complejo de manejar, debido a cuestiones relacionadas con su eficacia, toxicidad, resistencias, tropismo, interacciones farmacológicas y su uso en situaciones clínicas especiales (23). Los principales motivos

por los que se debe iniciar el TAR son la reducción de la morbilidad y mortalidad asociada a la infección a través de la recuperación del sistema inmunológico, evitar el efecto negativo que la propia infección pueda tener sobre las comorbilidades del paciente, y evitar la transmisión de la infección (24).

Según las últimas guías clínicas publicadas por el grupo español GeSIDA, el TAR se debe comenzar en todos los pacientes infectados por el VIH-1, independientemente de su estado clínico y de su recuento total de linfocitos CD4, considerándose como única excepción a los pacientes que mantienen carga viral indetectable en ausencia de TAR, a los cuales se les denomina controladores de élite (23). Hay dos grandes ensayos clínicos que apoyan en la actualidad esta decisión de inicio del tratamiento (25,26). En cuanto a qué fármacos elegir para constituir la pauta completa de TAR, se recomienda utilizar una combinación total de tres fármacos, entre los cuales dos deben ser inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN) asociados a un inhibidor de la integrasa (INI), un inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleósidos (ITINN) o un inhibidor de la proteasa (IP) potenciado (23). Estas combinaciones han demostrado la capacidad de disminuir la carga viral a un nivel indetectable en sangre periférica en más del 80% de los casos a las 48 semanas tras el inicio del tratamiento. Además, las combinaciones de ITIAN recomendadas con TDF/FTC, TAF/FTC o ABC/3TC. El fármaco más utilizado dentro de la familia de los ITINN es efavirenz (EFV), con el que más estudios se han realizado y habitualmente el elegido dentro de la familia para estudios comparativos. En general, los INI han mostrado mayor eficacia que EFV, pero el único IP potenciado que ha mostrado una potencia equiparable a este fármaco es ATV/r (27). Por otra parte, DRV/r se ha mostrado superior a ATV/r (28), pero inferior a DTG (29).

Existen algunas situaciones especiales a tener en cuenta. La primera de ellas a tener en cuenta es la infección aguda por VIH, también denominada síndrome retroviral agudo, que raramente se diagnostica en los pacientes recién infectados (30). El inicio del TAR en estos casos tiene numerosas ventajas, como es el acortamiento de la duración y gravedad de los síntomas, la rápida supresión de la replicación viral, la reducción de la diversidad y el reservorio viral, la normalización de la cifra de linfocitos CD4 y el cociente CD4/CD8, la reducción de la activación inmunológica, la preservación

o restauración de la inmunidad específica frente al VIH-1 y la reducción del riesgo de transmisión del VIH (31). Sin embargo, no consigue eliminar el virus ni evitar la necesidad de dar tratamiento de por vida, además de tener la desventaja de no poder identificar a los posibles controladores de élite (32). En general, se recomienda iniciar tratamiento en todos los casos de infección aguda por el VIH (23).

Los fármacos antirretrovirales disponibles en la actualidad son los siguientes:

Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN)

- Tenofovir disoproxil (TDF)
- Tenofovir alafenamida (TAF)
- Abacavir (ABC)
- Emtricitabina (FTC)
- Lamivudina (3TC)
- Zidovudina (AZT)

Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINN)

- Efavirenz (EFV)
- Nevirapina (NVP)
- Rilpivirina (RPV)
- Etravirina (ETR)

Inhibidores de la proteasa (IP)

- Atazanavir (ARV)
- Darunavir (DRV)
- Fosamprenavir (FPV)
- Lopinavir (LPV)
- Tipranavir (TPV)
- Ritonavir (RTV)

Inhibidores del CCR5

- Maraviroc (MVC)

Inhibidores de la integrasa (INI)

- Dolutegravir (DTG)
- Elvitegravir (EVG)
- Raltegravir (RAL)

2. ALTERACIONES ÓSEAS ASOCIADAS A LA INFECCIÓN POR EL VIH

2.1 Fisiopatología y diagnóstico de la osteoporosis

El concepto de osteoporosis se refiere a un trastorno esquelético sistémico caracterizado por masa ósea baja y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, lo que se traduce en un aumento de la fragilidad ósea y de la susceptibilidad a sufrir fracturas (33). El hueso es un tejido dinámico, que para mantener su integridad estructural y mecánica necesita de un proceso coordinado de destrucción ósea por parte de los osteoclastos seguida de una osteogénesis o formación de nuevo tejido llevada a cabo por los osteoblastos. Este proceso es el denominado remodelado óseo. En la regulación de este mecanismo intervienen factores genéticos, biomecánicos, endocrino-metabólicos, locales de la matriz ósea, neurológicos y vasculares (34).

El concepto de osteoporosis fue introducido por el patólogo francés Jean Georges Chretien Frederic Martin Lobstein en el año 1829, como una descripción del estado patológico del hueso. Pero no fue hasta el año 1940 cuando el Dr. Fuller Albright notó que muchos de sus pacientes que presentaban debilidad ósea y fracturas eran mujeres de edad avanzada, a partir de lo cual acabó describiendo la osteoporosis postmenopáusica, y comenzó a tratar a estas pacientes con terapia estrogénica sustitutiva (35). Sin embargo, los primeros vestigios de osteoporosis en Europa fueron encontrados en la mandíbula de un hombre Neanderthal de la época del Pleistoceno, el Homo Heidelbergensis, y se remonta al año 700.000 A.C. (36).

A nivel mundial, la osteoporosis causa más de 8,9 millones de fracturas al año. Teniendo en cuenta los criterios de la OMS, la prevalencia de osteoporosis en mujeres blancas de más de 50 años de edad es aproximadamente del 30% (37), llegando a subir hasta el 70% cuando la población considerada es mayor de 80 años (38). En varones mayores de 50 años la prevalencia estimada es mucho menor, en torno al 8% (39). Según estudios realizados con datos de población española, la prevalencia es del 26% en mujeres mayores de 50 años (40) y del 8,1% en varones mayores de de la misma edad, aumentando hasta el 11,3% en mayores de 70 (41,42).

La osteoporosis puede diferenciarse en primaria (asociada a la menopausia y el envejecimiento) o secundaria a otras situaciones, como son los trastornos alimentarios y digestivos, endocrinopatías y enfermedades metabólicas, nefropatías, enfermedades genéticas, enfermedades reumatológicas, neoplasias y enfermedades hematológicas, enfermedades respiratorias, abuso de tóxicos, inmovilización prolongada y el uso de ciertos fármacos (43). Sea cual sea la causa, la consecuencia clínica final de la osteoporosis es el aumento en la incidencia de fracturas debido a la fragilidad ósea. Son consideradas fracturas osteoporóticas aquellas que ocurren en los lugares de baja densidad mineral ósea (DMO), o las que ocurren tras una caída desde la propia altura del individuo (44). Típicamente estas fracturas se localizan en la extremidad proximal del fémur, distal del radio (fractura de Colles) o a nivel vertebral, siendo estas últimas las más frecuentes. El hecho de sufrir una fractura osteoporótica se asocia a un aumento del riesgo de sufrir nuevas fracturas posteriormente, además de a una mayor mortalidad y una disminución de la calidad de vida (45).

Como se ha mencionado anteriormente, la osteoporosis se desarrolla cuando la actividad osteoclástica o de resorción del tejido óseo excede en su función a la osteoblástica o de formación, provocando una pérdida de DMO y un deterioro de la estructura y resistencia óseas. En todo este proceso el sistema inmunológico tiene un papel fundamental. Si bien bajo condiciones fisiológicas, el sistema inmune es el encargado de mantener un correcto equilibrio y proteger el esqueleto óseo, en el estado inflamatorio el propio sistema inmune promueve la destrucción ósea a través del estímulo de osteoclastos (46). Esta interrelación paradójica entre el sistema inmune y el esquelético resultan en la denominada interfaz inmuno-esquelética (ISI), en la cual las células del sistema inmunológico y sus respectivos mediadores regulan la respuesta inmune a la infección, y cumplen una doble función al ser también los reguladores del sistema esquelético.

Mientras que los osteoblastos derivan de células mesenquimales, son los monocitos y macrófagos (células de origen hematopoyético) los que dan lugar a los precursores de los osteoclastos (47). Sin embargo, este último mecanismo de producción de osteoclastos no fue descubierto hasta 1997, año en el que se descubrió la existencia de un potente inhibidor de la diferenciación de osteoclastos, la

osteoprotegerina (OPG), así como su ligando, que es un potente inductor de la diferenciación de osteoclastos. (48). Posteriormente este ligando pasó a llamarse RANKL, y actualmente se considera que es la citoquina clave en el proceso de formación de pro-osteoclastos a partir de monocitos y macrófagos, y por tanto, de la actividad de los propios osteoclastos (49).

En condiciones fisiológicas, los osteoblastos y sus precursores (las células estromales de la médula ósea) son la mayor fuente de producción de RANKL y su receptor OPG. Sin embargo, esta producción también podría estar mediada por otro tipo de células, como son los osteocitos, condrocitos y especialmente las células B, a través del sistema RANK-RANKL-OPG (50). Esta importante función de los linfocitos B tendría además una relación con la inmunidad adquirida a través de los linfocitos T, pues estos a su vez regulan de manera directa tanto la función de las células presentadoras de antígenos como la actividad humoral de los propios linfocitos B (51). La conexión entre ambos sistemas inmunes se podría explicar debido a que los linfocitos T activados y sus ligandos expresan el receptor CD40, lo cual resulta en un aumento de la producción de OPG por parte de las células B. Aunque por otro lado, el déficit de células T activadas resultaría en la producción del denominado factor osteoclastogénico por parte de las células B y macrófagos, cuya consecuencia es el aumento de la resorción ósea (52).

Existen además otras moléculas involucradas en todo este proceso, como por ejemplo la citoquina CD28, que participa en la activación de células T. Estas células T además expresan otra proteína en su membrana celular denominada CTLA4 (de su acrónimo en inglés *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*), que a su vez es un inhibidor de la activación de CD28. Por otra parte, CTLA4 es capaz de inhibir *in vitro* la formación de osteoclastos inducida por RANKL y por TNF, a través de la activación intracelular de indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO), por lo que podría jugar un importante papel en la preservación de la masa ósea (53). De hecho, este efecto de aumento de masa ósea cortical y trabecular se ha observado en algunos estudios realizados en ratones sanos (54). Esta sustancia además parece bloquear la señal estimuladora de células T que proviene de las células presentadoras de antígenos (APC), impidiendo así su activación y dejándolas en situación de anergia. Esta situación de anergia favorecería la

producción de AMPc, y como consecuencia directa el aumento del ligando anabolizante Wnt10b, estimulando la formación ósea (55).

Por último, otra sustancia que posee este efecto anabolizante sobre la masa ósea es la PTH, a través del aumento de la proliferación de osteoblastos quiescentes y la disminución de los niveles de esclerostina en los osteocitos. La administración intermitente de esta sustancia ha sido la base para desarrollar nuevas terapias en el tratamiento de la osteoporosis, como es el caso de teriparatide, primer anabólico óseo aprobado por la FDA para el tratamiento de esta enfermedad (56). Otros fármacos se encuentran en desarrollo, como el anticuerpo frente a la esclerostina denominado romosozumab (57).

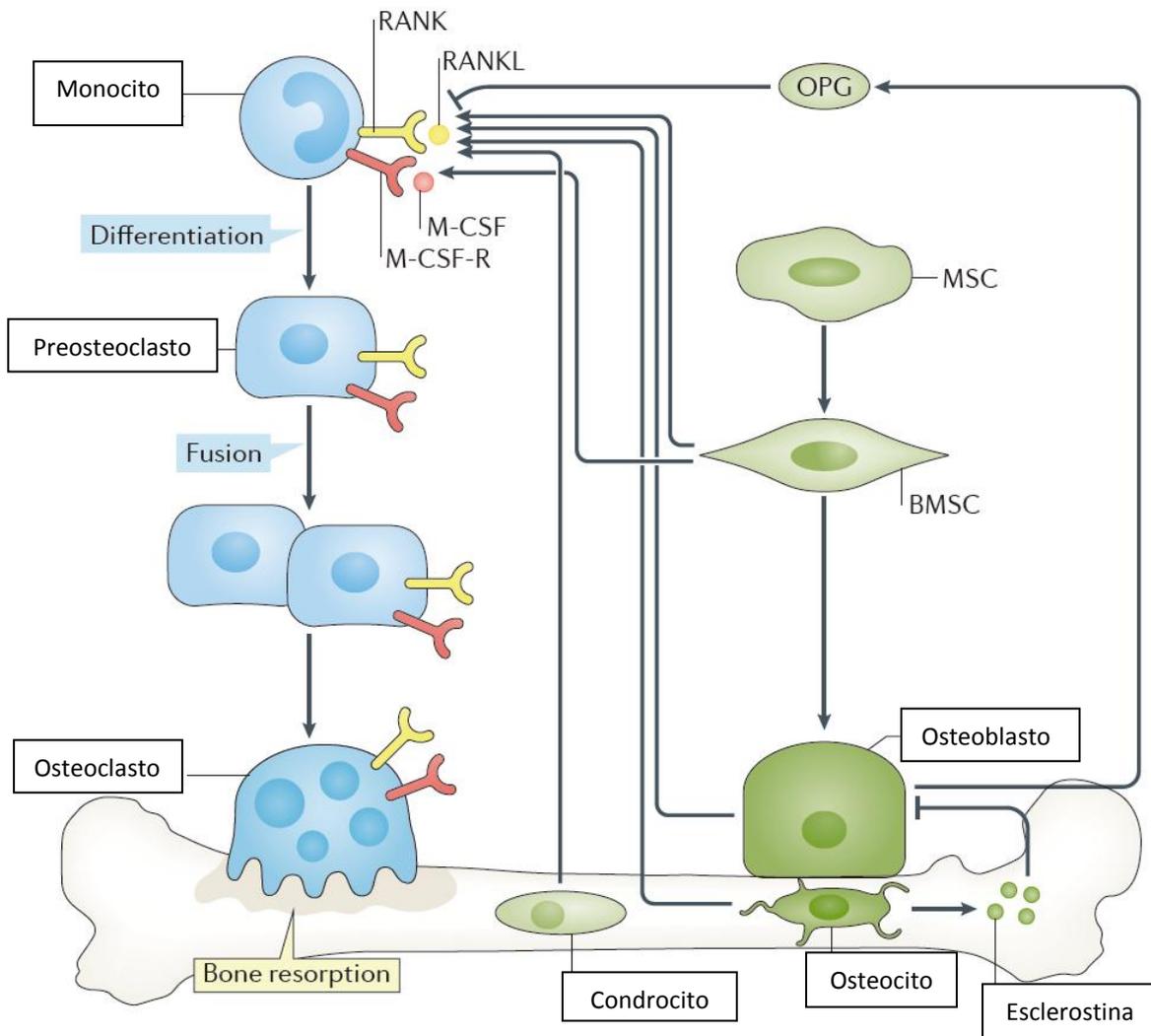


Gráfico 4. Papel del sistema RAN-RANKL-OPG en la formación fisiológica de osteoclastos. Obtenido y modificado de (133).

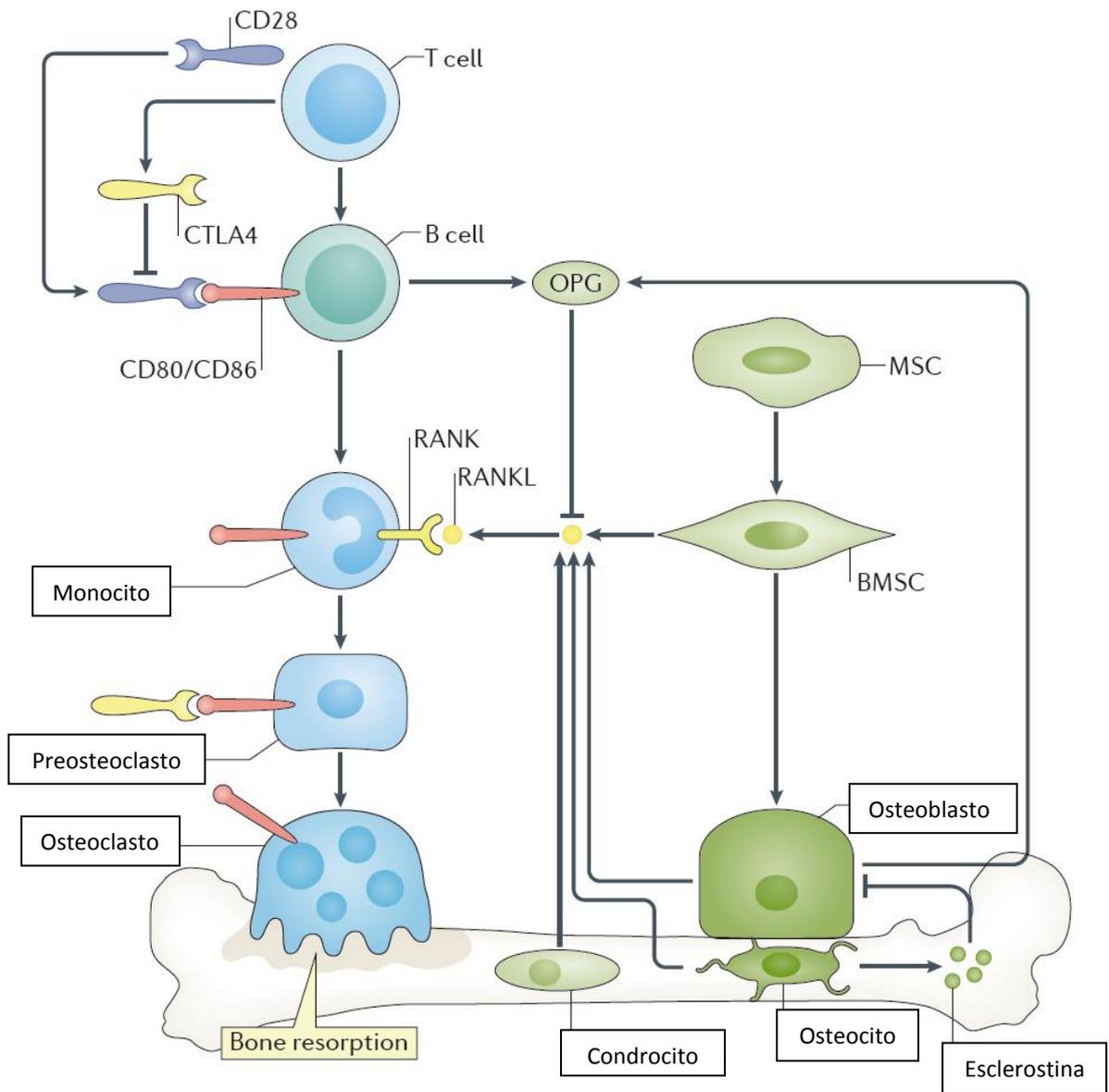


Gráfico 5. Papel de la interfaz inmuno-esquelética en la formación fisiológica de osteoclastos.

