



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

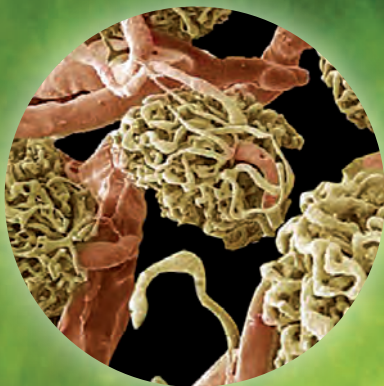
ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

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>

UAB

Universitat Autònoma
de Barcelona

TESIS DOCTORAL



Estudio de la prevalencia de enfermedad renal, marcadores urinarios asociados y su relación con alteraciones histológicas en pacientes con infección por VIH-1

Autor / Candidato a Doctor: Francisco Javier Juega Mariño

Directores: Dr. Ramón Romero González, Dr. Josep Bonet Sol (*Universitat Autònoma de Barcelona*)

Departament de Medicina
Universitat Autònoma de Barcelona
AÑO 2017



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE ENFERMEDAD RENAL,
MARCADORES URINARIOS ASOCIADOS Y SU RELACIÓN
CON ALTERACIONES HISTOLÓGICAS EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIH-1**

AUTOR / CANDIDATO A DOCTOR

Francisco Javier Juega Mariño

DIRECTORES

Dr Ramón Romero González (*Universitat Autònoma de Barcelona*)

Dr Josep Bonet Sol (*Universitat Autònoma de Barcelona*)

Programa de Doctorado de Medicina

Departamento de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

AÑO 2017

“La Mente que se abre a una nueva idea, jamás volverá a su tamaño original”

ALBERT EINSTEIN

“Los fracasos son también útiles, porque, bien analizados, pueden conducir al éxito”

ALEXANDER FLEMING

**“Quiero compartir con ustedes el secreto que me ha llevado a alcanzar todas mis metas:
mi fuerza reside únicamente en mi tenacidad”**

LOUIS PASTEUR

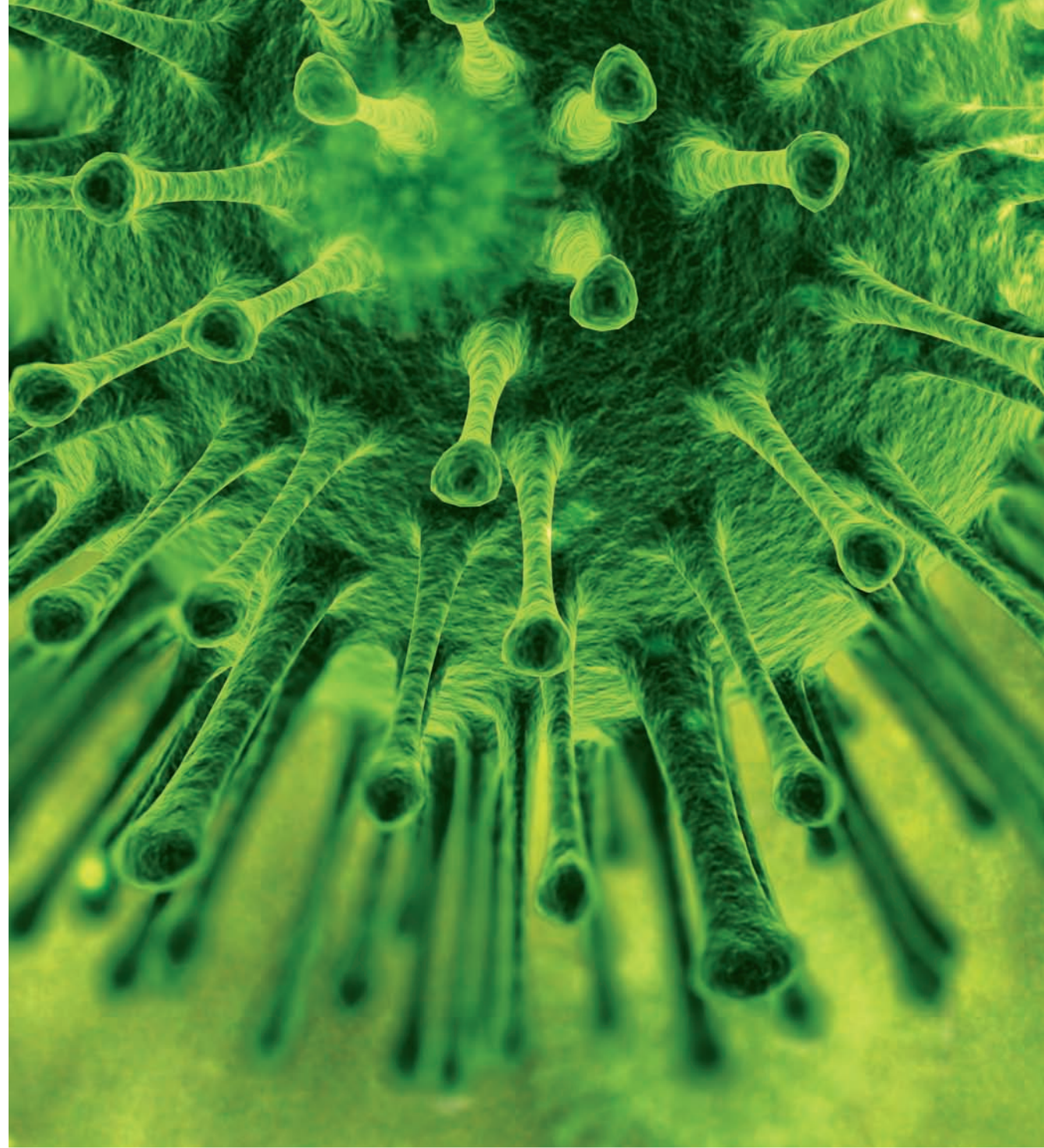
A Ana y Javier, mis padres, por dárme todo sin regalarme nada.

A Suso, por ser realmente un auténtico hermano.

A Ana, por conseguir que me esfuerce a diario en ser mejor persona para intentar merecerla.

Índice

1. Agradecimientos.....	11	6. Resumen y discusión de los estudios realizados.....	75
2. Listado de abreviaturas.....	15	7. Conclusiones finales.....	87
3. Introducción.....	19	8. Artículos originales aprobados por el departamento de medicina para la redacción de la tesis doctoral por compendio de artículos.....	91
3.1. Infección por el VIH y enfermedad renal.....	21	8.1. <i>High Prevalence of Signs of Renal Damage Despite Normal Renal Function in a Cohort of HIV-Infected Patients: Evaluation of Associated Factors.</i> AIDS Patient Care STDS. 2014 Oct;28(10):524-9. Bonjoch A, Juega J, Puig J. et al.....	93
3.2. Histología renal en pacientes con infección por VIH.....	26	8.2. <i>Evaluation of protease inhibitors containing tubes for ms-based plasma peptide profiling studies.</i> J Clin Lab Anal. 2014 Sep;28(5):364-7. Perez V, Juega-Marino J, Bonjoch A et al.....	94
3.3. Proteómica y VIH.....	29	9. Anexos.....	95
4. Hipótesis, objetivos, material y métodos.....	35	9.1. Anexo 1: Artículo original publicado y relacionado con el desarrollo de la tesis doctoral: <i>Impact of protease inhibitors on the evolution of urinary markers. Subanalyses from an observational cross-sectional study.</i> Medicine (Baltimore). 2016 Aug;95(32):e4507. Bonjoch A, Puig J, Perez-Alvarez N, Juega J et al.....	97
4.1. Hipótesis.....	37	9.2. Anexo 2: Encuesta sobre factores de riesgo de patología renal y estado nutricional en pacientes con infección por VIH.....	98
4.2. Objetivos.....	37	10. Bibliografía.....	105
4.3. Material y métodos.....	37		
5. Resultados de los estudios realizados en relación al desarrollo de la tesis doctoral.....	45		
5.1. Estudio de la prevalencia de Enfermedad renal en pacientes con infección por VIH de nuestro medio.....	47		
5.2. Estudio de la prevalencia de alteraciones urinarias como marcadores de enfermedad renal en pacientes con infección por VIH de nuestro medio.....	54		
5.3. Estudio del efecto del tratamiento antirretroviral sobre la función renal en pacientes con infección por VIH.....	59		
5.4. Estudio metodológico de la obtención de muestras y su procesamiento para realización de peptidoma en plasma de pacientes con infección por VIH.....	62		
5.5. Estudio de la relación entre enfermedad renal, hallazgos histológicos y patrón de peptidoma en plasma y orina de pacientes con infección por VIH.....	64		



1. Agradecimientos



1. Agradecimientos

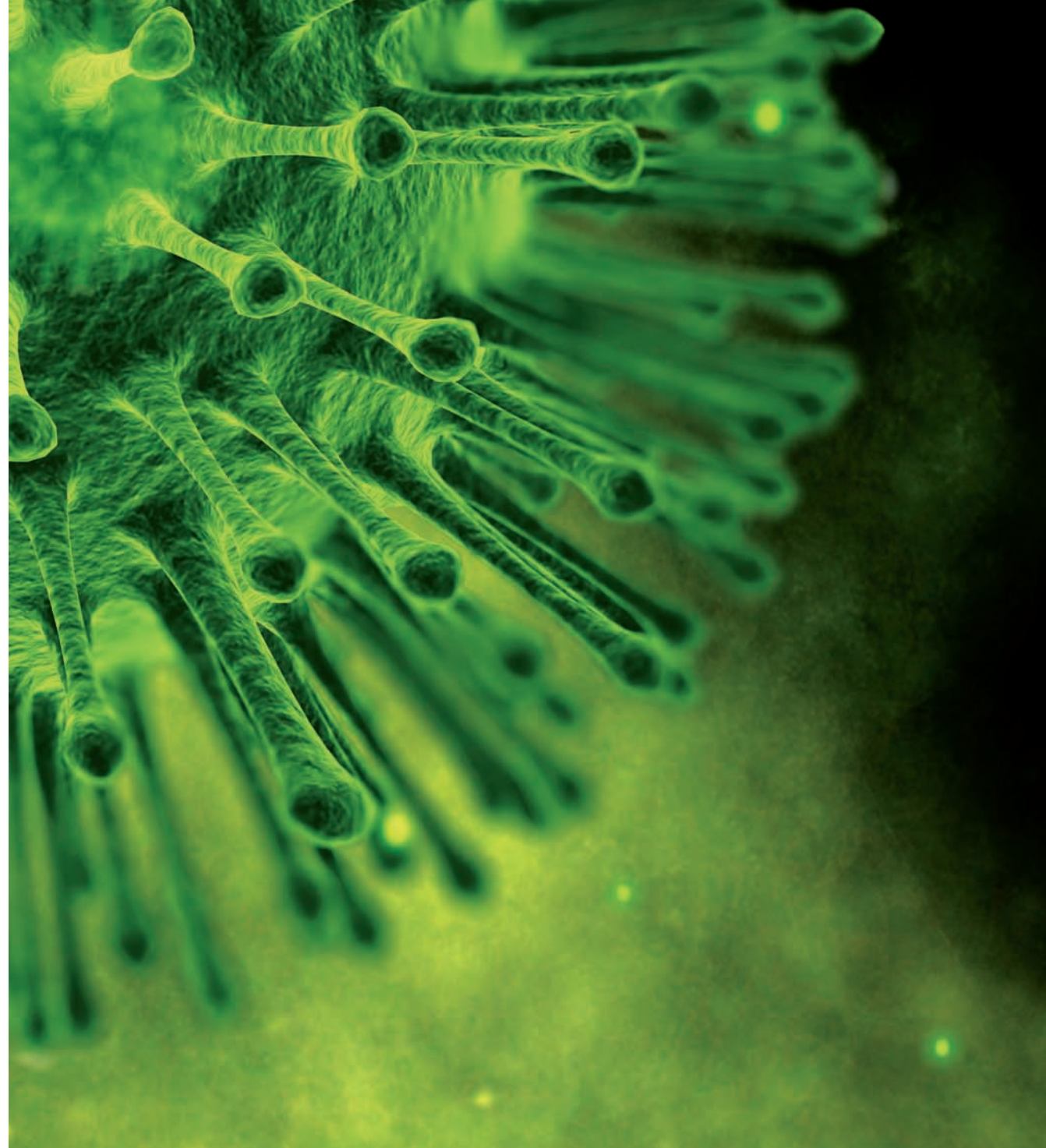
- A mis directores de tesis doctoral, los **Doctores Romero y Bonet** por haberme permitido realizar este trabajo a través de su inestimable guía, enseñanza, dedicación, y estímulo durante todo el desarrollo del mismo.
- A la **Dra. Beatriu Bayés** por haberme guiado en el inicio de este proyecto y abrirme las puertas al estimulante mundo de la investigación y el trabajo científico colaborativo.
- A las **Dras. Bonjoch y Negredo, Jordi Puig y el resto del equipo de la Fundació de Lluita contra la SIDA** por permitirme el honor de colaborar tan estrechamente con todos ellos en la redacción de esta tesis doctoral y los diferentes estudios relacionados con ella. Por mostrar siempre tan alto nivel científico y capacidad de trabajo pero con cercanía y disponibilidad, en un proceso altamente enriquecedor, productivo y de confianza mutua de valor incalculable para el desarrollo de esta tesis doctoral, que hubiese sido imposible sin su vital aportación.
- A **Nuria Pérez** por su maestría en la bioestadística y el ingente trabajo realizado manteniendo siempre la amabilidad, la paciencia y la eficiencia en las incontables solicitudes realizadas para la elaboración de este estudio.
- A **Vanessa Pérez** por su fundamental trabajo en el complejo aspecto de la peptidómica y su constante colaboración y esfuerzo en relación con el presente estudio.
- A la **Dra. Dolores López** por su asistencia en el terreno de la anatomía patológica renal, mostrando siempre su elevado nivel científico, capacidad de trabajo y colaboración desinteresada.
- A todos **mis compañeros del servicio de nefrología del hospital Germans Trias i Pujol** y especialmente a los **integrantes de la unidad de trasplante renal** por su paciencia, apoyo y colaboración constante durante la elaboración de esta tesis doctoral.
- A la **Sociedad Española de Nefrología (S.E.N.)**, por haber apoyado la elaboración de parte importante del trabajo científico que compone esta tesis a través de la concesión de la BECA S.E.N. "AYUDA A LA INVESTIGACIÓN EN NEFROLOGÍA" en el año 2010, proporcionando así un importante impulso y estímulo para la realización del presente estudio.

The image shows a microscopic view of green plant tissue, likely a cross-section of a stem or root, with various cellular structures visible. A semi-transparent white banner is overlaid at the bottom of the image, containing the section title.

2. Listado de abreviaturas

2. Listado de abreviaturas

- **A1AT:** Alfa-1-antitripsina
- **Alb/Cr:** Cociente urinario Albúmina/Creatinina
- **ALB:** Albúmina
- **ARV:** Tratamiento antirretroviral
- **BR:** Biopsia renal
- **CM:** Enfermedad por cambios mínimos
- **DLP:** Dislipemia
- **DM:** Diabetes Mellitus
- **ER:** Enfermedad renal
- **ERC:** Enfermedad renal crónica
- **EUA:** Excreción urinaria de albúmina
- **FGe:** Filtrado glomerular estimado
- **FRA:** Fracaso renal agudo
- **GESF:** GLomeruloesclerosis segmentaria y focal
- **GN IgA:** Glomerulonefritis por depósitos de Inmunoglobulina A
- **GNM:** GLomerulonefritis membranosa
- **GNMP:** glomerulonefritis membrano-proliferativa
- **H-E:** Tinción de hematoxilina-eosina
- **HTA:** Hipertensión arterial
- **ICVIH:** Nefropatía por depósito de inmunocomplejos en paciente con infección por VIH
- **IDV:** Indinavir
- **IP:** Inhibidores de proteasa
- **mALB:** microalbuminuria
- **NAVIH:** Nefropatía asociada al VIH
- **ND:** Nefropatía diabética
- **Pr/Cr:** Cociente urinario proteína/Creatinina
- **TAF:** Tenofovir Alafenamida
- **TARGA:** Terapia antirretroviral de gran amplitud
- **TDF:** Tenofovir
- **UMOD:** uromodulina
- **VIH:** Virus de la inmunodeficiencia humana



3. Introducción



3. Introducción

3.1. Infección por el VIH y enfermedad renal

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es la gran enfermedad infecciosa de nuestro tiempo. Según el informe de Naciones Unidas de 2015, se estima que a nivel mundial existen alrededor de 36,9 millones de personas que presentan infección por el VIH [1], constituyendo una de las principales causas de muerte a nivel global en los últimos 23 años[2].

Se detectan 2 millones de nuevos casos incidentes al año, el 70% de ellos en la región del África subsahariana[1]. (ver figura 1)

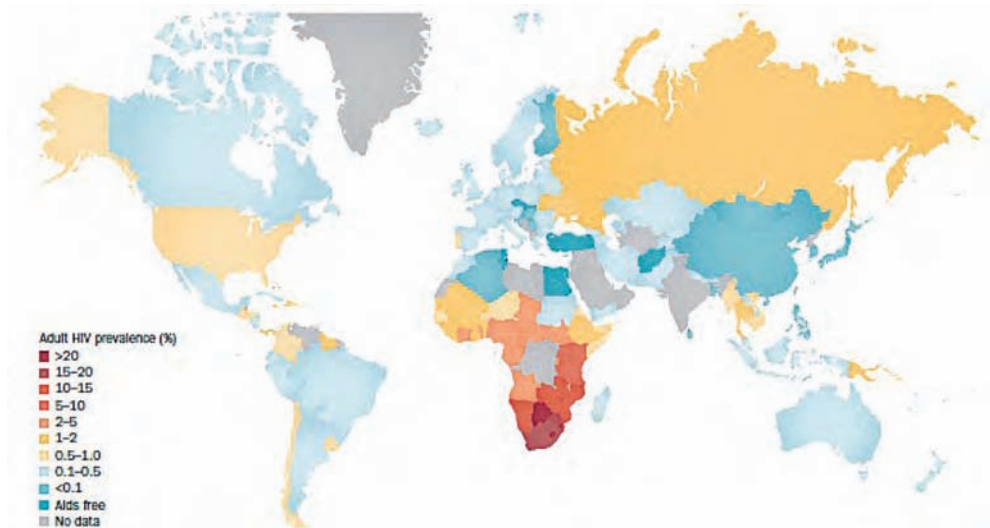


Figura 1 | Prevalence of HIV infection in adults in 2009. The highest prevalence is seen in sub-Saharan Africa. Image based on data from UNAIDS and adapted from Wikimedia Commons (http://en.wikipedia.org/wiki/File:AIDS_and_HIV_prevalence_2009.svg), which is in the public domain.

Asimismo, el desarrollo de enfermedad renal, bien aguda ó crónica, es un factor de morbi-mortalidad ampliamente establecido y con potencial conexión con otras patologías coexistentes, como la infección por VIH.[3]

Por lo tanto, la afectación renal de los pacientes con infección por VIH es un área que ha suscitado un creciente interés en los últimos años, al haberse puesto de manifiesto una creciente incidencia de patología nefrológica en estos pacientes [4,5] asociada a una mayor morbi-mortalidad [6-8].

El espectro de población con infección por VIH en nuestro medio ha experimentado una gran evolución en las últimas décadas, en paralelo a los destacados avances terapéuticos y de investigación en su diagnóstico, control y tratamiento.

En las primeras épocas de aparición del VIH en los años 80 del siglo XX, la población VIH + de nuestro medio se conformaba mayoritariamente de pacientes jóvenes, con altas tasas de adicción a drogas por vía parenteral, de infecciones oportunistas graves y procesos linfoproliferativos asociados, que determinaban una elevada morbi-mortalidad.

Desde el desarrollo de la terapia antiretroviral de gran amplitud (TARGA), a finales de la década de los 90 se ha producido una modificación progresiva de la historia natural de la infección por el VIH con un descenso mantenido en la incidencia de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y de la mortalidad relacionada con el mismo [9,10]. En la actualidad, la mayoría de los pacientes con buena adherencia al tratamiento y un correcto control virológico e inmunológico presentan una elevada esperanza de vida y una mortalidad estimada similar a la población general.[11]

A pesar de esta disminución de la mortalidad relacionada con el VIH, existe un incremento en la proporción de muertes por otras causas. Además, con el aumento de la longevidad se ha incrementado también la comorbilidad relacionada con enfermedades crónicas comunes a la población general como la diabetes mellitus (DM), la hipertensión arterial (HTA) y la patología cardiovascular, entre otras.[12-14]

En relación a la afectación renal en estos pacientes, en la era pre-TARGA, unido a la mayor prevalencia de infecciones oportunistas y neoplasias, la forma más observada de patología renal correspondía al fracaso renal agudo por afectación glomerular ó tubular, con alta prevalencia de glomeruloesclerosis focal y segmentaria colapsante, proteinuria severa y objetivada mayoritariamente en pacientes muy inmunodeprimidos y con mal control virológico. Este tipo de nefropatía inicialmente descrita en los pacientes con infección por VIH, dio en llamarse Nefropatía asociada al VIH (NAVH), siendo oficialmente descrita en una publicación internacional en 1984 [15]

En la actualidad, debido a un mayor control virológico e inmunológico, lo que aumenta la longevidad de los pacientes, observamos una mayor frecuencia de alteraciones metabólicas, un incremento en los factores tradicionales asociados al riesgo cardiovascular y una exposición más prolongada a fármacos potencialmente nefrotóxicos, todo ello favorecedor de un mayor desarrollo de enfermedad renal crónica [16-20].

La incidencia y prevalencia globales de ERC en los pacientes con infección por el VIH son difíciles de determinar y varían en función del tipo de estudio, las características de la población de estudio, su región geográfica de procedencia y de los criterios utilizados para definir la afectación renal [16-26] En líneas generales, se ha descrito mayor afectación renal en pacientes de raza negra, probablemente debido a mayor prevalencia de polimorfismos genéticos favorecedores (locus MYH9- APOL1) [27-29], y procedente de áreas con limitado acceso al tratamiento ARV.

En estudios en población Africana subsahariana por ejemplo, la prevalencia de enfermedad renal variaba entre el 6-48% de los pacientes con infección por VIH [21, 23].

En estudios Europeos y Norteamericanos, la prevalencia variaba entre 4,7-9.7%, pero si se tenía en cuenta la microalbuminuria ó proteinuria elevadas como factor diagnóstico, en algunos estudios la prevalencia se elevaba hasta 33% de los pacientes infectados por el VIH [30, 31].

En España se estableció a través del estudio EPIRCE en 2010 una prevalencia global de ERC en población general cercana al 10% [32]

Revisiones recientes sugieren que la prevalencia de patología renal en los pacientes con infección por VIH podría estar infraestimada en relación a la población general, dado que diversos estudios de prevalencia la elevación de Albuminuria no se estableció como diagnóstico de enfermedad renal, las ecuaciones de cálculo de FGe podrían sobreestimar la función renal en este tipo de pacientes dada la frecuente lipodistrofia, y el hecho de que la prevalencia en población general viene dominado por el segmento de mayor edad, infrerepresentado todavía en la mayoría de poblaciones VIH. [18]

Por ello, se sugiere que la enfermedad renal podría ser más frecuente en los pacientes con infección por el VIH que en la población general de la misma edad, con predominio de estadios moderados de enfermedad renal y lesión subclínica en forma de alteraciones urinarias.

Las alteraciones urinarias son frecuentes en estos pacientes, y se han descrito elevadas prevalencias de microalbuminuria y proteinuria, tanto de origen glomerular como tubular, así como otras alteraciones principalmente asociadas al tratamiento ARV como hiperfosfatemia ó acidosis tubular renal [33, 34], como consta objetivado en el presente trabajo de tesis doctoral [35].

La aparición en los pacientes con infección por VIH de microalbuminuria, incluso en estadios muy iniciales dentro de los rangos de normalidad [36], así como la proteinuria, han sido relacionados con mayor prevalencia, incidencia y progresión de la enfermedad renal y riesgo cardiovascular [37-39].

Estos hallazgos presentan relación con la estratificación de riesgo de enfermedad renal y eventos cardiovasculares en población general establecida en las últimas guías KDIGO 2012 [40]. (ver figura 2)

Pronóstico de la ERC según el FG y la albuminuria: KDIGO 2012				Categorías por albuminuria, descripción e intervalo		
				A1	A2	A3
Categorías por FG, descripción y rango (ml/min/1,73 m ²)	G1	Normal o alto	> 90	Verde	Amarillo	Naranja
	G2	Levemente disminuido	60-89	Verde	Amarillo	Naranja
	G3a	Descenso leve-moderado	45-59	Amarillo	Naranja	Rojo
	G3b	Descenso moderado-grave	30-44	Naranja	Rojo	Rojo
	G4	Descenso grave	15-29	Rojo	Rojo	Rojo
	G5	Fallo renal	< 15	Rojo	Rojo	Rojo
				< 30 mg/g < 3 mg/mmol	30-299 mg/g 3-29 mg/mmol	≥ 300 mg/g ≥ 30 mg/mmol

Figura 2 | Los colores mostrarían el riesgo relativo ajustado para cinco eventos (mortalidad global, mortalidad cardiovascular, fracaso renal tratado con diálisis o trasplante, fracaso renal agudo y progresión de la enfermedad renal) a partir de un metaanálisis de cohortes de población general. El riesgo menor corresponde al color verde (categoría «bajo riesgo» y si no hay datos de lesión renal no se puede catalogar siquiera como ERC), seguido del color amarillo (riesgo «moderadamente aumentado»), naranja («alto riesgo») y rojo («muy alto riesgo»), que expresan riesgos crecientes para los eventos mencionados.

En los pacientes con infección por VIH este riesgo podría estar incrementado debido a la combinación de diversos factores implicados:

- 1) La terapia antirretroviral: Este es un aspecto de especial relevancia y específico de esta población. Los pacientes con infección por VIH reciben en su mayoría dicho tratamiento de forma crónica y durante periodos muy prolongados. Diversos fármacos ARV han demostrado potencial nefrotóxico, tanto los utilizados al inicio del desarrollo de la era TARGA, como otros actuales. Existe una elevada cantidad de trabajos sobre este importante asunto, siendo sin embargo la evidencia en ocasiones discordante y de difícil registro y valoración. [41,42]

En la mayoría de los casos reportados los fármacos implicados en la toxicidad renal son los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos a nucleósidos (ITIAN) y en particular el

tenofovir (TDF) y los inhibidores de la proteasa (IP) como Indinavir (IDV), Atazanavir (ATV) y Lopinavir (LPV), así como el uso combinado de Ritonavir (RTV) con TDF por su efecto potenciador de nefrotoxicidad.

Los ITIAN, representados fundamentalmente por TDF, pueden provocar afectación renal a través de alteración funcional de proteínas transportadoras de las células epiteliales del túbulo proximal, resultando en daño mitocondrial celular y toxicidad. La disfunción tubular proximal o síndrome de Fanconi incluye fosfaturia, glucosuria con normoglucemia, acidosis tubular renal, proteinuria tubular e insuficiencia renal a medio-largo plazo.

El Tenofovir es ampliamente utilizado, hasta en el 50% de los regímenes ARV según algunos registros.

Los signos de disfunción suelen revertir tras la retirada del fármaco, aunque en ocasiones la lesión renal es persistente, probablemente por un efecto mecanismo de nefritis tubulointersticial crónica [43,44].

Los IPs pueden producir toxicidad a través de la precipitación de cristales a nivel tubular, litiasis, nefritis intersticial aguda ó crónica, FRA ó ERC. El uso de Indinavir es actualmente limitado debido a su elevado potencial generador de cristaluria y nefrolitiasis. Ha sido sustituido en gran medida por Atazanavir, con mejor perfil de seguridad, pero que aún así posee potencial efecto nefrotóxico, especialmente en regímenes potenciados con Ritonavir. Otros IPs también han sido referidos en la literatura como potenciales nefrotóxicos aunque en menor medida [45]. Este aspecto también es tratado en el presente trabajo de tesis doctoral [46].

En general, la alteración renal secundaria a terapia ARV suele aparecer en el primer año de tratamiento, y produce alteraciones moderadas, siendo infrecuente el desarrollo de ERC terminal por este mecanismo. El potencial efecto lesivo parece ser acumulativo.

En los últimos años, atendiendo a la preocupación creciente por la toxicidad renal ARV, se han desarrollado nuevos fármacos con un perfil menos lesivo a nivel renal, como el Tenofovir alafenamida (TAF), un profármaco del TDF que parece haber demostrado menor daño renal [47-49]

Por todo ello, el reconocimiento de los pacientes en mayor riesgo de presentar nefrotoxicidad por ARV, así como la monitorización y detección precoz de alteraciones urinarias son claves para permitir una correcta adecuación del tratamiento ARV y su ajuste de dosis y evitar así el desarrollo de enfermedad renal en estos pacientes.

- 2) Tratamiento concomitante con fármacos nefrotóxicos: A lo largo de la historia de la infección por VIH-1, aunque actualmente la morbilidad ha descendido respecto a épocas pretéritas, es habitual que estos pacientes requieran respecto a la población general un mayor número de exploraciones diagnósticas potencialmente nefrotóxicas (contraste iodado), presenten infecciones que requieran antibióticos nefrotóxicos (aminoglucósidos) u otros antivíricos asociados (ganciclovir, Aciclovir) también potencialmente lesivos [17-19].
- 3) Mayor incidencia en esta población de otros factores tradicionales que inducen nefropatía, tales como la dislipemia (DLP), la hipertensión arterial (HTA), la diabetes mellitus (DM) o la coinfección por virus de la hepatitis C ó B (VHC, VHB).