Obtenido y modificado de (133).

Es importante saber identificar cuáles son los pacientes en riesgo de padecer osteoporosis, debido a que esta es asintomática hasta el momento en el que se produce la primera fractura. El criterio clínico de osteoporosis es la presencia de una fractura ósea por fragilidad, es decir, que cumpla las condiciones de ser desproporcionada a la intensidad del traumatismo en paciente en el que se haya descartado una enfermedad de base predisponente (58). Hasta el momento se han propuesto varias formas de diagnosticar esta enfermedad, las cuales se describen a continuación.

a) Densitometría ósea

Actualmente la única prueba reconocida para el diagnóstico de osteoporosis según los criterios establecidos por la OMS es la medición de la DMO mediante la densitometría o absorciometría de rayos X de doble energía (DXA). El resultado de dicha prueba se expresa en la desviación estándar (DE) de la disminución de la DMO en comparación con la media de la población joven del mismo sexo (expresado como T-score), estableciéndose el diagnóstico a partir de una DMO inferior a 2,5 DE (59). Sin embargo, esta técnica tiene varios inconvenientes y limitaciones. En primer lugar, estos criterios fueron establecidos solo en mujeres blancas postmenopáusicas y considerando la medición de la DMO a través de la DXA en la columna lumbar y el fémur, por lo que no está validada si se realiza mediante otras técnicas o en otras localizaciones (58). Pero la resistencia del tejido óseo no depende solo de la cantidad mineral que este tenga, sino también de aspectos relacionados con su microarquitectura y la calidad del propio tejido (60). Así, con la medición exclusiva de la DMO solo se obtiene una parte de información sobre el riesgo real de fractura que presenta un individuo (61-63). Debido a este motivo, se han intentado utilizar otras técnicas para mejorar la precisión en el diagnóstico de esta enfermedad.

Comité de expertos de la OMS (1994)	T-score
Normal	DMO superior a -1 DE
Osteopenia	DMO entre -1 y -2,5 DE
Osteoporosis	DMO inferior a -2 DE
Osteoporosis grave o establecida	DMO inferior a -2 DE + fractura por fragilidad

Tabla 2. Criterios de la OMS para el diagnóstico de osteoporosis por DMO

b) Diagnóstico radiológico

La radiología convencional es en general un método poco sensible para diagnosticar la osteopenia o la osteoporosis. Sin embargo, podría tener utilidad en ciertas situaciones clínicas, como en casos de dolor agudo postraumático o cuando hubiera signos clínicos indirectos de fractura como cifosis, acortamiento del tórax, dorsalgia difusa crónica, etc. Las mejores proyecciones radiológicas son la dorsal lateral centrada en D8 y la lumbar lateral centrada en L2. La disminución mayor del 20% en cualquiera de las tres alturas del disco vertebral (anterior, medio o posterior), comparada con las vertebrales adyacentes, es criterio diagnóstico de fractura (64).

c) Escala FRAX

Se han desarrollado diferentes escalas de riesgo individual de fractura, entre las cuales la más utilizada es la escala FRAX, basada en métodos individuales que combinan factores clínicos de riesgo, y trata de calcular la probabilidad de fractura a los 10 años (65). Esta escala sin embargo tiene algunas limitaciones, ya que infraestima el riesgo de fractura en la población española (66). Además, esta escala no está validada en población infectada por el VIH, y algunos estudios destacan su ausencia de validez en este grupo por infraestimar el riesgo de fractura a 10 años (67,68).

d) Diagnóstico de laboratorio

En general, en el paciente con osteoporosis primaria las pruebas analíticas de laboratorio se encontrarán dentro de la normalidad. Sin embargo, pueden tener su utilidad cuando lo que se quiere es plantear el diagnóstico diferencial en el caso de sospecha de osteoporosis secundaria a alguna patología subyacente (69). En estos casos se podría realizar un estudio de hemograma, parámetros de metabolismo fosfocálcico, bioquímica básica, estudio hormonal, o estudio de electroforesis. Además, en los últimos años se han ido desarrollando los llamados marcadores de remodelado óseo, más sensibles y específicos, utilizados sobre todo en el campo de la investigación (70). Los más conocidos y utilizados en la actualidad son los que se describen a continuación:

Resorción (actividad osteoclástica)	Formación (actividad osteoblástica)
Suero	Suero
<ul style="list-style-type: none">• Fosfatasa ácida tetrato-resistente• Telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo 1 (CTX sérico)	<ul style="list-style-type: none">• Fosfatasa alcalina total• Fosfatasa alcalina ósea• Osteocalcina• Péptido aminoterminal del procolágeno tipo 1 (P1NP)
Orina	
<ul style="list-style-type: none">• Hidroxiprolina• Piridinolina y deoxipiridinolina• Telopéptido aminoterminal del colágeno tipo 1 (NTX)• Telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo 1 (CTX urinario)	

Tabla 3. Marcadores de laboratorio de remodelado óseo

Desde un punto de vista clínico, la resistencia ósea se entiende como la capacidad del hueso de no sufrir una fractura ante un traumatismo. Según la actual definición aceptada de osteoporosis, esta resistencia ósea sería el resultado de la integración no solo de la cantidad sino también de la calidad ósea (60). Cuando hablamos del primero de estos aspectos, la DXA es el método más ampliamente utilizado para cuantificarlo, y sigue siendo hoy día la técnica estándar para el diagnóstico y el manejo de la osteoporosis. Esta técnica ha demostrado además ser en general un excelente predictor del riesgo de fractura y una buena forma de monitorizar los resultados del tratamiento (60,71). Sin embargo, y según la definición explicada anteriormente, esto solo nos aportaría una información parcial sobre los determinantes de la competencia ósea. Los otros dos aspectos a tener en cuenta serían la distribución espacial del tejido óseo, tanto a nivel macroscópico como microscópico (microarquitectura), y por otro lado las características mecánicas del propio tejido óseo. En los últimos años se han ido desarrollando nuevas técnicas diagnósticas centradas en la medición de estos últimos aspectos relacionados con la resistencia ósea, una vez obtenida la información cuantitativa de densidad mineral a través de la DXA (72,73). Son las técnicas descritas a continuación.

e) Microindentación ósea

Medir de manera directa estas propiedades requeriría de técnicas cruentas en las que una determinada fuerza se aplicaría sobre la superficie de un hueso hasta que este se rompiera, para lo cual sería necesaria la obtención de una muestra quirúrgica y una infraestructura no disponible en la práctica clínica habitual, por tratarse de una técnica muy cruenta y poco aplicable en el día a día. Para solventar este problema de aplicabilidad en la práctica clínica se ha desarrollado la denominada indentación por punto de referencia o microindentación, descrita por primera vez en una serie de casos en el año 2010 (74). Esta novedosa técnica ha abierto la posibilidad de poder medir las características mecánicas de la cortical ósea en pacientes vivos, y desde que fue descrita se han ido desarrollando numerosos estudios clínicos en diferentes poblaciones para conseguir su validación.

El principio en el que se basa esta técnica es en la capacidad de penetración de una sonda en superficie de la cortical ósea (realizado en la superficie plana de la tibia). En este sentido, cuanto más penetra dicha sonda menor es la resistencia del hueso a la fractura (75). Los parámetros que se miden en la microindentación se expresan como unidades de *Bone Material Strength Index* (BMSi) o Índice de Fuerza Mineral Ósea (iFMO), y representan la ratio entre la penetración de la sonda en la cortical ósea y su penetración en una placa de metilmetacrilato de referencia (76). El protocolo de esta técnica ha sido recientemente descrito (77).



Gráfico 6. Técnica de microindentación sobre superficie tibial

Los dos primeros estudios realizados con esta técnica se llevaron a cabo con un dispositivo de indentación cíclica. El primero de ellos se realizó en 27 mujeres con fracturas osteoporóticas y 8 controles con edades similares y comparables (74). Los resultados mostraron de manera significativa una mayor distancia de indentación en el grupo de pacientes con fracturas respecto a los controles, con un área bajo la curva ROC de aproximadamente el 90%, mostrando que la técnica era capaz de identificar casos con o sin fractura, independientemente de la DMO.

El segundo estudio fue llevado a cabo en pacientes que presentaban fracturas femorales atípicas en relación a tratamiento a largo plazo con bifosfonatos (63). Se incluyeron cuatro grupos diferentes de pacientes: 6 pacientes con fractura femoral atípica expuestos a tratamiento con bifosfonatos, 38 con fracturas osteoporóticas sin tratamiento previo, 6 con tratamiento a largo plazo con bifosfonatos sin complicaciones, y 20 controles sin tratamiento ni historia de fracturas. Se encontraron diferencias significativas entre el grupo control, el grupo con fracturas osteoporóticas típicas y el grupo de fracturas atípicas, siendo el deterioro de las propiedades mecánicas óseas similar entre los dos grupos que presentaban fracturas, típicas o atípicas. Además, no se encontraron diferencias entre el grupo control y el grupo bajo tratamiento con bifosfonatos sin complicaciones, lo que sugería que dicho tratamiento por sí solo no era capaz de deteriorar los valores de la microindentación.

Posteriormente, se han realizado diversos estudios clínicos con el objetivo de validar la técnica de microindentación en poblaciones especiales.

1. Diabetes mellitus tipo 2

Son dos los principales estudios hechos en este tipo de población. En el primero de ellos se comparó un grupo de 30 mujeres postmenopáusicas con historia de diabetes mellitus tipo 2 de más de 10 años de evolución frente a un grupo de 30 mujeres sin antecedentes de dicha enfermedad. Los resultados mostraron niveles significativamente inferiores de BMSi en el grupo de diabéticas, a pesar de que la DMO era similar en ambos grupos (78). Además, los valores de hemoglobina glicosilada (HbA1c) a lo largo de los 10 últimos años tuvo una correlación negativa con los valores de BMSi.

Un segundo trabajo realizado también en mujeres postmenopáusicas encontró resultados similares al observar un BMSi inferior en pacientes diabéticas, con una correlación inversa con el tiempo desde el diagnóstico de la enfermedad (79). Estas pacientes tenían además niveles de marcadores bioquímicos de formación ósea más bajos que el grupo control.

2. Diferencias interracialias

Un nuevo estudio comparó un grupo de 42 mujeres noruegas frente a 46 mujeres españolas (población con una incidencia de fracturas de cadera inferior hasta en un 50%). Todas las participantes tenían DMO dentro de los valores considerados normales, y se descartaron fracturas vertebrales u osteoporosis secundaria. El grupo de mujeres noruegas presentó BMSi significativamente más bajo que las mujeres españolas, y sin embargo la DMO medida en la cadera del grupo de mujeres noruegas era significativamente mayor que en las españolas (80). Los autores concluyeron que posiblemente las mujeres nórdicas presentaban peores propiedades mecánicas óseas por factores asociados a la altura.

3. Pacientes con osteopenia y fracturas por fragilidad

Es conocido que los pacientes que sufren de osteopenia tienen un riesgo más elevado de sufrir fracturas por fragilidad (81). Se llevó a cabo un estudio en 90 pacientes con DMO baja, de los cuales 63 presentaron una o más fracturas por fragilidad. Al realizar la microindentación a estos pacientes, se observó que los que habían sufrido alguna fractura presentaban valores de BMSi más bajos que los que no la habían sufrido, a pesar de que los valores de DMO eran similares y comparables (82). Estos resultados se mantenían cuando se tenían en cuenta los grupos de pacientes que presentaban criterios de osteopenia u osteoporosis según los valores de DMO.

4. Pacientes en tratamiento con glucocorticoides

Mellibovsky et al (84) analizaron una serie de pacientes que se incluyeron dentro de las primeras 4 semanas tras haberse iniciado el tratamiento con glucocorticoides. Los pacientes fueron aleatorizados a recibir como protector óseo tratamiento con calcio asociado a suplementos de vitamina D o bien tratamiento con risedronato, teriparatide o risedronato, y se realizó microindentación en la visita basal, a las 7 y a las 20 semanas. No se encontró asociación entre la dosis inicial recibida de corticoides y los cambios en BMSi, pero se observó un deterioro significativo de estos valores en el grupo que recibió tratamiento con calcio y vitamina D. Para los demás grupos, no hubo cambios significativos en el que recibió risedronato, y en los que

recibieron denosumab o teriparatide se pudo observar ya en la semana 7 de tratamiento una mejoría en los valores de BMSi. Todos estos cambios fueron independientes de los valores de DMO, para los cuales no se observaron cambios significativos.

5. Trasplante renal

En una serie de pacientes con historia de trasplante renal previo a los 10 años anteriores a su inclusión se encontró que presentaban valores de DMO medida en columna vertebral, cuello femoral y total de la cadera menores que un grupo control (84). Al realizar la microindentación en estos pacientes, se obtuvieron valores de BMSi inferiores comparados con los controles. Sin embargo, después de realizar ajuste por edad, sexo e IMC estas diferencias desaparecieron, sugiriendo que las propiedades mecánicas óseas probablemente mejoran a largo plazo tras el trasplante de órgano, a pesar de que la pérdida de DMO se mantiene con el tiempo.

6. Otras situaciones

Se han realizado también otros trabajos con microindentación en pacientes con enfermedades menos frecuentes. Malgo et al (85) estudiaron a pacientes afectos de acromegalia y los compararon con un grupo de controles, encontrando diferencias significativas en BMSi mientras que esto no se producía al medir la DMO. Por otra parte, Herrera et al (86) estudiaron las propiedades mecánicas óseas en pacientes con enfermedad de Gaucher tipo 1, incluyendo un total de 16 pacientes afectos de esta enfermedad, y 29 controles comparables por edad y sexo. Se encontraron valores significativamente inferiores tanto de DMO como de BMSi en el grupo de estudio. Además, el BMSi se correlacionó de manera directa con la quitotriosidasa, marcador de la actividad de la enfermedad.

Tras los estudios de validación de la técnica de microindentación, su interés y utilidad en la práctica clínica han ido en aumento, sobre todo en las situaciones en las que la fragilidad ósea no está completamente explicada por los valores de la DMO. Se trata por tanto de una herramienta diagnóstica más a la hora de establecer una medida de los tres aspectos principales que determinan la resistencia final del hueso a

sufrir una fractura, siendo además una técnica rápida y fácil de realizar en la práctica clínica diaria.

f) TBS (*trabecular bone score*)

Como se ha hablado anteriormente, uno de los determinantes de la resistencia ósea es la distribución espacial del tejido, tanto macroscópica como microscópicamente hablando. Esta distribución espacial puede medirse en la práctica clínica con diferentes técnicas de imagen, desde la radiología convencional hasta técnicas mucho más sensibles como la tomografía axial computarizada (TAC) o la resonancia magnética nuclear (RMN) (87,88).

Sin embargo, dado que la disponibilidad de estas técnicas es limitada, se ha desarrollado una nueva forma de medir la microarquitectura. Así, el TBS (*trabecular bone score*) ha surgido como una nueva medida de la distribución espacial ósea, que utiliza variogramas experimentales de imágenes en proyección bidimensional, y cuantifica la variación en la textura según escala de grises de imágenes adyacentes. El TBS no es una medición directa de la microarquitectura ósea, sino a través de las características tridimensionales del hueso, como el número de trabéculas, la separación entre ellas y la densidad de conectividad (89). Un valor de TBS elevado se corresponde con una microarquitectura fuerte, resistente a las fracturas, mientras que un valor bajo refleja microarquitectura débil y propensa a las fracturas. Así, se puede diferenciar entre dos microarquitecturas tridimensionales con la misma densidad mineral ósea, pero diferentes características trabeculares. El TBS se obtiene generalmente mediante DXA de la columna lumbar, lo que permite una comparación directa con la DMO. El TBS lumbar, al igual que la DMO, es una variable dependiente de la edad. Se observa un pequeño cambio en el TBS entre las edades de 30 y 45 años. Posteriormente, se observa una disminución progresiva con el avance de la edad, más marcada en las mujeres que en los hombres (90). El porcentaje de disminución con la edad es similar a la de la DMO, al igual que la reproducibilidad a corto plazo.

Pese a que tanto para calcular la DMO como el TBS se utilizan imágenes mediante DXA, se miden dos aspectos diferentes de la resistencia ósea a la fractura: mientras que con la primera se mide lo que podría ser considerada como la "cantidad

de mineral en el tejido", con el segundo estamos midiendo cómo el hueso trabecular está dispuesto en la columna vertebral. Se han realizado varios estudios clínicos tanto transversales como prospectivos con esta técnica, que han mostrado que el TBS es un predictor del riesgo de fractura independiente de la DMO (91,92). Incluso se ha publicado recientemente un estudio en población VIH, en el cual también resultó ser mejor predictor de fracturas vertebrales subclínicas que la DMO (93).

TBS REPORT

TBS Mapping

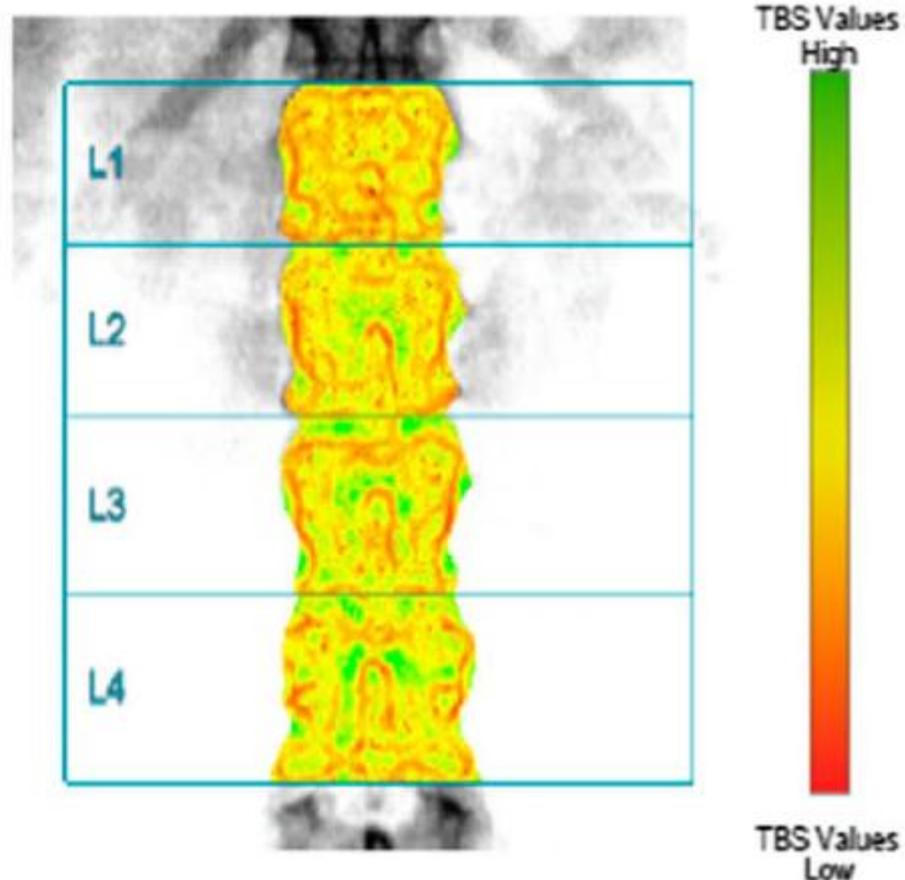


Gráfico 7. Técnica de medición del TBS

2.1 Efecto tóxico del VIH

La fisiopatología de la enfermedad ósea en el paciente con infección por el VIH es compleja, ya que en ella intervienen tanto factores de riesgo comunes a la población general como factores propios de la infección VIH, entre los que se incluyen los efectos de VIH y el efecto osteotóxico de algunos fármacos antirretrovirales (19).

Uno de los órganos afectados por la infección a largo plazo es el tejido óseo (94). Se ha descrito ampliamente que se produce una disminución de la DMO y la masa ósea en este tipo de pacientes independientemente de la edad y el sexo, pero la razón última que conduce a esta pérdida ósea todavía no se encuentra bien caracterizada (95). En este proceso parecen estar involucrados varios factores, como son los efectos secundarios de algunas proteínas virales del VIH, además de los efectos de algunas citoquinas, factores inflamatorios e inmunológicos sobre las células y el remodelado óseo (96). Por otro lado, hay que tener en cuenta otros determinantes de la DMO, como son IMC, algunos hábitos tóxicos o algunas enfermedades asociadas a la infección, que también podrían desempeñar un papel clave (19).

Por tanto, conocer todos estos elementos que participan en el proceso de pérdida ósea, cómo actúan y cómo se relacionan entre sí es de capital importancia para comprender la fisiopatología subyacente y predecir qué población se encuentra en riesgo real de sufrir una fractura ósea (97). El hueso es un órgano vivo, compuesto por diferentes células con funciones diferentes cada una de ellas. Los osteocitos son las células soporte y comunicación, los osteoblastos se encargan de formar el nuevo tejido óseo y los osteoclastos de destruir el tejido viejo, todo ello en un proceso armónico y controlado denominado en su conjunto remodelado óseo. Otros componentes son cristales no minerales de colágeno y las proteínas llamadas osteoides, donde la matriz mineral fosfocálcica se deposita en forma de hidroxiapatita cálcica se deposita (98). El remodelado óseo es el encargado de mantener la competencia ósea, y entre sus funciones está la de reparar los microdaños del tejido óseo inducidos por el estrés, además de promover la movilización de minerales almacenados en el hueso para satisfacer las necesidades fisiológicas (44). Cuando la reabsorción ósea se es superior a la formación, la pérdida ósea, osteopenia y

osteoporosis son la consecuencia directa. La acción de algunas citoquinas y prostaglandinas pueden llevar a esta situación, como son la interleuquina 1 (IL-1), interleuquina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral (TNF) (99).

La acción de los linfocitos protege el sistema esquelético. La infección por el VIH produce por una parte una depleción de linfocitos T CD4, pero también al mismo tiempo afecta a la función de linfocitos B, tanto por pérdida de la estimulación de estos como por efecto tóxico directo del virus (100). De hecho, la pérdida de masa ósea es un hallazgo muy común en pacientes VIH, casi dos tercios de ellos presentan osteopenia y aproximadamente un 15% osteoporosis (101,102). En este sentido, un trabajo de revisión sistemática concluyó que la probabilidad de presentar osteopenia y osteoporosis era 6 y 4 veces mayor en pacientes infectados por el VIH que en población no infectada, respectivamente (103). Sin embargo, en muchos de estos estudios la mayoría de los pacientes se encontraba en tratamiento con TAR en el momento de la realización de los mismos, por lo que sirvieron para discernir de manera clara el papel de la infección de aquel del tratamiento. Por otra parte, diversos estudios han mostrado un importante aumento en la incidencia de fracturas en estos pacientes, con un riesgo aumentado hasta 9 veces (104-107).

Como se ha explicado anteriormente, definir las causas finales de la pérdida de masa ósea en esta población ha sido muy difícil debido a la presencia de los tradicionales factores de riesgo de osteopenia y osteoporosis, que son potenciales efectos confusores. Los factores asociados a la infección por el VIH que más podrían ejercer su influencia en este aspecto son la pérdida de masa muscular, la enfermedad renal crónica, el hipogonadismo y el déficit de vitamina D (108). Además, es difícil discernir y cuantificar qué parte de este efecto es atribuible a la infección por el VIH, los factores de riesgo individuales, el TAR, o una combinación de ellos (19,103,109). El propio VIH puede producir un estado inflamatorio crónico que podría conducir a la pérdida ósea mediante la promoción de la osteoclastogénesis y reabsorción ósea mediada por citoquinas (110). Como se ha observado en modelos animales de investigación, la activación de células T es el elemento común entre la respuesta inmune a la infección por el VIH y el compartimento óseo. Las células T activadas afectan la fisiología ósea mediante la producción de las citoquinas proinflamatorias mencionadas anteriormente (IL-1, IL-6 y TNF), así como de RANKL, cuyos niveles se han

asociado directamente a los del ARN del VIH (111). Así, se produciría un aumento de la ratio RANKL/OPG, potenciado además por una producción de RANKL por parte de los linfocitos B (112). Estos resultados además se vieron refrendados en 2014 en un estudio clínico realizado en humanos, en el cual participó un grupo de 58 pacientes VIH negativos y uno de 62 pacientes VIH sin tratamiento (113). Este estudio encontró, para el grupo de pacientes infectados, una menor DMO, un aumento de la resorción ósea y mayores niveles de osteopenia, así como un aumento de la producción de RANKL por parte de los linfocitos B y disminución de OPG. Se encontró además una asociación directa significativa entre la ratio RANKL/OPG y los valores de la DMO, T-score y Z-score. Estos resultados además se mantenían estables tras el análisis multivariante por edad, sexo, raza, hábito enólico y tabáquico, e historia de fracturas previas (113).

Por último, recientemente se ha descrito un nuevo marcador emergente, el denominado factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF21), un importante regulador homeostático que además participa en el metabolismo de la glucosa y lípidos (114). Un reciente estudio transversal realizado en pacientes VIH y controles sanos evaluó los niveles de este marcador y su relación con los valores de DMO, encontrando una correlación inversa significativa entre ambos como probable reflejo de un aumento del remodelado óseo en pacientes infectados por el VIH (104).

2.2 Efecto tóxico del TAR

La terapia antirretroviral se ha asociado con una baja DMO en numerosos estudios (115-117). Estos trabajos fueron analizados en un meta-análisis que encontró un riesgo relativo de padecer osteopenia de 2,5 en pacientes con TAR en comparación con los pacientes no tratados (103). Otros estudios longitudinales y ensayos clínicos realizados posteriormente también han relacionado el inicio del TAR con baja DMO, independientemente del régimen utilizado (118). Este efecto parece ser mayor sobre todo en el primer año de tratamiento, estabilizándose posteriormente, especialmente a partir del segundo año bajo tratamiento (119). El estudio SMART estudió los cambios en la DMO y la incidencia de fracturas en dos grupos de pacientes, uno en tratamiento con TAR continuo, y otro en régimen intermitente (120). De las 12 fracturas

encontradas, 10 fueron en el grupo de TAR continuo. Además, la DMO fue significativamente más baja en el grupo de TAR continuo.

Pese a que no todos los estudios han encontrado estos mismos hallazgos y, de hecho algunos han encontrado una DMO estable o aumentada con el inicio del TAR (121), la mayoría de ellos concluyen lo explicado anteriormente. Sin embargo, dado que en la práctica clínica el TAR se compone de dos o más fármacos simultáneamente, resulta difícil discernir entre el efecto individual de cada uno de ellos sobre el tejido óseo, tanto en modelos animales como en estudios clínicos (122,123).

La recuperación y repoblación de células T que se produce con el inicio del TAR, con la consecuente activación del sistema inmune parece ser la responsable de un estado de inflamación persistente que facilitaría la acción de los osteoclastos, así como el daño de otros órganos diana, que puede llegar a producir enfermedad renal, hepática, cardiovascular o neurocognitiva (124). En el caso de la afectación ósea, las células T activadas producen un aumento de ciertas citoquinas osteoclastogénicas, entre las cuales se incluyen el RANKL y TNF (125). El aumento de esta última molécula también activaría la producción de RANKL por otra vía, la de los osteoblastos (126). Además, la recuperación del sistema inmune y de su respuesta adaptativa resultarían en la producción de estas citoquinas por parte de las células B, monocitos y macrófagos. Aunque no en todos, en varios pacientes se ha observado un aumento de estas citoquinas en correlación a la recuperación de células T tras el inicio del TAR, lo cual sugiere que cuanto mayor es dicha recuperación mayor será la magnitud de la pérdida ósea (127). A todo esto se sumaría, por otra parte, el efecto directo que producen los propios fármacos debido a su mecanismo de acción. Sin embargo, siguen existiendo controversias respecto a este mecanismo, y de hecho un estudio encontró una disminución significativa de los niveles de RANKL tras el inicio del TAR (128). Esta teoría fisiopatológica ha abierto la posibilidad de nuevas líneas de investigación terapéuticas para evitar esta pérdida ósea, y un estudio clínico publicado recientemente ha mostrado que una sola administración de ácido zoledrónico previene esta pérdida en las primeras 48 semanas tras el inicio del TAR (129).

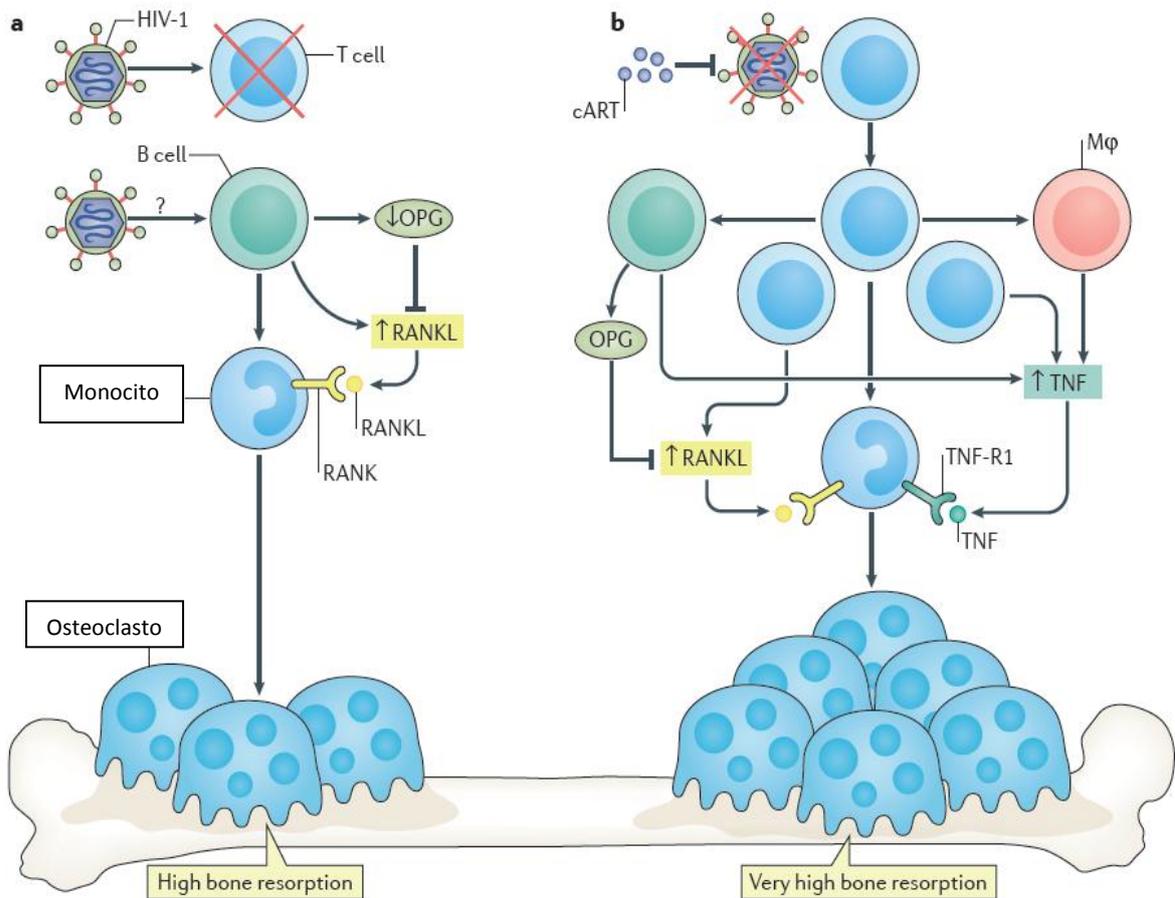


Gráfico 8. Pérdida ósea asociada a la infección VIH e inicio del TAR. Obtenido y modificado de (133).

A pesar de que cualquier régimen de TAR se ha visto asociado a pérdida de DMO, en diversos trabajos se ha observado que el fármaco TDF es el que produce una mayor pérdida (130), seguido de los IPs (131), aunque solo el primero de ellos se ha llegado a relacionar con un mayor riesgo de sufrir fracturas óseas (132). Esto sucedería sobre todo en los dos primeros años de exposición al fármaco, pero no se ha podido demostrar un efecto sumatorio a largo plazo.