Según las diferentes series de grandes cohortes, hasta un 25% de estos pacientes presentan coinfección por VHC ó VHB. Esta coinfección puede favorecer el desarrollo de nefropatía por depósito de inmunocomplejos, y se ha descrito como factor de riesgo independiente de desarrollo de ERC en estas poblaciones [18,19,50,51]

Por otro lado, como ya se ha comentado previamente, la creciente prevalencia de factores tradicionales de riesgo de desarrollo de nefropatía y eventos cardiovasculares como

la DLP, HTa ó DM, ligados a la mayor supervivencia y envejecimiento de esta población, constituyen, como en la población general, una clásica causa de enfermedad renal [12-14].

Algunos trabajos han mostrado además que estos pacientes podrían ser especialmente susceptibles al desarrollo de nefropatía ante la aparición por ejemplo de DM, comparados con población sin infección por VIH [52].

Asimismo, es conocido el efecto de “envejecimiento acelerado” que presentan los pacientes con infección por VIH, en contexto de niveles de inflamación y lesión endotelial elevados y relacionados con el propio virus [53-56].

- 4) Efecto directo del propio virus VIH: Diversos trabajos han demostrado que el VIH accede a las células tubulares y glomerulares, estableciendo un reservorio renal, con una presencia constante en tejido renal, aunque no siempre con actividad replicativa [57-64].

Se ha observado afectación especialmente podocitaria por el virus, induciendo una proliferación, desdiferenciación y apoptosis anómalas que favorecen nefropatía [65-69].

Además, aunque de forma más indirecta, el VIH provoca una expansión policlonal de inmunoglobulinas como respuesta a la replicación viral y a proteínas virales que predisponen a la aparición de nefropatía por depósito de inmunocomplejos [17-19, 70]

En múltiples trabajos descriptivos, una elevada carga viral (CV) y/o un descenso marcado de los linfocitos CD4 se relacionaron con el desarrollo de enfermedad renal entre pacientes con infección por VIH.

Así, en los grandes estudios poblacionales, se han descrito factores de riesgo de desarrollo de enfermedad renal en pacientes con infección por VIH de forma global relativamente comunes tales como: edad elevada, origen africano subsahariano, infección por VIH no controlada, tiempo bajo terapia ARV, niveles de CD4 < 200 cels/mm3, uso de tratamientos nefrotóxicos e incidencia de factores tradicionales de enfermedad renal (HTA, DM, DLP) [16-19, 25, 26].

A pesar de los múltiples factores implicados, aunque las consecuencias a largo plazo de la disfunción renal crónica en los pacientes con infección por el VIH no han sido por el momento establecidas de forma absoluta, diversos estudios han establecido un bajo porcentaje de pacientes con infección por VIH que requieren tratamiento renal sustitutivo. Se ha estudiado asimismo el tratamiento, acceso y evolución del trasplante renal en estos pacientes, con buenos resultados. [71]

Por tanto, debido a la complejidad y multifactorialidad de la patología renal en los pacientes con infección por el VIH es conveniente, en primer lugar, establecer la prevalencia de dichas alteraciones en la población de nuestro medio más inmediato, estableciendo cual es el porcentaje de pacientes que presentan enfermedad renal crónica según criterios basados en el cálculo del filtrado glomerular, así como la detección de alteraciones urinarias incipientes ó establecidas.

Por otro lado, es de gran importancia el establecimiento de unas medidas de control que permitan el diagnóstico precoz de la afectación renal en el VIH de una manera sencilla, teniendo en cuenta que en las primeras etapas de la patología ésta se manifiesta de manera silente, y que, a su vez, permita su seguimiento, monitorización y ajuste de tratamientos.

Así, en el año 2005, la Sociedad Americana de Enfermedades infecciosas publicó su primera guía de manejo de pacientes VIH + con enfermedad renal crónica. En España se publicó en 2010 el primer documento de consenso sobre la evaluación y manejo de la afectación renal en pacientes con infección por el VIH, por parte del Panel de Expertos del Grupo de Estudio de SIDA (GESIDA), la Sociedad Española de Nefrología (S.E.N.) y la Sociedad Española

de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC), con actualizaciones periódicas subsiguientes [72,73]

Se han definido asimismo, y validado en grandes cohortes, escalas de riesgo de desarrollo de enfermedad renal en los pacientes VIH, profundizando y proponiendo interesantes herramientas para la prevención y el control de estos eventos en dicha población.[74]

3.2. Histología renal en pacientes con infección por VIH

En consonancia con la evolución en el tratamiento de la infección por VIH, el desarrollo de nuevos fármacos, el aumento de la esperanza de vida y por tanto la aparición de factores tradicionales de riesgo cardiovascular y renal en estos pacientes, el espectro de afectación renal y los hallazgos histológicos han experimentado una arcada transformación en la era TARGA.

En la era pre-TARGA, la forma más característica y mejor definida de afectación renal en pacientes por VIH era la NAVIH. Descrita por primera vez en 1984 [15], se caracterizaba por una glomeruloesclerosis focal y segmentaria con colapso de los capilares glomerulares, dilatación tubular microcística (marcador de mal pronóstico), inflamación intersticial y proliferación e hipertrofia podocitaria.

LA presentación característica era un deterioro de función renal marcado con proteinuria nefrótica.

Se describió principalmente en sujetos afroamericanos con enfermedad por VIH avanzada y mal control virológico, en ocasiones sin tratamiento ART.

LA evolución hacia ERC terminal es frecuente si no se inicia terapia ARV.

En la era pre-TARGA afectaba alrededor del 10% de los pacientes con infección por VIH en Estados Unidos, aunque desde el desarrollo de los nuevos antirretrovirales a partir de 1995, su incidencia y prevalencia han descendido notablemente [75].

LA etiopatogenia de la NAVIH ha sido estudiada en modelos murinos y confirmada en parte en estudios histológicos en humanos.

Se ha demostrado que el virus VIH afecta directamente a las células parenquimatosas renales, sirviendo en ocasiones como habitual reservorio viral no productivo, sin replicación viral.

Las vías de afectación celular renal no han sido clarificadas por completo, pero se ha observado que diversas proteínas virales como NEf, Vpr y Tat podrían jugar un papel importante como mediadores, pudiendo afectar directamente a los podocitos.

Esta afectación conllevaría la “catástrofe mitótica” con apoptosis celular, así como la desdiferenciación y proliferación anómalas por alteración del ciclo celular podocitario y de células túbulo-epiteliales renales.

Esto conllevaría la sobreexpresión de moléculas de adhesión podocitaria, así como la pérdida de expresión de otras proteínas tales como nefrina, cedherina, y synaptopodina, y en último término acabaría promoviendo la forma de GSFyS colapsante propia de la NAVIH.

La existencia de las variantes genéticas APO11 tipo G1 y G2 han demostrado presentar mayor susceptibilidad a los mecanismos de afectación mesenquimal viral descritos previamente. Las poblaciones de origen africano subsahariano presentan una mayor prevalencia de dichas variantes genéticas, lo que las hace más vulnerables al desarrollo de NAVIH.

Dado que no existe ninguna otra característica clínica ó morfológica renal específica de NAVIH, el papel de la biopsia renal para su diagnóstico es crucial, para poder discernir de otras potenciales causas de afectación renal y obtener datos sobre severidad y pronóstico a nivel histológico.

En ausencia de terapia ARV efectiva, la progresión a ERC terminal es frecuente y de rápida evolución. Por ello, el tratamiento de elección, además de fármacos antiproteinúricos, es la instauración de TARGA.

Desde la extensión del tratamiento TARGA y fundamentalmente en estudios Europeos, se ha observado una creciente prevalencia de un conjunto de alteraciones histológicas que se ha denominado GN por depósito de inmunocomplejos en el VIH (ICVIH).

Se trata de un grupo de alteraciones con el denominador común de presentar depósito glomerular de inmunocomplejos y que incluyen: Nefropatía IgA, lupus-like GN, GN post-infecciosa, GN Membranosa, GN membranoproliferativa y crioglobulinemia, aunque estas dos últimas habitualmente están influenciadas por co-infección con VHC.[76, 77]

Actualmente, junto con la aparición de nefropatía secundaria a factores de riesgo cardiovascular tradicionales, se trata del grupo de nefropatías más prevalente en los países desarrollados, en especial en Europa, con acceso a TARGA, en pacientes con correctos controles virológicos e inmunológicos en infectados por VIH.

En este grupo de patologías las variantes genéticas APOL1 también parecen jugar un papel favorecedor, aunque en forma menos severa que en NAVIH, y todavía no dilucidado por completo. DE hecho, la ICVIH es más prevalente en Estados Unidos entre pacientes de origen africano subsahariano.

La etiopatogenia parece derivada de una interacción entre la susceptibilidad genética, las interacciones huésped-antígeno, la patogenicidad viral, la duración e intensidad de la respuesta inmune y factores ambientales como el tratamiento.

EN los pacientes con infección por VIH es frecuente el desarrollo de hipergammaglobulinemia policlonal, que da lugar a la formación de inmunocomplejos circulantes.

Estas inmunoglobulinas pueden unirse a antígenos virales tales como p24, gp41 y gp 120, formándose así inmunocomplejos que pueden posteriormente depositarse en el glomérulo renal causando la afectación nefrológica. Este mecanismo, en parte observado en diversos estudios, marcaría el importante papel del virus VIH en el desarrollo de este tipo de patologías.

Los inmunocomplejos se alojarían en el tejido renal bien por atrapamiento durante su circulación sistémica o bien por formación in situ, ante la aparición de antígenos presentes en células renales, como podría ser el caso de la GN post-infecciosa. (ver figura 3)

En recientes artículos con estudio de amplias cohortes de biopsias, que comparaban las características de los pacientes diagnosticados de NAVIH con aquellos diagnosticados de ICVHI, se observó que los pacientes con ICVIH tendían a ser de mayor edad, con más prevalencia de HTA, CD4 más elevados, menor CV, mayor FGe y menor proteinuria que aquellos con NAVIH [78].

La progresión a ERC terminal es menos frecuente que en los casos de NAVIH.

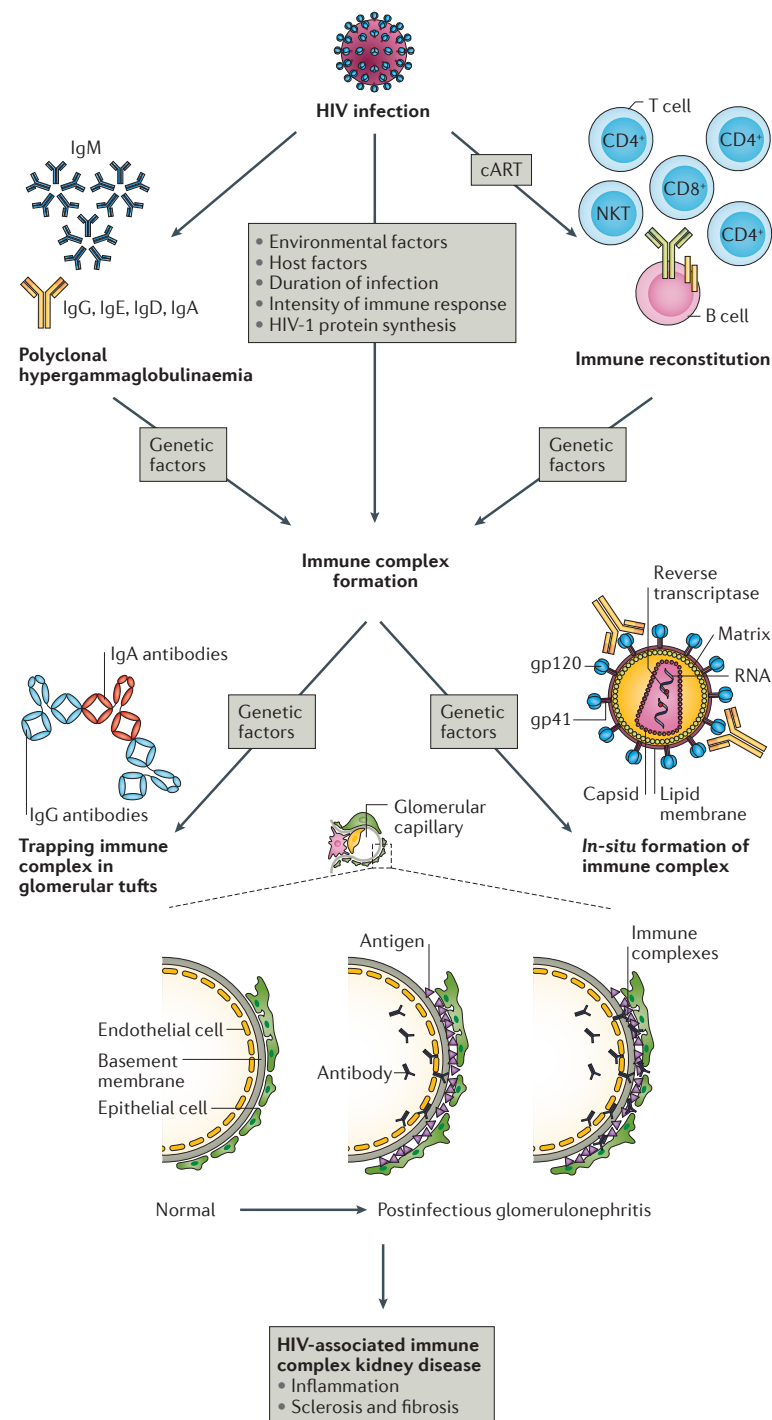


Figura 3 | Mecanismos etiopatogénicos multifactoriales propuestos para el desarrollo de nefropatía por depósito de inmunocomplejos en pacientes con infección por VIH (reproducido de HIV-associated immune complex kidney disease. Nat Rev Nephrol. 2016 May; 12(5):291-300.)

Más allá de la NAVIH y la ICVIH, se han descrito en los pacientes con infección por VIH una elevada heterogeneidad de alteraciones histológicas renales, algunas especialmente frecuentes con respecto a la población general como podría ser la Microangiopatía trombótica (MAT), la GSFyS NO colapsante, la amiloidosis, y otras.

Además, se pueden hallar signos de nefritis túbulo-intersticial crónica ó aguda secundaria a fármacos ARV u otras drogas administradas, así como nefropatía secundaria a factores tradicionales de riesgo cardiovascular como la HTA ó la DM, que parece haber mostrado en este tipo de pacientes mayor probabilidad de afectación renal que en población general [80-85]

Así, se ha observado en series de biopsias renales un incremento en la nefropatía diabética e hipertensiva, en consonancia con la evolución de esta población comentada previamente.

Aquellos pacientes que presenten además, coinfección por VHC ó VHB, presentan mayor riesgo de afectación renal, especialmente en las formas de GN Membranosa ó membranoproliferativa/crioglobulinemia secundaria [51].

Por todo ello, la realización de una biopsia renal sigue aún hoy en día siendo clave fundamental para el diagnóstico, tratamiento y pronóstico adecuado de este tipo de pacientes, sujetos a tal variabilidad de factores intercurrentes que pueden estar determinando el desarrollo de un buen número de patologías renales diversas.

La realización de la biopsia renal debe realizarse según criterios similares a la población general, pero no debe postergarse debido a la infección virológica de base o a una presunción empírica potencialmente errónea de la patología renal presente. [79]

3.3. Peptidómica y VIH

Como ha sido expuesto previamente, la infección por VIH puede relacionarse con una elevada variabilidad de patología renal. Para alcanzar un diagnóstico diferencial definitivo, la biopsia renal es todavía la herramienta clave en la patología renal establecida. Sin embargo, aunque es una técnica segura actualmente, no está exenta de potenciales complicaciones, en ocasiones graves ó fatales, aunque en baja proporción [86].

En el caso de los pacientes con infección por VIH, diversas patologías coexistentes en este tipo de población, como la coinfección por VHC ó VHB, puede conllevar un mayor riesgo de aparición de complicaciones, fundamentalmente por mayor predisposición a hemorragia significativa.

Asimismo, la biopsia renal presenta unas indicaciones establecidas en aquellos casos en los que las alteraciones urinarias ó serológicas son ya evidentes, por lo que no es en general una técnica diagnóstica apropiada para el diagnóstico precoz de patología renal incipiente ó subclínica [87].

Por ello, sería deseable conseguir un método de diagnóstico precoz de patología renal no invasivo a través del análisis de marcadores específicos urinarios ó plasmáticos de enfermedad renal específica.

Diversos trabajos en los últimos años han plasmado el importante esfuerzo por explorar y establecer marcadores plasmáticos y especialmente urinarios diagnósticos y pronósticos de patología renal, tanto en población general como en pacientes con diagnóstico histológico de enfermedad renal establecida.

Uno de los campos de investigación y desarrollo más importantes en este sentido en los últimos años, aplicado a diversas patologías, ha sido el de la peptidómica y proteómica [88].

EL campo de la proteómica/peptidómica es aquel estudio científico destinado al estudio de la expresión de las proteínas y los péptidos que las conforman en los fluidos biológicos, dependiendo del contexto biológico presente al momento del estudio.

Esto es posible debido a que si bien el genoma es una unidad estática, la expresión génica a partir del ARN mensajero y por tanto la síntesis y expresión de proteínas son unidades dinámicas y por tanto dependen de circunstancias fisiológicas ó patológicas concretas.

Sin embargo, el proteoma humano está compuesto de más de 500.000 proteínas en comparación con los alrededor de 40.000 genes presentes en nuestro genoma.

Así pues, es de vital importancia la correcta discriminación de los péptidos ó proteínas más abundantes, significativos ó con mayor interés como marcadores ó pronósticos de procesos biológicos.

Por ello, la selección del fluido biológico a estudio y el desarrollo de tecnología específica para su cuantificación e identificación son claves en el desarrollo de estas técnicas de estudio.

En este sentido, si bien se han desarrollado múltiples estudios de peptidoma y proteoma en plasma, la orina se erige como un fluido biológico especialmente prometedor para el estudio de patologías renales.

La orina se puede obtener en grandes cantidades, de manera totalmente no invasiva y se postula como un excelente área de investigación sobre la patología renal y especialmente glomerular [89-91].

La selección de la orina como objeto de estudio peptidómico, enlaza además con la gran importancia de una célula clave en el funcionamiento de la nefrona y la depuración y filtrado glomerular: El podocito.

EL podocito es una célula epitelial especializada y diferenciada de la capa visceral de la cápsula de Bowman del glomérulo renal, formando la parte más vulnerable y fundamental de la barrera de filtración glomerular [92].

Esta conformado por un cuerpo celular voluminoso, con prolongaciones hacia los capilares clomerulares conocidos como pedicelos. Los pedicelos de los podocitos que conforman la barrera gomerular rodean a los capilares y se relacionan estrechamente entre sí, formando una red hermética de extensiones interdigitadas con los podocitos vecinos, permitiendo unas minúsculas fenestraciones que permiten el paso de las sustancias filtradas de la sangre capilar.

Presenta una arquitectura compleja, siendo una célula polarizada con tres dominios proteicos transmembrana, constituidos por proteínas específicas, que contribuyen a formar una barrera selectiva para las proteínas plasmáticas e intervienen en la señalización con otras células glomerulares.

EL podocito es en condiciones fisiológicas una célula muy diferenciada sin capacidad para la proliferación. Por tanto, alteraciones a nivel molecular ó celular de éstos, que lleve a su desdiferenciación, proliferación anómala ó apoptosis, conllevará una alteración glomerular, pudiendo aparecer proteinuria ó fracciones peptídicas específicas en orina marcadoras de alteración podocitaria específica [93].

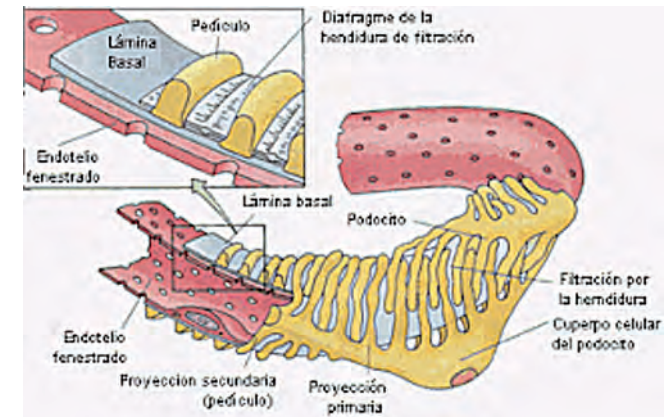


Figura 4 | Estructura podocitaria y sus prolongaciones.

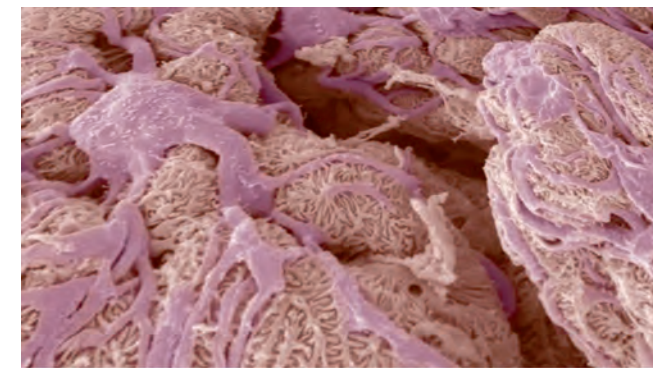


Figura 5 | Podocitos visionados por microscopía electrónica.

Como ya ha sido comentado anteriormente, en lo referente a la población con infección por VIH, se ha postulado que el tejido renal puede albergar copias virales como reservorio, y que éste puede, a través de proteínas expresadas a través de su genoma, inducir una afectación podocitaria específica, en forma de proliferación anómala, desdiferenciación y apoptosis podocitaria.

Por lo tanto, el análisis peptídico de la orina de estos pacientes podría expresar un perfil específico y marcador ó pronóstico de enfermedad renal incluso en fases incipientes subclínicas, sin necesidad de técnicas invasivas para obtención de biopsia.

EN dicho contexto, el análisis metodológico apropiado de la orina es fundamental para permitir cuantificar e identificar adecuadamente estos potenciales marcadores biológicos.

Una de las técnicas más eficientes desarrolladas se trata de la matrix assisted laser desorption ionization (MALDI), combinado con analizadores de tiempos de vuelo (TOF), generando la técnica MALDI-TOF, que en conjunción con la espectrometría de masas (MS), permite la ionización de péptidos y proteínas y la medición de la masa de péptidos intactos [94, 95].

Además, la aplicación de microesferas magnéticas para fraccionar y enriquecer los péptidos y proteínas que conforman la muestra biológica (MB Technology), conjuntamente con la ya descrita técnica MALDI-TOF-MS, ha permitido detectar perfiles peptídicos urinarios en diferentes estudios asociados a distintas patologías renales [96-100].

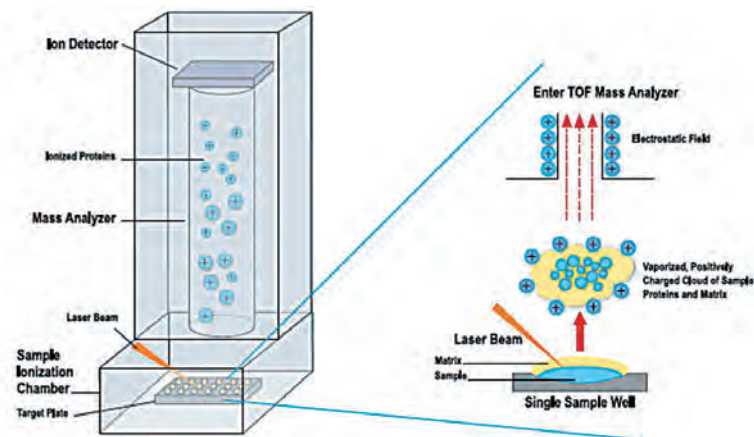


Figura 6 | Esquema del sistema MALDI-TOF-MS

En lo relativo a la población con infección por VIH, la evidencia sobre trabajos publicados en el terreno de la peptidómica es limitada.

Algunos trabajos sobre modelos murinos, han estudiado el papel de los distintos genes expresados por el virus del VIH sobre las células podocitarias y tejido renal. Se ha observado que existe correlación entre la expresión viral de los genes nef y vpr con una mayor lesión podocitaria. Se objetivó elevación de marcadores histológicos de proliferación podocitaria como Ki-67 ó fosfo-stat3 así como disminución de marcadores de diferenciación celular como sinaptopodina y WT1. Estos hallazgos se relacionaron con mayor aparición de glomeruloesclerosis e HIVAN [101].

En trabajos sobre humanos con infección por VIH, distintos trabajos han explorado la existencia de marcadores urinarios de nefropatía [102], pero los trabajos disponibles sobre peptidoma urinario a través de MALDI ó MALDI –TOF son escasos, y principalmente centrados en series de pocos individuos pediátricos con transmisión vertical de infección por VIH, en los que se observó una mayor excreción de proteínas relacionadas con el metabolismo Férrico en el peptidoma urinario, así como en pacientes con coinfección por VIH y VHC [103,104].

Sin embargo, parece existir una cierta ausencia de evidencia sobre perfiles urinarios correlacionados con diferentes diagnósticos y características histológicas en pacientes con infección por VIH, que permita diferenciar aquellos pacientes con signos de enfermedad renal del resto de la población con infección por VIH, así como de la población sana de control, tal y como es uno de los objetivos del presente trabajo de tesis doctoral.

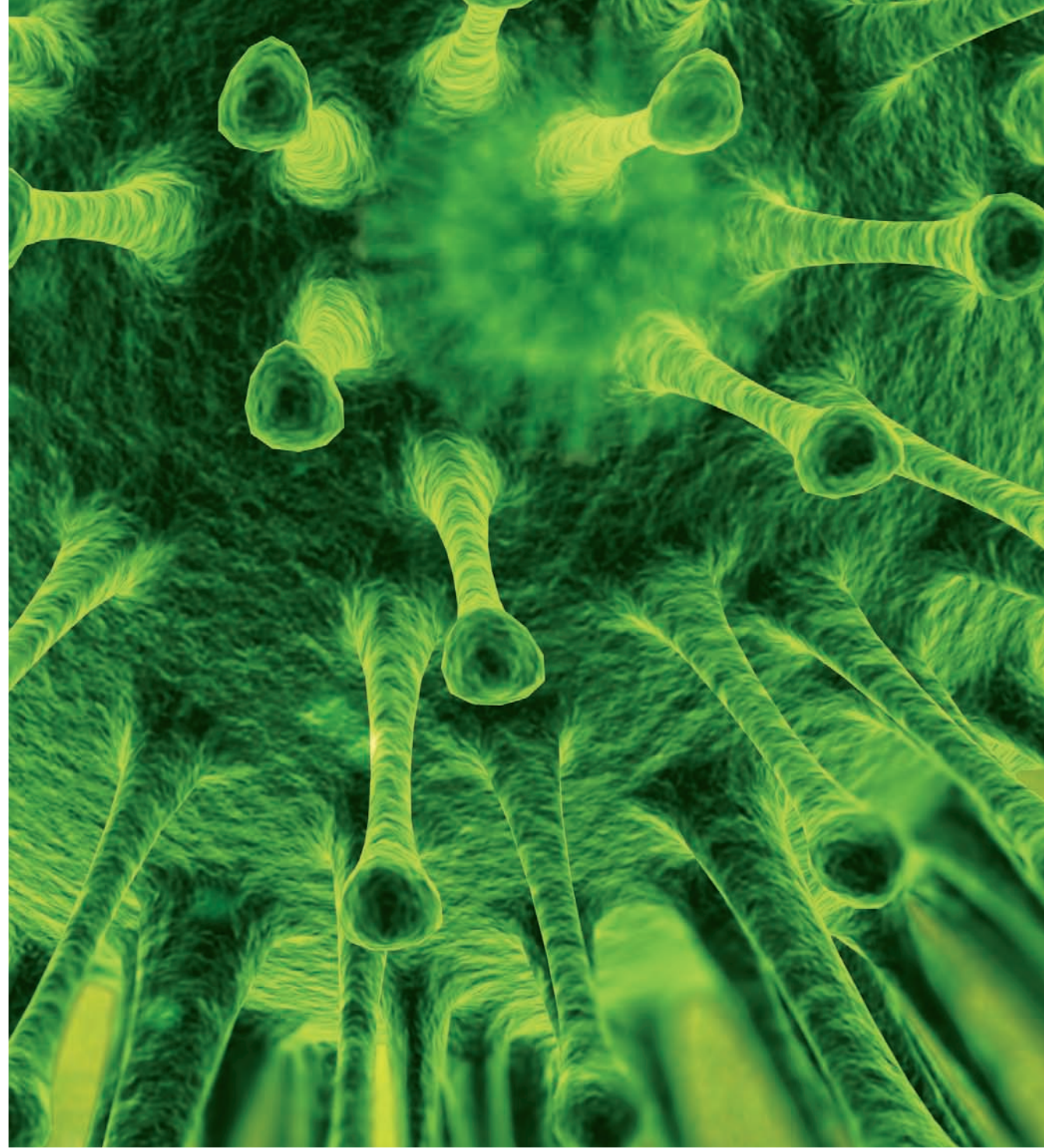
En nuestro servicio de Nefrología del Hospital Germans Trias i Pujol hemos desarrollado en los últimos años una línea de investigación y publicación referente al estudio de perfiles peptídicos urinarios y plasmáticos característicos y específicos tanto en patología glomerular en riñones nativos como en perfiles condicionados por tratamiento farmacológico en pacientes trasplantados renales [105-111].

El presente trabajo de tesis doctoral tien como objetivo intentar dar respuesta a las cuestiones planteadas anteriormente en el texto.