La cuestión es descubrir cuál es el sustrato fisiopatológico por el cual el TDF es capaz de producir esta pérdida ósea. La toxicidad en el túbulo proximal, y con pérdida secundaria de fosfato es un posible mecanismo de este proceso. Sin embargo, la disfunción tubular renal proximal y el aumento de la resorción ósea no necesariamente siempre coexisten (54). Por tanto, el motivo final de esta interacción queda aún por aclarar en futuros estudios. Además, en esta población existen otros factores

directamente relacionados con el riesgo de fractura ósea, como son la raza blanca, el bajo recuento de linfocitos T CD4, la co-infección por el VHC, el uso de drogas por vía parenteral, neoplasias y enfermedades cardiovasculares (132).

2.2.1 Efecto del TDF

Entre todos los fármacos antirretrovirales, tenofovir disoproxil fumarato, un profármaco de tenofovir, es un medicamento ampliamente usado dentro del esquema general del TAR, con una potencia elevada y un buen perfil de tolerancia y seguridad, y clásicamente ha sido la piedra angular de este tratamiento (134). Sin embargo, pese a su generalmente buen perfil de tolerancia y seguridad, se ha visto relacionado en ocasiones con un empeoramiento de la función renal y de la DMO (135). En el primer caso, concretamente se ha observado una disminución de la tasa estimada de filtrado glomerular (eGFR). Hoy en día se sabe que TDF produce toxicidad a nivel del túbulo renal proximal, debido a un efecto sobre la ADN polimerasa mitocondrial que produce una disminución de este tipo de ADN y por tanto una disfunción tubular, que se traduce en una reabsorción alterada de las proteínas de bajo peso molecular, aminoácidos, glucosa, ácido úrico, bicarbonato y fosfatos, con la salida y presencia de estas sustancias en la orina (136). De hecho, la manifestación clínica más grave aunque infrecuente de esta alteración funcional tubular es el denominado síndrome de Fanconi, que se caracteriza, por además de la secreción de dichas sustancias a través de la orina, por presentarse con poluria, deshidratación, hipopotasemia, acidosis metabólica, y raquitismo u osteomalacia en el caso de niños o adultos, respectivamente (137).

Sin embargo, la correlación directa entre estas alteraciones tubulares y el empeoramiento de la función renal es controvertida, y hay escasos datos sobre la influencia que pueden tener otros factores como la coinfección por VHC, diabetes mellitus o hipertensión arterial. En este sentido, varios estudios han encontrado valores de función renal normales en presencia de dichas alteraciones tubulares (138). Desde el punto de vista fisiopatológico, TDF es eliminado en el riñón a través de la combinación de filtración glomerular pasiva y secreción tubular activa, que está

mediada por los aniones transportadores 1 y 3, así como la proteína MRP (*multidrug resistant protein*) 4 (139). Cuando el túbulo renal proximal se lesiona, el efecto directo es la acumulación intracelular de TDF y el aumento de la toxicidad mitocondrial. Además, cualquier factor que consiga aumentar los niveles plasmáticos de TDF tendrá como consecuencia una inhibición de la proteína MRP 4, y por tanto producirá un aumento de la toxicidad renal asociada a TDF (140). En este sentido es importante destacar dos fármacos que actúan de esta manera, como son los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) o los IPs, además de otros medicamentos (141). Además, algunos estudios recientes sobre profilaxis pre-exposición han mostrado una disminución del eGFR en relación al aumento de los niveles de TDF (142). El problema es que no hay un consenso claro sobre cuáles son los marcadores que hay que medir a la hora de evaluar la disfunción tubular, y por este motivo los porcentajes de prevalencia entre los pacientes expuestos al efecto de TDF varían del 7 al 75%. Dentro de las diferentes anomalías en la función tubular, la proteinuria y la fosfaturia son las más frecuentemente encontradas (143). Algunos estudios *in vitro* han observado cómo el transporte tubular de fosfatos es muy sensible a la toxicidad mitocondrial (144), llegándose a encontrar una disminución de la reabsorción tubular de fosfatos en alrededor del 30-50% de pacientes después de recibir TDF durante una mediana de tiempo de cinco años, y aunque no es frecuente encontrar hipofosfatemia en estos pacientes debido a los mecanismos hormonales compensatorios dependientes principalmente de la PTH y vitamina D, sí que la hiperfosfaturia está directamente relacionada con una disminución en la eGFR, así como la proteinuria, encontrada en similares porcentajes que la hiperfosfaturia en este tipo de pacientes (145). Todo esto en su conjunto hace indicar que las alteraciones tubulares secundarias a la exposición a largo plazo a TDF resultan en una disfunción renal y disminución por tanto de la eGFR, una vez superado el mecanismo de compensación de estas alteraciones por parte de las nefronas.

Por otra parte, y pese a que cualquier esquema de TAR se ha visto relacionado con una disminución en la DMO tras el inicio de este, diferentes trabajos han observado a lo largo de los últimos años que fármaco TDF es el que produce una mayor afectación en este sentido, si bien todos los pacientes infectados por el VIH

muestran una prevalencia elevada de osteopenia y osteoporosis de probable origen multifactorial, determinado por la propia infección, el TAR, el estado de inflamación crónica o la activación inmunológica (146). En cualquier caso, el inicio de tratamiento antirretroviral con un régimen que contenga TDF supone una mayor reducción de la DMO, así como también un mayor aumento en los marcadores de remodelado óseo (147). Incluso un estudio observacional realizado entre 1998 y 2009 mostró que la exposición acumulada de TDF estaba asociada a un aumento en la tasa de fracturas después de ajustar por los factores clásicos que influyen en la DMO (106). Además, estudios realizados en pacientes no infectados por el VIH que realizan profilaxis pre-exposición con dicho fármacos han observado una pérdida de masa ósea pequeña pero significativa también en personas sanas, para posteriormente volver a los valores basales al cabo de aproximadamente un año de seguimiento (148).

Pese a que algunos estudios *in vitro* sugieren que TDF puede alterar la expresión de tanto osteoblastos como osteoclastos, la fosfaturia acompañante a la disfunción tubular renal producida por esta molécula debería ser la clave del mecanismo fisiopatológico subyacente del deterioro (149). Además, algunos estudios en modelos animales han mostrado que altas dosis de TDF producen un síndrome *osteomalacia-like* con un aumento de fracturas y deformidades óseas en contexto de persistir la normalidad en la función renal. La osteomalacia asociada al síndrome de Fanconi es una entidad bien descrita, aunque normalmente se observa acompañando a situaciones de hipofosfatemia, niveles bajos de $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]$, insuficiencia renal, o acidosis crónica debida a pérdidas de bicarbonato (150). En el caso de la disfunción tubular, la fosfaturia crónica puede correlacionarse con bajos niveles séricos de fosfato (151). En este sentido, la exposición inicial al fármaco produciría un aumento de los niveles de PTH, provocando un aumento a su vez de $[1,25(\text{OH})_2\text{D}]$ como mecanismo compensatorio en pacientes con niveles adecuados de $[25(\text{OH})\text{D}]$, con una consecuente recuperación parcial de la fosfatemia (152). Sin embargo, la exposición acumulada acabaría produciendo un fracaso de este mecanismo de compensación, con el consiguiente descenso de los niveles de DMO. De hecho, el mantenimiento de los niveles de fosfato dentro de un estrecho rango es crucial para asegurar importantes procesos de la actividad celular, y esto depende de una compleja interacción entre

varios factores, como son: la absorción intestinal de fosfato, la resorción ósea, intercambios entre los compartimentos intracelular e intravascular y la excreción renal, regulada al mismo tiempo por los niveles de vitamina D, PTH, y otras moléculas como las fosfatasas (144). Además, el hueso juega un papel fundamental en la homeostasis del fosfato a través de la matriz de hidroxapatita.

Recientemente se ha publicado el primer estudio longitudinal que ha evaluado la situación de disfunción tubular en pacientes VIH tratados con algún régimen que contuviera TFD como parte de él, y su correlación con los cambios en los valores de la DMO, basado en datos de un total de 90 pacientes (153). La disfunción tubular se definió como la presencia de al menos dos de las siguientes situaciones: hiperfosfatemia, glucosuria no diabética, hiperuricosuria y/o preteínuria. Casi un 80% de pacientes presentaron alguna anomalía en la función tubular (el 50% correspondía a hiperfosfatemia), y el 30% cumplían con los criterios de la definición de disfunción tubular. Después de una mediana de seguimiento de 38 meses, se observaron niveles compatibles con osteopenia en la DMO medida en columna vertebral y fémur del 48% y 49% respectivamente. Para valores compatibles con osteoporosis en dichas localizaciones, fueron del 2% y el 9% respectivamente. Este estudio encontró además una correlación lineal significativa entre el tiempo de exposición a TDF y la disminución del valor de la DMO en el caso de la columna vertebral, no así en el fémur. La misma correlación se encontró para los niveles séricos de vitamina D, que se vieron disminuidos (153). Además, el empeoramiento de los valores de la DMO se asoció al número de anomalías en la función tubular renal descritas anteriormente, y especialmente con la fracción de excreción renal de fosfatos, siendo la hiperfosfatemia un factor predictor independiente de pérdida de DMO después de 3,5 años de seguimiento, habiendo sido ajustado el modelo por edad, sexo e índice de masa corporal (153). Los datos de este trabajo confirman la importancia de la pérdida renal de fosfatos en el mecanismo fisiopatológico de la pérdida de masa ósea debido al efecto de TDF, con la consecuente necesidad de aumentar la reabsorción de fosfatos a nivel renal para mantener unos niveles de fosfatemia adecuados, para lo cual sería necesaria un aumento de la resorción ósea que mantuviera el equilibrio homeostático, especialmente en paciente con mayores

niveles de DMO, donde se ha observado la mayor pérdida de esta tras el inicio del tratamiento antirretroviral (154).

En este sentido, unos niveles adecuados de vitamina D ayudarían a mejorar la reabsorción renal de fosfatos, o al menos a reducir sus consecuencias (155, 156). Un mecanismo parecido se observa en la osteomalacia hipofosfatémica asociada al síndrome de Fanconi o en la propia osteomalacia inducida por tumores, aunque estas dos entidades se asocian a unos altos niveles de fosfaturia no encontrados en el caso del uso de TDF, por lo que probablemente la medición de los niveles séricos de fosfato no serían un buen predictor de la pérdida de DMO en este caso (149). Pese a todo esto, aún se necesitan estudios más complejos para terminar de comprender este mecanismo fisiopatológico en su totalidad.

2.2.2 Tenofovir alafenamida: el nuevo fármaco sustituto de TDF

Tenofovir alafenamida (TAF) es un novedoso profármaco de tenofovir. Es más estable en sangre que TDF, y es metabolizado intracelularmente mediante la proteasa lisosomal catepsina A, adenilato quinasa y quinasa nucleótidas. Por este motivo, TAF alcanza niveles intracelulares unas 5-7 mayores que TDF, y sin embargo los niveles séricos de tenofovir libre se reducen en aproximadamente un 90%, por lo que este nuevo fármaco parece tener igual o superior eficacia que TDF y menor toxicidad (157). Recientemente ha sido aprobado en Estados Unidos y la Unión Europea como monoterapia en el tratamiento de la hepatitis B (158) y en tres diferentes combinaciones para el tratamiento del VIH (159).

El efecto sobre la pérdida de DMO de TDF está bien establecido, y aunque diferentes estudios sugieren que el aumento del riesgo de sufrir fracturas osteoporóticas solo es clínicamente significativo en población de alto riesgo (160), existe un gran interés en este nuevo medicamento debido a su mejor perfil de seguridad a nivel renal y óseo, y la posibilidad de no tener que monitorizar ambos posibles efectos adversos en pacientes bajo este tratamiento.

Diferentes estudios han comparado la eficacia en cuanto a supresión virológica de ambos fármacos, no habiéndose encontrado diferencias significativas entre ellos (161). Sin embargo, sí que se han encontrado diferencias en los efectos a nivel renal y óseo. El efecto sobre la pérdida de DMO fue significativamente mayor en los pacientes bajo tratamiento con TDF a la semana 48 y 96, tanto en la columna vertebral como en el fémur, aunque sin que se produjera un aumento en la incidencia fracturas óseas (161). Además, el tratamiento con TAF se relacionó de manera significativa con niveles más elevados de eGFR y menores de creatinina sérica en la semana 48 de seguimiento. Sin embargo, no hubo diferencias en el número de interrupciones del TAR debido a toxicidad renal entre los dos grupos, y los pacientes que recibieron TAF presentaban un peor perfil lipídico frente a TDF, con una mayor necesidad de instaurar tratamiento farmacológico antilipemiente (161).

Dentro de estos estudios, cuando se analizaron los pacientes que recibían TDF potenciado mediante la combinación con RTV o COBI frente a los que recibían TDF sin potenciar, sí que los pacientes del primero de estos dos grupos presentaban una mayor tasa de interrupción del tratamiento debido al empeoramiento de la función renal (161). Se sabe que estos fármacos potenciadores pueden llegar a aumentar hasta un 30% los niveles séricos de TDF (162). En el caso de la combinación de TAF y COBI, el segundo de ellos actúa aumentando la absorción intestinal del primero, motivo por el cual la dosis estandarizada de TAF sin potenciar es de 25 mg, mientras que potenciado se reduce a 10 mg, siendo dosis bioequivalentes (163). Este ajuste de dosis no se hace de manera estandarizada en el caso de TDF. Por otra parte, algunos estudios sugieren que estas diferencias en los valores de la DMO entre TAF y TDF tienden a estabilizarse a partir de la semana 48, por lo que se requiere de futuros estudios longitudinales a largo plazo para evaluar el verdadero significado clínico de estas diferencias (161).

2.2.3 Efecto de los IPs

Otro grupo de fármacos antirretrovirales que se ha visto relacionado de forma significativa con una disminución de la masa ósea son los inhibidores de la proteasa,

aunque el mecanismo fisiopatológico de este efecto directo no está aún bien definido (164). La magnitud de este efecto fue evaluada en un meta-análisis que encontró una odds ratio (OD) para desarrollar osteoporosis de 1,57 (IC 95% 1,05-2,34) en los pacientes infectados por el VIH y tratados con un régimen que contenía un IP en comparación con aquellos que no lo tenían (103). Estos resultados fueron refrendados posteriormente tras la publicación de una serie japonesa, que encontró resultados similares independientemente del uso de TDF (165).

Hasta la fecha, son solo dos los ensayos clínicos randomizados que han analizado la diferencia de pérdida de DMO entre dos tipos diferentes de IPs (166,167). Uno de ellos no encontró diferencias en la pérdida de DMO tanto en columna vertebral como en fémur entre ATV/r y DRV/r, aunque en ambas ramas se obtuvieron valores menores de DMO en ambos lugares comparado con el inhibidor de la integrasa raltegravir (166). Por otra parte, el subestudio CASTLE encontró una mayor pérdida de los valores medios de DMO en pacientes tratados con LPV/r comparado con ATV/r, aunque estas diferencias no fueron significativas (167).

Uno de los mecanismos por el cual los IP jugarían un papel diferencial en la pérdida de masa ósea es que, cuando se utilizan en combinación con TDF pueden llegar a aumentar los niveles de este último hasta en un 32-50% debido a una disminución de su excreción en el túbulo renal proximal (168). Un efecto similar se ha descrito también con el fármaco cobicistat (COBI), también potenciador de los IP y del inhibidor de la integrasa Elvitegravir (EVG), pero en su caso a través del aumento de la absorción del fármaco a nivel gastrointestinal (169).

Otro mecanismo de toxicidad sería el efecto directo que tendrían estos fármacos sobre el metabolismo óseo. Este hecho ha sido bien descrito en modelos *in vitro* y también en modelos animales *in vivo*, pero es más difícil de corroborar en estudios clínicos. Por ejemplo, en algunos experimentos *in vitro* se ha observado cómo el fármaco IP fosamprenavir (FPV) incrementa la producción de OPG y disminuye por tanto la de RANKL, mientras que tanto ritonavir (RTV) como saquinavir (SQV) producen un bloqueo de la producción de RANKL (170,171). Otro trabajo realizado tanto *in vivo* como *in vitro* con RTV mostró cómo este fármaco inhibía la función de los osteoclastos

y la osteoclastogénesis a través de la inhibición de la señal inducida por RANKL (172). También se ha descrito que este fármaco ejerce *in vitro* un efecto de aumento de la diferenciación de células mononucleares periféricas a osteoclastos (173).

Indinavir (IDV), otro fármaco perteneciente a esta familia no tendría efecto sobre la osteoclastogénesis (174). Sin embargo, tanto en este como en nelfinavir (NFV) se ha encontrado un efecto de disminución en la expresión génica de los osteoblastos, con una disminución en la actividad de la fosfatasa alcalina ósea (FAO) y la deposición de calcio (174), mientras que la exposición a ATV y LPV produciría un envejecimiento precoz de las células mesenquimales con la consecuente disminución de su diferenciación a osteoblastos (175). Todos estos resultados demuestran que en general los IP tienen el potencial de reducir la ratio RANKL/OPG, induciendo una inhibición de la actividad de los osteoblastos y un aumento de la producción de osteoclastos, con el consecuente aumento de la resorción ósea. Sin embargo, se necesitan más estudios clínicos para conocer la verdadera aplicación de estos hallazgos.

Otros estudios más recientes han relacionado la pérdida de DMO en los pacientes VIH tratados con IPs con un efecto sobre la función tiroidea, al encontrar de manera significativa una tasa doble de hipotiroidismo en este grupo de pacientes comparados con aquellos que utilizaban un régimen terapéutico diferente (176). El análisis multivariante confirmó esta asociación, además de una relación inversa entre el grado de hipotiroidismo y los valores de DMO vertebral (176).

Por último, cabe destacar que la vitamina D es de gran importancia en el metabolismo óseo, al participar en el mantenimiento de los niveles séricos de calcio. El déficit de esta hormona se traduce en un hiperparatiroidismo secundario, lo cual estimula la osteoclastogénesis a través de la producción de RANKL, provocando una defectuosa deposición de minerales en la matriz ósea (177). Este déficit vitamínico es muy frecuente en la población infectada por el VIH, especialmente en los tratados con regímenes terapéuticos que contiene TDF o EFV, sin quedar tan claramente asociado a los IP (178). *In vitro*, la conversión en cultivos de hepatocitos y monocitos de 25-hidroxi-vitamina D [25(OH)D] a su metabolito activo di-hidroxi-vitamina D [1,25(OH)₂D]

se ve disminuida ante la presencia de los efectos de los IP (179). Pese a que su relevancia clínica está aún por aclarar en futuros trabajos, varios estudios observacionales encontraron un aumento en los niveles de [25(OH)D] tras el inicio de tratamiento con IPs (180), lo cual sugiere una disminución en la conversión hacia [1,25(OH)₂D].

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis de trabajo

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y el tratamiento antirretroviral inciden de manera diversa en los diferentes componentes que determinan la resistencia ósea.

Objetivo principal

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la calidad tisular ósea mediante la técnica de microindentación en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana sometidos o no a tratamiento antirretroviral.

Objetivos secundarios

1. Analizar el impacto que tiene la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana en otros componentes que determinan la resistencia ósea: densidad mineral ósea y *trabecular bone score*.
2. Evaluar el impacto de los dos principales fármacos antirretrovirales sobre la salud ósea tras una exposición prolongada en el tiempo.
3. Analizar el impacto que tienen la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y la exposición prolongada al tratamiento antirretroviral en los marcadores analíticos de remodelado óseo.

4. MÉTODOS

4.1 Población de estudio

Los dos estudios que componen esta tesis doctoral fueron estudios transversales que se llevaron a cabo con pacientes infectados por el VIH en el Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital del Mar de Barcelona. En el primero de ellos también participó un grupo de controles sanos voluntarios.

4.1.1 Primer estudio

En este primer estudio se incluyeron un total de 85 pacientes, 50 de ellos infectados por el VIH y 35 controles. Todos los pacientes VIH presentaban viremia detectable (>40 copias/ml) y no tenían historia de haber recibido ningún tratamiento antirretroviral previo.

Los criterios de exclusión fueron haber recibido tratamiento activo frente al tejido óseo o presentar alguna condición que pudiera interferir en el metabolismo óseo, como hepatopatía, alcoholismo, neoplasia, síndrome de Cushing, hipogonadismo, hipertiroidismo, hipopituitarismo, hiperparatiroidismo, enfermedad renal crónica, EPOC, infección crónica por VHB o VHC, diabetes mellitus, enfermedad neuropática, o uso de glucocorticoides, opioides o drogas de uso por vía parenteral.

4.1.2 Segundo estudio

Se incluyeron pacientes infectados por el VIH y mayores de 50 años. Todos ellos se encontraban bajo tratamiento antirretroviral bien con TDF-FTC o bien con ABC-3TC durante al menos los últimos 5 años, sin historia de cambio de uno al otro. Todos presentaban buena adherencia al tratamiento, carga viral del VIH indetectable y un recuento de linfocitos CD4 > 250/ml. Los criterios de exclusión fueron los mismos que en el primer estudio.

4.2 Variables medidas

A todos los pacientes participantes en ambos estudios se les realizó una anamnesis e historia clínica completas que hicieran cumplir con los criterios de inclusión, y se obtuvieron análisis de sangre, estudio radiológico y medidas de las diferentes variables determinantes de la resistencia ósea.

4.2.1 Análisis de laboratorio

En todos los pacientes se obtuvo muestra de sangre para medición de parámetros de:

- Metabolismo fosfocálcico: calcio, fosfato, PTHi, [25(OH)D].
- Remodelado óseo: CTX, P1NP, FAO
- Estado inflamatorio: PCRas, VSG, β -2-microglobulina, dímero-D, fibrinógeno

4.2.2 Estudio radiológico

Se realizó a todos los participantes una radiografía lumbar lateral para descartar fracturas previas asintomáticas.

4.2.3 Densitometría ósea

Se obtuvo mediante DXA información sobre la DMO en todos los pacientes, medida en la columna lumbar, cuello del fémur y DMO total de la cadera.

4.2.4 Microindentación

En todos los participantes en ambos estudios se realizó la medición de las propiedades mecánicas óseas a través de la microindentación. Esta técnica se llevó a cabo con el instrumento manual *OsteoProbe Reference Point Indenter* (*Active-Life-Scientific, Santa Barbara, CA*), según un protocolo publicado recientemente (77). Tras la inyección local de anestesia (mepivacaína 2%) sobre la superficie anterior de la tibia,

se realiza con una aguja estéril con una punta cónica de 4 μm de diámetro un total de 8 indentaciones de 30 N sobre dicha superficie, manteniendo la sonda perpendicular a ella. Las indentaciones se realizan en diferentes lugares de la superficie ósea, separados de unos 2 mm aproximadamente. Esta aguja penetra en la cortical ósea, y el instrumento mide la distancia de indentación obtenida. Posteriormente, la media de estas indentaciones se normalizan con 5 indentaciones realizadas sobre un bloque de metilmetacrilato, y la ratio entre ellas se expresa en forma de BMSi.

4.2.5 TBS

Por último, en los pacientes participantes en el segundo de los estudios se obtuvo también información sobre la microarquitectura ósea medida mediante el cálculo del *trabecular bone score* a partir de imágenes bidimensionales de DXA en los mismos lugares usados para la medición de la DMO en la columna lumbar. Los valores de TBS considerados normales son por encima de 1,35. Entre 1,20-1,35 se considera una microarquitectura parcialmente afectada, y por debajo de 1,20 una microarquitectura significativamente baja.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Primer estudio

El primer estudio incluyó un total de 85 pacientes, 50 de ellos infectados por el VIH y 30 controles sanos voluntarios. No se encontraron diferencias significativas en las características basales entre ambos grupos.

5.1.1 Pruebas de laboratorio

No se encontraron diferencias en los valores de los marcadores de remodelado óseo entre los dos grupos. Dentro de los parámetros de metabolismo fosfocálcico, los paciente infectados por el VIH presentaban valores más bajos de [25(OH)D] (20.9 ng/mL vs 33.3 ng/mL; P = 0.015). En cuanto a los parámetros inflamatorios, los valores de la PCRas (0.48 mg/dL vs 0.12 mg/dL; P = 0.005) la VSG (20 mm/h vs 3 mm/h; P = 0.0001), el dímero D (289.6 ng/mL vs 137.2 ng/mL; P = 0.018), el fibrinógeno (400 mg/mL vs 317 mg/mL; P = 0.037) y la β -2-microglobulina (2.48 mg/L vs 1.438 mg/L; P = 0.0001) fueron significativamente más elevados en el grupo de pacientes VIH que en los controles.

5.1.2 Variables de resistencia ósea

El grupo de pacientes VIH tuvo valores significativamente más bajos de BMSi [mediana de 84,5 (RIQ 83–87) vs 90 (RIQ 88,5–93); P < 0,001]. Además, dentro del grupo VIH las mujeres tenían BMSi significativamente más bajo respecto a los hombres [mediana de 85 (RIQ 83–87) vs 80 (RIQ 77–83); P = 0.0004], hecho que no ocurría dentro del grupo control. No se observaron diferencias significativas entre grupos en los valores de DMO en ninguna de las zonas medidas, y la relación entre la infección por el HIV y el BMSi se mantuvo tras ajustar por edad, sexo, IMC y [25(OH)D].

Las características basales de los participantes en este estudio y los resultados obtenidos están representados en la siguiente tabla:

	VIH negativo	VIH positivo	P
N	35	50	
Edad (años)	33,9 (27,6-53,8)*	36,7 (31,7-46,2)	0,49
Hombres (n,%)	24 (68,5)	35 (70)	0,12
Peso (Kg)	70 (60-78)	68 (63-75)	0,48
IMC, Kg/m ²	22,9 (20,5-24,6)	23,8 (21,7-24,9)	0,06
Fumadores (n,%)			
Nunca	16 (45,7)	24 (48)	0,18
Exfumador	3 (8,5)	3 (6)	0,44
Fumador activo	16 (45,8)	23 (46)	0,49
Índice acumulado	12,8 (14,2)	10,1 (14)	0,19
Alcohol (>20 gr/día)	0	0	
Historia familiar de fractura (n,%)	4 (11)	4 (8)	0,46
Fractura lumbar asintomática (n,%)	0	2 (4)	0,07
<hr/>			
Años desde el diagnóstico de VIH		2 (1-4)	
CD4 nadir (por ml)		380 (267-480)	
Carga viral nadir (log ₁₀)		4,2 (1,2)	
Diagnóstico de SIDA (n,%)		2 (4)	
<hr/>			
DMO (gr/cm²)			
Cuello femoral DMO	0,792 (0,733 a 0,957)	0,807 (0,769 a 0,88)	0,393
Cuello femoral T-score	-0,65 (-1,1 a 0,3)	-0,65 (-1,1 a -0,2)	0,502
Cuello femoral Z-score	-0,6 (-0,98 a 0,4)	-0,33 (-0,93 a 0,07)	0,883
Cadera total DMO	0,884 (0,833 a 1,06)	0,936 (0,875 a 1,056)	0,749
Cadera total T-score	-0,6 (-1,1 a 0,7)	-0,25 (-0,9 a 0,2)	0,840
Cadera total Z-score	-0,44 (-1 a 0,82)	-0,05 (-0,56 a 0,57)	0,923
Columna lumbar DMO	0,980 (0,894 a 1,06)	0,978 (0,908 a 1,079)	0,413
Columna lumbar T-score	-0,65 (-1,3 a -0,2)	-0,8 (-1,3 a 0,1)	0,338
Columna lumbar Z-score	-0,53 (-1,08 a -0,08)	-0,43 (-1,08 a 0,47)	0,872
Microindentación (BMSi)	90 (88,5-93)	84,5 (83-87)	0,001

Remodelado óseo

P1NP (ng/ml)	53,01 (34-63,86)	52,27 (39,3-59,73)	0,453
FAO (µg/ml)	11,8 (7,7-15,7)	13,4 (10,2-16,7)	0,145
CTX (ng/ml)	0,307 (0,168-0,415)	0,267 (0,210-0,382)	0,480

Metabolismo fosfocálcico

PTHi (pg/ml)	23 (15-33)	22,5 (19-38)	0,193
[25(OH)D] (ng/ml)	33,3 (15,3-42,9)	20,9 (11,67-28,58)	0,015
Calcio (mg/ml)	9,5 (9,3-9,8)	9,45 (9,2-9,6)	0,132
Fósforo (mg/ml)	3,45 (3,1-3,8)	3,2 (2,8-3,5)	0,132

Inflamación

PCRas (mg/dl)	0,04 (0,002-0,19)	0,22 (0,08-0,6)	0,005
VSG (mm/h)	3 (2-5)	20 (11-25)	0,000
Dímero-D (ng/ml)	137,2 (126,3-144,1)	289 (207-440)	0,018
Fibrinógeno (mg/dl)	317 (205-345)	400 (317-470)	0,037
B-2-microglobulina (mg/L)	1,4 (1,36-1,47)	2,48 (2,03-2,83)	0,000

*Resultados mostrados en mediana (RIQ), a menos que se indique otra unidad

5.1.3 Discusión

Este estudio mostró que los pacientes infectados por el VIH presentaban peores propiedades mecánicas óseas que individuos sanos no infectados, independientemente del tratamiento antirretroviral y de los valores de la DMO. Además, este grupo presentaba unos valores significativamente más elevados de marcadores inflamatorios, situación que se ha visto relacionada anteriormente con un mayor riesgo de presentar fragilidad ósea en otras condiciones (181,182). Ambos grupos resultaron ser comparables según los factores de riesgo tradicionales de sufrir osteoporosis, y no presentaron diferencias significativas entre ellos en cuanto a valores medidos de DMO.

Estos resultados apoyan que, pese a que la medición de la DMO sigue siendo la técnica “gold estándar” para el diagnóstico de la osteoporosis, este aspecto solo refleja parcialmente el estado de la afectación ósea de los pacientes (78,82,83,183). En este sentido, la técnica de microindentación se posiciona como una herramienta novedosa,

sencilla de realizar en la práctica clínica habitual, y útil para valorar otros aspectos de la salud ósea que no son detectables mediante la DMO.

Por otro lado, no se encontraron diferencias entre grupos respecto a los valores de marcadores de remodelado óseo. En este aspecto cabe destacar que la microindentación produce microfracturas en el hueso sobre el que se realiza mediante la separación de fibrillas de colágeno (74). Posiblemente este sea el mecanismo inicial por el cual se produce una fractura ósea, el cual es un proceso independiente de la cantidad mineral ósea, así como de los marcadores de remodelado (63,74,82). Sin embargo, sí que hubo diferencias entre ambos grupos en cuanto a los marcadores de inflamación, siendo significativamente mayores en el grupo de pacientes infectados por el VIH. Esto apoya de alguna manera la hipótesis de que la propia infección provoca un estado crónico de inflamación que puede ser la responsable del deterioro observado en las propiedades mecánicas del tejido óseo, afectación que se observaría previamente al deterioro de la DMO y la alteración en los marcadores de remodelado (100,112).

Este primer estudio abre una importante línea de investigación en la afectación ósea en el paciente VIH, en el sentido de poder cuantificar una nueva dimensión determinante de la resistencia ósea. Además, contribuye a validar esta nueva técnica en una población específica, tras haberse realizado previamente en otras poblaciones especiales. Futuros estudios deberían profundizar sobre la fisiopatología de esta afectación, además de crear nuevas estrategias preventivas o terapéuticas, en un campo que adquirirá importancia debido a la supervivencia cada vez mayor en este grupo de población. Por último, se podrían realizar nuevos trabajos para valorar también el deterioro óseo relativo al tratamiento antirretroviral.

5.2 Segundo estudio

En este trabajo fueron incluidos un total de 63 pacientes, de los cuales 36 pertenecían al grupo de tratamiento con TDF-FTC y 27 al grupo de ABC-3TC. La edad media fue de 56,3 años (DE = 6,2) y 63 años (DE = 9,8), respectivamente (P = 0,0019). La mediana de tiempo después del inicio del TAR fue de 7,8 años (RIQ = 3.2) en el grupo TDF-FTC, y de 8,9 años (RIQ = 3,4) en el grupo ABC-3TC (P = 0,086). No se encontraron diferencias en los parámetros de función renal entre ambos grupos. No hubo diferencias en el uso de IP como tercer fármaco antirretroviral [3 (8%) en el grupo TDF-FTC vs 2 (7%) en el grupo ABC-3TC; (P = 0,893)], y tampoco en el resto de parámetros clínicos y demográficos que se estudiaron, excepto en el IMC [23,8 (DE = 2,4) en el grupo TDF-FTC vs 26,1 (3,4) en el grupo ABC-3TC; (P = 0,0031)]. Las características basales de los pacientes incluidos en este estudio están representados en la siguiente tabla:

	TDF-FTC	ABC-3TC	P
N	36	27	
Edad (años)	56,54 (6,3)	63 (9,8)	0,0019
Hombres (n,%)	27 (75)	20 (74,1)	0,93
IMC (Kg/cm ²)	23,8 (2,4)	26,1 (3,4)	0,0031
Fumadores (n,%)	14 (38,9)	13 (48,1)	0,46
Alcohol >10 gr/día (n,%)	5 (13,9)	2 (7,4)	0,42
ExADVP (n,%)	5 (13,9)	2 (7,4)	0,42
Drogas recreativas (n,%)	1 (2,7)	1 (3,7)	0,84
Fractura previa (n,%)	2 (5,5)	1 (3,7)	0,422
Historia familiar de fractura (n,%)	0	1 (3,7)	0,146
Fractura lumbar asintomáticas (n,%)	0	0	
eGFR < 60 ml/min	0	0	
eGFR (ml/min)	86 (2,2)	81 (2,3)	0,134
Tiempo desde el diagnóstico de VIH (años)	16,8 (6,3)	17,1 (5,2)	0,85
Tiempo de TAR (años)	7,8 (3,2)	8,9 (3,4)	0,452
CD4 nadir (por ml)	217,9 (128,3)	189 (132,4)	0,39
CD4 actual (por ml)	741,4 (311,3)	712,8 (229,8)	0,69
Diagnóstico de SIDA (n,%)	9 (25)	9 (33,3)	0,47
Uso de IP (n,%)	3 (8)	2 (7)	0,893

*Resultados mostrados en media (DE), a menos que se indique otra unidad

5.2.1 Pruebas de laboratorio

Dentro de los parámetros analíticos de remodelado óseo se encontraron valores del marcador de formación PINP significativamente más elevado en los pacientes tratados con TDF-FTC (54,3 ng/mL, RIQ = 36,5) que en los tratados con ABC - 3TC (38,1 ng/ml, RIQ = 18,5), $P = 0,0171$. Un resultado similar fue observado para el marcador de resorción ósea CTX [0,432 ng/ml (RIQ = 0,303) y 0,310 (IQR = 0,12) ng/ml, respectivamente; $P = 0,05$]. Sin embargo, después de ajustar por edad, sexo, IMC y vitamina D estas diferencias desaparecieron. Al analizar los parámetros relacionados con el metabolismo fosfocálcico e inflamación, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en ninguno de ellos.