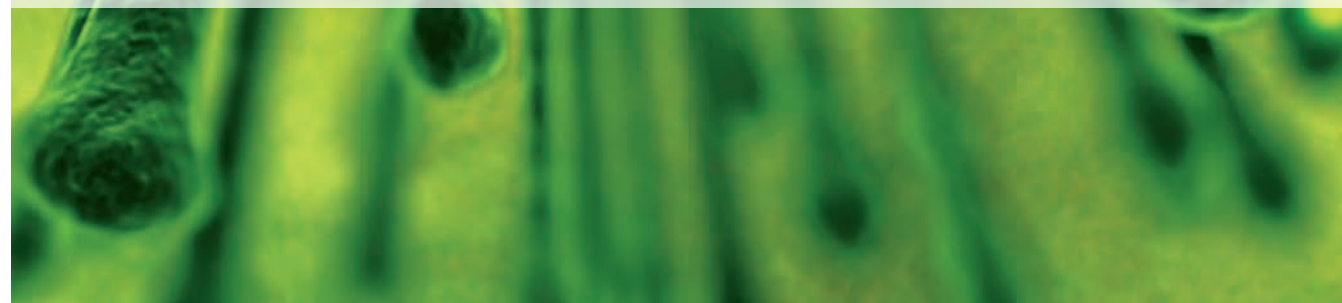
Por un lado, establecer la prevalencia actual de nefropatía entre pacientes con infección por VIH de nuestro medio y su relación con posibles marcadores clínicos y de tratamiento ARV y factores relacionados con el propio virus VIH y su control inmunológico.

En aquellos pacientes que presenten enfermedad renal y cumplan criterios de biopsia renal, se les realizará esta técnica y se estudiarán los patrones histológicos objetivados.

Asimismo, se seleccionarán pacientes con alteraciones urinarias e infección con VIH para realizar estudio de peptidoma urinario y explorar las posibles relaciones de dicho perfil peptídico con los patrones histológicos y clínico-analíticos obtenidos previamente, lo que podría permitir identificar marcadores urinarios pronósticos e indicativos de presencia de patología sin necesidad de realización de técnicas invasivas y con posibilidad de diagnóstico temprano y optimización terapéutica de este tipo de pacientes.



4. Hipótesis, objetivos, material y métodos



4. Hipótesis, objetivos, material y métodos

4.1. Hipótesis

- El aumento de la esperanza de vida en pacientes con infección por VIH en la era TARGA, el tratamiento antiretroviral de larga evolución y la acción directa del propio virus, podrían condicionar un incremento en la prevalencia de enfermedad renal superior a la población general en estos pacientes. El análisis específico sistemático de alteraciones urinarias y de estimación de función renal podría resultar en la detección de enfermedad renal incipiente en mayor proporción a la esperada y posiblemente infraestimada previamente.
- Trabajos previos en pacientes con infección por VIH han sugerido que podría existir una alteración podocitaria que podría condicionar la expresión de marcadores de afectación renal en el peptidoma urinario. La identificación del perfil peptídico y la presencia de dichos marcadores en orina podría establecer nuevas herramientas no invasivas de diagnóstico temprano y pronóstico de desarrollo de nefropatía en este tipo de pacientes.

4.2. Objetivos

Objetivos principales:

- Estudio de la prevalencia de nefropatía en los pacientes con infección por VIH-1 de nuestro medio.
- Estudio del perfil peptídico urinario en pacientes con infección por VIH-1, que presentan nefropatía.
- Estudio de las alteraciones histológicas en las biopsias renales que presentan aquellos pacientes con infección por VIH-1 que muestran nefropatía.

Objetivos secundarios:

- Estudio del porcentaje de pacientes con infección por VIH con Enfermedad renal crónica, su estratificación por filtrado glomerular según la clasificación K-DOQI 2002, así como la proporción de alteraciones urinarias presentes en estos pacientes y el estudio de la etiología de dicha enfermedad renal a través de la histología.
- Estudio de los factores epidemiológicos, clínicos, farmacológicos y relacionados con el VIH que predicen aparición de nefropatía en los pacientes con infección por VIH-1.
- Estudiar la posible correlación de la función renal, las alteraciones urinarias y los hallazgos anatómo-patológicos con el peptidoma urinario entre pacientes infectados por VIH-1, así como en comparación con la población general.

4.3. Material y métodos

El presente trabajo de tesis doctoral sobre el estudio de la prevalencia de enfermedad renal y relación entre marcadores urinarios y alteraciones histológicas en pacientes con infección por el VIH-1 se llevó a cabo desde el año 2011 hasta el año 2016, siguiendo un cronograma con unos marcados periodos de estudio y desarrollo de las distintas fases del trabajo, en estrecha colaboración con los participantes en el proyecto tanto del servicio de Nefrología del HGTIP como de la fundació de LLuita contra la SIDA del mismo centro.

En cada una de las etapas se redactó un trabajo escrito con la intención de su publicación y su inclusión dentro del proyecto de tesis doctoral.

A continuación se detallan los distintos periodos del estudio, el motivo de su diseño y los materiales y métodos utilizados en cada uno de ellos:

PERIODO 1: Año 2011

Estudio de la evolución de enfermedad renal y factores de riesgo asociados en la población infectada por el VIH-1 de nuestro medio

Se diseñó inicialmente un estudio descriptivo retrospectivo que abarcaba el periodo de estudio 2008-2010. Se redactó un trabajo escrito completo, actualmente en revisión en la revista *medicine* (IP 2,5):

Prevalence, evolution and related risk factors of kidney disease among Spanish HIVinfected individuals. Enviado para publicación, en revisión revista Medicine. Código de revisión: D-S-17-00406. **Juega-Mariño J.**, Bonjoch A., Negro E. et al.

Material y métodos PERIODO 1

Estudio retrospectivo descriptivo de 1.596 pacientes con infección por el VIH-1 controlados en nuestro centro. Se obtuvieron dos cortes transversales: en 2008 y en 2010 realizándose análisis evolutivo.

En cada corte se obtuvieron datos relativos a:

a) Características clínicas: Edad, sexo, tiempo de infección por VIH, co-infección VHB, VHC y serología luética; Se definieron variables de riesgo cardiovascular y alteración metabólica, según los criterios de Síndrome metabólico de la NCEP ATP-III de 2001(6) y su revisión por la AHA en 2005 (7,8). Se definieron glicemia basal alterada (GBA) si glucemia $> 5,6$ mmol/L y Diabetes Mellitus (DM) si glucemia ≥ 7 mmol/L (9).

b) Datos analíticos: Se determinó Hemoglobina, fibrinógeno, albúmina, colesterol total, HDL, LDL, Triglicéridos, calcio y fósforo carga viral del VIH, linfocitos totales, CD4 y CD8 (absolutos y porcentaje). La función renal se estableció determinando: Valores plasmáticos de creatinina, urea, filtrado glomerular estimado (FGe) fórmula MDRD-4 IDMS [FGe = $175 \times (\text{Cr} / 88.4)^{-1.154} \times (\text{Edad})^{-0.203} (\times 0.742$ si mujer); ($\times 1.210$ si raza negra)] (5, 41, 42, 43)

Se codificó como variable categórica $\text{CD4} \leq \text{ó} > 200$ cel/mL, como variable de CV indetectable valores $\text{CV} \leq 50$ copias/ml y los puntos de corte de $\text{CV} > \text{ó} \leq 400$ copias/ml y $\text{CV} > \text{ó} \leq 4000$ copias/ml. Estos últimos han mostrado relación con deterioro de función renal en estudios previos. (10,11,18,20).

c) Tratamiento con Tenofovir (TDF) y/o con Indinavir (IDV). Estas variables se codificaron comparando aquellos que habían recibido tratamiento previo o actual con los que nunca los habían recibido.

Se definió como ER un FGe por MDRD-4 IDMS ≤ 60 ml/ml/min/1.73 m² en el corte basal y se dividió la muestra en dos grupos: Grupo 1(enfermedad renal): $\text{FG} \leq 60$ ml/min/1,73 m², y Grupo 2 (función renal normal): $\text{FG} > 60$ ml/min/1,73 m².

El grupo 1 se estratificó en los distintos estadios de ER. Se compararon el grupo 1 y 2 en base a las variables obtenidas, en cada uno de los cortes realizados.

Se obtuvieron datos del grupo 1 en el corte basal (2008), relativos a criterios clínicos de

Hipertensión arterial (HTA), dislipemia (DLP), Diabetes Mellitus (DM), índice de masa corporal (IMC) y hábito tabáquico.

Este grupo 1 se subdividió según la evolución de la función renal durante el periodo de observación. GRUPO A: Pacientes que persistieron en criterios de ER basal y final y GRUPO B: Los que presentaron mejoría de función renal (FGe ≤ 60 ml/min/1,73 m² basal y FGe > 60 ml/min/1,73 m² final), comparándose entre sí.

Por otro lado, el grupo 2 (Función renal basal conservada) se subdividió en GRUPO C: FGe basal normal con deterioro evolutivo de función renal y GRUPO D: FGe normal estable en corte inicial y final, comparándolos entre sí. (Ver Figura 1)

Se obtuvieron datos clínicos del GRUPO C respecto al diagnóstico de HTA, DLP, DM y hábito tabáquico, y se codificó la variable retirada o no del tratamiento con (TDF) ó (IDV) durante el estudio en ese conjunto. Se registraron los éxitos e inicio de técnicas de tratamiento sustitutivo renal durante el periodo de observación.

PERIODO 2. Años 2011 - 2013

Estudio de la prevalencia de micro y macroalbuminuria en pacientes con infección por VIH de nuestro medio.

Durante la realización del trabajo previo del periodo 1, se objetivó la ausencia de datos respecto a las alteraciones urinarias de los pacientes estudiados, en forma de albuminuria y/o proteinuria, así como respecto a los diagnósticos clínicos de los pacientes y datos detallados respecto al tratamiento recibido, especialmente los antiretrovirales.

Se diseñó por tanto un estudio prospectivo entre 2011 y 2012, incluyendo 970 pacientes a los que se les realizó una encuesta completa que recogía múltiples parámetros clínicos y antropométricos, así como análisis rutinario de orina y plasma a todos los participantes.

Se redactó un trabajo completo que fue publicado en revista internacional y aprobado por el departamento de medicina de la UAB como parte de esta tesis doctoral por compendio de publicaciones: *High Prevalence of Signs of Renal Damage Despite Normal Renal Function in a Cohort of HIV-Infected Patients: Evaluation of Associated Factors.* **Publicado:** AIDS Patient Care STDS. 2014 Oct;28(10):524-9. Bonjoch A, **Juega J**, Puig J. et al

Material y métodos PERIODO 2

Se realizó un estudio transversal de los primeros 1000 pacientes externos infectados con VIH que asistieron a nuestra Unidad de VIH y acordaron participar. Todos los pacientes firmaron un documento de consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética Institucional del centro coordinador y las autoridades sanitarias locales. El periodo de estudio se inició en enero de 2011, y el último paciente se incluyó en diciembre de 2012.

Todos los pacientes completaron un cuestionario prospectivo (*ver Anexo 1*) para obtener datos sobre antecedentes personales y familiares de diabetes mellitus, dislipidemia, hipertensión, eventos cardiovasculares, enfermedad renal o hepática, sífilis previa o actual, uso de fármacos potencialmente nefrotóxicos (por ejemplo, angiotensina- Inhibidores de la enzima convertidora, bloqueadores de los receptores de angiotensina, ciclosporina, antiinflamatorios no esteroideos y tacrolimus), el ejercicio físico y el consumo de productos de tabaco, alcohol y drogas de abuso.

Los datos demográficos y relacionados con el VIH se recolectaron de los expedientes clínicos del paciente: sexo, edad, factores de riesgo de infección por VIH, estado clínico, tiempo

transcurrido desde el diagnóstico del VIH, tiempo con carga viral suprimida, tratamiento antirretroviral previo y actual, tiempo En el tratamiento antirretroviral, tiempo de tenofovir, tiempo de inhibidores de la proteasa y co-infección de la hepatitis. También se registraron los datos inmunológicos y virológicos, incluyendo la carga viral actual, el recuento de linfocitos T CD4 y CD8, la carga viral máxima y el recuento de células T CD4 del nadir.

Se recogieron muestras de sangre y orina en ayunas. Se determinaron creatinina sérica y fosfato. La TFG estimada se calculó utilizando la ecuación de Modificación de la Dieta en la Enfermedad Renal (MDRD) y la Colaboración Epidemiológica de la Enfermedad Renal Crónica (CKD EPI). Los valores de referencia locales normales fueron los siguientes: eGFR, > 60 ml / min / 1,73 m²; Creatinina sérica, <1,20 mg / dl; y Fosfato sérico, 2,5-4,50 mg / dl.

La enfermedad renal se definió como eGFR <60 ml / min / 1,73 m² y se clasificó según la clasificación de la Iniciativa de Calidad de los Resultados de las Enfermedades Renales (KDOQI). 20 El daño renal se definió como la presencia de micro o macro albuminuria o proteinuria, Por albúmina /Creatinina y proteína / creatinina (relaciones UAC o UPC), o glucosuria, hematuria o hipofosfatemia. Los valores normales de UPC y UAC fueron <200 y <30 mg / g, respectivamente. Posteriormente, estas proporciones se clasificaron como <30, 30 - 300, o > 300 mg / g.

Se calculó el índice de masa corporal (IMC) y se midió la presión arterial tres veces con el paciente en reposo. La hipertensión arterial se definió como una presión arterial sistólica de \geq 140 mmHg, una presión arterial diastólica de \geq 90 mmHg o la necesidad de agentes antihipertensivos. En caso de altas lecturas, los pacientes fueron seguidos para confirmar o descartar el diagnóstico de hipertensión arterial. La diabetes se definió como glicemia de ayuno persistente > 100 mg / dl o la necesidad de agentes antidiabéticos. La dislipidemia se definió como triglicéridos > 150 mg / dl, colesterol total > 200 mg / dl, colesterol LDL > 130 mg / dl o la necesidad de fármacos hipolipemiantes.

PERIODO 3. Año 2014

.Estudio del efecto del tratamiento antirretroviral sobre la función renal en pacientes con infección por VIH de nuestro medio

Se diseñó un subanálisis del grupo de pacientes incluidos en el periodo 2, para explorar el papel de los diferentes tratamientos antirretrovirales, su combinación y la duración del tratamiento en el desarrollo de enfermedad renal en este grupo de pacientes.

Se redactó un artículo científico completo, publicado en la revista internacional Medicine (Baltimore): *Impact of protease inhibitors on the evolution of urinary markers. Subanalyses from an observational cross-sectional study*. **Publicado:** Medicine (Baltimore). 2016 Aug;95(32):e4507. Bonjoch A, Puig J, Pérez-Alvarez N, **Juega J** et al.

Material y métodos PERIODO 3:

Se realizó un subanálisis de los datos recogidos de un estudio transversal previo. En resumen, el estudio principal incluyó 970 pacientes ambulatorios infectados por el VIH que consecutivamente asistieron a nuestra Unidad de Atención del VIH y acordaron participar (de enero de 2011 a diciembre de 2012). Todos los pacientes firmaron un documento de consentimiento informado y el Comité de Ética Institucional del hospital y las autoridades sanitarias locales aprobaron el estudio (código: EO-10-035). Para el subanálisis, se seleccionaron aquellos pacientes que recibían un régimen que contenía PI durante más de 6 meses y tenían un eFGG > 60 mL / min / 1,73 m² (377 de 970).

Los Criterios de exclusión incluyeron enfermedad renal basal, cualquier línea base.

Alteraciones renales (basales definidas como el momento del inicio del régimen antirretroviral actual) y otras causas renales de glucosuria e hipofosfatemia. El objetivo fue comparar el impacto de los 3 IP más comúnmente utilizados (darunavir, atazanavir y lopinavir) en parámetros renales específicos estimando el tiempo predicho hasta la aparición de alteración renal. También definimos los factores de riesgo asociados.

La dosis para los IP potenciados fue estándar: atazanavir / ritonavir, 300/100 mg una vez al día; Lopinavir / ritonavir, 400/100 mg dos veces al día; Darunavir / ritonavir 800/100 mg una vez al día; Y atazanavir no aumentado 400 mg una vez al día. Se administró TDF a 300 mg una vez al día.

Los datos demográficos y relacionados con el VIH recogidos incluyeron tiempo de tratamiento antirretroviral, tiempo de tenofovir, tiempo en los IP y tiempo en cada IP específico. Se recogieron muestras de sangre y orina bajo condiciones de ayuno.

La lesión renal se definió como la presencia de micro o macroalbuminuria o proteinuria, es decir, una relación albúmina / creatinina > 30 mg / gy / o una relación proteína / creatinina > 200 mg / gy / o la presencia de glucosuria sin hiperglucemia), Hematuria y / o hipofosfatemia (<2,5 mg / dL).

El uso concomitante de TDF se definió como exposición al fármaco por más de 6 meses. Se consideró que los pacientes no habían recibido TDF si nunca lo habían recibido, si lo habían recibido por menos de 3 meses o si lo habían interrumpido durante más de 4 meses, considerando el tiempo medio de reversibilidad de la toxicidad relacionada con TDF, como se describe En un estudio previo sobre la reversibilidad de toxicidad relacionada con TDF.

PERIODO 4. Años 2011-2014

Estudio metodológico de la obtención de muestras y su procesamiento para realización de peptidoma en plasma de pacientes con infección por VIH

Dentro del proceso de análisis de perfil peptídico plasmático y urinario de pacientes con infección por VIH, se diseñó este estudio prospectivo. Entre aquellos pacientes que realizaron la encuesta prospectiva del periodo 2, se seleccionó un subgrupo de pacientes con función renal normal y sin niveles significativos de proteinuria para estudio metodológico del peptidoma en plasma.

Se realizó una comparativa entre contenedores de plasma convencionales y contenedores con inhibidores de proteasas, para explorar si existían diferencias en los resultados de la técnica y así asegurar la realización del estudio de forma optimizada y validada.

Se redactó un trabajo completo que fue publicado en revista internacional y aprobado por el departamento de medicina de la UAB como parte de esta tesis doctoral por compendio de publicaciones: *Evaluation of protease inhibitors containing tubes for ms-based plasma peptide profiling studies*. **Publicado:** J Clin Lab Anal. 2014 Sep;28(5):364-7. Pérez V, **Juega-Mariño J**, Bonjoch A et al.

Material y métodos PERIODO 4

Este estudio prospectivo incluyó un grupo de estudio de diez sujetos varones (47 \pm 10 años) y dos grupos de validación, el grupo A con cinco sujetos (38 \pm 6 años, 5 hombres) y el grupo B con 27 sujetos (52 \pm 9 años, 23 hombres). Todos los sujetos eran mayores de 18 años, con función renal normal y sin proteinuria. El Comité de Ética Local aprobó el protocolo del estudio y todos los sujetos dieron su consentimiento por escrito para participar.

Se recogieron dos muestras de sangre de todos los sujetos, una en un tubo EDTA convencional (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) y la otra en un tubo BD P100, es decir, un tubo EDTA que contenía PI (Becton Dickinson).

Las muestras obtenidas de sujetos del grupo de estudio fueron centrifugadas inmediatamente después de la flebotomía a 2.500 x g durante 20 min a temperatura ambiente; El plasma se dividió en alícuotas en tiempo “cero” y después de 1, 2, 4 y 8 horas. Las muestras de sangre de los sujetos de los grupos de validación A y B se centrifugaron en el momento “cero” y 4 horas después de la flebotomía, respectivamente. Se congelaron alícuotas a -80 ° C hasta su uso.

Las muestras se prefraccionaron, por duplicado, con Cuentas magnéticas IMAC-Cu (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Los eluatos se diluyeron 1: 5 con agua de calidad de cromatografía líquida (LC) y se mezclaron 1: 2 con solución matricial (1,84 mg / ml de 2,6-dihidroxiacetofenona, 20% de acetonitrilo, 40 mmol / l de citrato de amonio dibásico). Se observó un microlitro de la mezcla, por duplicado, sobre una placa diana AnchorChip MALDI (Bruker Daltonics). Se utilizó una plataforma de manipulación de líquidos (Freedom Evo, Tecan, Ma'nnedorf, Suiza) para asegurar la reproducibilidad del ensayo.

Los puntos se analizaron con un instrumento UltrafarXtreme MALDI TOF / TOF (Bruker Daltonics) operado en modo lineal positivo. La ionización se logró con láser de nitrógeno a 337 nm y frecuencia de repetición de 1.000 Hz. Se adquirieron espectros con 1.000 láseres, tensión de aceleración de 25 kV, tiempo de extracción de iones pulsados 300 ns, supresión de matrices hasta 800 Da y energía láser de 70%. El instrumento fue calibrado externamente usando calibradores de péptidos (Bruker Daltonics), alcanzando una precisión de masa < 10 ppm.

Los picos con relación señal / ruido > 3 en el rango m / z 1-10 kDa se registraron con el software Flex Control (versión 2.0, Bruker Daltonics).

Se obtuvieron cuatro espectros de cada muestra y se realizó un análisis detallado con el software DataAnalysis (versión 3.4, Bruker Daltonics), buscando seleccionar los espectros con el mayor número de picos y la mayor intensidad. Se utilizó el software ClinProTools (versión 2.2, Bruker Daltonics) para calcular las áreas de los picos, y los datos espectrales se analizaron con el software SPSS (versión 15.0, SPSS Inc., Chicago, IL).

Para la identificación de péptidos, las muestras fueron pre-fraccionadas usando perlas magnéticas y luego atrapadas y desaladas usando puntas de pipeta ZipTip C18 (Millipore, Bedford, MA). Los péptidos se mezclaron 1: 1 con ácido -ciano-4-hidroxi- cinámico matricial y se colocó 1 µl en una placa diana MALDI (Bruker Daltonics). Los espectros se obtuvieron con un instrumento UltrafarXtreme MALDI-TOF / TOF (Bruker Daltonics). Los datos MS / MS se realizaron mediante el programa MASCOT (Matrix Science, Londres, Reino Unido).

Proteínas identificadas con un Intervalo de confianza ≥95% fueron aceptados.

PERIODO 5. Años 2011-2016

Estudio de la relación entre enfermedad renal, hallazgos histológicos y patrón de peptidoma en plasma y orina de pacientes con infección por VIH

Se diseñó un estudio prospectivo, con autorización del comité ético local, obteniendo de los pacientes incluidos, material para análisis de peptidoma en plasma y en orina, realización de estudio histológico en aquellos a los que se les realizó biopsia renal, así como obtención de valores analíticos y clínicos completos.

Se incluyeron aquellos pacientes con infección por VIH a los que se les efectuó biopsia renal

según protocolo del servicio de Nefrología desde el año 2011. A estos pacientes, el día de la biopsia y previamente al procedimiento, se les extrajo muestra para análisis peptídico en plasma y orina.

Se realizaron un total de 17 biopsias renales. En 1 de ellas no se obtuvo muestra satisfactoria para análisis histológico, y la muestra de peptidoma en orina no fue válida. En otro paciente, aunque se obtuvo diagnóstico, no se pudo obtener muestra de orina para análisis de peptidoma, por lo que finalmente se dispuso de 15 pacientes con análisis completo de péptidos en orina y plasma y diagnóstico histológico adecuado. De ellos, 8 pacientes presentaban al momento de la biopsia y recogida de muestras FGGe (MDRD) < 60 ml/min. A todos los pacientes biopsiados se les realizó la encuesta de riesgo cardiovascular completa diseñada para estudios previos, y se obtuvieron datos clínicos y analíticos completos.

Además, se incluyeron en el estudio pacientes con infección por VIH seleccionados, que habían participado en un estudio previo (periodo 2 del presente trabajo de tesis doctoral), y a los que se les había realizado una encuesta de riesgo cardiovascular completa así como recogida de datos analíticos completos.

Aquellos primeros 18 pacientes que fueron evaluados consecutivamente a través de encuesta de riesgo cardiovascular y que presentaban en tira de orina positividad para proteínas >/= ++ fueron también incluidos en el estudio, obteniéndose muestras para análisis peptídico en plasma y en orina.

Asimismo, se completó el grupo de estudio de peptidoma en pacientes con infección por VIH con la obtención de muestras para análisis de peptidoma únicamente en plasma de 21 pacientes adicionales visitados consecutivamente y valorados a través de la encuesta de riesgo cardiovascular, independientemente de los hallazgos urinarios en tira reactiva.

DE los 54 pacientes con infección por VIH incluidos se obtuvieron datos referentes a:

- Antecedentes personales y familiares de diabetes mellitus, dislipidemia, hipertensión, eventos cardiovasculares, enfermedad renal o hepática, sífilis previa o actual, uso de fármacos potencialmente nefrotóxicos (por ejemplo, angiotensina- Inhibidores de la enzima convertidora, bloqueadores de los receptores de angiotensina, ciclosporina, antiinflamatorios no esteroideos y tacrolimus), el ejercicio físico y el consumo de productos de tabaco, alcohol y drogas de abuso.
- Datos demográficos y relacionados con el VIH que se recolectaron de los expedientes clínicos del paciente: sexo, edad, factores de riesgo de infección por VIH, estado clínico, tiempo transcurrido desde el diagnóstico del VIH, tiempo con carga viral suprimida, tratamiento antirretroviral previo y actual, tiempo En el tratamiento antirretroviral, tiempo de tenofovir, tiempo de inhibidores de la proteasa y co-infección de la hepatitis. También se registraron los datos inmunológicos y virológicos, incluyendo la carga viral actual, el recuento de linfocitos T CD4 y CD8, la carga viral máxima y el recuento de células T CD4 del nadir.
- Se recogieron muestras de sangre y orina en ayunas. Se determinaron creatinina sérica y fosfato. La TFG estimada se calculó utilizando la ecuación de Modificación de la Dieta en la Enfermedad Renal (MDRD) y la Colaboración Epidemiológica de la Enfermedad Renal Crónica (CKD EPI). Los valores de referencia locales normales fueron los siguientes: eGFR, > 60 ml / min / 1,73 m²; Creatinina sérica, <1,20 mg / dl; y Fosfato sérico, 2,5-4,50 mg / dl. La enfermedad renal se definió como eGFR <60 ml / min / 1,73 m² y se clasificó según la clasificación de la Iniciativa de Calidad de los Resultados de las Enfermedades Renales (KDOQI). 20 El daño renal se definió como la presencia de micro o macro albuminuria o proteinuria, Por albúmina /Creatinina y proteína / creatinina (relaciones UAC o UPC), o glucosuria, hematuria o hipofosfatemia. Los valores normales de UPC y UAC fueron <200 y <30 mg / g, respectivamente. Posteriormente, estas proporciones se clasificaron como <30, 30 - 300, o > 300 mg / g.

- Exploración física: Se recogieron datos de peso, talla y calculo del índice de masa corporal (IMC) y se midió la presión arterial tres veces con el paciente en reposo. La hipertensión arterial se definió como una presión arterial sistólica de ≥ 140 mmHg, una presión arterial diastólica de ≥ 90 mmHg o la necesidad de agentes antihipertensivos. En caso de altas lecturas, los pacientes fueron seguidos para confirmar o descartar el diagnóstico de hipertensión arterial. La diabetes se definió como glicemia de ayuno persistente > 100 mg / dl o la necesidad de agentes antidiabéticos. La dislipidemia se definió como triglicéridos > 150 mg / dl, colesterol total > 200 mg / dl, colesterol LDL > 130 mg / dL o la necesidad de fármacos hipolipemiantes.

Finalmente, se incluyó en el estudio un grupo control de 16 pacientes sanos, sin infección por VIH ni enfermedad renal, de los que se realizó análisis peptídico urinario.

En resumen, se incluyó un total de 70 pacientes en el estudio. 16 controles sanos y 54 pacientes con infección por VIH.

Se obtuvo análisis de péptidos plasmáticos en la totalidad de los 54 pacientes con infección por VIH

Se obtuvo análisis de péptidos urinarios de 33 de los pacientes con infección por VIH y de los 16 controles sanos.

Se realizaron un total de 17 biopsias, con diagnóstico histológico en 16 de ellas. Se dispuso de análisis de peptidoma plasmático en la totalidad de estos pacientes, y de peptidoma urinario en 15 de ellos.

Se decidió enfocar el estudio sobre los 33 pacientes con infección por VIH de los que se obtuvo análisis peptídico correcto, incluyendo además un grupo control de 16 pacientes sanos sin alteraciones urinarias.

Se identificaron 4 péptidos como correspondientes a alfa-1 antitripsina (A1AT), 1 péptido como correspondiente a uromodulina (UMOD) y 2 péptidos como correspondientes a albúmina (ALB)

Se realizó una exploración mediante el método estadístico de agrupación por clusters, para determinar qué péptidos podrían diferenciar mejor los pacientes por grupos.

Se compararon los perfiles peptídicos urinarios de los pacientes VIH con el grupo control, así como el perfil urinario de los pacientes VIH FG < 60 vs. ≥ 60 entre sí y con su relación con el resto de variables clínicas y analíticas.

El grupo de pacientes biopsiados se comparó con el resto de la muestra de pacientes con infección por VIH.

Se establecieron además relación entre detección de los péptidos identificados con los distintos diagnósticos histológicos y las características clínicas y analíticas obtenidas

5. Estudios realizados en relación al desarrollo de la Tesis Doctoral

5. Estudios realizados en relación al desarrollo de la tesis doctoral

5.1. Estudio de la prevalencia de Enfermedad renal en pacientes con infección por VIH de nuestro medio

RESULTADOS:

Un total de 1.596 pacientes caucásicos con infección por VIH fueron incluidos en el estudio. El 76,4% eran varones, con una edad media de 45 ± 9 años, el tiempo promedio de infección por VIH fue de 14 ± 7 años y la carga viral no detectable el 76,5% en 2008. 47% habían recibido tratamiento previo o actual con Tenofovir (Tabla 1).