5.2.2 Variables de resistencia ósea

La DMO media y el T-score medidos en la columna lumbar fue significativamente inferior en el grupo tratado con TDF-FTC comparado con el grupo tratado con ABC-3TC [0,926 g/cm² (DE = 0,2) vs 1,015 g/cm² (DE = 0,2); $P = 0,04$]. Sin embargo, estas diferencias no se observaron en las mediciones de la DMO y el T-score en el cuello femoral o en el total de la cadera.

Tampoco se encontraron diferencias significativas en el valor del BMSi entre ambos grupos en el análisis univariante [81,02 (RIQ = 0,819) vs 82,68 (RIQ = 1,3); $P = 0,269$]. Sin embargo, después de ajustar por la edad, sexo, IMC y [25(OH)D], el valor medio de BMSi fue inferior en el grupo TDF-FTC comparado con el grupo ABC-3TC [Coeficiente β -3.594 (intervalo de confianza 95%: -0.12 a -7,61); $P = 0,043$]. Se encontró una fuerte correlación positiva entre el valor del BMSi con los de [25(OH)D] ($r = 0,257$, $P = 0,04$), pero no así con la DMO, la cual tampoco se correlacionó con los valores de los marcadores de remodelado óseo. o el TBS.

Además, no hubo diferencias significativas en el TBS entre los dos grupos, incluso después de ajustar por la edad y el IMC [1,254 (RIQ = 0,015) en el grupo TDF-FTC vs a 1,221 (RIQ = 0,026) en el grupo ABC-3TC; $P = 0,14$]. Estos valores del TBS tampoco se correlacionaron con los valores de [25(OH)D] ni con los marcadores de remodelado óseo.

Los resultados obtenidos en este estudio se encuentran representados en la siguiente tabla:

	TDF-FTC	ABC-3TC	P
DMO			
Cuello femoral DMO (gr/cm ²)	0,718 (0,2)	0,718 (0,2)	0,248
Cuello femoral T-score	-1,5 (0,85)	-1,28 (0,88)	0,340
Columna lumbar DMO (gr/cm ²)	0,926 (0,2)	1,015 (0,2)	0,04
Columna lumbar T-score	-1,46 (1,3)	-0,7 (1,36)	0,029
Cadera total DMO (gr/cm ²)	0,886 (0,301)	0,884 (0,150)	0,373
Cadera total T-score	-1,05 (1,03)	-0,72 (0,95)	0,207
Microindentación (BMSi)	81,02 (0,819)	82,68 (1,3)	0,269
TBS (adimensional)	1,254 (0,015)	1,221 (0,026)	0,368
Remodelado óseo			
P1NP (ng/ml)	54,3 (36,5)	38,1 (18,5)	0,017
CTX (ng/ml)	0,432 (0,303)	0,310 (0,12)	0,051
FAO (µg/ml)	20,96 (10,28)	17,46 (16,02)	0,306
Metabolismo fosfocálcico			
PTHi (pg/ml)	60,74 (31,65)	49,04 (25,36)	0,131
[25(OH)D] (ng/ml)	29,08 (14,93)	25,6 (12,64)	0,339
Calcio (mg/dl)	9,4 (0,5)	9,6 (0,4)	0,062
Fósforo (mg/dl)	3,07 (0,51)	2,95 (0,46)	0,363
Creatinina (mg/dl)	0,88 (0,3)	0,96 (0,26)	0,426
Inflamación			
PCRas (mg/dl)	0,48 (1,14)	0,62 (0,97)	0,610
LDH (UI/l)	313,11 (47,1)	311,96 (49,04)	0,925
VSG (mm/h)	5,32 (4,7)	7,48 (5,97)	0,126
Dímero-D (ng/ml)	275,29 (236,04)	254,17 (162)	0,710
Fibrinógeno (mg/dl)	300,48 (64,44)	276,92 (61,73)	0,165
B-2-microglobulina (mg/L)	1,87 (0,36)	1,9 (0,37)	0,769

*Los resultados están expresados en mediana (RIQ), a menos que se indique otra unidad

5.2.3 Discusión

Este segundo estudio analiza las diferencias en los diferentes parámetros que determinan la salud ósea a largo plazo en pacientes infectados por el VIH y tratados con los dos tipos de TAR más frecuentemente utilizados. En general, los resultados muestran un mayor deterioro óseo en los pacientes tratados con TDF-FTC que en los

tratados con ABC-3TC. En el grupo TDF-FTC, se observó no sólo mayor pérdida de DMO, sino también de las propiedades mecánicas del tejido óseo medidas por microindentación. Este efecto probablemente además se vea aumentado por el daño producido por la propia infección, como se observó en el primer trabajo de esta tesis doctoral. Se trata del primer estudio que evalúa la salud ósea en esta población de pacientes a diferentes niveles, densidad mineral ósea, microarquitectura y pruebas directas de resistencia mecánica ósea tras tratamiento antirretroviral a largo plazo, el cual se sabe por estudios anteriores que tiene un efecto perjudicial para el tejido óseo medido mediante los valores de la DMO. Este efecto se produce especialmente durante el primer año de tratamiento, estabilizándose aproximadamente a partir del segundo año (31,103,115-120). La persistencia de este efecto tóxico sobre el tejido óseo se ha atribuido a un estado persistente de inflamación pese a que el TAR controle la infección y mantenga la carga viral sérica indetectable (128). Es conocido además que el fármaco que mayor pérdida de DMO produce es TDF. A pesar de que el mecanismo subyacente a este efecto no está claro, se ha descrito que la disfunción tubular renal, con la consecuente alteración en el metabolismo de fosfatos y la fosfaturia anormal crónica podría explicar al menos en parte de esta pérdida de la DMO (135,137). Sin embargo, este estudio observó que aunque los pacientes tratados con TDF-FTC durante al menos 5 años presentaron una mayor tasa de remodelación ósea que aquellos que recibieron tratamiento con ABC-3TC, después de ajustar por covariables como el IMC, el sexo, la edad y la [25(OH)D], esta diferencia desapareció, por lo que el mecanismo fisiopatológico está aún por aclarar completamente.

En concordancia con estudios anteriores este trabajo mostró también un mayor deterioro óseo en pacientes VIH tratados con TDF-FTCD, aunque no se encontraron diferencias en cuanto a microarquitectura ósea medida mediante el TBS. A pesar de que la DMO no es un parámetro suficiente para evaluar por completo la capacidad de resistencia del hueso a la fractura, algunos estudios prospectivos han demostrado consistentemente que el TBS se correlaciona con el riesgo de fractura independientemente de los valores de la DMO (91). Pese a que tanto para calcular la DMO como el TBS se utilizan imágenes mediante DXA, se miden dos aspectos diferentes de la resistencia ósea a la fractura: mientras que con la primera se mide lo

que podría ser considerada como la "cantidad de mineral en el tejido", con el segundo estamos midiendo cómo el hueso trabecular está dispuesto en la columna vertebral. Es plausible que el grupo de pacientes que reciben TDF tengan una mayor pérdida de hueso a través de diferentes mecanismos, sin embargo la microarquitectura ósea podría permanecer más estable. Aunque no se encontraron diferencias en el TBS entre grupos, ambos presentaban valores considerados por debajo de lo normal, reflejando una vez más el efecto tóxico de la infección por el VIH y el TAR, independientemente del régimen (89).

La técnica de la microindentación podría proporcionar información adicional sobre el deterioro de la salud ósea, al hacer una medición directa de la resistencia mecánica del hueso. Aunque no se encontraron diferencias en el BMSi en el análisis univariante, después de ajustar por conocidos factores de riesgo en el análisis multivariante, el grupo tratado TDF-FTC mostró peores propiedades materiales óseas.

Las pequeñas diferencias observadas entre los dos grupos y la necesidad de dicho ajuste para encontrar estas diferencias lleva a la hipótesis de que otros factores relacionados con la infección por el VIH, como por ejemplo el tiempo de infección sin tratamiento podrían jugar un importante papel. Incluso después del uso de TDF a largo plazo, la incidencia de fracturas óseas no se ve aumentada de manera muy notable, ni en los trabajos publicados en la literatura ni en la práctica clínica habitual. Una gran serie observó que en los pacientes en tratamiento con TDF el riesgo relativo de fractura era del 1,06 (106), mientras que los resultados de la cohorte EuroSIDA mostraron que la incidencia de fractura ósea entre los pacientes expuestos a TDF en algún momento de su vida fue casi 2 veces mayor que en pacientes que nunca habían sido tratados con este fármaco, asociación que se mantenía en el análisis multivariante. Sin embargo, no hubo correlación entre el tiempo de exposición al fármaco y un mayor riesgo de fractura asociado (184). Este hecho sugiere que pueda haber un componente de predisposición a sufrir dichas fracturas dependiente del individuo. Así, la microindentación constituiría una información adicional a la proporcionada mediante DXA para identificar a los pacientes con mayor afectación ósea.

6. CONCLUSIONES

1. El VIH tiene un efecto deletéreo sobre el hueso por mecanismos independientes de la densidad mineral ósea.
2. Los pacientes infectados por el VIH tienen presentan peor calidad del tejido óseo medida por microindentación que los pacientes no infectados.
3. Tanto la propia infección por el VIH como el tratamiento antirretroviral actúan a diferentes niveles produciendo un efecto tóxico sobre el tejido óseo.
4. La infección por el VIH produce un deterioro en las propiedades mecánicas óseas que es independiente del tratamiento antirretroviral y de la cantidad mineral ósea.
5. La medición de la DMO proporciona información de uno de los componentes de la resistencia ósea y probablemente sea necesario complementarla con otras pruebas.
6. La infección por el VIH produce un estado inflamatorio medible mediante parámetros de laboratorio que podría intervenir la toxicidad ósea secundaria a la infección, de forma equiparable a otras enfermedades inflamatorias.
7. Los pacientes VIH tratados con el régimen TDF-FTC presentan a nivel general una mayor afectación ósea que aquellos tratados con ABC-3TC.
8. Los pacientes VIH tratados con TDF-FTC presentan una tasa de remodelado óseo más elevada que los tratados con ABC-3TC, que podría ser en parte responsable del mayor deterioro óseo observado
9. En el paciente VIH con tratamiento a largo plazo resulta difícil individualizar el efecto de la propia infección, el tratamiento y los factores de riesgo clásicos de la osteoporosis
10. La técnica de la microindentación aporta información sobre la resistencia ósea diferente a la medida por la DMO, es fácil de realizar en la práctica clínica habitual, y serviría para poder identificar con mayor precisión a los pacientes con mayor afectación ósea.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Origin and diversity of human retroviruses. Peeters M et al. *AIDS Rev.* 16(1):23-24 (2014).
2. HIV Sequence Compendium 2017. Foley B, Leitner T, Apetrei C, Hahn B, Mizrachi I, Mullins J, Rambaut A, Wolinsky S, and Korber B, Eds. Published by Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, NM, LA-UR 17-25240.
3. The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations. Nuno R. Faria et al. *Science* 346, 56 (2014).
4. Ganser-Pornillos BK, Yeager M, Sundquist WI. The structural biology of HIV assembly. *Curr Opin Struct Biol.* 2008 Apr;18(2):203-17.
5. HIV/ AIDS: Recent advances 2016. Disponible en: <https://www.slideshare.net/prashantshukla927/hiv-aids-recent-advances-2016>.
6. Jay A Levy, ed. *HIV and the Pathogenesis of AIDS* ASM Press. Washington DC 2007.
7. Hassan M. Naif. Pathogenesis of HIV infection. *Infect Dis Rep.* 2013 Jun 6; 5(Suppl 1): e6.
8. Morbidity and Mortality Weekly Report, June 5, 1981.
9. «HIV/AIDS Fact sheet ». WHO. November 2016.
10. Sabin CA, Lundgren JD. The natural history of HIV infection. *Curr Opin HIV AIDS.* 2013 Jul; 8(4): 311–317.
11. Hoenigl M, Braun DL, Kouyos R, Günthard HF, Little SJ. Evaluation of the Predictive Potential of the Short Acute Retroviral Syndrome Severity Score for HIV-1 Disease Progression in Individuals With Acute HIV Infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2017 Apr 1;74(4):e114-e117.
12. Vergis EN, Mellors JW. Natural history of HIV-1 infection. *Infect Dis Clin North Am.* 2000 Dec;14(4):809-25, v-vi.
13. Longini IM Jr, Clark WS, Gardner LI, Brundage JF. The dynamics of CD4+ Tlymphocyte decline in HIV-infected individuals: a Markov modeling approach *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1991;4(11):1141-7.
14. Hunt PW, Sinclair E, Rodriguez B, Shive C, Clagett B, Funderburg N, et al. Gut epithelial barrier dysfunction and innate immune activation predict mortality in treated HIVinfection. *J Infect Dis.* 2014 Oct 15;210(8):1228-38.
15. Gaardbo J, Ronit A, Hartling H, et al. HIV-infected viremic long-term nonprogressors and controllers display different immunological mechanisms for preserved CD4 β cell counts. Abstract P166, Eleventh International Congress on Drug Therapy in HIV infection, Glasgow, 11–15 November, 2012.
16. Overall features of HIV pathogenesis: Prognosis for long-term survival in HIV and the pathogenesis of AIDS. Jay A Levy, ed. ASM Press. Washington DC 2007. pp:317-361.
17. Scully E, Alter G. NK Cells in HIV Disease. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2016; 13: 85–94.
18. Lundgren J. European AIDS Clinical Society Guidelines: Prevention and management of non-infectious co-morbidities in HIV.

19. Güerri-Fernández R, Villar-García J, Díez-Pérez A, Prieto-Alhambra D. HIV infection, bone metabolism, and fractures. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014 Jul;58(5):478-83.
20. Gatell JM, Clotet B, Podzamczek D, Miró JM, Mallolas J. *Guía práctica del SIDA. Clínica, diagnóstico y tratamiento.* 2017.
21. Swenson LC, Cobb B, Geretti AM, Harrigan PR, Pljak M, Seguin-Devaux C, et al. International Viral Load Assay Collaboration. Comparative performance of HIV-1 RNA load assays at low viral load levels: results of an international collaboration. *J Clin Microbiol.* 2014 Feb;52(2):517-23.
22. CDC HIV/AIDS Guidelines and Recommendations. 2014
23. Documento de consenso de GeSIDA/Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (Actualización enero 2017).
24. Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, Gamble T, Hosseinipour MC, Kumarasamy N, et al. Antiretroviral Therapy for the Prevention of HIV-1 Transmission. *N Engl J Med.* 2016;375(9):830-9.
25. Lundgren JD, Babiker AG, Gordin F, Emery S, Grund B, Sharma S, et al. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *N Engl J Med.* 2015;373(9):795-807.
26. Temprano ANRS Study Group, Danel C, Moh R, Gabillard D, Badje A, Le Carrou J, et al. A Trial of Early Antiretrovirals and Isoniazid Preventive Therapy in Africa. *N Engl J Med.* 2015;373(9):808-22.
27. Daar ES, Tierney C, Fischl MA, Sax PE, Mollan K, Budhathoki C, et al. Atazanavir Plus Ritonavir or Efavirenz as Part of a 3-Drug Regimen for Initial Treatment of HIV-1. *Ann Intern Med.* 2011;154(7):445-56.
28. Lennox JL, Landovitz RJ, Ribaud HJ, Ofotokun I, Na LH, Godfrey C, et al. Efficacy and tolerability of 3 nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-sparing antiretroviral regimens for treatment-naïve volunteers infected with HIV-1: A randomized, controlled equivalence trial. *Ann Intern Med.* 2014;161(7):461-71.
29. Clotet B, Feinberg J, van Lunzen J, Khuong-Josses MA, Antinori A, Dumitru I, et al. Once-daily dolutegravir versus darunavir plus ritonavir in antiretroviral-naïve adults with HIV-1 infection (FLAMINGO): 48 week results from the randomised open-label phase 3b study. *Lancet.* 2014;383(9936):2222-31.
30. Cohen MS, Shaw GM, McMichael AJ, Haynes BF. Acute HIV-1 Infection. *N Engl J Med.* 2011;364(20):1943-54.
31. Ambrosioni J, Nicolas D, Sued O, Aguero F, Manzardo C, Miro JM. Update on antiretroviral treatment during primary HIV infection. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2014;12(7):793-807.
32. Krastinova E, Seng R, Lechenadec J, Panjo H, Essat A, Makhoulfi D, et al. Does transient cART started during primary HIV infection undermine the long-term immunologic and virologic response on cART resumption? *BMC infectious diseases.* 2015;15:178.
33. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy. *JAMA* 2001; 285:785-95.
34. Sipos W, Pietschmann P, Rauner M, Kersch-Schindl K, Patsch J. Pathophysiology of osteoporosis. *Wien Med Wochenschr.* 2009 May;159(9-10):230-4.