En 2008 el Grupo 1, formado por aquellos pacientes con signos de enfermedad renal (ER), según MDRD < 60 ml/min, fue del 4,9% del total, con un FGe promedio de $49,09 \pm 12,08$ ml / min / $1,73$ m². Según los estadios de ERC: Estadio 3 (FGe ≤ 60 -30 ml / min) 91,1%; Estadio 4 (FGe < 30 - 15 ml / min) 5,1%; Estadio 5 (FGe < 15 ml / min) 3,8%.

Los 79 pacientes del grupo 1 (ER) presentaron prevalencia importante de dislipemia (62,8%), hipertensión (26,9%), diabetes mellitus (15,4%) y tabaquismo (44,9%). Recibieron en gran proporción tratamiento previo o actual con TDF (73,4%) e IDV (59,5%).

El 3,8% de estos pacientes requirieron inicio de hemodiálisis. Se observó una tasa de mortalidad del 8,9% durante el período de observación.

Tabla 1

VARIABLE	2008	2010
N	1596	
Gender (Male)	76,4%	
Mean age \pm SD	45 ± 9 years	
Men time of HIV infection	14 ± 7 years	
HCV coinfection	38,7%	
HBV coinfection	22,6%	
Positive luetic serology	6,9%	
Treatment with Tenofovir (TDF)	47,2%	
Treatment with Indinavir (IDV)	39,1%	
Undetectable Viral Load (CV < 50 copies/mL)	76,5%	73,5%
Impaired Fasting GLucose (IFG) (gluc ≥ 5.6 mmol / L)	17,6%	17,29%
Hyper LDL (LDL ≥ 3.3 mmol/L)	24,8%	35,02%
Hypo HDL (HDL < 1 mmol/L)	37,15%	31,82%
hypertriglyceridemia (TG > 1.7 mmol/L)	41,97%	39,4%
Diabetes Mellitus (gluc ≥ 7 mmol / L)	3,7%	3,8%

Cuando se comparó en el corte basal (2008) el Grupo 1 (ER) frente al Grupo 2 (función renal conservada), los pacientes con ER mostraron de forma estadísticamente significativa mayor edad, fibrinógeno y porcentaje de CV > 400 copias / ml y habían recibido tratamiento previo o actual con Tenofovir e Indinavir en mayor proporción. No se observaron diferencias significativas entre los niveles de lípidos, el estado inmunológico, el tiempo de infección por el VIH o la prevalencia de co-infección con VHC, VHB. Se observó una mayor prevalencia de GBA (glicemia basal alterada, IFG en sus siglas en Inglés) y DM en pacientes con peor función renal, sin alcanzar significación estadística.

En 2010 la prevalencia de ER fue del 3.9% con un promedio de 45.4 ± 14.2 eGFR ml / min / 1.73 m^2 . Distribución de ER según estadios: Estadio 3: 87,1%; Estadio 4: 6,5%; Estadio 5: 6,5%.

EL Grupo 1 mostró en el corte final de 2010 de forma estadísticamente significativa mayor edad, mayores niveles de triglicéridos y fibrinógeno; Niveles más bajos de albúmina y hemoglobina; Mayor porcentaje de CD4 < 200 células / L; Menor CD4 absoluto y porcentaje de linfocito total en comparación con el Grupo 2. No hubo diferencias significativas entre el porcentaje de pacientes que habían recibido tratamiento previo o actual con TDF o con IDV ni en la prevalencia de co-infección con VHC o VHB.

Además, en el corte final se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos en la prevalencia de DM, GBA e hipertrigliceridemia. En todos los casos, se observó una mayor proporción de trastornos metabólicos en el grupo de insuficiencia renal (Tabla 2).

• Evolución de la función renal de la cohorte:

En cuanto a la evolución de la función renal durante el período de estudio, observamos: Pacientes con ER persistente, permaneciendo en el grupo 1 (FGe mantenido ≤ 60 ml / min / 1.73 m^2): 2,6%; aquellos con función renal normal estable (Mantenimiento de FGe > 60 ml / min / 1.73 m^2): 92,7%, mejoría de la función renal observada en 2,4% de los pacientes y en el 1,3% deterioro de función renal durante la observación período.

Hasta el 47,2% de los pacientes del Grupo 1 mostraron mejoría en la función renal alcanzando FGe > 60 ml / Min, mientras que el 52,8% continuó mostrando FGe ≤ 60 ml / min. (Ver Figura 1).

Se estudió la evolución de la función renal en el Grupo 1 comparando aquellos que persistieron con enfermedad renal (GRUPO A) y aquellos que mostraron mejoría de la función renal con niveles de FGe > 60 ml / min / 1.72 m^2 (GRUPO B)

En cuanto a las variables clínicas, los pacientes con mejoría de la función renal mostraron menor prevalencia de hipertensión (13 vs. 40%) y mayor porcentaje de tratamiento previo o actual con Tenofovir (86,6% frente a 61%) de forma estadísticamente significativa. Se observó una mayor prevalencia de factores de síndrome metabólico y riesgo cardiovascular (diagnóstico de DM, DLP y HTG) en aquellos pacientes sin mejoría de la función renal, sin alcanzar significación estadística. No hubo diferencias significativas entre la edad, hábito de fumar, tiempo de infección por el VIH o co-infección con VHB o VHC.

En cuanto a las variables analíticas, en el 2008 el Grupo B (mejoría de la función renal) mostró menores niveles de TG y menor prevalencia de CD4 < 200 células / μl , de forma estadísticamente significativa.

En 2010, el grupo B presentó mayores niveles de hemoglobina estadísticamente significativos, sin otras diferencias relevantes entre los dos grupos (Tabla 3).

Posteriormente, el grupo de pacientes con función renal normal en la línea de base (Grupo 2) se dividió según la progresión de la función renal en el GRUPO C: Disminución de la función renal, desde FGe normal en corte basal a la ER en el corte final; Y GRUPO D: Pacientes con función renal normal mantenida en el tiempo.

Se analizaron los registros clínicos de los pacientes del grupo C (N = 21) obteniéndose datos adicionales: Estos pacientes eran en su mayoría varones (85,7%), edad media 53 ± 11 años y mayor prevalencia de factores de riesgo cardiovascular (hipertensión 40%, DM 70 %, DLP 25%) y 55% de coinfección por VHC. El 52,4% había recibido tratamiento previo o actual con Tenofovir, que se retiró después del deterioro de la función renal en el 30% de ellos. La necesidad de hemodiálisis se observó en el 10% (2 pacientes), con una mortalidad del 5% (1 paciente) durante el período de observación.

En 2008 los pacientes del GRUPO C mostraron una edad significativamente mayor y peores valores infecciosos / inmunitarios con una mayor prevalencia de carga viral > 4000 copias / mL y menores niveles de porcentaje de CD4, CD4 absolutos y mayor prevalencia de CD4 ≤ 200 células / mL.

El GRUPO C tenía también niveles más altos de fibrinógeno y niveles más bajos de albúmina y hemoglobina, y una mayor proporción de GBA, DM y HTG, todos ellos estadísticamente significativos.

En 2010, las diferencias significativas obtenidas coinciden en gran medida con las observadas en el corte basal mencionado anteriormente (Tabla 4).

• Análisis multivariante

Se realizó un análisis multivariante, obteniéndose como marcadores independientes de ER en 2008 (OR (IC del 95%), valor de p): edad avanzada (1.079 (1.050; 1.109), <0.001), niveles elevados de fibrinógeno (1.004 (1.002; 1.006), <0.004), y tratamiento previo o actual con Tenofovir (2.732 (1.575; 4.739), <0.001).

Marcadores independientes de ER en corte final 2010: Edad avanzada (1.099 (1.067; 1.131), <0.001), Albúmina baja (0,931 (0,869; 0,997), <0,04) e hipertrigliceridemia (2,721 (1,497; 4,947), < 0,001). DM se aproxima a la significación estadística, p <0,053.

La edad avanzada (1.093 (1.061; 1.126), <0.001) y niveles elevados de fibrinógeno (1.004 (1.002; 1.006); <0,001) fueron los únicos factores de riesgo independientes para el desarrollo de ER presentes tanto en corte basal como en el corte final.

La ausencia de hipertensión (0,212 (0,061; 0,733) <0,014), niveles bajos de triglicéridos (0,592 (0,366; 0,956), < 0,032) y tratamiento actual o previo con TDF (6,271 (1,710; 23), p <0,006) fueron marcadores independientes de la mejoría de la función renal durante el período de observación tanto en corte basal como final.

Los marcadores independientes de disminución de la función renal en el tiempo según los datos basales de 2008 fueron edad avanzada (1.102 (1.045; 1.162), <0.001), fibrinógeno elevado (1.005 (1.001; 1.009), <0.014), y la presencia de CV > 4.000 copias / mL (3.397 (1.058; 10.905), <0.04). Los niveles de porcentaje de CD4 tuvieron un efecto protector (0.941 (0.892; 0.992), <0.025)

Según los datos finales de 2010, los marcadores independientes de disminución de la función renal a lo largo del tiempo fueron la edad avanzada (1.084 (1.024; 1.148), p <0.005), HTG (5.894 (1.844; 18.846), <0.003) y DM (3,618 (1,301; 10,066), p < 0,014). Los mayores niveles de CD4 tuvieron un nuevo efecto protector (0.920 (0.873; 0.970), <0.002)

En resumen, tanto en 2008 como en 2010 encontramos mayor edad, marcadores elevados de inflamación, peor estado infeccioso e inmunológico y presencia de factores de riesgo cardiovascular como marcadores independientes de deterioro de la función renal en pacientes VIH + en nuestro medio.

Tabla 2 | Diferencias vs. Grupo 1 Grupo 2 en corte basal (2008) y finales (2010).

VARIABLE	BASELINE SECTION (2008)			FINAL SECTION (2010)		
	GROUP 1 (eGFR ≤ 60 ml/min). n:79	GROUP 2 (eGFR > 60 ml/min). n:1517	p	GROUP 1 (eGFR ≤ 60 ml/min). n:62	GROUP 2 (eGFR > 60 ml/min). n: 1518	p
Age (years)	52 ± 10	45 ± 8	< 0,0001	53 ± 11	45 ± 9	< 0,0001
Male Gender (%)	68,4 %	75,8%	NS	75,8 %	75,4%	NS
Urea (mmol/L)	8,9 ± 5,9	5,8 ± 1,5	< 0,0001	9,9 ± 5,7	5,6 ± 1,5	< 0,0001
Creatinine (mmol/L)	145 ± 104	78 ± 14	< 0,0001	168 ± 146	74 ± 14	< 0,0001
Time of HIV infection (years)	15 ± 6	14 ± 7	NS	14,5 ± 6,5	14 ± 7	NS
Viral Load (copies/ml)	7830 ± 55574	11389 ± 71196	NS	8154 ± 62723	10189 ± 80736	NS
Undetectable Viral Load (<50 copies/ml)	80,8%	76,3%	NS	67,2%	73,8%	NS
Viral Load > 400 copies/ml	7,7%	17,6%	< 0,02	6,6%	10,6%	NS
Viral Load > 4000 copies/ml	5,1%	12,4%	< 0,071 (NS)	1,6%	6,9%	NS
Absolute CD4 (cel/microL)	524 ± 292	625 ± 2056	NS	504 ± 319	615 ± 297	< 0,002
Absolute CD4 ≤ 200 cel/microL	11,8%	7,2%	NS	15,5%	6,1%	< 0,011
CD4 percentage (%)	25,7 ± 10,4	27,2 ± 10,3	NS	25 ± 11	28,9 ± 9,9	< 0,012
Absolute CD8 (cel/microL)	981 ± 519	1058 ± 2085	NS	906 ± 527	969 ± 466	NS
CD8 percentage (%)	46,6 ± 11,5	47,3 ± 12,5	NS	45 ± 12,8	45 ± 11,7	NS
Total Lymphocytes(x10x9/L)	2,1 ± 1,2	6 ± 88,1	NS	1,9 ± 0,9	2,1 ± 0,7	< 0,029*
Hemoglobin (g/dL)	14,1 ± 2,1	14,5 ± 1,5	< 0,05*	13,5 ± 2,3	14,6 ± 1,5	<0,0001
Fibrinogen (mg/dl)	375 ± 122	342 ± 84	< 0,001	391 ± 125	348 ± 100	<0,002
Glucose (mmol/L)	5,3 ± 1,2	5,2 ± 2,6	NS	5,6 ± 1,9	5,2 ± 1	<0,03
HDL (mmol/L)	1,3 ± 0,5	1,2 ± 0,4	< 0,026*	1,2 ± 0,5	1,2 ± 0,4	NS
LDL (mmol/L)	2,4 ± 1	2,5 ± 0,8	NS	2,7 ± 0,9	2,7 ± 0,9	NS
Triglycerides (mmol/L)	1,9 ± 1,3	1,8 ± 1,4	NS	2,4 ± 1,4	1,7 ± 1,4	< 0,001
Albúmin (g/L)	42,6 ± 3,9	43,1 ± 3,8	NS	41,7 ± 6	43,4 ± 3,4	< 0,001
Calcium (mmol/L)	2,3 ± 0,05	2,3 ± 0,1	NS	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,09	NS
Phosphate (mmol/L)	1,06 ± 0,3	1,04 ± 0,2	NS	1,07 ± 0,2	1,05 ± 0,2	NS
DM (fasting glucose ≥ 7 mmol/L)	6,5%	3,5%	NS	13,1%	3,5%	<0,002
IFG (Fasting glucose ≥ 5,6 mmol/L)	24,7%	17,3%	<0,07	36,1%	17%	<0,0001
Low HDL (HDL < 1,03 mmol/L)	41,2%	37,5%	NS	38,6%	33,4%	NS
Hyper LDL (LDL ≥ 3 mmol/L)	27,8%	27,1%	NS	42%	38,5%	NS
hypertriglyceridemia (TG ≥ 1,7 mmol/L)	46,8%	43%	NS	61,7%	39,4%	<0,0001
HBV coinfection (%)	13,4 %	23,1%	NS	14,8%	22,9%	NS
HCVcoinfection (%)	38,4%	38,8%	NS	40,4%	38,7%	NS
Positive luetic serology (%)	2,1%	7,1%	NS	2,6%	7,1%	NS
Treatment TDF(%)	73,4%	45,9%	< 0,0001	58,1%	46,8%	<0,082(NS)
Treatment IDV(%)	59,5%	38,1%	< 0,0001	50%	38,7%	<0,073(NS)

Tabla 3 | Línea de base de comparación Grupo 1: Subgrupo B (mejora de la función renal) vs. Subgrupo A (KD restante). Diferencias entre las variables en el corte inicial (2008) y el corte final (2010).

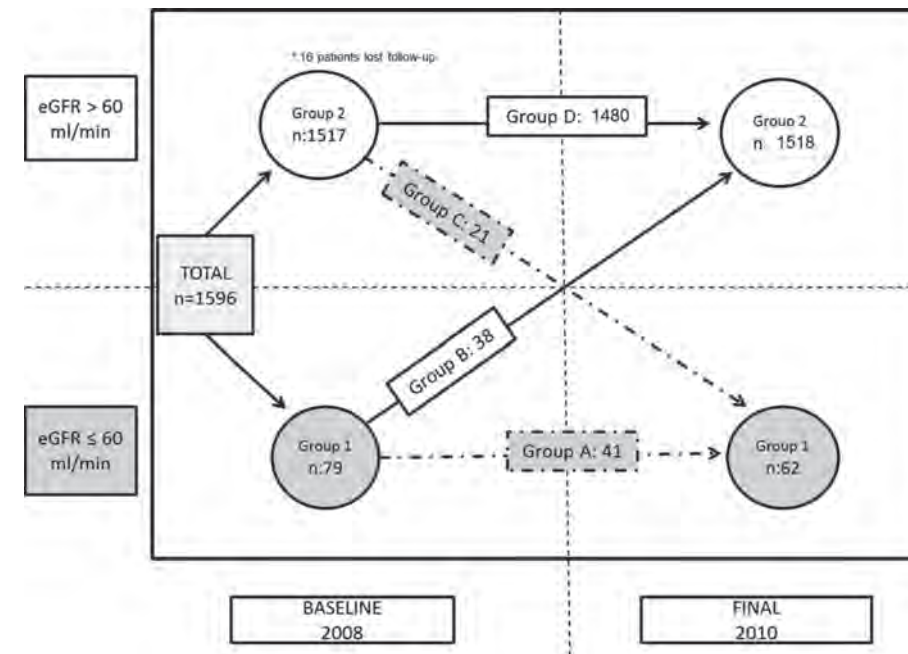
VARIABLE	BASELINE (2008)			FINAL (2010)		
	GROUP A NO IMPRO- VEMENT 2008-2010 n:41	GROUP B IMPROVE- MENT eGFR 2008-2010 n: 38	p	GROUP A NO IMPRO- VEMENT 2008-2010 n:41	GROUP B IMPROVE- MENT eGFR 2008-2010 n: 38	p
Urea (mmol/L)	10,2 ± 7,1	7,4 ± 2,6	< 0,025	10,6 ± 6,7	6,5 ± 1,5	< 0,001
Creatinine (mmol/L)	172 ± 116	137 ± 29	< 0,014	180 ± 171	92 ± 16	< 0,002
Viral Load (copies/ml)	12253 ± 75863	3174 ± 17824	NS	12301 ± 77467	911 ± 5008	NS
Undetectable VL (<50 copies/ml)	82%	78%	NS	67,5%	76,3%	NS
VL > 400 copies/ml	5%	10,5%	NS	2,5%	5,3%	NS
VL > 4000 copies/ml	5%	5,3%	NS	2,5%	2,6%	NS
Absolute CD4 (cel/microL)	529 ± 314	519 ± 270	NS	541 ± 335	572 ± 304	NS
Absolute CD4 ≤ 200 cel/microL	20,5%	2,7%	< 0,029	10,5%	7,9%	NS
CD4 percentage (%)	27 ± 10	25 ± 11	NS	28 ± 10	26 ± 11	NS
Absolute CD8 (cel/microL)	920 ± 444	1045 ± 586	NS	841 ± 419	1041 ± 541	< 0,079(NS)
CD8 percentage (%)	47 ± 10	46 ± 13	NS	44 ± 10	45 ± 14	NS
Total Lymphocytes(x10x9/L)	1,9 ± 1,3	2,2 ± 1	NS	1,8 ± 0,9	2,3 ± 1	< 0,065(NS)
Hemoglobine (g/dL)	13,7 ± 2,3	14,6 ± 1,8	<0,058	13,8 ± 2,3	14,7 ± 1,7	<0,043
Fibrinogen (mg/dl)	390 ± 138	361 ± 103	NS	389 ± 134	382 ± 114	NS
Glucose (mmol/L)	5,4 ± 1,3	5,1 ± 0,9	NS	5,3 ± 1	5,2 ± 1,2	NS
HDL (mmol/L)	1,3 ± 0,6	1,3 ± 0,4	NS	1,3 ± 0,6	1,3 ± 0,4	NS
LDL (mmol/L)	2,3 ± 1	2,6 ± 1	NS	2,7 ± 0,9	2,6 ± 1	NS
Triglycerides (mmol/L)	2,3 ± 1,5	1,7 ± 0,9	< 0,044	2,2 ± 1,5	2,6 ± 3,9	NS
Albumin (g/L)	42 ± 4	43 ± 4	NS	42,2 ± 5,2	43 ± 2,4	NS
Calcium (mmol/L)	2,3 ± 0,1	2,3 ± 0,1	NS	2,3 ± 0,9	2,4 ± 0,1	NS
Phosphate (mmol/L)	1,1 ± 0,5	1 ± 0,2	NS	1,1 ± 0,3	0,9 ± 0,1	<0,058(NS)
TDF treatment	61%	86,8%	<0,011	61%	86,8%	<0,011
IDV treatment	56%	63%	NS	56%	63%	NS
Age (years)	54 ± 12	51 ± 9	NS	54 ± 12	51 ± 9	NS
Gender (male)	70,7%	65,8%	NS	70,7%	65,8%	NS
BMI	23,9 ± 5	22,5 ± 1,8	NS	23,9 ± 5	22,5 ± 1,8	NS
Smoking habit	45%	44,7%	NS	45%	44,7%	NS
HTN	40%	13%	p<0,01	40%	13%	p<0,01
Dyslipidemia (clinical diagnosis)	62,5%	63,2%	NS	62,5%	63,2%	NS
DM (clinical diagnosis)	22,5%	7,9%	NS	22,5%	7,9%	NS

Valores expresados como media ± Desviación estándar (DE) a menos que se especifique lo contrario

Tabla 4 | Comparación basal Grupo 2: Subgrupo C (eGFR normal inicial, descenso a FG ≤ 60 ml/min) vs. Subgrupo D (eGFR estable > 60 ml/min).

VARIABLE	BASELINE SECTION (2008)			FINAL SECTION (2010)		
	GROUP C IMPAIRMENT eGFR 2008-2010 N=21	GROUP D STABLE eGFR > 60 ml/ min 2008-2010 N=1496	p	GROUP C IMPAIRMENT eGFR 2008-2010 N=21	GROUP D STABLE eGFR > 60 ml/ min 2008-2010 N=1480	p
Age (years)	53 \pm 11	45 \pm 8	< 0,006	53 \pm 11	45 \pm 8	< 0,006
Male Gender (%)	85,7 %	75,7%	NS	85,7 %	75,7%	NS
Urea (mmol/L)	6,8 \pm 1,8	5,8 \pm 1,5	< 0,021	8,6 \pm 2	5,6 \pm 1,5	< 0,0001
Creatinine (mmol/L)	98 \pm 14	77 \pm 13	< 0,0001	143 \pm 66	73 \pm 14	< 0,0001
Time of HIV infection (years)	14 \pm 7	15 \pm 6	NS	14 \pm 7	15 \pm 6	NS
Viral Load (copies/ml)	19054 \pm 42790	11284 \pm 71776	NS	255 \pm 590	10433 \pm 82100	<0,0001
Undetectable Viral Load (<50 copies/ml)	66,7%	76,6%	NS	66,7%	74,4%	NS
Viral Load > 400 copies/ml	28,6%	17,5%	NS	14,3%	10,8%	NS
Viral Load > 4000 copies/ml	28,6%	12,2%	< 0,037	0%	7,1%	NS
Absolute CD4 (cel/microL)	426 \pm 340	630 \pm 2081	< 0,036	432 \pm 280	617 \pm 298	< 0,009
Absolute CD4 ≤ 200 cel/microL	30%	6,9%	< 0,002	25%	6,2%	< 0,007
CD4 percentage (%)	18,4 \pm 12,6	27 \pm 10	< 0,006	19,7 \pm 11,6	29 \pm 10	< 0,002
Absolute CD8 (cel/microL)	1213 \pm 737	1057 \pm 2105	NS	1036 \pm 690	969 \pm 464	NS
CD8 percentage (%)	53 \pm 19	47 \pm 12	NS	47 \pm 17	45 \pm 12	NS
Total Lymphocytes(x10x9/L)	2,2 \pm 1,1	6,1 \pm 88	NS	2,2 \pm 1	2,1 \pm 0,7	NS
Hemoglobin (g/dL)	13,7 \pm 1,1	14,5 \pm 1,5	<0,014	13,1 \pm 2,1	14,6 \pm 1,5	<0,005
Fibrinogen (mg/dl)	416 \pm 109	340 \pm 83	<0,0001	396 \pm 108	347 \pm 100	<0,067(NS)
Glucose (mmol/L)	5,8 \pm 2,4	5,2 \pm 2,6	NS	6,2 \pm 2,9	5,2 \pm 1	<0,0001
HDL (mmol/L)	1,1 \pm 0,3	1,1 \pm 0,4	NS	1,1 \pm 0,4	1,2 \pm 0,4	NS
LDL (mmol/L)	2,8 \pm 0,9	2,5 \pm 0,8	NS	2,7 \pm 0,8	2,8 \pm 0,9	NS
Triglycerides (mmol/L)	2,6 \pm 1,6	1,8 \pm 1,4	< 0,033	2,7 \pm 1,2	1,7 \pm 1,3	< 0,003
Albúmin (g/L)	40 \pm 5	43 \pm 3,8	< 0,002	41 \pm 7	43 \pm 3,4	< 0,001
Calcium (mmol/L)	2,3 \pm 0,05	2,3 \pm 0,1	NS	2,3 \pm 0,2	2,3 \pm 0,1	NS
Phosphate (mmol/L)	1,03 \pm 0,1	1,04 \pm 0,2	NS	1,06 \pm 0,2	1,05 \pm 0,2	NS
DM (fasting glucose ≥ 7 mmol/L)	38,1%	17%	<0,019	50%	17%	<0,001
IFG (Fasting glucose $\geq 5,6$ mmol/L)	14,3%	3,4%	<0,035	20%	3,4%	<0,005
Low HDL (HDL < 1,03 mmol/L)	40%	41,3%	NS	45%	33,3%	NS
Hyper LDL (LDL ≥ 3 mmol/L)	41,2%	27,7%	NS	44,4%	38,4%	NS
hypertriglyceridemia (TG $\geq 1,7$ mmol/L)	71,4%	42,4%	< 0,013	75%	39,1%	< 0,002
HBV coinfection (%)	21,1%	22,9%	NS	21,1%	22,9%	NS
HCVcoinfection (%)	55%	38,6%	NS	55%	38,6%	NS
Positive luetic serology (%)	7,7%	7,1%	NS	7,7%	7,1%	NS
Treatment TDF(%)	52,4%	46,6%	NS	52,4%	46,6%	NS
Treatment IDV(%)	38,1%	38,3%	NS	38,1%	38,3%	NS

Figura 1 | Grupos de distribución y evolución temporal de la población



5.2. Estudio de la prevalencia de alteraciones urinarias como marcadores de enfermedad renal en pacientes con infección por VIH de nuestro medio

RESULTADOS:

Se ofreció participar en el estudio a todos los pacientes visitados en nuestra Unidad de Atención del SIDA. Un total de 37 sujetos se negaron a participar. La razón principal para rechazar fue que no tenían suficiente tiempo para completar la encuesta. Se reclutaron los primeros 1000 pacientes que asistieron a la Unidad de VIH y aceptaron participar. De éstos, 30 fueron posteriormente excluidos del análisis debido a la falta de datos. La mayoría de los 970 pacientes restantes eran blancos (94%) y hombres (76%), con una edad mediana (RIQ) de 48 (42-53) años. Antecedente de hipertensión arterial fue declarado en un 9% (en el cuestionario), pero se diagnosticó en el 19% de los pacientes mediante mediciones repetidas y posterior evaluación clínica. La dislipemia fue diagnosticada en el 27% y la diabetes mellitus en el 3%. El tratamiento con agentes antihipertensivos fue tomado por 87 pacientes (9%), agentes hipolipemiantes por 142 (4,3%) e hipoglucémicos por 26 (2,7%) (Tabla 1).

• Estimación de la tasa de filtración glomerular y clasificación según criterios KDIGO

La mediana (RIQ) FGe según la ecuación CKD EPI fue de 101 (89,5; 108,2) ml / min por 1,73 m². Según los criterios de KDIGO de 2012, los parámetros para ERC fueron normales en 507 pacientes (52,3%) (eGFR > 90 mL / min / 1,73 m² sin signos de daño renal). El estadio 1 de ERC se registró en 213 pacientes (22%, eGFR > 90 mL / min / 1,73 m² con signos de daño renal), estadio 2 en 221 pacientes (22,8%, eGFR > 60-90 mL / min / 1,73 m²) Y estadio 3 en 27 pacientes (2,8%, eGFR < 60 mL / min / 1,73 m²). Un paciente (0,1%) presentaba estadio 4 CKD (eGFR entre 15-30 mL / min / 1,73 m²), y 1 paciente (0,1%) presentó enfermedad renal en estadio 5 (eGFR < 15 mL / min / 1,73 m²) (Fig. 1).

Los datos fueron muy similares para la ecuación MDRD: 39 pacientes (4%) tenían un eGFR < 60 ml / min / 1,73 m², 1 paciente (0,1%) < 15 ml / min / 1,73 m², 1 paciente (0,1%) 15-30 ml / min / 1,73 m² y 37 pacientes (2,8%) tenían 30-60 mL / min / 1,73 m².

Tabla 1 | Características del paciente, en general y de acuerdo al grado de alteración de la proteinuria.

	Overall population N = 970	UAC ratio > 30 mg/ ga N = 58	UPC ratio > 200 mg/ga N = 75	UAC or/and UPC ratios N = 38
Gender (male), %	733 (75.6%)	58 (100%)	57 (76%)	29 (76.3%)
Ethnicity (white), n (%)	916 (94.4%)	58 (100%)	70 (93.3%)	36 (94.7%)
Age, years	48 (42;53)	44 (40;48)	47.75 (42;53)	51 (47;58.25)
BMI, kg/m ²	23.8 (21.7;25.86)	24.24 (23.18;26.04)	23.81 (21.72;25.91)	23.29 (20.71;26.16)
Diabetes, n (%)	35 (3.6%)	0	2 (2.6%)	5 (13%)
Hypertension, n (%)	189 (19.5%)	8 (14%)	14 (18.7%)	16 (42%)
Dyslipidemia	262 (27%)	8 (14%)	20 (26.6%)	12 (31.6%)
Smoking, n (%)	494 (51%)	41 (71%)	38 (50.6%)	12 (31.5%)
Hepatitis B/C co-infection, n (%)	270 (27.5%)	33 (57%)	20 (26.7%)	13 (34%)
Potentially nephrotoxic concomitant therapy, n (%)	115 (12%)	0	9 (12%)	8 (21%)
Time since diagnosis of HIV infection, years	14.95 (7.43;19.74)	9.51 (5.28;18.58)	14.87 (7.318;19.56)	16.95 (13.23;22.47)
Current CD4 + T-cell count, cells/IL	567 (402;766.25)	577 (337;708)	576 (416;771)	487.5 (290;577.5)
Nadir CD4 + T-cell count, cells/IL	214.5 (99;326)	274 (91;319)	219 (103;327)	136.5 (88.25;254)
Suppressed viral load, n (%)	811 (83.6%)	66 (85.7%)	63 (84%)	32 (84.2%)
Time on ARV treatment, months	151.3 (70.78;192.3)	90.31 (13.28;135.45)	151.39 (71.11;190.68)	168.25 (134.05;211.34)
Current use of PI, n (%)	499 (51.4%)	58 (100%)	60 (80%)	34 (89.4%)
Time on PI, months	70.85 (31.41;124.8)	43.56 (13.28;48)	71.54 (32.35;125.72)	80.97 (25.75;144.69)
Current use of TDF, n (%)	491 (50.6%)	19 (43%)	34 (45%)	20 (52.6%)
Time on TDF, months	32.75 (17.63;49.71)	23.60 (19.56;38.46)	32.81 (17.88;49.81)	30.51 (14.59;42.97)

ARV, antirretroviral; IMC, índice de masa corporal; IQR, rango intercuartil; N, número de pacientes; PI, inhibidores de proteasa; TDF, tenofovir; Relación UAC, relación de creatinina albúmina de orina; UPC, relación de la creatinina de la proteína de la orina. Los datos se expresan como la mediana (IQR) a menos que se indique lo contrario.