35. Albright F, Reifenshtein EC. The parathyroid glands and metabolic bone disease; selected studies. Baltimore, Williams & Wilkins 1948.
36. Czarnetzki A, Jakob T, Pusch CM. Paleopathological and variant conditions of the Homo Heidelbergensis type specimen (Mauer, Germany). *J Hum Evol.* 2003 Apr;44(4):479-95.
37. Melton LJ 3rd. How many women have osteoporosis now? *J Bone Miner Res* 1995;10:175-7.
38. Rosen CJ. Postmenopausal osteoporosis. *N Eng J Med* 2005;353:595-603.
39. Looker AC, Orwoll ES, Johnston CC Jr, Lindsay RL, Wahner HW, Dunn WL, et al. Prevalence of low femoral bone density in older U.S. adults from NHANES III. *J Bone Miner Res* 1997;12:1761-8.
40. Díaz Curiel M, García JJ, Carrasco JL, Honorato J, Pérez Cano R, Rapado A, et al. Prevalencia de osteoporosis determinada por densitometría en la población femenina española. *Med Clin (Barc)* 2001;116:86-8.
41. Naves M, Díaz-López JB, Gómez C, Rodríguez-Rebollar A, Serrano-Arias M, Cannata-Andía JB. Prevalence of osteoporosis in men and determinants of changes in bone mass in a non-selected Spanish population. *Osteoporos Int* 2005;16:603-9.
42. Diaz Curiel M, Carrasco de la Peña JL, Honorato Perez J, Perez Cano R, Rapado A, Ruiz Martinez I. Study of bone mineral density in lumbar spine and femoral neck in a Spanish population. Multicentre Research Project on Osteoporosis. *Osteoporos Int* 1997;7:59-64.
43. Fitzpatrick LA. Secondary Causes of Osteoporosis. *Mayo Clin Proc* 2002; 77:453-68.
44. Drake MT, Clarke BL, Lewiecki EM. The Pathophysiology and Treatment of Osteoporosis. *Clin Ther.* 2015 Aug;37(8):1837-50.
45. Cristina Carbonell Abella, Juan Antonio Martín Jiménez, Carmen Valdés y Llorca. Guía de buena práctica clínica en osteoporosis. 2ª Edición actualizada. Ministerio de Sanidad y Consumo. 2008.
46. Titanji, K. *et al.* Dysregulated B cell expression of RANKL and OPG correlates with loss of bone mineral density in HIV infection. *PLoS Pathog.* 2014 Nov 13;10(10):e1004497.
47. Buring, K. On the origin of cells in heterotopic bone formation. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 110, 293–301 (1975).
48. Simonet, W. S. *et al.* Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89, 309–319 (1997).
49. Khosla, S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 142, 5050–5055 (2001).
50. Nakashima, T. *et al.* Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat. Med.* 17, 1231–1234 (2011).
51. Surh, C. D. & Sprent, J. Homeostasis of naive and memory T cells. *Immunity* 29, 848–862 (2008).
52. Pineda, B., Laporta, P., Hermenegildo, C., Cano, A. & Garcia-Perez, M. A. A C>T polymorphism located at position -1 of the Kozak sequence of CD40 gene is associated with low bone mass in Spanish postmenopausal women. *Osteoporos. Int.* 19, 1147–1152 (2007).

53. Bozec, A. *et al.* T cell costimulation molecules CD80/86 inhibit osteoclast differentiation by inducing the IDO/tryptophan pathway. *Sci. Transl Med.* 6, 235ra260 (2014).
54. Roser-Page, S., Vikulina, T., Zayzafoon, M. & Weitzmann, M. N. CTLA-4Ig-induced T cell anergy promotes Wnt-10b production and bone formation in a mouse model. *Arthritis Rheumatol.* 66, 990–999 (2014).
55. Sayegh, M. H. Finally, CTLA4Ig graduates to the clinic. *J. Clin. Invest.* 103, 1223–1225 (1999).
56. Pacifici, R. Role of T cells in the modulation of PTH action: physiological and clinical significance. *Endocrine* 44, 576–582 (2013).
57. McClung, M. R. *et al.* Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N. Engl. J. Med.* 370, 412–420 (2014).
58. Cristina Carbonell Abella, Juan Antonio Martín Jiménez, Carmen Valdés y Llorca. Guía de buena práctica clínica en osteoporosis. 2ª Edición actualizada. Ministerio de Sanidad y Consumo.
59. Rossini M, Adami S, Bertoldo F, Diacinti D, Gatti D, Giannini S, et al. Guidelines for the diagnosis, prevention and management of osteoporosis. *Reumatismo.* 2016 Jun 23;68(1):1-39.
60. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA.* 2001;285:785–795.
61. Malgo F, Hamdy NAT, Papapoulos SE, et al. Bone material strength as measured by microindentation in vivo is decreased in patients with fragility fractures independently of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100:2039–2045.
62. Farr JN, Drake MT, Amin S, et al. In vivo assessment of bone quality in postmenopausal women with type 2 diabetes. *J Bone Miner Res.* 2014; 29:787–795.
63. Güerri-Fernández RC, Nogués X, Quesada Gómez JM, et al. Microindentation for in vivo measurement of bone tissue material properties in atypical femoral fracture patients and controls. *J Bone Miner Res.* 2013;28:162–168.
64. Genant HK, Wu CY, van Kuijk C et-al. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J. Bone Miner. Res.* 1993;8 (9): 1137-48.
65. Siris ES, Baim S, Nattiv A. Primary care use of FRAX: absolute fracture risk assessment in postmenopausal women and older men. *Postgrad Med.* 2010 Jan;122(1):82-90.
66. Azagra R, Roca G, Encabo G, Aguyé A, Zwart M, Güell S, et al. FRAX tool, the WHO algorithm to predict osteoporotic fractures: the first analysis of its discriminative and predictive ability in the Spanish FRIDEX cohort. *BMC musculoskelet Disord.* 2012;13:204.
67. McComsey GA, Tebas P, Shane E, Yin MT, Overton ET, Huang JS, et al. Bone disease in HIV infection: a practical review and recommendations for HIV care providers. *Clin Infect Dis.* 2010;51(8):937-46.
68. Gazzola L, Comi L, Savoldi A, Tagliabue L, del Sole A, Pietrogrande L, et al. Use of the FRAX equation as first-line screening of bone metabolism alteration in the HIV-infected population. *J infect Dis.* 2010;202:330-1.

69. Lee J, Vasikaran S. Current Recommendations for Laboratory Testing and Use of Bone Turnover Markers in Management of Osteoporosis. *Ann Lab Med.* 2012 Mar; 32(2): 105–112.
70. Wheeler G, Elshahaly M, Tuck SP, Datta HK, van Laar JM. The clinical utility of bone marker measurements in osteoporosis. *Journal of Translational Medicine.* 2013;11:201. doi:10.1186/1479-5876-11-201.
71. Kopperdahl DL, Aspelund T, Hoffmann PF, Sigurdsson S, Siggeirsdottir K, Harris TB, et al. Assessment of incident spine and hip fractures in women and men using finite element analysis of CT scans, *J. Bone Miner. Res.* 29(2014) 570–580.
72. Chavassieux P, Seeman E, Delmas PD. Insights into Material and Structural Basis of Bone Fragility from Diseases Associated with Fractures: How Determinants of the Biomechanical Properties of Bone Are Compromised by Disease. *Endocrine Reviews.* 2007;28: 151–164.
73. Silva BC, Leslie WD, Resch H, et al. Trabecular bone score: a noninvasive analytical method based upon the DXA image. *J Bone Miner Res.* 2014;29:518–530.
74. Diez-Perez A, Güerri R, Nogues X, et al. Microindentation for In Vivo Measurement of Bone Tissue Mechanical Properties in Humans. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2010;25(8):1877-1885.
75. Allen MR, McNerny EM, Organ JM, Wallace JM. True Gold or Pyrite: A Review of Reference Point Indentation for Assessing Bone Mechanical Properties In Vivo. *J Bone Miner Res.* 2015 Sep;30(9):1539-50.
76. Bridges D, Randall C, Hansma PK. A new device for performing reference point indentation without a reference probe. *Rev Sci Instrum.* 2012;83(4):044301.
77. Diez-Perez A, Bouxsein ML, Eriksen EF, Khosla S, Nyman JS, Papapoulos S, et al. Technical note: Recommendations for a standard procedure to assess cortical bone at the tissue-level in vivo using impact microindentation. *Bone Rep.* 2016 Dec;5:181-185.
78. Farr JN, Drake MT, Amin S, Melton LJ, McCready LK, Khosla S. In vivo assessment of bone quality in postmenopausal women with type 2 diabetes., *J. Bone Miner. Res.* 29 (2014) 787–95.
79. Furst JR, Bandeira LC, Fan W, Agarwal S, Nishiyama KK, McMahon DJ, et al. Advanced Glycation Endproducts and Bone Material Strength in Type 2 Diabetes., *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 101 (2016) 2502–10.
80. Duarte-Sosa D, Vilaplana L, Güerri R, Nogués X, Wang-Fagerland W, Diez-Perez A, et al. Are the High hip fracture rates among Norwegian women explained by impaired bone material properties?, *J. Bone Miner. Res.* 30 (2015)1784–9.
81. Schuit SC, van der Klift M, Weel AE, de Laet CE, Burger H, Seeman E, et al. Fracture incidence and association with bone mineral density in elderly men and women: the Rotterdam Study. *Bone.* 2004 Jan;34(1):195-202.
82. Malgo F, Hamdy NA, Papapoulos SE, Appelman-Dijkstra NM. Bone material strength as measured by microindentation in vivo is decreased in patients with fragility fractures independently of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 May;100(5):2039-45.
83. Mellibovsky L, Prieto-Alhambra D, Mellibovsky F, Güerri-Fernández R, Nogués X, Randall C, et al.

- Bone tissue properties measurement by reference point Indentation in glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2015 Sep;30(9):1651-6.
84. Pérez-Sáez MJ, Herrera S, Prieto-Alhambra D, Nogués X, Vera M, Redondo-Pachón D, et al. Bone density, microarchitecture and tissue quality long-term after kidney transplant. *Transplantation.* (2016).
 85. Malgo F, Hamdy NAT, Pereira AM, Nienke A, Biermasz R, Appelman-Dijkstra NM. Assessment of Bone Material Strength Index By Reference Point Indentation in Patients with Acromegaly, *Endocr. Soc. 98th Annu. Meet. Expo, April 1–4, 2016 - Bost. (n.d.) Prolactin, GH&IGF Biology and Signaling (posters).*
 86. Herrera S, Pérez-López J, Moltó-Abad M, Güerri-Fernández R, Cabezudo E, Novelli S, Esteve J, Hernández A, Roig I, Solanich X, Prieto-Alhambra D, Nogués X, Díez-Pérez A. Assessment of Bone Health in Patients with Type 1 Gaucher Disease Using Impact Microindentation. *J Bone Miner Res.* 2017 Mar 6. doi: 10.1002/jbmr.3121.
 87. Graeff C, Marin F, Petto H, Kayser O, Reisinger A, Peña J, et al. High resolution quantitative computed tomography-based assessment of trabecular microstructure and strength estimates by finite-element analysis of the spine, but not DXA, reflects vertebral fracture status in men with glucocorticoid-induced osteoporosis. *Bone.* 52 (2013) 568–77.
 88. Nyman JS, Granke M, Singleton RC, Pharr GM. Tissue-Level Mechanical Properties of Bone Contributing to Fracture Risk. *Curr. Osteoporos. Rep.* 14 (2016)138–50.
 89. Winzenrieth R, Michelet F, Hans D. Three-dimensional (3D) microarchitecture correlations with 2D projection image gray-level variations assessed by trabecular bone score using high-resolution computed tomographic acquisitions: effects of resolution and noise. *J Clin Densitom.* 2013; 16:287–96.
 90. Simonelli C, Leib E, Mossman N, Winzenrieth R, Hans D, McClung M. Creation of an age-adjusted, dual-energy x-ray absorptiometry-derived trabecular bone score curve for the lumbar spine in non-Hispanic US White women. *J Clin Densitom.* 2014; 17:314–9.
 91. Hans D, Goertzen AL, Krieg MA, et al. Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study. *J Bone Miner Res.* 2011;26:2762–2769.
 92. Boutroy S, Hans D, Sornay-Rendu E, et al. Trabecular bone score improves fracture risk prediction in non-osteoporotic women: the OFELY study. *Osteoporos Int.* 2013;24:77–85.
 93. Ciullini L, Pennica A, Argento G, Novarini D, Teti E, Pugliese G, et al. Trabecular bone score (TBS) is associated with sub-clinical vertebral fractures in HIV-infected patients. *J Bone Miner Metab.* 2017 Feb 23.
 94. Mondy, K. & Tebas, P. Emerging bone problems in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin. Infect. Dis.* 36, S101–S105 (2003).
 95. Bonjoch, A. *et al.* High prevalence of and progression to low bone mineral density in HIV-infected patients: a longitudinal cohort study. *AIDS* 24, 2827–2833 (2010).

96. Warriner AH, Mugavero M, Overton ET. Bone alterations associated with HIV. *Curr HIV/AIDS Resp.* 2014 sep;11(3):233-40.
97. Negredo E, Domingo P, Gutiérrez F, et al. Executive summary of the consensus document on osteoporosis in HIV-infected individuals. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017 May 31. pii: S0213-005X(17)30130-1.
98. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3 Suppl 3:S131-9.
99. Tilg H, Moschen AR, Kaser A, Pines A, Dotan I. Gut, inflammation and osteoporosis: basic and clinical concepts. *Gut.* 2008 May;57(5):684-94.
100. Moir, S. *et al.* Evidence for HIV-associated B cell exhaustion in a dysfunctional memory B cell compartment in HIV-infected viremic individuals. *J. Exp. Med.* 205, 1797–1805 (2008).
101. Bonjoch, A. *et al.* High prevalence of and progression to low bone mineral density in HIV-infected patients: a longitudinal cohort study. *AIDS* 24, 2827–2833 (2010).
102. Sharma, A., Flom, P. L., Weedon, J. & Klein, R. S. Prospective study of bone mineral density changes in aging men with or at risk for HIV infection. *AIDS* 24, 2337–2345 (2010).
103. Brown, T. T. & Qaqish, R. B. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *AIDS* 20, 2165–2174 (2006).
104. Triant VA, Brown TT, Lee H, Grinspoon SK. Fracture prevalence among human immunodeficiency virus (HIV) infected versus non-HIV-infected patients in a large U.S. healthcare system. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Sep;93(9):3499-504.
105. Womack JA, Goulet JL, Gibert C, Brandt C, Chang CC, Gulanski B. Increased risk of fragility fractures among HIV infected compared to uninfected male veterans. *PLoS One.* 2011 Feb 16;6(2):e17217.
106. Bedimo R, Maalouf NM, Zhang S, Drechsler H, Tebas P. Osteoporotic fracture risk associated with cumulative exposure to tenofovir and other antiretroviral agents. *AIDS.* 2012;26(7):825-31.
107. Güerri-Fernández R, Vestergaard P, Carbonell C, Knobel H, Avilés FF, Castro AS, et al. HIV infection is strongly associated with hip fracture risk, independently of age, gender, and comorbidities: a population-based cohort study. *J Bone Miner Res.* 2013;28(6):1259-63.
108. Ofotokun, I. & Weitzmann, M. N. HIV-1 infection and antiretroviral therapies: risk factors for osteoporosis and bone fracture. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 17, 523–529 (2010).
109. Knobel, H., Guelar, A., Vallecillo, G., Nogues, X. & Diez, A. Osteopenia in HIV-infected patients: is it the disease or is it the treatment? *AIDS* 15, 807–808 (2001).
110. Lafferty, M. K. *et al.* Elevated suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS-1): a mechanism for dysregulated osteoclastogenesis in HIV transgenic rats. *Pathog. Dis.* 71, 81–89 (2014).
111. Gibellini D, Borderi M, De Crignis E, Cicola R, Vescini F, Caudarella R, et al. RANKL/OPG/TRAIL plasma levels and bone mass loss evaluation in antiretroviral naive HIV-1-positive men. *J Med Virol.* 2007;79(10):1446-54.