^aGrados de UAC o UPC son independientes del FGe.

• Signos de daño renal según filtrado glomerular estimado (FGe)

En general, se presentaron signos de daño renal (Pr/Cr urinario anormal, EUA, hipofosfatemia, glucosuria, hematuria o todos) en 311 de los pacientes (32%). Con respecto al FGe, de los 29 pacientes con FGe (CKD-EPI) <60 mL / min / 1,73 m², 18 (62%) presentaron signos de daño renal.

De los pacientes con FGe > 60 mL / min / 1,73 m², el daño renal estaba presente en 297 (30%). De hecho, en el caso de una función normal (FGe > 90 ml / min / 1,73 m²), hay signos de daño renal en 213 pacientes de 720 (29,6%). Específicamente, en 75 (7,8%) y 58 (6%) pacientes se detectó una relación Pr/Cr urinaria (proteinuria medida según cociente proteína/Creatinina en orina) o EUA (Excreción urinaria de albúmina medida según cociente Albúmina/Creatinina en orina) anormal (Pr/Cr > 200 mg / g y / o EUA > 30 mg / g).

Considerando sólo aquellos pacientes con relaciones PR/Cr o EUA anormales, los valores medianos para las relaciones albúmina / creatinina y proteína / creatinina fueron 54,8 (38,7; 91,05) mg / gy 309 (246,470) mg / g, respectivamente.

Fig 1 | Diagrama de flujo. EGFR: tasa de filtración glomerular estimada; Daño renal: alteración de las relaciones albúmina / creatinina y proteína / creatinina (relación Pr/Cr o EUA), o presencia de glucosuria, hematuria o hipofosfatemia; Relaciones Pr/Cr o EUA: proteinuria urinaria / creatinina o relaciones albuminuria / creatinina.

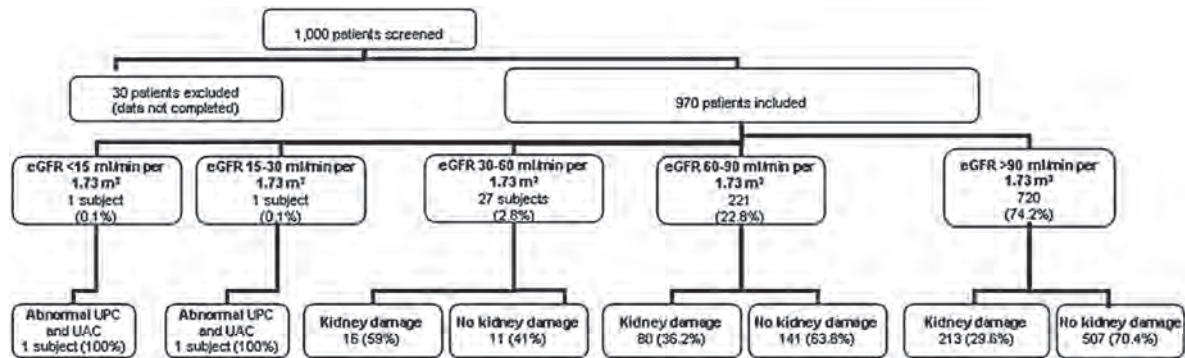


Tabla 2 | Modelo de Regresión Logística.

	Univariate		Multivariate	
	Odds ratio [95%CI]	p Value	Odds ratio [95%CI]	p Value
First model. Factors related with altered eGFR and/or abnormal UPC or UAC				
Age (per 1 year of increase)	1.017 [1.00343;1.03082]	0.014	1.015 [1.001;1.030]	0.040
Hypertension (yes vs. no)	1.852 [1.337; 2.564]	< 0.001	1.821 [1.292;2.564]	0.001
Hepatitis coinfection (yes vs. no)	1.414 [1.066098;1.876173]	0.016		
BMI < 18.5 or > 30 kg/m ² (yes vs. no)	2.169 [1.373626;3.436426]	0.001	2.1277 [1.335;3.39]	0.001
Current TDF use (yes vs. no)	1.348 [1.04603;1.7331]	0.021		
Use of NRTIs (yes vs. no)	1.335 [1.030928;1.730104]	0.028		
Use of TDF plus PIs (yes vs. no)	1.335 [1.037344;1.718213]	0.025	1.401 [1.078;1.8215]	0.012
Current CD4 cell count	0.99945 [0.999016;0.99989]	0.014	0.9995 [0.9991;0.9999]	0.035
Exercise (1 or more hours per week)	0.6238 [0.48403;0.80386]	< 0.001		
Second model. Factors related to proteinuria > 300 mg/g				
Age (per 1 year of increase)	1.060 [1.021;1.101]	0.002		
Hypertension (yes vs. no)	3.236 [1.516;6.924]	0.002	2.91 [1.339;6.329]	0.007
Diabetes mellitus (yes vs. no)	5.242 [1.697;16.194]	0.004	4.051 [1.270;12.919]	0.018
Time on antiretroviral treatment	1.0002469 [1.0000538;1.0004399]	0.012		
Nadir CD4 cell count	0.997 [0.994;0.9996]	0.027		
Current use of Darunavir	3.404 [1.021;11.351]	0.046		

IMC, índice de masa corporal; EGFR, tasa de filtración glomerular estimada; PI, inhibidor de proteasa; NRTI, inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa; TDF, tenofovir; UPC, relación proteína / creatinina de orina; UAC, relación de albúmina / creatinina de orina.

Setenta y siete pacientes (8%) tuvieron una relación de EUA <30 (mediana [IQR], 0,9 [0,07; 10]) mg / g, y 38 pacientes (4%) tuvieron relaciones PR/Cr o EUA > 300 (467 [351; 887,75]) mg / g.

• Factores relacionados

La regresión logística se realizó en dos casos: alteración de la FGe y / o ratio anormal de Pr/Cr o EUA ; Y FGe normal en caso de proteinuria > 300 mg / g.

Los resultados de los análisis uni y multivariante se resumen en la Tabla 2.

La regresión multivariante del primer modelo mostró asociaciones entre un riesgo aumentado de relaciones Pr/Cr o EUA anormales y: hipertensión [OR 1,821, (95% IC: 1,292; 2,564), p= 0,001], edad [por 1 año, OR 1,015, (95% IC 1.001; 1.030), p = 0.040], IMC por debajo de 18 o superior a 30 kg / m² [OR 2,127, (95% IC: 1,335; 3,39), p = 0,001] y uso de TDF más PI, [OR 1,401, (95% IC: 1,078; . El recuento de células CD4 actuales [por una célula de aumento, OR 0,9995, (95% IC 0,9991; 0,9999), p = 0,035] era un factor protector. En el análisis multivariado del segundo modelo, las únicas variables asociadas con proteinuria > 300 mg / g fueron diabetes mellitus (p = 0,018) e hipertensión arterial (p = 0,007).

El análisis de regresión logística basado en la ecuación MDRD reveló factores de riesgo similares al análisis basado en la ecuación CKD-EPI (datos no mostrados).

5.3. Estudio del efecto del tratamiento antirretroviral sobre la función renal en pacientes con infección por VIH de nuestro medio

RESULTADOS:

De los 377 pacientes incluidos, 104 (29,4%) recibieron regímenes con lopinavir / ritonavir, con y sin TDF, en 28 y 76 casos, respectivamente; 177 pacientes (50%) recibieron darunavir / ritonavir, con y sin TDF, en 68 y 99 casos; y 73 (20,6%) estaban recibiendo atazanavir / ritonavir, con y sin TDF, en 30 y 43 casos, respectivamente. Sólo 23 pacientes recibían atazanavir no potenciado sin TDF en todos los casos.

Tabla 1 | Características de los pacientes incluidos.

Gender (male), n, %	282 (75%)
Ethnicity (white), n, %	358 (95%)
Age, years	47.45 (43–51.8)
Diabetes, n, %	11 (3%)
Hypertension, n, %	32 (8.6%)
Smoking, n, %	204 (54%)
Hepatitis B/C coinfection, n, %	119 (31.6%)
Potentially nephrotoxic concomitant therapy, n, %	47 (12.5%)
Time since diagnosis of HIV infection, years	17.3 (12–21.5)
Current CD4 + T-cell count, cells/mL	553 (396–779)
Nadir CD4 + T-cell count, cells/mL	181 (92–276.5)
Suppressed viral load, n, %	323 (85.6%)
Time on ARV treatment, months	171 (108–209.6)
Time on PIs, months	103.2 (62–144)
Time on TDF, months	32.3 (17.8–49.7)
Time on ATZ (without TDF), months	17.5 (7.3–28.3)
Time on ATZ + TDF, months	32.5 (8.4–45.2)
Time on LPV (without TDF), months	28.9 (15.6–41.9)
Time on LPV + TDF, months	44.1 (25.7–54.7)
Time on DRV (without TDF), months	16.1 (9.6–25.4)
Time on DRV + TDF, months	16.5 (9.9–33.5)

Los datos se expresan como la mediana (IQR) a menos que se indique lo contrario. ARV = antirretroviral, ATZ = atazanavir, DRV = darunavir, IQR = intervalo intercuartílico, LPV = lopinavir, n = número de pacientes, PI = inhibidor de la proteasa, TDF = tenofovir.

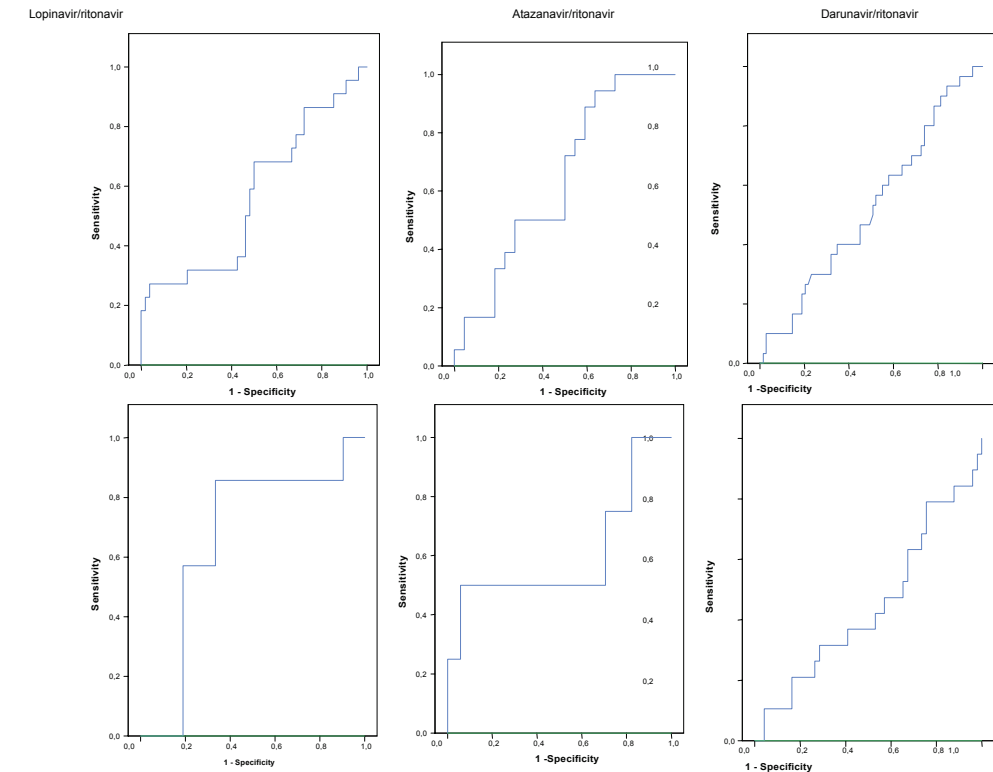
Las características demográficas y clínicas de los pacientes y el tiempo en el IP específico se muestran en la Tabla 1. Se recolectaron fármacos potencialmente nefrotóxicos: inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueadores de los receptores de angiotensina, ciclosporina, fármacos antiinflamatorios no esteroideos y tacrolimus. Después de una mediana (intervalo intercuartílico) de tiempo en el PI de 103 (62-144) meses, el porcentaje de pacientes que cumplían los criterios de lesión renal (como se definió anteriormente) fue 27,7% para darunavir (27,9% con y 30,3% sin TDF), 27,9% para lopinavir (25% con y 29% sin TDF) y 30% para atazanavir (20% con y 45% sin TDF). No se observaron diferencias estadísticamente significativas cuando se comparó cada IP con y sin TDF. Del mismo modo, no se observaron diferencias significativas cuando se compararon todos los IP con TDF y sin TDF.

En general, la alteración de la relación proteína / creatinina y / o albúmina / creatinina urinarias fue la alteración más frecuente detectada (65% de todas las alteraciones).

El análisis de la curva ROC (Fig. 1) mostró un tiempo estimado de lesión renal de 229 días para atazanavir / ritonavir cuando se usó sin TDF (sensibilidad, 0,89, especificidad 0,41 y AUC, 0,639), 332 días cuando se administró con TDF (sensibilidad 0,75, especificidad 0,29 y AUC 0,603) y 318 días cuando se administró atazanavir no potenciado sin TDF (sensibilidad 0,89, especificidad 0,29 y AUC 0,581).

El tiempo hasta la lesión renal fue de 478 días para lopinavir / ritonavir sin TDF (sensibilidad 0,864; especificidad 0,44 y AUC 0,566) y 1339 días para lopinavir / ritonavir más TDF (sensibilidad, 0,86, especificidad 0,77 y AUC 0,667).

Figura 1 | ROC está utilizando las principales características discriminatorias del tiempo en la exposición de diferentes IPs para clasificar a los individuos que han desarrollado una lesión renal o que no han desarrollado una lesión renal. (A) IPs potenciados sin TDF; (B) IPs potenciado más TDF. PI = inhibidores de proteasa, ROC = característica de funcionamiento del receptor, TDF = tenofovir).



El tiempo estimado para la lesión renal fue de 283 días para darunavir / ritonavir sin TDF (sensibilidad, 0,80, especificidad, 0,261 y AUC, 0,523) y 286 días para darunavir / ritonavir más TDF (Sensibilidad, 0,789, especificidad, 0,245 y AUC, 0,446).

El único factor en el análisis de regresión logística que se asoció con una disminución en el riesgo de anomalías renales fue el uso actual de lopinavir / ritonavir sin TDF (odds ratio = 1,772; IC del 95%: 1,070-2,93; P = 0,026). No se establecieron otras correlaciones.

5.4. Estudio metodológico de la obtención de muestras y su procesamiento para realización de peptidoma en plasma de pacientes con infección por VIH:

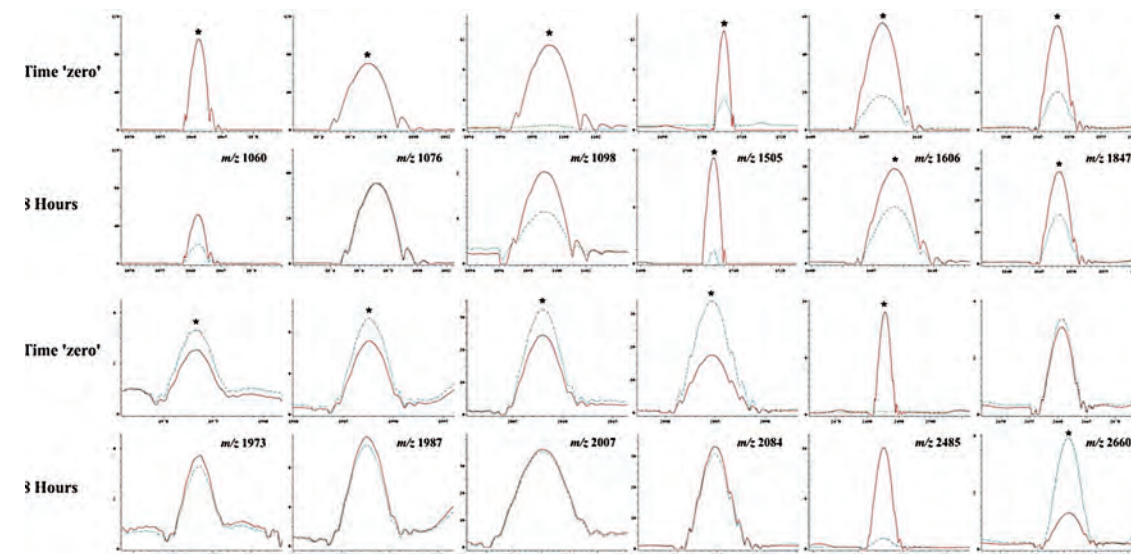
RESULTADOS:

Nuestros resultados mostraron que en el grupo de entrenamiento, el perfil peptídico de las muestras de sangre recogidas en tubos de EDTA permaneció sin cambios durante la primera hora. Después de 2 horas se observaron cambios sustanciales; Picos m/z 1,098.67, 1,505.06, 1,606.81, y 2,660,35 mostraron una disminución de área con respecto a las mismas muestras congeladas en el tiempo "cero", mientras que el área de picos m/z 1,740,92, 1,882.25 y 1,897.00 aumentó. Después de 4 h, el área de pico m/z 2,428,30 disminuyó. Después de 8 h, el área de picos m/z 1,973,13, 1,987,70, 2,007,94 y 2,084,25 aumentó. Cuando se recogió sangre en tubos P100, el área de picos con m/z 1,740,92, 1,882.25 y 2,428,30 aumentó o disminuyó de la misma manera y en la misma hora después de la flebotomía que cuando se usaron tubos EDTA. Otros picos mostraron el mismo cambio pero en un momento diferente. Algunos picos aumentaron cuando se usaron tubos P100 pero se mantuvieron estables en tubos EDTA (m/z 1,060.73, 1,076.74, 1,847.10, 2,485.32 y 2,862.57).

Estos picos fueron más altos en el tiempo "cero" en muestras recogidas en tubos EDTA, y este cambio se observó también después de 4 h, tanto en grupos de entrenamiento como de validación. Ocho picos se mantuvieron estables cuando se recogió sangre en tubos P100. El pico m/z 1,060.73, identificado como bradiquinina, mostró mayor área en el tiempo "cero", y después de 1, 2 y 4 horas cuando las muestras se recogieron en tubos EDTA, en comparación con los tubos P100. Estos resultados coinciden con los obtenidos en los grupos de validación (Tabla Suplementaria S2). Después de 8 h, no se observaron diferencias en el área de este pico dependiendo del tubo de recogida (Figura 1).

Los picos m/z 1,098.67 y 1,505,06, identificados como fragmentos de complemento C3f, mostraron mayor área al utilizar tubos EDTA (Fig. 1). Estas diferencias se observaron con el tiempo y también se detectaron en ambos grupos de validación. En el tiempo "cero", pico m/z 1,897,00, identificado como fragmentos de complemento C4-A, mostró mayor área al usar tubos EDTA. El área de picos m/z 1,973.13, 1,987.70, 2,007.94 y 2,084.25 en el momento "cero" fue mayor en muestras recogidas en tubos P100.

Figura 1 | Área de pico media, en el eje vertical (unidades arbitrarias, AU), de señales peptídicas m/z 1.060, 1.076, 1.098, 1.505, 1.367, 1.606, 1.847, 1.897, 1.973, 1.987, 2.007, 2.084, 2.485, 2.660 y 2.862, cuando la sangre de sujetos del grupo de entrenamiento se recogió en tubos EDTA (líneas continuas) o P100 (líneas punteadas) y cuando las muestras fueron procesadas en el momento "cero" o 8 horas después de la flebotomía. La prueba no paramétrica de Wilcoxon se realizó para determinar las diferencias entre las muestras de sangre recogidas en tubos EDTA y P100. * P-valor <0,05.



5.5. Estudio de la relación entre enfermedad renal, hallazgos histológicos y patrón de peptidoma en plasma y orina de pacientes con infección por VIH

RESULTADOS:

Se seleccionaron un total de 55 pacientes con infección por VIH.

Se les realizó análisis de peptidoma plasmático a la totalidad del grupo de estudio. Se realizó análisis de peptidoma urinario a 33 de estos pacientes.

La población de estudio presentaba edad media de 49 ± 10 años, el 87% eran hombres. EL 33% presentaba FG < 60 ml/min, con cociente ALb/Cr urinario medio de 98 ± 195 mg/gr y cociente prot/ Creat medio de 605 ± 880 mg/gr. EL tiempo medio de tratamiento ARV fue de $10,5 \pm 6,5$ años, el 35,2% bajo tratamiento con TDF al momento del estudio. El 15% presentaban DM, el 21% HTA (ver tablas 1 y 2).

El grupo control (n =16) presentaba edad media de 37 ± 13 años, el 62,5% eran mujeres. Ambos grupos mostraban diferencias significativas en edad media y distribución por género (tabla 3).

Tabla 1 y 2 | Características generales de la muestra de pacientes con infección por VIH

Tabla 3 | Características del grupo control

Variable	% / media \pm DS	Variable	% / N
Edad media	49 ± 10 años	Carga viral media	3615 ± 12564
Género	Masculino 87%	CD4 media	316 ± 314
Talla media	168 ± 10 cm	CD7 media	985 ± 597
Peso medio	$68 \pm 11,7$ kg	Media linfocitos totales	$2,16 \pm 1 \times 10^9$
Fge < 60 ml/min (CKD-EPI)	33,3%	Media proteínas totales	72 ± 7 gr/dl
Creatinina media	128 ± 129 mmol/L	Media Albúmina	$42,8 \pm 4,1$ gr/dl
Alb/Crat urinaria Media	98 ± 195 mg/gr	Media Fibrinógeno	409 ± 133 mg/dl
	< 30 mg/gr	Colesterol Total	$5,03 \pm 1,25$ mmol/L
	7,4%	LDL	$1,29 \pm 0,5$
	14,8%	HDL	$1,29 \pm 0,5$
	7,4% (sólo disponibles datos de 16)	Glucosa	$5,2 \pm 0,9$ mmol/L
Prot/crat urinaria media	605 ± 880 mg/gr		
Prot/Cr > 200	42%		
DM	15%		
HTA	21%		
TAS media	133 ± 21 mmHg		
TAD media	82 ± 14 mmHg		
DLP	18,5%		
VHC	22%		
VHB	3,7%		
Fcos Nefrotóxicos	5,6%		
Fumadores o ex-fumadores	25%		
TRATAMIENTO			
Tiempo medio de tratamiento AEV	$10,5 \pm 6,5$ años		
Tiempo medio de tratamiento con IP	4 ± 4 años		
Tiempo medio de tratamiento con TDF	2 ± 2 años		
Tiempo medio de tratamiento con TDF > 1 mes	71,4%		
Tratamiento con TDF actual	35,2%		

Controles Sanos		N: 16
Edad media		37 ± 13 años
Género		62,5% mujeres

• Identificación de péptidos:

Se obtuvieron un total de 38 señales de péptidos urinarios válidas de los pacientes con infección por VIH, así como 29 señales de péptidos válidas de los pacientes en el grupo control.

De estos péptidos detectados, se realizó identificación con éxito de 4 péptidos correspondientes a alfa-1 antitripsina (A1AT): m/z 1945, 2377, 2392 y 4012, un péptido correspondiente a uromodulina (UMOD): m/z 1913 y dos péptidos correspondientes a albúmina (ALB): m/z 1831 y 2542.

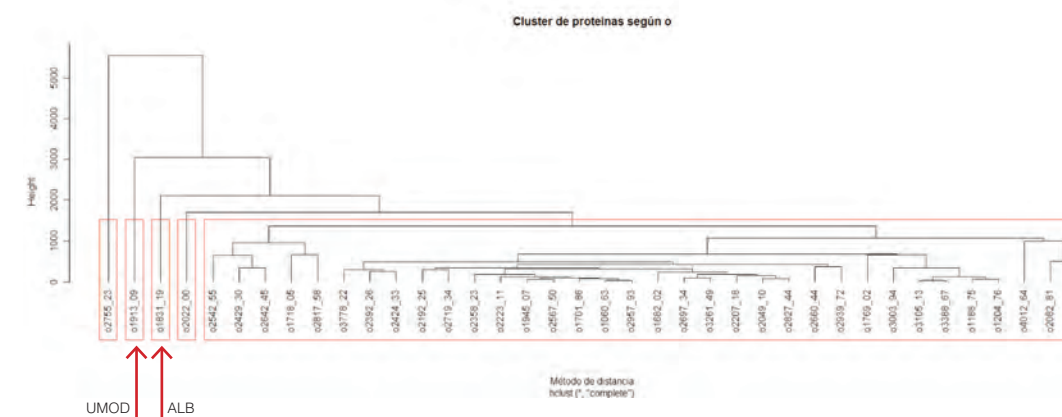
• Exploración a través del método de "CLUSTERS":

Se realizó a través del método de agrupación por clusters, una exploración de la totalidad de péptidos obtenidos, con la finalidad de valorar cuáles de estos péptidos podrían discriminar y diferenciar de forma más precisa y significativa los pacientes de la muestra.

Se realizó un primer análisis por clusters de todos los pacientes incluidos en el estudio (pacientes con infección por VIH y pacientes controles sanos), incluyendo los péptidos en orina obtenidos.

Se obtuvo que tanto el péptido o1913, Uromodulina, como el péptido o1831, Albúmina, mostraban capacidad muy destacada de caracterizar la muestra (ver figura 1).

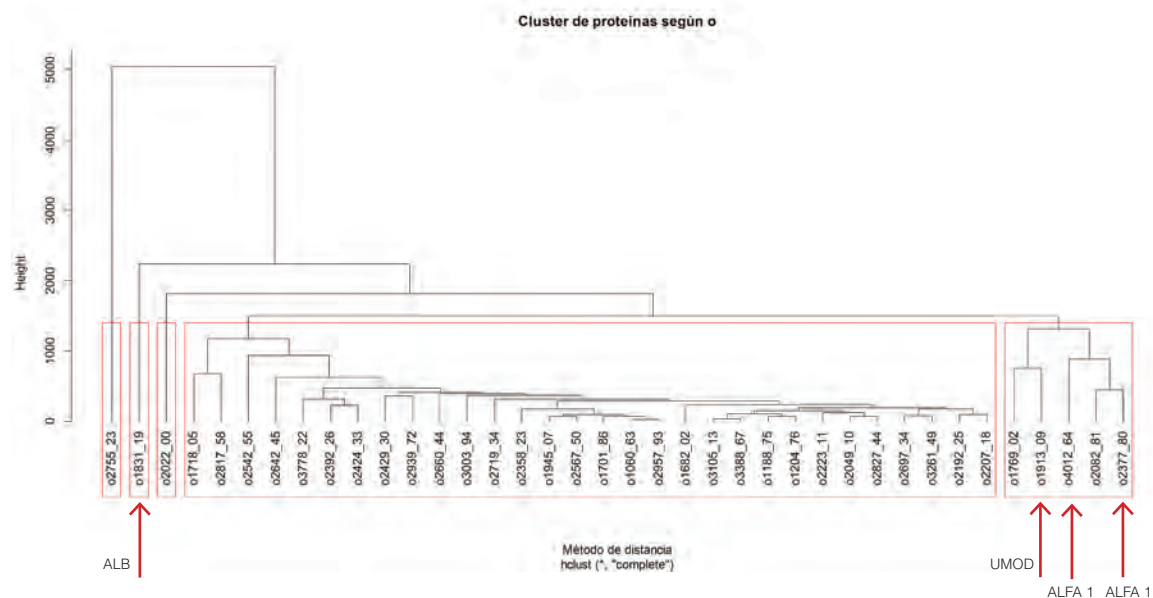
Figura 1 | Cluster de péptidos urinarios para toda la muestra.



Se realizó asimismo un análisis por clusters según los péptidos urinarios obtenidos de aquellos pacientes con infección por VIH.

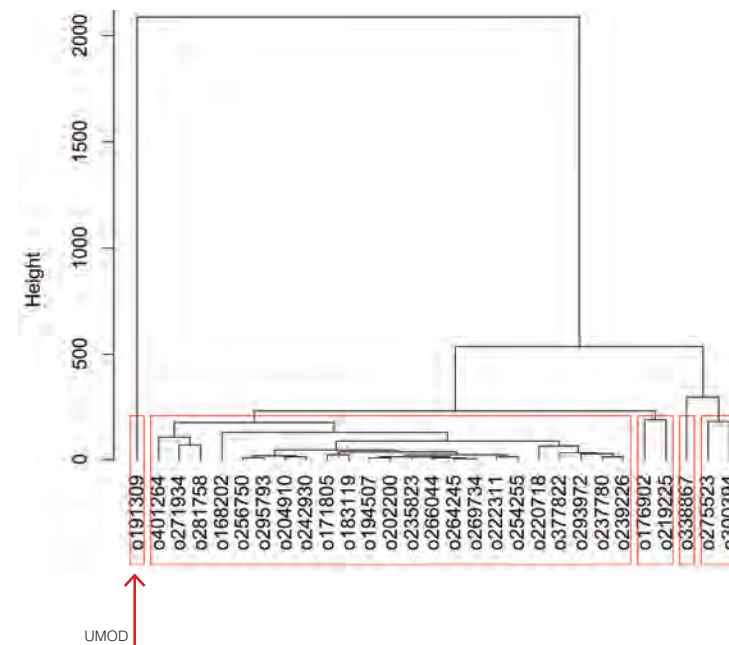
Se obtuvo el péptido o1831, albúmina, como uno de los marcadores de mayor caracterización de la muestra. Asimismo, se obtuvo un grupo de 5 péptidos, entre los cuales se encontraban 1 péptido de uromodulina (o1913) y 2 péptidos de Alfa-1-antitripsina (o4012 y o2377), que definían un cluster de forma agrupada que también mostraba elevada capacidad de diferenciación de los pacientes según sus valores. (ver Figura 2)

Figura 2 | Cluster de péptidos urinarios para los pacientes con infección por VIH.



Finalmente, se realizó un análisis por clusters según los péptidos en orina objetivados en las muestras de los pacientes controles sanos. Se objetivó que el péptido o1913, Uromodulina, constituye un cluster principal para la diferenciación entre pacientes de este grupo (Ver figura 3).

Figura 3 | Clúster según péptidos urinarios para el grupo controles sanos.



• Comparativa peptidoma urinario VIH + vs. Controles sanos:

Se obtuvieron de los 33 pacientes VIH + incluidos, un total de 38 señales de péptidos válidas. Los pacientes del grupo control obtuvieron 29 señales de péptidos válidas.

DE estos péptidos detectados, se realizó identificación con éxito de 4 péptidos correspondientes a alfa-1 antitripsina (A1AT): m/z 1945, 2377, 2392 y 4012, un péptido correspondientes a uromodulina (UMOD): m/z 1913 y dos péptidos correspondientes a albúmina (ALB): 1831 y 2542.

De los 29 péptidos con señal detectada en ambos grupos, mostraron diferencias significativas en su intensidad 21 de ellos.

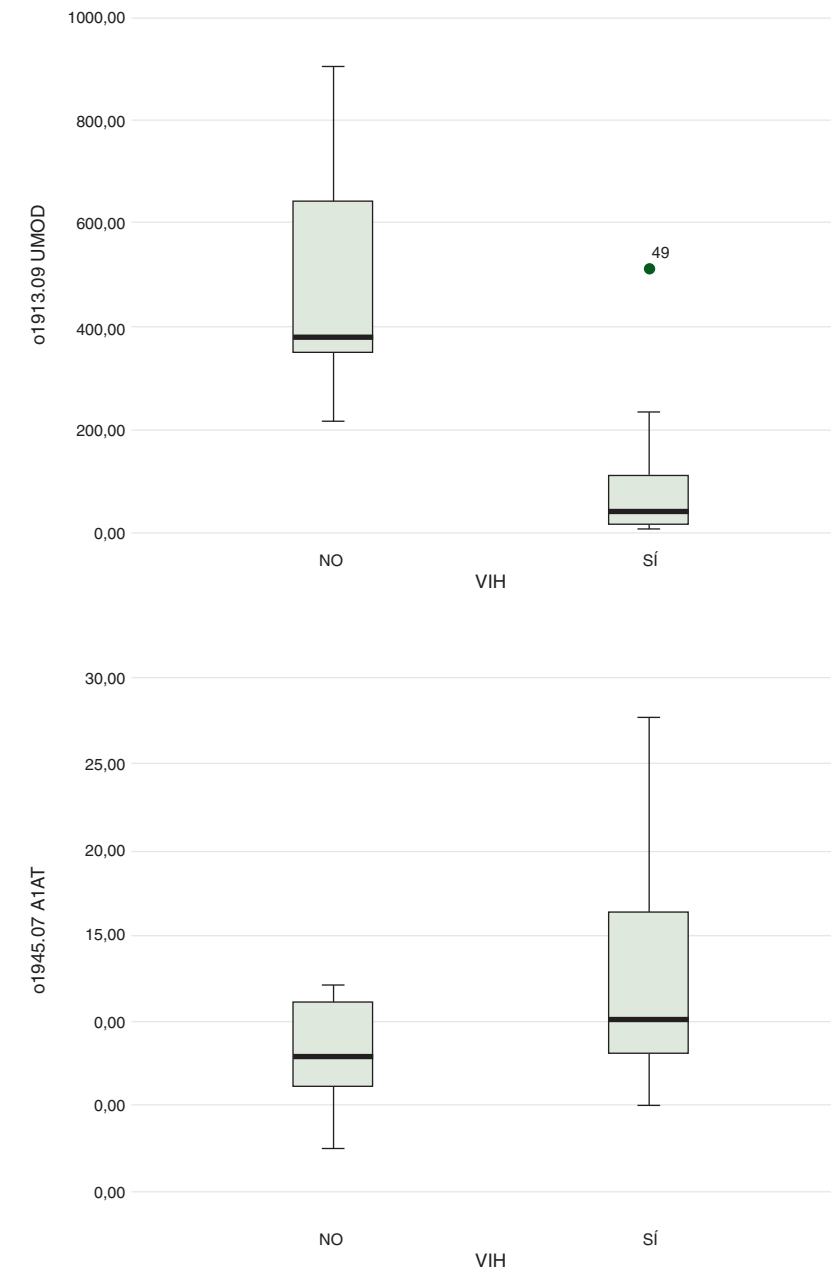
Los pacientes VIH + mostraron mayor intensidad de señal en todos los péptidos marcadores de A1AT(m/z 1945, 2377, 2392 y 4012), en ambos péptidos de ALB (1831 y 2542.) y menor intensidad en el péptido de UMOD (m/z 1913) que el grupo control, en todos los casos de forma estadísticamente significativa (Ver tabla 4 y tabla 5).

PEPTIDOS URINARIOS	PACIENTES VIH + (N: 55)	CONTROLES SANOS (N: 16)	VALOR P
o168202	32,6 ± 24,8	27,6 ± 20	NS
O171805	69,9 ± 142,9	7,8 ± 4,3	0,0001
O176902	52,2 ± 67,3	43,6 ± 28	NS
O183119 ALB	90,5 ± 224,2	11,6 ± 6	0,006
O191309 UMOD	85,3 ± 102,1	486 ± 199,9	0,0001
O194507 A1AT	12,5 ± 6,1	8,2 ± 2,7	0,018
O202200	44,5 ± 194,7	8,1 ± 3,8	0,024
O204910	20,9 ± 11,2	5,6 ± 2,8	0,0001
O219225	26,7 ± 15,1	41,6 ± 29	NS
O220718	29,7 ± 18,2	19 ± 14,2	0,01
O222311	16,2 ± 10,9	8 ± 4	0,0001
O235823	20,1 ± 14,8	6,7 ± 2,1	0,0001
O237780 A1AT	48,4 ± 24,1	15,4 ± 3,1	0,0001
O239226	38,9 ± 47,8	14,5 ± 3,5	0,0001
o242930	24,7 ± 35,3	4,5 ± 1,8	0,0001
O254255 ALB	56,7 ± 116	10,7 ± 3,8	0,0001
O256750	7,6 ± 7	1,7 ± 0,9	0,0001
O264245	26,8 ± 71,8	5,4 ± 1,4	0,0001
O266044	38,6 ± 37,2	6,8 ± 3	0,0001
O269734	28,6 ± 17,7	5,7 ± 2,7	0,0001
O271934	30,1 ± 32,4	24 ± 13,3	NS
O275523	357,7 ± 571,1	97,3 ± 67,1	NS
O281758	72,5 ± 105,8	39,8 ± 19,9	NS
O293972	41,7 ± 31,5	18,9 ± 4,8	0,001
O295793	1,2 ± 0,4	1,6 ± 2	NS
O300394	29,3 ± 9,8	122,4 ± 59	0,0001
O338867	15,3 ± 3	121,4 ± 52,9	0,0001
O377822	29,6 ± 42	19,6 ± 6,3	NS
O401264 A1AT	59,7 ± 118,1	43,1 ± 13,3	0,013

Debido a que los pacientes controles sanos presentaban una edad media estadísticamente inferior al grupo de pacientes con infección por VIH, se decidió realizar un análisis comparativo del peptidoma en orina ajustándolo por edad, seleccionando sólo en cada grupo aquellos sujetos con edad inferior a 40 años (11 sujetos en grupo control vs. 10 sujetos en grupo VIH +).

En esta ocasión, se obtuvieron diferencias significativas en 3 péptidos urinarios. De ellos, el péptido de Uromodulina o191309 mostró mayor intensidad en los pacientes sanos (543 ± 218 vs. 86 ± 87 , $p < 0,026$) y el péptido de A1AT o23777 mostró mayor intensidad en los pacientes con infección por VIH (366 ± 481 vs. 14 ± 2 , $p < 0,026$).

Este análisis confirma la solidez de las diferencias observadas entre la intensidad de UMOD y A1AT al comparar pacientes sanos con pacientes con infección por VIH, no viéndose influenciado por la edad de los sujetos.



• Comparativa peptidoma urinario VIH + FG < 60 vs. FG ≥ 60 ml/min

Se decidió realizar una comparativa sobre los 33 pacientes de los que se obtuvo peptidoma urinario entre aquellos con FG < 60 ml/min vs. FG > 60 ml/min, para determinar si el patrón urinario de los pacientes podría mostrar diferencias según la afectación de función renal y ser por tanto marcador de enfermedad renal.

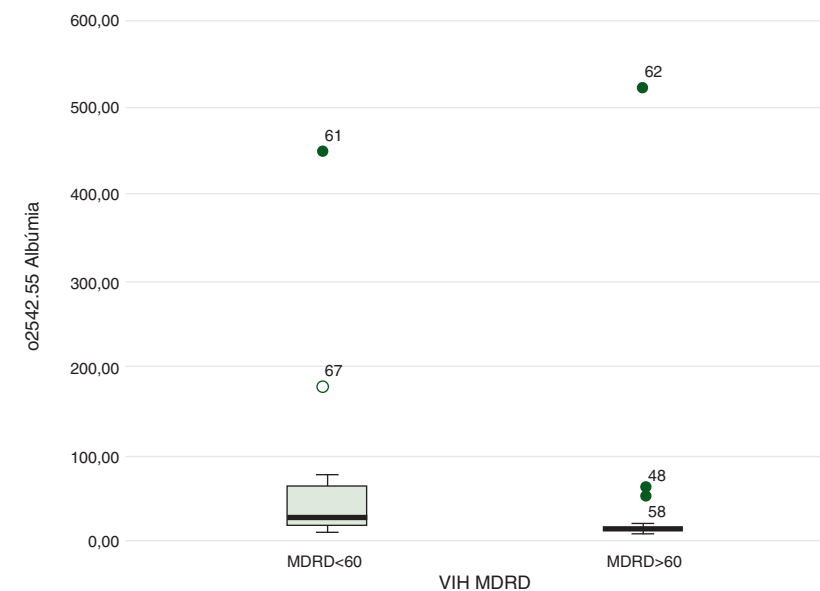
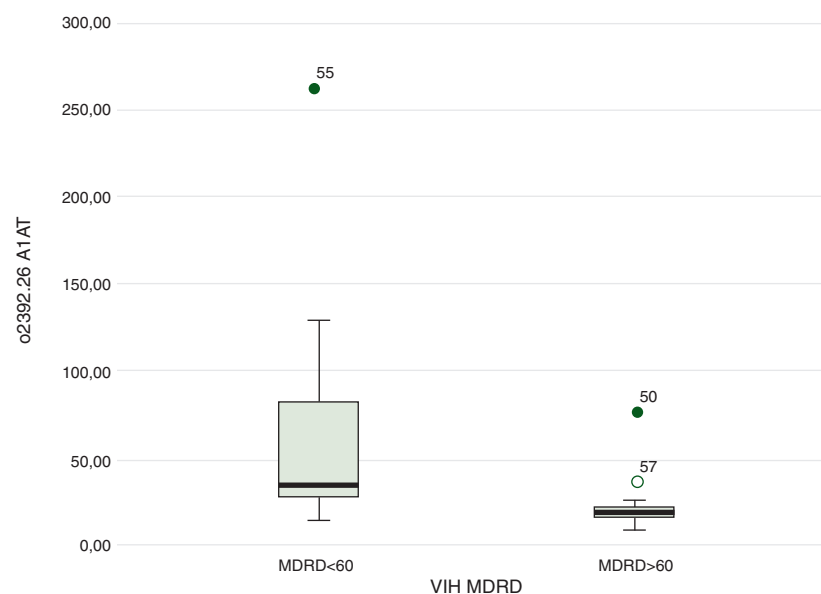
EL grupo de 33 pacientes presentaba una edad media de 51 ± 9 años, IMC medio 24,3 ± 3, TA media 136 ± 21 / 84 ± 14 mmHg, tiempo de tratamiento ARV 11 ± 6,5 años, tiempo de IP 5 ± 4,5 años, tiempo de TDF 1,8 ± 1,7 años. Media CD4 542 ± 347 cels/m³, CD8 1077 ± 709 cels/m³, carga viral (CV) 4406 ± 14407 copias, Creatinina media 155 ± 156 mmol/L, albumina media 42 ± 4 g/L, proteinuria (prot/Cr) 1,7 ± 2,9 g/d, albuminuria (ALb/Cr) 569 ± 1400 gr/dl, fibrinógeno 420 ± 132 mg/dl.

Este subgrupo de pacientes a los que se les realizó peptidoma en orina, presentaban de forma significativa al compararlos con los otros 21 pacientes con infección por VIH a los que no se les realizó análisis peptídico urinario, mayores cifras de TA, mayor proteinuria y mayor microalbuminuria, sin diferencias en el resto de variables estudiadas.

Entre aquellos 33 pacientes de los que se obtuvo peptidoma urinario, 14 presentaban FG < 60 ml/min vs. 19 pacientes con FG > 60 ml/min.

Los 14 pacientes con FG < 60 ml/min presentaban de forma significativa mayor prevalencia de HTA (50% vs. 15%, p < 0,042), menor IMC (22 ± 2 vs. 25 ± 3, p < 0,0001), mayor Cd8 totales (1375 ± 828 vs. 874 ± 548, p < 0,0001), mayor CD8 porcentaje (55 ± 13 vs. 40 ± 12 %, p < 0,0001), y mayor creatinina (256 ± 202 vs. 80 v 13 mmol/L). No mostraron diferencias en el resto de variables.

En cuanto al análisis estadístico, se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en 13 péptidos urinarios. Entre ellos, los pacientes con FG < 60 ml/min presentaron niveles más elevados de A1AT en 2 péptidos: o2392 (61 ± 66 vs. 22 ± 14) y o4012 (77 ± 148 vs. 47 ± 91), así como niveles más elevados de un péptido de Albúmina o2542 (72 ± 117 vs. 44 ± 116).



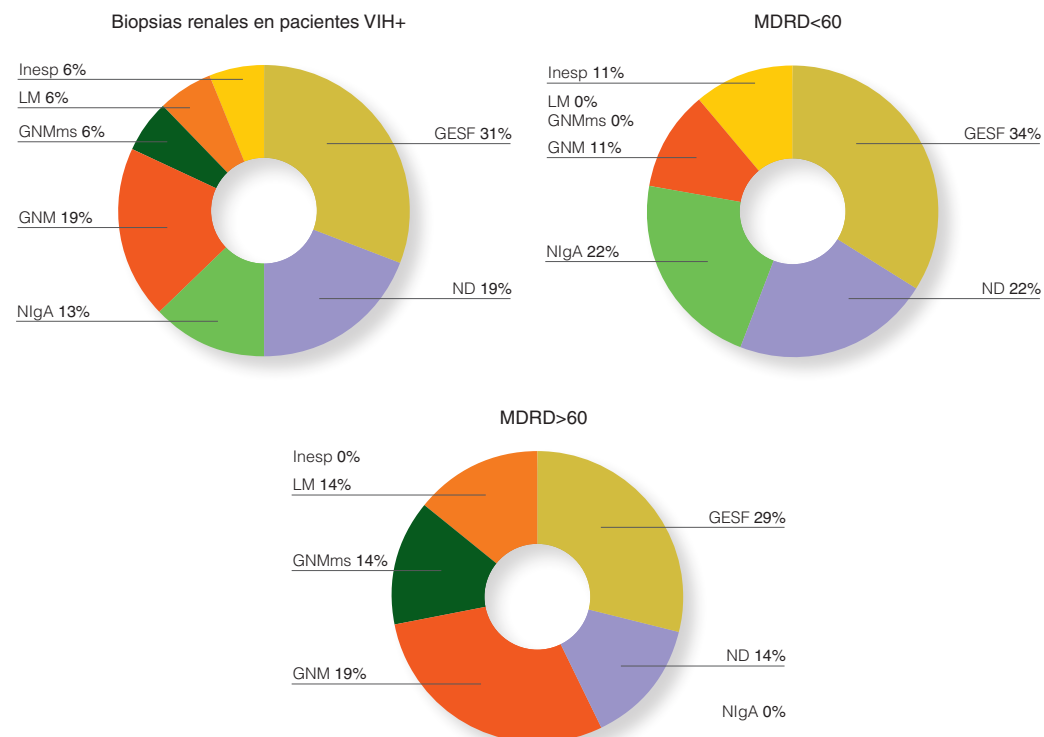
• Pacientes que recibieron BIOPSIA RENAL

Se realizó biopsia renal según criterios predeterminados un total de 17 pacientes. De ellos, en 1 caso no se obtuvo muestra suficiente para diagnóstico anatómico-patológico satisfactorio. En otro caso, aunque sí se obtuvo diagnóstico (Nefropatía por IgA), no se obtuvo muestra para análisis de peptidoma en orina del paciente, por lo que finalmente se consideraron un total de 15 biopsias renal con análisis peptídico urinario correcto disponible para el estudio.

De ellos, 8 pacientes (53,3%) presentaban FG < 60 ml/min.

EL diagnóstico más frecuente fue glomerulosclerosis segmentaria y focal (GESF), en 5 pacientes, y glomerulonefritis membranosa (GNM) en 4 pacientes (ver gráficas 1, 2 y 3 y tabla 6).

Dx	FGe < 60 ml/min	FGe > 60 ml/min	TOTAL
GEFyS	3	2	5
GN MEMBR	2	2	4
ND	2	1	3
GN Mesangial	0	1	1
IgA	1	0	1
Cambios Min	0	1	1



Se comparó el perfil peptídico urinario de los pacientes biopsiados (15) vs. El resto de pacientes VIH + con peptidoma urinario efectuado (18).

Comparando ambos grupos según todas las variables, sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la proteinuria por cociente, mayor en los pacientes biopsiados ($2,8 \pm 3,4$ vs. $0,9 \pm 2,1$ g/día).

En cuanto al perfil peptídico, los pacientes biopsiados mostraron de forma estadísticamente significativa diferencias en las mediciones de 8 péptidos, entre ellos, mayor intensidad de un péptido de A1AT: o 2392 (58 ± 67 vs. 24 ± 15 , $p < 0,04$), mayor intensidad de un péptido de Albúmina o 2542 (101 ± 162 vs. 19 ± 16 , $p < 0,004$), así como menor intensidad de UMOD rozando la significación estadística (46 ± 43 vs. 117 ± 125 , $p < 0,06$).

Asimismo, entre el subgrupo de pacientes biopsiados, se compararon en base al FGe al momento de la biopsia: los 8 pacientes con $FG < 60$ ml/min vs. 7 pacientes con ≥ 60 ml/min.

Los primeros presentaban de forma estadísticamente significativa menor tiempo total de tratamiento con TDF (111 ± 202 vs. 1052 ± 799 días, $p < 0,011$), mayor colesterol total ($6,5 \pm 1,5$ vs. $4,9 \pm 0,9$ mmol/L, $p < 0,014$), mayor triglicéridos ($2,8 \pm 1,6$ vs. $1,2 \pm 0,5$ mmol/L, $p < 0,017$) y mayor determinación de porcentaje de CD8 (60 ± 12 vs. 37 ± 12 %, $p < 0,0007$).

Por otro lado, los pacientes biopsiados con $FG < 60$ ml/min presentaron además menor porcentaje de tratamiento con TDF más de 2 meses rozando la significación estadística (25 vs. 85%, $p > 0,051$).

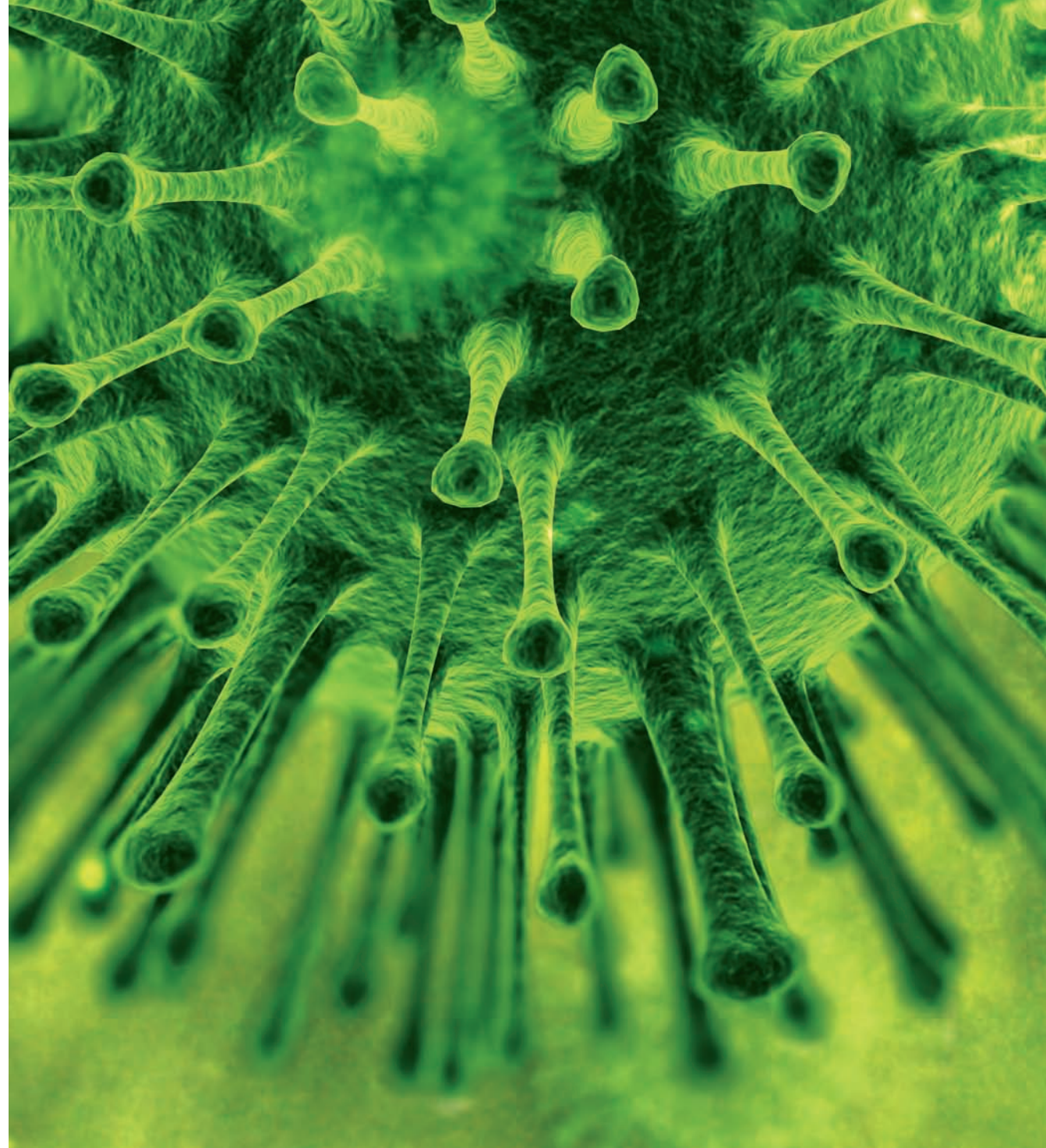
En cuanto al perfil peptídico, los pacientes biopsiados con $FG < 60$ ml/min presentaban de forma estadísticamente significativa 2 péptidos de A1AT con mayor intensidad que aquellos biopsiados con función renal conservada: o2392 (84 ± 81 vs. 22 ± 8 , $p < 0,029$) y o4012 (109 ± 194 vs. 66 ± 137 , $p < 0,021$).

Se realizó asimismo un análisis comparativo de aquellos diagnósticos histológicos más prevalentes en el estudio vs. El resto de pacientes biopsiados.

Los pacientes con diagnóstico de GEFS (5) presentaban menor recuento de linfocitos totales y HDL respecto al resto de pacientes biopsiados, con mayor señal de un péptido de A1AT y menor señal de UMOD de forma estadísticamente significativa al compararla con el resto de pacientes VIH con peptidoma en orina.

Los 3 pacientes con diagnóstico de nefropatía diabética (ND) por biopsia renal sólo mostraron diferencias con el resto de biopsiados en cuanto a un mayor valor de cociente Prto/Creat. NO se hallaron diferencias en perfil peptídico urinario.

NO se hallaron diferencias entre aquellas biopsias con rasgos de nefropatía proliferativa (2), vs. El resto de pacientes biopsiados.



6. Resumen y discusión de los estudios realizados



6. Resumen y discusión de los estudios realizados

6.1. Prevalencia de Enfermedad renal entre la población con infección por VIH de nuestro medio. DISCUSIÓN:

En nuestro estudio sobre una amplia cohorte de pacientes la prevalencia de insuficiencia renal fue de entre el 4,9 y 3,9% en el periodo 2008-2010. Existe una predominancia de estadio moderado de E.R, entre el 91 y 87% presentaron ERC estadio 3 en dicho periodo.

El espectro de la nefropatía en el paciente VIH + parece haber cambiado en los últimos años, teniendo relevancia entidades relacionadas con el efecto tóxico de los ARV, el estado proinflamatorio de los pacientes ó la aparición creciente en esta población de factores de riesgo cardiovascular comunes a la población general.(132)

Los resultados obtenidos son acordes con alguno de los últimos trabajos realizados en Europa sobre prevalencia de ER en pacientes con infección por VIH (134, 137). Otros estudios revelan prevalencia altamente variable según el entorno socio-sanitario, características clínicas, raciales y de tratamiento.(133)

El estudio EPIRCE realizado en 2010 en población general en España indica un porcentaje de ER estadios 3-5 del 6,8%, aunque en el segmento de edad similar al de nuestra muestra, de 40 a 64 años, la prevalencia de ER 3-5 fue del 3,3%. (161). Estos datos sugieren que en la población de pacientes VIH + de nuestro medio la prevalencia de ER grado 3-5 es discretamente superior a la población general.

En cuanto a los factores asociados, la edad avanzada es un conocido factor de riesgo de aparición y desarrollo de E.R. y otros factores de riesgo cardiovascular clásicos (D.M., HTA y DLP) (122-126).

Hay que tener en cuenta, asimismo, lo que algunos autores denominan el “envejecimiento prematuro” en esta población, desde un punto de vista cardiovascular, condicionado por diversos factores sobreañadidos al incremento de esperanza de vida desde el inicio de la era TARGA (131).

El tratamiento ARV juega un importante papel en estos complicados procesos, así, estudios de interrupción de TARGA han demostrado mayor mortalidad cardiovascular al suspender el tratamiento, pero otros trabajos relacionan algunos ARV como Indinavir con mayor riesgo cardiovascular (151, 152).

Diversos trabajos han estudiado distintos marcadores inflamatorios en el paciente VIH+ como Fibrinógeno, PCR, IL-6, D- Dímero, y otros (138, 140-143, 145). La infección por VIH puede activar diversas vías inflamatorias de la pared vascular con liberación de citocinas y moléculas de adhesión endotelial. Se ha demostrado que los pacientes VIH+ presentan niveles más altos de Fibrinógeno que los controles sanos, con elevación de otros marcadores inflamatorios como la PCR convirtiéndose ambos en predictores de mortalidad en esta población, incluso con niveles de CD4 >500 cel/mcL. Dicho contexto proinflamatorio favorece el desarrollo de factores de riesgo cardiovascular. (138, 147)

En nuestro trabajo obtuvimos niveles de Fibrinógeno elevados y niveles descendidos de Albúmina como marcadores de inflamación relacionados de manera independiente con presencia de E.R. y deterioro evolutivo de la función renal. Lo relacionaría el estado proinflamatorio propio de estos pacientes con el deterioro de la función renal.

La mayoría de estudios poblacionales incluye la HTA y/o D.M como factores de riesgo independientes para el desarrollo de E.R. en pacientes VIH +, de forma similar a la población general (127,128,135-137). Nosotros hemos objetivado una prevalencia creciente de factores de riesgo cardiovascular comunes a la población general en los pacientes VIH+, con afectación renal subsiguiente. Así, observamos que la HTA es un marcador independiente de no mejoría de función renal en aquellos pacientes con FG <60 ml/min al inicio del estudio, así como la presencia de D.M. y HiperTG eran marcadores independientes de deterioro de función renal entre aquellos pacientes con FG conservado al inicio del estudio. Destaca la aparición de hipertrigliceridemia como marcador de deterioro de función renal en el corte final pero no en el basal, sugiriendo una mayor prevalencia de síndrome metabólico y un posible papel evolutivo y acumulativo de dicha alteración metabólica.

También estudiamos el tratamiento actual o previo con Tenofovir (TDF), ya que numerosos trabajos hacen referencia al potencial efecto nefrotóxico de Tenofovir, Indinavir y otros ARV (127-130,155,156). El TDF puede producir afectación renal en diversas formas: alteración tubular, insuficiencia renal aguda ó crónica y disfunción renal mantenida tras retirada del fármaco (129,130,133).