112. Vikulina, T. *et al.* Alterations in the immuno–skeletal interface drive bone destruction in HIV-1 transgenic rats. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 107, 13848–13853 (2010).
113. Titanji, K. *et al.* Dysregulated B cell expression of RANKL and OPG correlates with loss of bone mineral density in HIV infection. *PLoS Pathog.* 10, e1004497 (2014).
114. Gallego-Escuredo JM, Lamarca MK, Villarroya J, *et al.* High FGF21 levels are associated with altered bone homeostasis in HIV-1-infected patients. *Metabolism.* 2017 Jun;71:163-170.
115. Thomas, J, Doherty, S. M. HIV infection a risk factor for osteoporosis. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 33, 281–291 (2003).
116. McComsey, G. A. *et al.* Bone disease in HIV infection: a practical review and recommendations for HIV care providers. *Clin. Infect. Dis.* 51, 937–946 (2010).
117. Yin, M. T. *et al.* Short-term bone loss in HIV-infected premenopausal women. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 53, 202–208 (2010).
118. Brown TT, McComsey GA, King MS, Qaqish RB, Bernstein BM, da Silva BA. Loss of bone mineral density after antiretroviral therapy initiation, independent of antiretroviral regimen. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;51(5):554-61.
119. Cazanave C, Dupon M, Lavignolle-Aurillac V, Barthe N, Lawson-Ayayi S, Mehsen N, *et al.* Reduced bone mineral density in HIV-infected patients: prevalence and associated factors. *AIDS.* 2008;22(3):395-402.
120. Grund B, Peng G, Gibert CL, Hoy JF, Isaksson RL, Shlay JC, *et al.* Continuous antiretroviral therapy decreases bone mineral density. *AIDS.* 2009;23(12):1519-29.
121. Bolland, M. J. *et al.* Stable bone mineral density over 6 years in HIV-infected men treated with highly active antiretroviral therapy (HAART). *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 76, 643–648 (2012).
122. Gibellini, D. *et al.* Analysis of the effects of specific protease inhibitors on OPG/RANKL regulation in an osteoblast-like cell line. *New Microbiol.* 33, 109–115 (2010).
123. Grigsby, I. F., Pham, L., Gopalakrishnan, R., Mansky, L. M. & Mansky, K. C. Downregulation of Gnas, Got2 and Snord32a following tenofovir exposure of primary osteoclasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 391, 1324–1329 (2010).
124. Deeks, S. G., Tracy, R. & Douek, D. C. Systemic effects of inflammation on health during chronic HIV infection. *Immunity* 39, 633–645 (2013).
125. Anderson, D. M. *et al.* A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 390, 175–179 (1997).
126. Fuller, K., Murphy, C., Kirstein, B., Fox, S. W. & Chambers, T. J. TNF α potentially activates osteoclasts, through a direct action independent of and strongly synergistic with RANKL. *Endocrinology* 143, 1108–1118 (2002).
127. Ofotokun, I. *et al.* Antiretroviral therapy induces a rapid increase in bone resorption that is positively associated with the magnitude of immune reconstitution in HIV infection. *AIDS* 30, 405–414 (2016).
128. Brown, T. T., Ross, A. C., Storer, N., Labbato, D. & McComsey, G. A. Bone turnover, osteoprotegerin/RANKL and inflammation with antiretroviral

- initiation: tenofovir versus non-tenofovir regimens. *Antivir. Ther.* 16, 1063–1072 (2011).
129. Ofotokun, I. *et al.* A single dose zoledronic acid infusion prevents antiretroviral therapy-induced bone loss in treatment-naïve HIV-infected patients: a phase IIb trial. *Clin. Infect. Dis.* <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciw331> (2016).
 130. McComsey GA, Kitch D, Daar ES, Tierney C, Jahed NC, Tebas P *et al.* Bone mineral density and fractures in antiretroviral-naïve persons randomized to receive abacavir-lamivudine or tenofovir disoproxil fumarate-emtricitabine along with efavirenz or atazanavir-ritonavir: Aids Clinical Trials Group A5224s, a substudy of ACTG A5202. *J Infect Dis.* 2011 Jun 15;203(12):1791-801.
 131. Brown TT, Moser C, Currier JS, *et al.* Changes in bone mineral density after initiation of antiretroviral treatment with tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine plus atazanavir/ritonavir, darunavir/ritonavir, or raltegravir. *J Infect Dis* 2015;212:1241–9.
 132. Borges AH, Hoy JFE. Antiretrovirals, Fractures, and Osteonecrosis in a Large European HIV Cohort. In: Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI), Boston, MA, February 22–25, 2016. 2016. Abstract 46.
 133. Weitzmann MN, Ofotokun I. Physiological and pathophysiological bone turnover - role of the immune system. *Nat Rev Endocrinol.* 2016 Sep;12(9):518-32.
 134. Soriano V. Update of the DHHS antiretroviral treatment guidelines. *AIDS Rev.* 2014;16:117-8.
 135. Koenig KF, Kalbermatter S, Menter T, Graber P, Kiss D. Recurrent bone fractures due to tenofovir-induced renal phosphate wasting. *Scans J Infect Dis.* 2014 Mar;46(3):221-4.
 136. Quesada PR, Esteban LL, García JR, Sánchez RV, García TM, Alonso-Vega GG. Incidence and risk factors for tenofovir-associated renal toxicity in HIV-infected patients. *Int J Clin Pharm.* 2015 Oct;37(5):865-72.
 137. Ramamoorthy H, Abraham P, Isaac B. Mitochondrial dysfunction and electron transport chain complex defect in a rat model of tenofovir disoproxil fumarate nephrotoxicity. *J Biochem Mol Toxicol.* 2014;28:246-55.
 138. Vrouenraets SM, Fux CA, Wit FW, *et al.* Persistent decline in estimated but not measured glomerular filtration rate on tenofovir may reflect tubular rather than glomerular toxicity. *AIDS.* 2011 Nov 13;25(17):2149-55.
 139. Rokx C, Alshangi H, Verbon A, Zietse R, Hoorn EJ, Rijnders BJ. Renal Toxicity of Concomitant Exposure to Tenofovir and Inhibitors of Tenofovir's Renal Efflux Transporters in Patients Infected With HIV Type 1. *J Infect Dis.* 2016 Feb 15;213(4):561-8.
 140. Calcagno A, Cusato J, Marinaro L, *et al.* Tenofovir clearance is reduced in HIV-positive patients with subclinical tubular impairment. *AIDS.* 2016 Mar 27;30(6):915-20.
 141. Bickel M, Khaykin P, Stephan C, *et al.* Acute kidney injury caused by tenofovir disoproxil fumarate and diclofenac co-administration. *HIV Med.* 2013 Nov;14(10):633-8.

142. Mugwanya KK, Wyatt C, Celum C, et al. Changes in glomerular kidney function among HIV-1-uninfected men and women receiving emtricitabine-tenofovir disoproxil fumarate preexposure prophylaxis: a randomized clinical trial. *JAMA Intern Med.* 2015 Feb;175(2):246-54.
143. Dauchy FA, Lawson-Ayayi S, de La Faille R, Bonnet F, Rigotherier C, Mehsen N, et al. Increased risk of abnormal proximal renal tubular function with HIV infection and antiretroviral therapy. *Kidney Int.* 2011 Aug;80(3):302-9.
144. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015 Jul 7;10(7):1257-72.
145. Casado JL, Del Rey JM, Bañón S, et al. Changes in Kidney Function and in the Rate of Tubular Dysfunction After Tenofovir Withdrawal or Continuation in HIV-Infected Patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016 Aug 1;72(4):416-22.
146. Brown TT. HIV: an underrecognized secondary cause of osteoporosis? *J Bone Miner Res.* 2013 Jun;28(6):1256-8.
147. Tebas P, Kumar P, Hicks C, Granier C, Wynne B, Min S, et al. Greater change in bone turnover markers for efavirenz/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate versus dolutegravir + abacavir/lamivudine in antiretroviral therapy-naïve adults over 144 weeks. *AIDS.* 2015 Nov 28;29(18):2459-64.
148. Glidden DV, Mulligan K, McMahan V, et al. Recovery of Bone Mineral Density Following Discontinuation of Tenofovir-Based HIV Pre-Exposure Prophylaxis. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2017 Jun 19.
149. Hautmann AH, Schroeder J, Wild P, Hautmann MG, Huber E, Hoffstetter P, et al. Tumor-Induced Osteomalacia: increased Level of FGF-23 in a Patient with a Phosphaturic Mesenchymal Tumor at the Tibia Expressing Periostin. *Case Rep Endocrinol.* 2014;2014:729387.
150. Mateo L, Holgado S, Mariñoso ML, Pérez-Andrés R, Bonjoch A, Romeu J. Hypophosphatemic osteomalacia induced by tenofovir in HIV-infected patients. *Clin Rheumatol.* 2016 May;35(5):1271-9.
151. Bagnis CI, Karie S, Deray G, Essig M. Hypophosphataemia: an easy strategy for diagnosis and treatment in HIV patients. *Antivir Ther.* 2009;14(4):481-8.
152. Masiá M¹, Padilla S, Robledano C, López N, Ramos JM, Gutiérrez F. Early changes in parathyroid hormone concentrations in HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy with tenofovir. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2012 Mar;28(3):242-6.
153. Casado JL, Del Rey JM, Bañón S, et al. Changes in Kidney Function and in the Rate of Tubular Dysfunction After Tenofovir Withdrawal or Continuation in HIV-Infected Patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016 Aug 1;72(4):416-22.
154. Haskelberg H, Hoy JF, Amin J, Ebeling PR, Emery S, Carr A, STEAL Study Group. Changes in bone turnover and bone loss in HIV-infected patients changing treatment to tenofovir-emtricitabine or abacavir-lamivudine. *PLoS One.* 2012;7(6).
155. Childs KE, Fishman SL, Constable C, Gutierrez JA, Wyatt CM, Dieterich DT, et al. Short communication: Inadequate vitamin D exacerbates parathyroid hormone elevations in tenofovir users. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2010 Aug;26(8):855-9.

156. Overton ET, Chan ES, Brown TT, Tebas P, McComsey GA, Melbourne KM, et al. Vitamin D and Calcium Attenuate Bone Loss With Antiretroviral Therapy Initiation: A Randomized Trial. *Ann Intern Med*. 2015 Jun 16;162(12):815-24.
157. Ruane PJ, DeJesus E, Berger D, et al. Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of tenofovir alafenamide as 10-day monotherapy in HIV-1-positive adults. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2013; 63:449–455.
158. Gilead Sciences I. European Commission Grants Marketing Authorization for Gilead’s Vemlidy® (Tenofovir Alafenamide, TAF) for the Treatment of Chronic Hepatitis B Virus Infection. 2017.
159. European Medicines Agency. European public assessment reports on tenofovir alafenamide. 2017.
160. Bolland MJ, Grey A, Reid IR. Skeletal health in adults with HIV infection. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015; 3:63–74.
161. Gotham D, Hill A, Pozniak AL. Candidates for inclusion in a universal antiretroviral regimen: tenofovir alafenamide. *Curr Opin HIV AIDS*. 2017 Jul;12(4):324-333.
162. Vitoria M, Hill AM, Ford NP, et al. Choice of antiretroviral drugs for continued treatment scale-up in a public health approach: What more do we need to know? *J Int AIDS Soc* 2016; 19:20504.
163. Zack J, Doyle E, Graham H, et al. Bioequivalence of a fixed-dose combination of rilpivirine/emtricitabine/tenofovir alafenamide to elvitegravir/cobicistat/emtricitabine/tenofovir alafenamide and rilpivirine. *Bioequivalence & Bioavailability* 2015.
164. Moran CA, Weitzmann MN, Ofotokun I. The Protease Inhibitors and HIV Associated Bone Loss. *Curr Opin HIV AIDS*. 2016 May;11(3):333-42
165. Kinai E, Nishijima T, Mizushima D, et al. Long-term use of protease inhibitors is associated with bone mineral density loss. *AIDS research and human retroviruses*. 2014; 30(6):553–9.
166. Brown TT, Moser C, Currier JS, et al. Changes in Bone Mineral Density After Initiation of Antiretroviral Treatment With Tenofovir Disoproxil Fumarate/Emtricitabine Plus Atazanavir/Ritonavir, Darunavir/Ritonavir, or Raltegravir. *The Journal of infectious diseases*. 2015; 212(8):1241–9
167. Moyle GJ, Hardy H, Farajallah A, et al. Changes in bone mineral density after 96 weeks of treatment with atazanavir/ritonavir or lopinavir/ritonavir plus tenofovir DF/emtricitabine in treatment-naïve patients with HIV-1 infection: the CASTLE body composition substudy. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. 2015; 68(1):40–5
168. Baxi SM, Greenblatt RM, Bacchetti P, et al. Common clinical conditions - age, low BMI, ritonavir use, mild renal impairment - affect tenofovir pharmacokinetics in a large cohort of HIV-infected women. *AIDS (London, England)*. 2014; 28(1):59–66
169. Gutierrez F, Fulladosa X, Barril G, et al. Renal tubular transporter-mediated interactions of HIV drugs: implications for patient management. *AIDS reviews*

170. Gibellini D, Borderi M, de Crignis E, et al. Analysis of the effects of specific protease inhibitors on OPG/RANKL regulation in an osteoblast-like cell line. *The new microbiologica*. 2010; 33(2):109–15.
171. Fakruddin JM, Laurence J. HIV envelope gp120-mediated regulation of osteoclastogenesis via receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) secretion and its modulation by certain HIV protease inhibitors through interferon-gamma/RANKL cross-talk. *The Journal of biological chemistry*. 2003; 278(48):48251–8
172. Wang MWH, Shi W, Faccio R, et al. The HIV protease inhibitor ritonavir blocks osteoclastogenesis and function by impairing RANKL-induced signaling. *Journal of Clinical Investigation*. 2004; 114(2):206–13.
173. Santiago F, Oguma J, Brown AM, et al. Noncanonical Wnt signaling promotes osteoclast differentiation and is facilitated by the human immunodeficiency virus protease inhibitor ritonavir. *Biochemical and biophysical research communications*. 2012; 417(1):223–30.
174. Malizia AP, Cotter E, Chew N, et al. HIV protease inhibitors selectively induce gene expression alterations associated with reduced calcium deposition in primary human osteoblasts. *AIDS research and human retroviruses*. 2007; 23(2):243–50.
175. Hernandez-Vallejo SJ, Beaupere C, Larghero J, et al. HIV protease inhibitors induce senescence and alter osteoblastic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells: beneficial effect of pravastatin. *Aging cell*. 2013; 12(6):955–65.
176. Kinai E, Gatanaga H, Mizushima D, Nishijima T, Aoki T, Genka I, et al. Protease inhibitor-associated bone mineral density loss is related to hypothyroidism and related bone turnover acceleration. *J Infect Chemother*. 2017 May;23(5):259-264.
177. Reid IR, Bolland MJ, Grey A. Effects of vitamin D supplements on bone mineral density: a systematic review and meta-analysis. *Lancet (London, England)*. 2014; 383(9912):146–55.
178. Overton ET, Chan ES, Brown TT, et al. Vitamin D and Calcium Attenuate Bone Loss With Antiretroviral Therapy Initiation: A Randomized Trial. *Annals of internal medicine*. 2015; 162(12):815–24.
179. Cozzolino M, Vidal M, Arcidiacono MV, et al. HIV-protease inhibitors impair vitamin D bioactivation to 1,25-dihydroxyvitamin D. *AIDS (London, England)*. 2003; 17(4):513–20.
180. Koga I, Seo K, Yoshino Y, et al. Increase of 25-hydroxyvitamin D levels after initiation of combination antiretroviral therapy. *Journal of infection and chemotherapy: official journal of the Japan Society of Chemotherapy*. 2015; 21(10):737–41.
181. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2001;344:907–916.
182. Hoes JN, Bultink IEM, Lems WF. Management of osteoporosis in rheumatoid arthritis patients. *Expert Opin Pharmacother*. 2015;16:559–571.
183. Cummings SR, Bates D, Black DM. Clinical use of bone densitometry: scientific review. *JAMA*. 2002;288:1889–1897.

184. Borges AH, Hoy J, Florence E, Sedlacek D, Stellbrink HJ, Uzdaviniene V, et al. Antiretrovirals, Fractures, and Osteonecrosis in a Large International HIV Cohort. *Clin Infect Dis*. 2017 May 15;64(10):1413-1421.

8. ANEXO: PUBLICACIONES

Güerri-Fernández R, **Molina D**, Villar-García J, Prieto-Alhambra D, Mellibovsky L, Nogués X, González-Mena A, Guelar A, Trenchs-Rodríguez M, Herrera-Fernández S, Horcajada JP, Díez-Pérez A, Knobel H. HIV infection is associated with worse bone material properties, independently of bone mineral density. JAIDS-J Acquir Immune Defic Syndr. 2016 Jul 1;72(3):314-8. doi: 10.1097/QAI.0000000000000965.

Güerri-Fernández R, **Molina-Morant D**, Villar-García J, Herrera S, González-Mena A, Guelar A, Trenchs-Rodríguez M, Díez-Pérez A, Knobel H. Bone density, microarchitecture and tissue quality following long-term treatment with tenofovir/emtricitabine or abacavir/lamivudine. JAIDS-J Acquir Immune Defic Syndr. 2017 Jul 1;75(3):322-327. doi: 10.1097/QAI.0000000000001396.