En el subgrupo de pacientes que presentaron deterioro de función renal final partiendo de FG conservados, más de la mitad había recibido Tenofovir, retirándose el fármaco durante la evolución al 30% de ellos. A pesar de ello, la evolución de la función renal fue desfavorable.

En 2008 el tratamiento con TDF resultó ser marcador independiente de deterioro de función renal, pero en pacientes que al inicio del estudio presentaban FG \leq 60 ml/min el recibir tratamiento previo o actual con Tenofovir se mostró como marcador independiente de mejoría de función renal en el corte final. Basándonos en el patrón observado en el Grupo C, y la práctica clínica habitual, una posible explicación a la doble significación discordante del TDF en nuestro estudio sería el cambio de medicación.

Probablemente, al detectar alteración renal y por tanto realizar un control más estrecho de la misma, se les haya ajustado o retirado el fármaco a una parte de estos pacientes. Para los que respondieron favorablemente y recuperaron función renal, se convertiría así en un falso marcador de "mejoría" de función renal. El tiempo de tratamiento acumulado con Tenofovir también podría influir en dichos resultados.

Otros Marcadores independientes de deterioro de función renal obtenidos fueron el descenso de CD4 (%) y la presencia de CV > 4000 copias/microL, en relación con el estado inmunológico de los pacientes. Algunos marcadores de status inmunológico distintos, como CD4 absolutos, carga viral del VIH indetectable, o CD4 < 200 cel/mL no obtuvieron la significación estadística en nuestro análisis multivariante. Diversos estudios relacionan el deterioro de función renal en pacientes VIH+ con la alteración en parámetros inmunológicos de control de la enfermedad (127,128,135-137).

Factores de deterioro de función renal como la co-infección por VHC, VHB, tiempo de evolución de VIH ó el género, presentes en otros estudios (127,128,135-137), no mostraron diferencias estadísticamente significativas en nuestro medio.

El estudio muestra las limitaciones propias a su diseño. Así, los estudios observacionales transversales pueden adolecer de falta de datos sobre algunas variables evolutivas.

Por ello sólo disponemos de una determinación analítica por corte lo que afecta a la definición de DM y GBA a partir de niveles de glicemia basal, requiriendo de confirmación. No se pudo recoger información detallada sobre dosis acumulada ni cambios de tratamiento ARV excepto en un pequeño grupo de pacientes. Este es un aspecto de especial importancia, y que permitiría confirmar nuestra hipótesis sobre la significación discordante del tratamiento con TDF y los efectos de su retirada sobre esta población.

No obtuvimos datos sobre proteinuria ó alteraciones de la orina de los pacientes por falta de muestra. No disponíamos en el momento de elaboración de las determinaciones analíticas de la fórmula CKD-EPI, elaborada y extendida en nuestro medio a partir del año 2011, por lo que la estratificación de función renal se ha realizado a partir de la fórmula MDRD-4.

No disponemos de datos sobre diagnóstico clínico de factores de riesgo cardiovascular en toda la muestra, como la prevalencia de HTA, DM ó dislipemia según historia clínica, del total de pacientes, aunque sí incluimos estas variables en aquellos pacientes que mostraban ER.

Por todo ello, es necesaria la realización de estudios con un diseño adecuado, prospectivos, de larga duración, para continuar en el desarrollo del estudio de la E.R. en paciente VIH +.

CONCLUSIONES:

Entre la población de pacientes VIH + de nuestro medio, se observó una prevalencia de enfermedad renal (FG \leq 60 ml/min/1,73 m²) del 4,5%, el 89% de ellos en Estadio III de K/DOQI: FG 60-30 ml/min/1,73 m². Prevalencia de ER más elevada que en la población general española de su misma edad.

Marcadores independientes de deterioro renal fueron mayor edad y fibrinógeno elevado en ambos cortes estudiados, fibrinógeno elevado y tratamiento previo o actual con Tenofovir en el corte basal de 2008 e HiperTrigliceridemia y descenso de albúmina en el corte final de 2010.

Marcadores independientes de mejoría de función renal en pacientes con FG inicial alterado: Tratamiento previo o actual con Tenofovir y ausencia de HTA. Mientras, los marcadores independientes de deterioro de función renal en pacientes con FG inicial conservado fueron: Mayor edad, Fibrinógeno elevado, presencia de Hipertrigliceridemia y D.M. y descenso de Albúmina, CD4 (%), y presencia de CV > 4000 copias/microL

No se encontraron asociaciones significativas entre ER y prevalencia de co-infecciones víricas, tiempo de infección por VIH y género de los pacientes.

En resumen, según nuestros resultados, el deterioro de la función renal en la población VIH + de nuestro medio está relacionado con la edad, estado inflamatorio, pobre control inmunológico, tratamiento antirretroviral (TDF) y marcadores de riesgo cardiovascular asociados al síndrome metabólico (HTA, DM). Todos ellos son factores objetivables, se pueden monitorizar y en su mayoría potencialmente tratables, lo cual es clave en esta población para la detección y tratamiento precoz de deterioro de función renal, lo que puede conllevar un descenso de la morbimortalidad cardiovascular en estos pacientes.

6.2. Estudio de la prevalencia de alteraciones urinarias como marcadores de enfermedad renal en pacientes con infección por VIH de nuestro medio: (referencias correspondientes a las incluidas en el texto del artículo original. Ver apartado 8.1)

Las principales conclusiones de nuestro estudio transversal fueron un bajo porcentaje de pacientes con enfermedad renal (FG $<$ 60 ml / min / 1,73 m²) pero, sobre todo, la alta prevalencia de signos de daño renal, en pacientes con un FG $>$ 60 ml / min / 1,73 m² e incluso con TFG normal ($>$ 90 ml / min / 1,73 m²).

Este hallazgo tiene importantes implicaciones clínicas para el manejo y control de la población VIH y define a estos pacientes como una población en riesgo. Además, también se detectó que la hipertensión arterial es un factor de riesgo infradiagnosticado en nuestra cohorte.

De acuerdo con resultados de otras poblaciones infectadas por el VIH en la misma zona geográfica, la enfermedad renal avanzada era poco frecuente en nuestro estudio (0,2%). Los resultados de otras cohortes europeas muestran una prevalencia de la enfermedad renal (EGFR <60 ml / min / 1,73 m²) del 2-5% . (21-23). La relativamente baja edad media (48 años) de nuestros pacientes probablemente explica este hallazgo. Sin embargo, la alta prevalencia de pacientes con signos de daño renal, la mayoría de los cuales tenían un FGe > 60 ml / min / 1,73 m² es similar a otros resultados reportados recientemente (21) y, por otro lado, es más bajo que otros en cuanto a la proporción de proteinuria detectada(23).

Estos otros signos de daño renal inicial (no solamente cociente urinario ALb/Cr ó Prot/Cr) podrían aparecer antes de proteinuria en el caso de alteración renal, y esto es una posible explicación de las diferencias observadas en los resultados en relación a los distintos parámetros evaluados. Dichos hallazgos deben ser tomados en consideración a fin de detectar a tiempo y gestionar esta alteraciones, incluso cuando el filtrado glomerular sea normal.

La existencia de valores anormales en micro ó macroalbuminuria (medidos como cociente urinario ALb/Cr ó Prot/Cr) está fuertemente asociado con eventos cardiovasculares y muerte en la población general, con independencia del grado de albuminuria o proteinuria(5). Un reciente meta-análisis de más de 170.000 pacientes de 26 estudios de cohortes concluyó que los pacientes con valores anormales de cociente urinario ALb/Cr ó Prot/Cr (incluso aquellos con <30 mg / g) presentaban un riesgo un 50% mayor de enfermedad coronaria que aquellos pacientes con valores conservados (3).

En la población infectada por el VIH, diversos artículos publicados recientemente reportaron una correlación entre la microalbuminuria / proteinuria y riesgo dos veces mayor de mortalidad, tanto relacionada con SIDA como no relacionada (18,24). Por consiguiente, los pacientes infectados por el VIH deben ser considerados una población de riesgo y el daño renal debe ser evaluado, incluso en pacientes sin otros factores de riesgo (por ejemplo, edad > 60 años, hipertensión arterial ó diabetes mellitus) (25).

También es relevante el considerable número de nuevos diagnósticos de hipertensión arterial en nuestros pacientes. Dado que la hipertensión es un factor de riesgo bien establecido para el daño renal, la presión arterial debe ser evaluada de forma rutinaria en la población infectada por el VIH.

Las anormalidades metabólicas como la diabetes mellitus, dislipemia y la hipertensión arterial son cada vez más frecuentes, y el seguimiento clínico de estos factores de riesgo es cada vez más relevante.

Muchos de los factores asociados con la alteración del FG con proteinuria fueron comunes a los observados en la población general (por ejemplo, índice de masa corporal extrema o edad avanzada), en línea con los resultados de otros estudios previos(26,27).

Esperamos un aumento de las alteraciones renales en el futuro próximo entre los pacientes con infección por VIH debido a su mejora de la esperanza de vida. De hecho, el envejecimiento se relaciona no sólo con una mayor incidencia de la enfermedad renal, sino también con una mayor incidencia de otras comorbilidades (16).

Sin embargo, en contraste con los resultados reportados en otros trabajos,(13-15) el incremento de la carga viral no se asoció con un aumento en el riesgo de

enfermedad renal o proteinuria en nuestro estudio, probablemente debido a la supresión viral y el estado inmunológico conservado (un factor protector) registrados en la mayoría de nuestros pacientes, lo que redujo el impacto de los factores relacionados con el VIH en las alteraciones renales. Una situación similar se pudo observar en el primer periodo del trabajo de estudio objeto de esta tesis, en el cual se encontraron evidencias de que la carga viral sólo en aquellos pacientes con valores muy elevados (CV > 4000 copias/microl) parecía ser

un factor de riesgo de enfermedad renal, aunque en el análisis multivariante no resultó ser un marcador independiente de enfermedad renal en una amplia cohorte de pacientes con infección por VIH. Por otro lado, unos niveles correctos de CD4 mostraron asociación con función renal conservada en ambas apartados del trabajo de tesis doctoral.

EL fármaco Tenofovir se ha asociado con la lesión tubular (28),siendo la tubulopatía proximal la lesión más comúnmente objetivada (29). Por el contrario, la enfermedad renal avanzada debida a tenofovir parece ser infrecuente (30,31).

Nuestros datos mostraron que el uso de tenofovir combinado con un inhibidor de la proteasa aumenta el riesgo de enfermedad renal (FGe anormal y alteraciones de uProt/Cr ó uALb/Cr), como anteriormente se ha descrito en grandes cohortes (15,22,32). Las concentraciones plasmáticas elevadas de TDF se asocian con alteraciones en los marcadores renales (tanto glomerulares como tubulares), (33,34), estando la exposición más elevada en plasma asociada con el uso concomitante de inhibidores de la proteasa (IP) (35).

Sin embargo, tanto administrado o no en combinación con IPs, TDF no fue asociado con proteinuria > 300 mg / g en nuestra cohorte. De hecho, la forma más habitual de nefrotoxicidad relacionada con TDF es un bajo nivel de proteinuria (27)

que suele ser reversible tras la interrupción del tratamiento (36).

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. En primer lugar, su diseño transversal podría llevarnos a sobreestimar la prevalencia de insuficiencia renal, puesto que los valores fueron obtenidos a través de una sola determinación de la sangre y orina. En segundo lugar, el diseño de la sección transversal es incapaz de evaluar la evolución de las alteraciones renales detectada. Por último, dado que se incluyeron principalmente a hombres blancos, nuestros resultados no pueden extrapolarse a otras poblaciones con distinta distribución racial.

Sin embargo, nuestro estudio proporciona una representación razonable de la prevalencia de enfermedad renal en la población infectada por el VIH en nuestro medio.

En conclusión, la enfermedad renal grave (FGe <60 ml / min / 1,73m²) fue poco frecuente en nuestra cohorte; Por el contrario, los signos de daño renal (en su mayoría alteraciones de uProt/Cr ó uALb/Cr,) eran muy frecuente, a pesar de una TFGe normal. Estos datos ponen de relieve la susceptibilidad de esta población, y la necesidad de la detección temprana de la lesión renal, incluso en pacientes con función renal normal. Además de los factores relacionados con el VIH, los factores comunes a la población en general (por ejemplo, la edad, la hipertensión arterial, la diabetes y el IMC extremo) emergen como potencialmente importantes factores de riesgo de daño renal.

Los resultados de este apartado del trabajo de tesis doctoral vienen por tanto a completar los iniciados en el análisis poblacional de la cohorte de 1596 pacientes, en el cual sólo se contaba con datos sobre FGe, sin información sobre alteraciones urinarias que probablemente marquen una lesión inicial y precursora, subclínica, de enfermedad renal, y ambos trabajos combinados muestran de forma actual y realista la situación de la enfermedad renal de los pacietnes con infección por VIH de nuestro medio.

6.3. Estudio del efecto del tratamiento antirretroviral sobre la función renal en pacientes con infección por VIH de nuestro medio: (referencias correspondientes a las incluidas en el texto del artículo original. Ver anexo 1)

Esta fase del trabajo de tesis doctoral tuvo como objetivo determinar el impacto renal de los diferentes inhibidores de la proteasa, a través de la determinación del tiempo de tratamiento necesario para detectar el daño renal. Son abundantes los datos recientes disponibles sobre la relación entre los inhibidores de proteasa y alteraciones en la función renal [9, 10], pero

es escasa la información sobre el impacto de estos agentes en la lesión renal definida como proteinuria, hematuria, glucosuria y / o hipofosfatemia. [11]

El primer hallazgo notable de este estudio es el tiempo más largo hasta la detección de lesión renal con lopinavir (478 y 1339 días sin y con tenofovir, respectivamente). Por otra parte, los inhibidores de la proteasa restantes mostraron un tiempo más corto (229 y 332 días para atazanavir, sin y con tenofovir, respectivamente, y 283 y 286 días para darunavir, respectivamente), aunque el área bajo la curva (AUC) mostró menos precisión en caso de darunavir. Estos resultados podrían reflejar una menor toxicidad renal con lopinavir con respecto a los otros inhibidores de la proteasa como muestran los resultados de la regresión logística.

Otro de los datos interesantes es la considerable proporción considerable de los pacientes que desarrollaron lesiones renales (hasta 30%), de forma similar entre los tres agentes, e incluso cuando no se utiliza de forma concomitante con tenofovir.

A pesar de que lopinavir tomó un tiempo más largo hasta la detección de lesión renal, la exposición más larga a este fármaco podría explicar el porcentaje similar de pacientes con lesión renal en comparación con los otros.

Nuestros resultados coinciden con estudios anteriores con respecto al peor perfil renal con atazanavir / ritonavir, seguido de lopinavir / ritonavir. [9, 10, 12]. Se dispone de escasos datos previos respecto al uso de darunavir / ritonavir. [13] Sin embargo, todos estos estudios anteriores evaluaron los cambios en la tasa de filtración glomerular estimada (e TFG), la incidencia de la enfermedad renal crónica, o ambos, pero no a la presencia de proteinuria u otros signos de lesión renal.

Específicamente, atazanavir tiene el potencial de producir su precipitación cristalina, [14] conduciendo a cristaluria, nefritis tubulointersticial, enfermedad renal aguda o crónica.

En el caso de lopinavir / r, el mecanismo que conduce a una disminución en la filtración glomerular aún no está claro, puesto que hay resultados controvertidos en función de la ecuación utilizada para determinar la eGFR; que podría estar relacionado con el papel de ritonavir en la inhibición de la proteína de transporte de tenofovir. [9] Además, se han descrito casos recientes de nefritis intersticial aguda relacionada con lopinavir. [15]

Por último, darunavir sólo se ha asociado con la nefrolitiasis asintomática, [16] pero es el fármaco con un menor tiempo de seguimiento.

Estudios anteriores confirman el aumento de la toxicidad renal relacionada con el tenofovir, cuando se utilizan concomitantemente inhibidores de la proteasa potenciados. [4, 17] Este efecto se relaciona con la inhibición de la proteína -resistente a múltiples fármacos-4 (MDRP-4) por el ritonavir y el consiguiente aumento de las concentraciones de tenofovir intracelulares y mayor inhibición de la ADN-Y polimerasa y depleción del ADN mitocondrial. [18, 19]

Sin embargo, en nuestro estudio el tiempo hasta el daño renal fue más largo en los pacientes que recibieron lopinavir y atazanavir concomitantemente con tenofovir. Estos datos deben considerarse con cautela debido al tamaño pequeño de la muestra de ambos grupos (sólo 27 y 28 pacientes con atazanavir o lopinavir que también recibieron tenofovir, respectivamente).

Nuestro estudio tiene varias limitaciones, principalmente relacionados con su diseño transversal. Eso nos podría llevar a sobreestimar la prevalencia de anomalías renales, ya que se determinó un solo parámetro de sangre y orina; Además, no se dispone de seguimiento analítico de la cohorte y no hay datos sobre la historia antirretroviral previo, y las toxicidades anteriores. Por último, la evaluación realizada por curvas ROC podría ser incapaz de determinar las correlaciones en todos los casos, como se mostró en el caso de darunavir, probablemente debido al número de pacientes incluidos no son suficientes o no es tiempo suficiente bajo estos tratamientos para ser evaluado.

En conclusión, nuestro estudio identificó una proporción considerable de pacientes con signos de lesión renal, mientras que estaban recibiendo regímenes basados en inhibidores de la proteasa, siendo lopinavir / ritonavir el inhibidor de la proteasa que presenta un tiempo más largo hasta la aparición de la lesión renal. Aunque se necesitan más estudios longitudinales para confirmar las consecuencias a largo plazo de estos hallazgos, estos resultados tienen una implicación clínica clave: la naturaleza silente de estas alteraciones iniciales nos debe conducir a supervisar adecuadamente estos parámetros, incluyendo muestras de orina, incluso en el caso de no uso concomitante de tenofovir.

Este estudio está relacionado con una fase del trabajo de tesis doctoral en la que se decidió profundizar en el efecto de los distintos ARV, en concreto los IPs, en la aparición de lesión renal a lo largo del tiempo de tratamiento, en sus distintas formas, dados los datos de las etapas previas que mostraban influencia del tratamiento antirretroviral en la función renal. El número de pacientes de los que se pudieron obtener datos adecuados es limitado, con lo que la potencia del estudio es moderada, pero sugiere vías de futuro trabajo y asociaciones muy interesantes y aplicables a la práctica clínica habitual.

6.4. Estudio metodológico de la obtención de muestras y su procesamiento para realización de peptidoma en plasma de pacientes con infección por VIH: (referencias correspondientes a las incluidas en el texto del artículo original. Ver apartado 8.2)

Durante la realización del diseño, elaboración y toma de muestras para el estudio de análisis de peptidoma en pacientes con infección por VIH, como parte final del proceso de estudio de la tesis doctoral, se decidió ejecutar un análisis metodológico intermedio.

EL objetivo de este análisis era por una parte el optimizar la metodología del estudio y sus técnicas y por otro lado, responder a un debate que se había planteado sobre la idoneidad de los tubos utilizados para la recogida de muestras de plasma para análisis de peptidoma.

En los estudios proteómicos centrados en el proteoma de bajo peso molecular de los fluidos biológicos, se deben considerar las variables preanalíticas porque pueden modificar significativamente los resultados del análisis y llevar a conclusiones imprecisas. Los investigadores deben ser conscientes de la inestabilidad del plasma debido a la actividad proteolítica que se establece en el momento de la flebotomía, justo cuando la sangre entra en contacto con la aguja o las paredes del tubo colector. Con la intención de prevenir esta actividad proteolítica, se han diseñado tubos que contienen PI, aunque sus beneficios no se han reconocido claramente cuando las muestras no se procesan rápidamente (14, 16, 17).

Así, se compararon muestras de los 10 primeros pacientes incluidos en el estudio, en tubos habituales vs. Tubos con inhibidores de proteasas (P100), que podrían ayudar a mejorar la rentabilidad de la técnica estos últimos, como hipótesis de trabajo inicial.

Se analizaron los resultados de ambos tipos de tubos y se compararon entre sí, en distintos tiempos post-recogida de la muestra.

En tiempo "cero" (recién obtenida la muestra) y cuando la sangre se recogió en tubos de P100, se observó áreas de los picos menores en péptidos identificados como bradiquinina y C3- y péptidos derivados de C4, que se generan de la actividad peptidasa endógena; estos péptidos se produjeron inmediatamente después de la extracción de sangre y PI impidieron su generación. Por otra parte, en el momento "cero" algunos picos mostraron zona más alta cuando se utiliza PI, tal vez debido a una disminución de la actividad proteasa.

A medida que pasaban más horas, mayores diferencias se observaron en el perfil del péptido de las muestras recogidas en tubos con EDTA. Por otra parte, el efecto de PI disminuyó con el tiempo; al comparar el perfil de las muestras de péptido en recopilarán los P100 con

muestras recogidas en tubos con EDTA en el tiempo “cero”, detectamos diferencias en el área de 13 picos.

Estas diferencias tienden a desaparecer con el tiempo, y después de 8 horas sólo el área de cuatro picos era diferente. Debido a que cada par de muestras de comparación en este estudio se obtuvieron de la misma materia y se procesa de forma idéntica, las diferencias observadas en sus perfiles de péptidos se pueden atribuir a la presencia o ausencia de PI en el tubo de recogida y el tiempo necesario para analizar las muestras.

El personal clínico responsable para la extracción de sangre no es usualmente el mismo que realiza el análisis en el laboratorio. Por lo tanto, el procesamiento de muestras en el tiempo “cero” es casi imposible y puede transcurrir un tiempo considerable hasta que se analizaron muestras. Durante este tiempo, la actividad proteolítica se lleva a cabo, el cambio de forma crítica del contenido de proteínas del plasma.

Los investigadores que contemplan la búsqueda de biomarcadores en muestras de plasma deben considerar si los efectos beneficiosos de las medidas compensatorias PI el costo de los tubos de recogida especializados, y el requerimiento de personal dedicado para minimizar el tiempo de toma de muestras para su procesamiento. En conclusión, la extracción de sangre es un paso crucial para el éxito del descubrimiento de biomarcadores de péptidos en muestras de plasma y más estudios sobre su estandarización son requeridos.

Desde un punto de vista práctico, y dado que las diferencias obtenidas se diluían con el paso del tiempo excepto si se realizaba un análisis inmediato de la muestra, extremo no siempre posible, decidimos continuar el estudio utilizando los contenedores habituales.

Se redactaron y se publicaron los clarificadores resultados metodológicos obtenidos, como consta en el redactado de esta tesis doctoral en el apartado específico.

6.5. Estudio de la relación entre enfermedad renal, hallazgos histológicos y patrón de peptidoma en plasma y orina de pacientes con infección por VIH:

DISCUSIÓN:

Al tratarse de un análisis de un elevado número de péptidos urinarios obtenidos tras el análisis de las muestras de la cohorte, es fundamental intentar establecer el mayor número de identificaciones posibles de estos péptidos, así como su capacidad para discriminar ó caracterizar individuos entre sí dentro de la cohorte global, así como su potencial relevancia clínica.

Tras la identificación de los péptidos, en los que se obtuvo 4 péptidos de A1AT(alfa-1 antitripsina), 2 de ALB (Albúmina) y 1 de UMOD (Uromodulina), se realizó por tanto un análisis estadístico por el sistema de clusters.

Dicho análisis mostró que los péptidos identificados tenían potencial para ser realmente elementos que diferencian a los individuos de la muestra entre sí, tanto a nivel de la muestra global, como circunscrito a los individuos sanos del grupo control (UMOD en cluster aislado) ó al grupo de pacientes con infección por VIH (cluster formado por 2 péptidos de A1AT y 1 péptido de UMOD).

Estos resultados les confieren a priori un papel relevante a estos péptidos identificados respecto al global de 29 péptidos detectados, al menos desde el punto de vista estadístico.

Por tanto, centrándonos en los resultados del análisis del peptidoma urinario obtenido, destaca la obtención del péptido de UMOD (m/z 1913) como aparente marcador de “salud renal” en nuestra población de estudio.

LA uromodulina (también llamada proteína de Tamm-Horsfall) es la proteína más abundante en orina en condiciones fisiológicas. Es una proteína específica derivada del riñón que se expresa fundamentalmente por las células epiteliales del asa de Henle. Su función biológica no es del todo conocida. Se ha sugerido su papel en el balance hidro-electrolítico así como probablemente en la inmunidad innata renal.

En modelos murinos, su infraexpresión se relacionó con infecciones urinarias de repetición, desarrollo de litiasis renales y alteraciones túbulo-intersticiales.

En humanos, se ha relacionado con trastornos quísticos renales, hiperuricemia, y desarrollo de ERC progresiva e HTA [112, 113].

Otros trabajos han relacionado la baja intensidad de péptidos de UMOD en orina con mayor severidad de lesión renal, en diversas patologías glomerulares [114, 106, 107].

En nuestro estudio, los pacientes control sanos mostraron niveles más elevados de UMOD de forma estadísticamente significativa al compararlos con el global de la población con infección por VIH, independiente de su función renal.

Al tratarse de una proteína de expresión epitelial tubular, este descenso podría estar relacionado con la terapia ARV, como potencial tóxico tubular renal, así como la posible presencia de reservorio renal de virus VIH, como posibles mecanismos específicos en esta población, además de los ya conocidos y descritos en otros escenarios.

Por otro lado, destaca que aquellos pacientes que requirieron biopsia renal en nuestra población, y que presentaban proteinuria media mayor al resto de la cohorte de forma significativa, también presentaron niveles descendidos de UMOD (rozando la significación estadística, probablemente por n poblacional insuficiente). En este caso, muy probablemente se trata de una situación más similar a la de los estudios previos realizados en presencia de patología glomerular, pues ese fue el diagnóstico mayoritario en estos pacientes.

Un mecanismo similar parecería estar implicado en la obtención de niveles más bajos de UMOD en aquellos pacientes con diagnóstico por biopsia de GEFS comparados con el resto de la muestra.

Por el contrario, la A1AT se ha observado en nuestro trabajo como marcador de enfermedad renal, observándose aumento de su intensidad en el peptidoma urinario de los pacientes con infección por VIH vs. Grupo control sanos, así como en aquellos pacientes que requirieron biopsia renal, y aquellos pacientes que presentaban diagnóstico histológico de GEFS.

La alfa-1 antitripsina parece presentar capacidad de inhibición de proteasas en plasma y orina. Se ha propuesto que tiene papel protector de la matriz extracelular a través de capacidad anti inflamatoria y anti apoptótica, siendo este el posible motivo de su sobreexpresión en respuesta al daño tubulointersticial [115].

DE forma prácticamente antagonista a la expresión de UMOD en orina, se han relacionado niveles elevados de péptidos de A1AT en orina con desarrollo de proteinuria nefrótica, nefropatía IgA, nefropatía diabética a través de un posible rol en expansión de la matriz mesangial, y de forma general en relación a la severidad de la afectación renal. Hay incluso trabajos que la relacionan con carcinomas urológicos [106, 107, 115-117].

Es especialmente remarcable el perfil de peptidoma urinario de los pacientes con infección por VIH en global al compararlos con el grupo control sanos. Casi el 60% de este grupo presentaba FGe > 60 ml/min, si bien es cierto que presentan una proteinuria media de 1,7 g/día, que probablemente sea de origen al menos parcialmente de origen tubular, pues la albuminuria media era de 600 mg/d por cociente.

El hecho de que los pacientes con infección por VIH (33 pacientes, 60% de ellos con función renal aparentemente normal), independientemente de su función renal, presenten de forma significativa mayores niveles de A1AT y menores niveles de UMOD urinarios vs. Grupo control, sugiere la existencia de un perfil peptidómico propio de este tipo de pacientes, distinto a población general, y que podría ser marcador de alteración renal subclínica (en los casos que así sea) o bien pronóstico de desarrollo o aparición futura de enfermedad renal. Probablemente el motivo de esta alteración del perfil sea multifactorial, como lo es el desarrollo de enfermedad renal en este tipo de pacientes.

Los hallazgos respecto a los péptidos correspondientes a albúmina no requieren mayor justificación, ya que se trata de una de las proteínas más abundantes en plasma y habitual marcador de proteinuria glomerular inespecífica. En nuestro estudio hemos visto incrementada su intensidad en aquellos grupos que presentan más proteinuria global.

En cuanto al estudio histológico, destaca la heterogeneidad de los diagnósticos, con 6 diagnósticos diferentes en 15 pacientes, aunque con la esperada ausencia actual en nuestro ámbito de nefropatía HIVAN, y la predominancia clara de las glomerulopatías por depósito de Inmunocomplejos y en algunos casos comunes a nefropatías habituales en población general sana. El hecho de la diversidad de diagnósticos dificulta el análisis de los distintos perfiles peptidómicos en relación a cada uno de los diagnósticos histológicos.

Sólo la nefropatía más frecuente, que con el 33% de los casos es la GEFS, pudo presentar la potencia para conseguir la significación estadística, en un patrón urinario que nuevamente refleja la evidente afectación renal y elevada proteinuria de este tipo de pacientes, con perfil que presenta elevación de A1AT y descenso de UMOD.

Cabe destacar asimismo la elevada proteinuria media del grupo que requirió biopsia renal, cercana a 3 gramos diarios.

CONCLUSIÓN:

Los pacientes con infección por VIH presentan al compararlos con controles sanos, independientemente de su función renal, un perfil peptidómico urinario característico, con expresión de marcadores de alteración renal en forma de elevación de Alfa 1- antitripsina (A1AT) y descenso de Uromodulina (UMOD).

Los grupos de pacientes con mayor deterioro de función renal y proteinuria dentro de la población de estudio, presentan un perfil peptidómico similar entre sí y diferenciado del resto de la cohorte seleccionada.

La glomeruloesclerosis focal y segmentaria en pacientes con infección por VIH presenta un perfil peptidómico característico, con mayor presencia de marcadores de enfermedad renal comparado con el resto de los pacientes con infección por VIH seleccionados.

Estos resultados se presentan prometedores para la determinación potencial o futura de un diagnóstico peptidómico urinario no invasivo que pueda determinar la afectación renal subclínica, diagnosticar el tipo histológico sin necesidad de biopsia con punción y aportar un valor pronóstico.


Futuros estudios con mayor número de pacientes incluidos y obtención e identificación del mayor número de péptidos en orina se requieren para poder seguir avanzando en esta prometedora área de estudio.

Se redactó un texto con el trabajo realizado, en proceso de elaboración definitivo para su envío a publicación al momento de depósito de la actual tesis doctoral.

7. Conclusiones finales

7. Conclusiones finales

1. Entre la población de pacientes VIH + de nuestro medio, se observó una prevalencia de enfermedad renal (FGe \leq 60 ml/min/1,73 m²) del 4,9% en 2011, siendo levemente más elevada que en la población general de edad similar según el estudio EPIRCE 2010 (3,3%). La gran mayoría de estos pacientes se encontraban en el Estadio III de ER según clasificación K-DOQI 2002.
2. Los factores marcadores de enfermedad renal y deterioro evolutivo de función renal fueron una mayor edad, la presencia de hipertensión y la Diabetes como factores tradicionales de riesgo cardiovascular, y el elevado estado inflamatorio, peor control inmunológico, y el tratamiento antirretroviral con Tenofovir como factores ligados a la infección por VIH.
3. La población de pacientes con infección por VIH de nuestro medio muestra una elevada prevalencia de daño renal manifestada como un aumento de excreción urinaria de albúmina (EUA) , independientemente de la función renal presentada.
4. Los factores de riesgo de aumento de excreción urinaria de albúmina fueron la edad elevada, la hipertensión arterial y el tratamiento antirretroviral (Tenofovir asociado a Inhibidores de proteasa)
5. Entre aquellos pacientes bajo tratamiento con inhibidores de la proteasa, la prevalencia de afectación renal expresada como elevación de la excreción urinaria de albúmina, hematuria, glucosuria y / o hipofosfatemia fue elevada, independientemente del tratamiento concomitante con Tenofovir. Los inhibidores de proteasa que mostraron menor afectación renal fueron Lopinavir / Ritonavir.
6. Se objetivó alta heterogeneidad en los hallazgos histológicos de las biopsias renales de los pacientes con infección por VIH. El diagnóstico más frecuente observado fue la glomeruloesclerosis focal y Segmentaria
7. El uso de contenedores con inhibidores de proteasa (P100) para análisis de peptidoma en plasma comparados con los contenedores estándar sólo mostró ventajas significativas al realizar el procesamiento inmediatamente posterior a la obtención de las muestras. Los resultados se igualaban a las pocas horas, por lo que en el escenario real de la práctica diaria no se observa beneficio en su uso sistemático.
8. Se encontraron diferencias significativas entre el peptidoma plasmático y urinario de los pacientes con infección por VIH y la población general, identificándose en orina una mayor detección de Alfa1- Antitripsina y menor detección de uromodulina en los pacientes VIH +.
9. Se relacionó una mayor detección de uromodulina en peptidoma urinario con ausencia de infección por VIH y función renal conservada, representando marcador favorable de salud renal en la población estudiada.
10. Se relacionó una mayor detección de A1AT en peptidoma urinario con la presencia de infección por VIH y mayor afectación renal entre los pacientes VIH +, representando así un marcador pronóstico negativo de enfermedad renal en estos pacientes.
11. Los pacientes con infección por VIH que presentaban signos de mayor afectación renal y se les realizó biopsia renal mostraron diferencias significativas en su peptidoma urinario, presentando mayor A1AT y menor UMOD que el resto de pacientes con infección por VIH estudiados. El diagnóstico histológico de Glomeruloesclerosis focal y segmentaria se relacionó con perfil peptidómico urinario diferenciado del resto de la población de estudio, caracterizado por mayores niveles de A1AT y menores niveles de UMOD en orina.



8. Artículos originales aprobados por el departamento de medicina para la redacción de la tesis doctoral por compendio de artículos

8.1. High Prevalence of Signs of Renal Damage Despite Normal Renal Function in a Cohort of HIV-Infected Patients: Evaluation of Associated Factors

Bonjoch Anna, Juega Javier, Puig Jordi, Pérez-Alvarez Nuria, Aiestarán Aintzane, Echeverría Patricia, Pérez Vanessa, Clotet Bonaventura, Romero Ramon, Bonet Josep, and Negrodo Eugenia

AIDS Patient Care and STDs 2014 28 10 , 524 -529. Epub 2014 Sep 19.

doi:10.1089/apc.2014.0172

8.2. Evaluation of protease inhibitors containing tubes for MS-based plasma peptide profiling studie

Pérez V, Juega-Mariño J, Bonjoch A, Negro E, Clotet B, Romero R, Bonet J. J

Clin Lab Anal. 2014 Sep;28(5):364-7. Epub 2014 Mar 19.

doi: 10.1002/jcla.21694

9.1. Anexo 1: Artículo original publicado y relacionado con el desarrollo de la tesis doctoral: Impact of protease inhibitors on the evolution of urinary markers: Subanalyses from an observational cross-sectional study.

Bonjoch A, Puig J, Pérez-Alvarez N, Juega J, Echeverría P, Clotet B, Romero R, Bonet J, Negredo E.

Medicine (Baltimore). 2016 Aug;95(32):e4507.

doi: 10.1097/MD.0000000000004507.

9.2. Anexo 2: Encuesta sobre factores de riesgo de patología renal y estado nutricional en pacientes con infección por VIH

EVALUACIÓN DE FACTORES DE RIESGO

1. Datos Personales

ID Paciente: _____ Fecha: ____/____/____

Iniciales: _____

Fecha de Nacimiento: ____/____/____

Sexo: hombre mujer

Raza: asiático blanco negro otros: _____

Peso (kg): _____ Talla (m): _____

IMC= peso/talla²= _____

Peso habitual aproximado en el último año (kg): _____

¿Si ha perdido peso, cuanto tiempo hace? _____

%PP= [(peso habitual – peso actual)/peso habitual] x100=

¿El IMC es inferior a 18,5 ? Si No

¿La pérdida de peso es GRAVE ? Si No

GRAVE = >5% en un mes o >7,5% en 3 meses o >10% en 6 meses)

2. Antecedentes Personales

Diabetes Mellitus: NO

(Azúcar): SI → Años de Diagnóstico: _____

Recibe Tratamiento: NO
SI

¿Cuál? _____

Desconoce

Hipertensión Arterial: NO

(Tensión Alta): SI → Años de Diagnóstico: _____

Recibe Tratamiento: NO
SI

¿Cuál? _____

Desconoce

Aumento de Colesterol: NO Aumento de Triglicéridos: NO

SI SI

Usa actualmente tratamientos para el colesterol y los triglicéridos: NO

SI

Si ha contestado que si, indique su tratamiento habitual:

Pravastatina Ezetrol

Atorvastatina Prevencor

Liplat Lopid

Secalip Otros: _____

Antecedentes de evento Vascular: NO

(Infartos, Angina de pecho, embolias) SI ¿Cuál? Infarto

AVC (embolia)

Angina de pecho

Otros: _____

Enfermedad renal: NO

SI → Años de Diagnóstico: _____

Recibe Tratamiento: NO
SI

¿Cuál? _____

Enfermedad hepática: NO

SI → Años de Diagnóstico: _____

Recibe Tratamiento: NO
SI

¿Cuál? _____

Descompensaciones de la enfermedad hepática? NO

SI

Enfermedades del músculo (miopatías): NO

SI → Años de Diagnóstico: _____

Recibe Tratamiento: NO
SI

¿Cuál? _____

¿Tiene otras enfermedades importantes? NO

SI ¿Cuál? _____

¿Toma otros tratamientos habitualmente? NO

SI ¿Cuál? _____

(SÓLO MUJERES)

Toma anticonceptivos orales actualmente: NO

SI → Años de Uso: _____

¿Cuál? _____

Menopausia: NO

SI → Años del Diagnóstico: _____

Tratamiento Hormonal Sustitutivo: NO

SI → ¿Cuál? _____

3. Antecedentes Familiares

¿Alguno de sus familiares directos (padres, abuelos, hermanos) presenta alguna de las enfermedades siguientes?

Diabetes: NO

SI

Desconoce

Hipertensión: NO

SI

Desconoce

Infarto o Enfermedades Cardiovasculares: NO

SI → ¿A que edad? _____

Desconoce

Enfermedad renal: NO

SI

Desconoce

Enfermedad vascular: NO

SI

Desconoce

Enfermedad hepática: NO

SI

Desconoce

4. Hábitos PsicoBiológicos

¿Consume Alcohol?: NO

SI → Diario:

¿Qué bebe?

Cerveza VINO Carajillo

Cubata Otros: _____

¿Cuánto bebe al día? _____

Fines de Semana

Ocasionalmente

¿Consume Drogas?: NO

SI → Diario:

Fines de Semana

Ocasionalmente

¿Qué consume?

Cocaína Éxtasis Cannabis

Heroína Otros: _____

¿Fuma?: NO

SI Cantidad: _____ cigarrillos /día

Años de consumo: _____

Exfumador → Años de consumo: _____

Años desde que dejó de fumar: _____

¿Realiza ejercicio?: NO

SI ¿Cuál? _____

Horas a la semana: _____

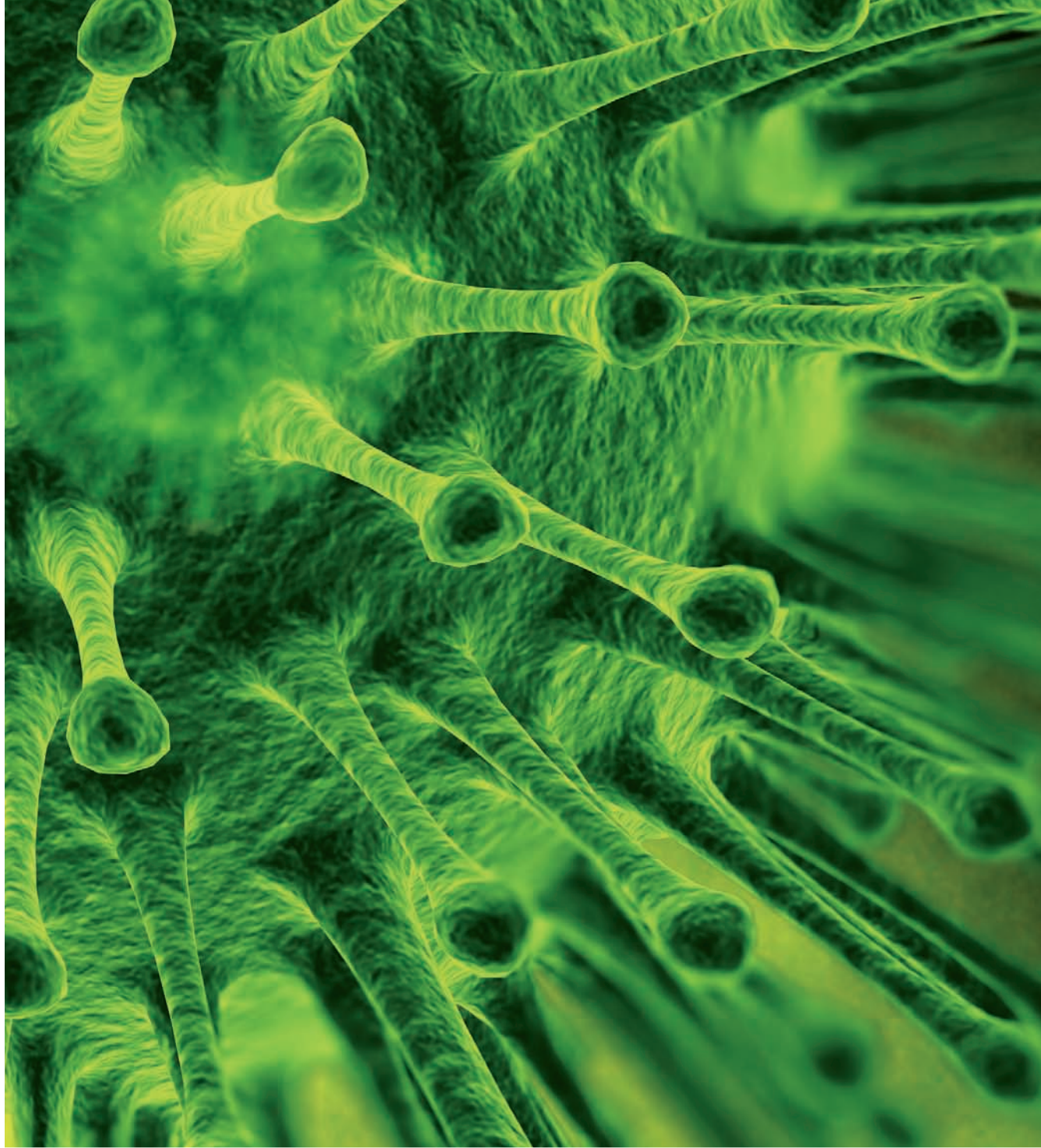
5. Examen Físico

(SÓLO PARA SER RELLENADO POR EL PERSONAL)

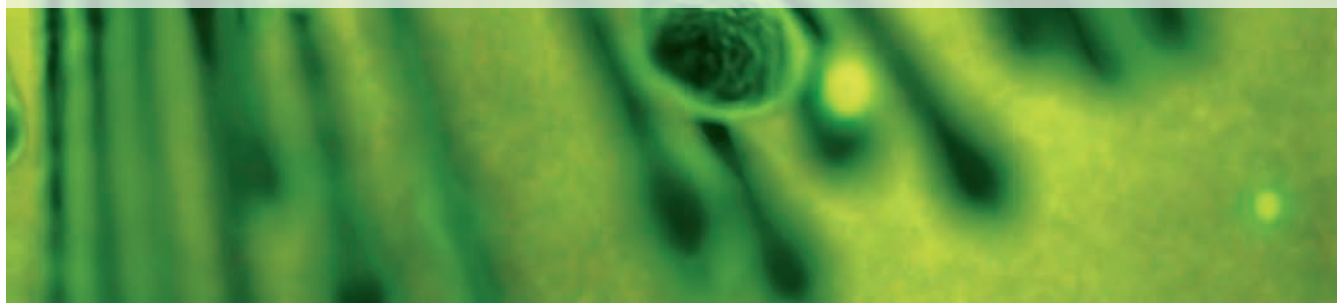
Perímetro de cintura (cm): _____

Perímetro de cadera (cm): _____

Tensión Arterial (mmHg): _____



10. Bibliografía



10. Bibliografía: referencias no incluidas en los artículos

1. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). AIDS by the Numbers. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/AIDS-by-the-numbers-2016_en.pdf. 1211 Geneva 27, Switzerland, 2016
2. Correction Naghavi M, Wang H, Lozano R et al. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015; 385: 117–171
3. Couser WG, Remuzzi G, Mendis S et al. The contribution of chronic kidney disease to the global burden of major noncommunicable diseases. *Kidney Int* 2011; 80: 1258–1270
4. Mocroft A, Kirk O, Gatell J, Reiss P, Gargalianos P, Zilmer K, Beniowski M, Viard JP, Staszewski S, Lundgren JD. Chronic renal failure among HIV-1-infected patients. *AIDS* 2007; 21: 1119-1127
5. Fernando SK, Finkelstein FO, Moore BA, Weissman S. Prevalence of chronic kidney disease in an urban HIV infected population. *Am J Med Sci* 2008; 335: 89-94
6. Szczech LA, Gupta SK, Habash R, et al. The clinical epidemiology and course of the spectrum of renal diseases associated with HIV infection. *Kidney Int.* 2004;66(3): 1145-1152.
7. Wyatt CM, Arons RR, Klotman PE, Klotman ME. Acute renal failure in hospitalized patients with HIV: risk factors and impact on in-hospital mortality. *AIDS.* 2006;20(4): 561-565
8. Roling J, Schmid H, Fischereeder M, Draenert R, Goebel FD. HIV-associated renal diseases and highly active antiretroviral therapy-induced nephropathy. *Clin Infect Dis* 42: 1488-1495, 2006
9. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, et al. HIV Outpatient Study Investigators. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1998;338(13): 853-860.
10. Sepkowitz KA. AIDS-the first 20 years. *N Engl J Med* 2001;344(23):1764-72.
11. Fang CT, Chang YY, Hsu HM, Twu SJ, Chen KT, Lin CC, et al. Life expectancy of patients with newly-diagnosed HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *QJM* 2007;100(2):97-105.
12. Glesby MJ. *Top Antivir Med.* 2017 Dec/Jan;24(4):127-131. Cardiovascular Complications of HIV Infection.
13. Cherise Wong, Stephen J. Gange, Kate Buchacz, Richard D. Moore, Amy C. Justice, Michael A. Horberg, M. John Gill, John R. Koethe, Peter F. Rebeiro, Michael J. Silverberg, Frank J. Palella, Pragna Patel, Mari M. Kitahata, Heidi M. Crane, Alison G. Abraham, Hasina Samji, Sonia Napravnik, Tareq Ahmed, Jennifer E. Thorne, Ronald J. Bosch, Angel M. Mayor, Keri N. Althoff, for the North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design (NA-ACCORD); First Occurrence of Diabetes, Chronic Kidney Disease, and Hypertension Among North American HIV-Infected Adults, 2000–2013. *Clin Infect Dis* 2017; 64 (4): 459-467.
14. Post WS. *Top Antivir Med.* 2011 Dec;19(5):169-73. Predicting and preventing cardiovascular disease in HIV-infected patients.
15. Rao TK, Filippone EJ, Nicastrì AD et al. Associated focal and segmental glomerulosclerosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1984; 310: 669–673
16. Rosenberg AZ, Naicker S, Winkler CA et al. HIV-associated nephropathies: epidemiology, pathology, mechanisms and treatment. *Nat Rev Nephrol* 2015; 11: 150–160

17. Wyatt CM, Morgello S, Katz-Malamed R et al. The spectrum of kidney disease in patients with AIDS in the era of antiretroviral therapy. *Kidney Int* 2009; 75: 428–434
18. *Clin Kidney J.* 2016 Dec;9(6):772-781. Epub 2016 Oct 25. HIV and kidney diseases: 35 years of history and consequences. Campos P1, Ortiz A2, Soto K3.
19. *World J Nephrol.* 2015 Jul 6;4(3):388-95. Epidemiology, clinical characteristics, and management of chronic kidney disease in human immunodeficiency virus-infected patients. Ando M, Yanagisawa N
20. Saracho R, Martín Escobar E, Comas Farnés J et al. Clinical evolution of chronic renal patients with HIV infection in replacement therapy. *Nefrología* 2015; 35: 457–464
21. Fabian, J. & Naicker, S. HIV and kidney disease in sub-Saharan Africa. *Nat. Rev. Nephrol.* 5, 591–598 (2009).
22. Gerntholtz TE, Goetsch SJW, Katz I. HIV-related nephropathy: a South African perspective. *Kidney Int* 2006; 69: 1885–1891
23. Stanifer JW, Jing B, Tolan S et al. The epidemiology of chronic kidney disease in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health* 2014; 2: 174–181
24. Santiago P, Grinsztejn B, Friedman RK et al. Screening for decreased glomerular filtration rate and associated risk factors in a cohort of HIV-infected patients in a middle-income country. *PLoS One* 2014; 9: e93748
25. Menezes AM, Torelly J Jr, Real L et al. Prevalence and risk factors associated to chronic kidney disease in HIV-infected patients on HAART and undetectable viral load in Brazil. *PLoS One* 2011; 6: e26042
26. *HIV Med.* 2013 Sep;14(8):503-8. doi: 10.1111/hiv.12038. Epub 2013 Apr 16. Advanced chronic kidney disease, end-stage renal disease and renal death among HIV-positive individuals in Europe. Ryom L1, Kirk O, Lundgren JD, Reiss P, Pedersen C, De Wit S, Buzunova S, Gasirowski J, Gatell JM, Mocroft A; EuroSIDA in EuroCoord.
27. Kopp, J. B. et al. APOL1 genetic variants in focal segmental glomerulosclerosis and HIV-associated nephropathy. *JASN* 22, 2129–2137 (2011).
28. Limou, S., Nelson, G. W., Kopp, J. B. & Winkler, C. A. APOL1 kidney risk alleles: population genetics and disease associations. *Adv. Chronic Kidney Dis.* 21, 426–433 (2014).
29. Fine, D. M. et al. APOL1 risk variants predict histopathology and progression to ESRD in HIV-related kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 23, 343–350 (2012).
30. Gupta SK, Mamlin BW, Johnson CS. Prevalence of proteinuria and the development of chronic kidney disease in HIV-infected patients. *Clin Nephrol* 2004; 61: 1–6
31. Szczech LA, Gange SJ, Van der Horst C et al. Predictors of proteinuria and renal failure among women with HIV infection. *Kidney Int* 2002; 61: 195–202
32. Otero A, de Francisco A, Gayoso P et al. Prevalence of chronic renal disease in Spain: results of the EPIRCE study. *Nefrología* 2010; 30: 78–86.
33. Gravemann S, Brinkkoetter PT, Vehreschild JJ, Franke B, Ehren K, Bünemann E, Orbach H, Weiß V, Hellmich M, Benzing T, Fätkenheuer G. Low-grade proteinuria is highly prevalent in HIV-positive patients on antiretroviral treatment. *AIDS* 2014; 28: 1783-1789
34. Yanagisawa N, Muramatsu T, Yamamoto Y, Tsuchiya K, Nitta K, Ajisawa A, Fukutake K, Ando M. Classification of human immunodeficiency virus-infected patients with chronic kidney disease using a combination of proteinuria and estimated glomerular filtration rate. *Clin Exp Nephrol* 2014; 18: 600-605
35. High Prevalence of Signs of Renal Damage Despite Normal Renal Function in a Cohort of HIV-Infected Patients: Evaluation of Associated Factors. *AIDS Patient Care STDS.* 2014 Oct;28(10):524-9. Bonjoch A, Juega J, Puig J. et al.
36. *Nephrol Dial Transplant* (2011) 26: 3923–3929 doi: 10.1093/ndt/gfr129 Urinary albumin excretion within the normal range is an independent risk for near-term development of kidney disease in HIV-infected patients. Minoru Ando, Naoki Yanagisawa, Atsushi Ajisawa, Ken Tsuchiya and Kosaku Nitta.
37. *Sci Rep.* 2016 Jun 29;6:28741. Urinary albumin-to-creatinine ratio is associated with endothelial dysfunction in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy. Matteo Pirro¹, Massimo R. Mannarino¹, Daniela Francisci², Elisabetta Schiaroli², Vanessa Bianconi¹, Francesco Bagaglia¹, Amirhossein Sahebkar^{3,4}, Elmo Mannarino¹ & Franco Baldelli².
38. Albuminuria Is Associated with Elevated Acute Phase Reactants and Proinflammatory Markers in HIV-Infected Patients Receiving Suppressive Combination Antiretroviral Therapy. Pichaya O-charoen,¹ Lishomwa C. Ndhlovu,^{1,2} Louie Mar A. Gangcuangco,^{1,3} Sheila M. Keating,^{4,5} Philip J. Norris,^{4,5} Roland C.K. Ng,¹ Brooks I. Mitchell,² Cecilia M. Shikuma,¹ and Dominic C. Chow. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2014 Dec;30(12):1185-91.
39. *PLoS One.* 2015 Aug 26;10(8):e0136529. doi: 10.1371/journal.pone.0136529. eCollection 2015. Albuminuria Is Associated with Traditional Cardiovascular Risk Factors and Viral Load in HIV-Infected Patients in Rural South Africa. Wensink GE¹, Schoffelen AF¹, Tempelman HA², Rookmaaker MB³, Hoepelman AI¹, Barth RE
40. KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int* 2013;(Suppl 3):1-163.
41. Kalyesubula R, Perazella MA. Nephrotoxicity of HAART. *AIDS Res Treat* 2011; 2011: doi: 10.1155/2011/562790
42. Jao J, Wyatt CM. Antiretroviral medications: adverse effects on the kidney. *Adv Chronic Kidney Dis* 2010; 17: 72–82
43. Perazella MA. Tenofovir-induced kidney disease: an acquired renal tubular mitochondrialopathy. *Kidney Int* 2010; 78: 1060–1063
44. *PLoS One.* 2016 Sep 15;11(9):e0162320. doi: 10.1371/journal.pone.0162320. eCollection 2016. Risk of Chronic Kidney Disease among Patients Developing Mild Renal Impairment during Tenofovir-Containing Antiretroviral Treatment. Lapadula G1, Bernasconi DP2, Casari S3, Maggiolo F4, Cauda R5, Di Pietro M6, Ladisa N7, Sighinolfi L8, Dal Zoppo S9, Sabbatini F1, Soria A1, Pezzoli C3, Mondì A5, Costarelli S1, Valsecchi MG2, Torti C10, Gori A1,2; Italian MASTER cohort.
45. *Infect Dis Ther.* 2015 Jan 8. [Epub ahead of print] Protease Inhibitors and Renal Function in Patients with HIV Infection: a Systematic Review. Bagnis C11, Stellbrink HJ.
46. Impact of protease inhibitors on the evolution of urinary markers. Subanalyses from an observational cross-sectional study. *Medicine (Baltimore).* 2016 Aug;95(32):e4507. Bonjoch A, Puig J, Pérez-Alvarez N, Juega J et al.
47. Wyatt CM. Will a new tenofovir prodrug for the treatment of HIV reduce the risk of nephrotoxicity? *Kidney Int* 2016; 89: 5–6
48. Milburn J, Jones R, Levy JB. Renal effects of novel antiretroviral drugs. *Nephrol Dial Transplant* 2016. doi: 10.1093/ndt/ gfw064
49. Sax PE, Wohl D, Yin MT et al. Tenofovir alafenamide versus tenofovir disoproxil fumarate, coformulated with elvitegravir, cobicistat, and emtricitabine, for initial treatment of HIV-1 infection: two randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trials. *Lancet* 2016; 385: 2606–2615.
50. Mocroft A, Neuhaus J, Peters L et al. Hepatitis B and C co-infection are independent predictors of progressive kidney disease in HIV-positive, antiretroviral-treated adults. *PLoS One* 2012; 7: 1–9

51. Mohan, S. et al. The changing pattern of glomerular disease in HIV and hepatitis C co-infected patients in the era of HAART. *Clin. Nephrol.* 79, 285–291 (2013).
52. Pilay S, Aldous C, Mahomed F. A deadly combination—HIV and diabetes mellitus: where are we now? *S Afr Med J* 2016; 106: 54.
53. High KP, Brennan-Ing M, Clifford DB et al. HIV and aging: state of knowledge and areas of critical need for research. A report to the NIH Office of AIDS Research by the HIV and Aging Working Group. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012; 60 (Suppl 1): S1–S18
54. Horvath S, Levine AJ. HIV-1 infection accelerates age according to the epigenetic clock. *J Infect Dis* 2015; 212: 1563–1573
55. Mallipattu, S. K., Salem, F. & Wyatt, C. M. The changing epidemiology of HIV-related chronic kidney disease in the era of antiretroviral therapy. *Kidney Int.* 86, 259–265 (2014).
56. Phair, J. & Palella, F. Renal disease in HIV-infected individuals. *Curr. Opin. HIV AIDS* 6, 285–289 (2011).
57. *J Am Soc Nephrol.* 2014 Feb;25(2):407-19. doi: 10.1681/ASN.2013050564. Epub 2013 Dec 5. The kidney as a reservoir for HIV-1 after renal transplantation. Canaud G1, Dejucq-Rainsford N, Avettand-Fenoël V, Viard JP, Anglicheau D, Bienaimé F, Muorah M, Galmiche L, Gribouval O, Noël LH, Satie AP, Martinez F, Sberro-Soussan R, Scemla A, Gubler MC, Friedlander G, Antignac C, Timsit MO, Onetti Muda A, Terzi F, Rouzioux C, Legendre C.
58. Mikulak, J. & Singhal, P. C. HIV-1 and kidney cells: better understanding of viral interaction. *Nephron Exp. Nephrol.* 115, e15–e21 (2010).
59. Khatua, A. K., Taylor, H. E., Hildreth, J. E. & Popik, W. Non-productive HIV-1 infection of human glomerular and urinary podocytes. *Virology* 408, 119–127 (2010).
60. *J Am Soc Nephrol.* 2000 Nov;11(11):2079-87. Renal epithelium is a previously unrecognized site of HIV-1 infection. Bruggeman LA1, Ross MD, Tanji N, Cara Dikman S, Gordon RE, Burns GC, D'Agati VD, Winston JA, Klotman ME, Klotman PE.
61. *N Engl J Med.* 2001 Jun 28;344(26):1979-84. Nephropathy and establishment of a renal reservoir of HIV type 1 during primary infection. Winston JA1, Bruggeman LA, Ross MD, Jacobson J, Ross L, D'Agati VD, Klotman PE, Klotman ME.
62. *Curr Opin HIV AIDS.* 2006 Mar;1(2):115-20. doi:0.1097/01.COH.0000209581.88166.89. Kidney and central nervous system as reservoirs of HIV infection. Fierer DS1, Klotman ME.
63. *J Am Soc Nephrol.* 2007 Mar;18(3):780-7. Epub 2007 Feb 7. DEC-205-mediated internalization of HIV-1 results in the establishment of silent infection in renal tubular cells. Hatsukari I1, Singh P, Hitosugi N, Messmer D, Valderrama E, Teichberg S, Chaung W, Gross E, Schmidtmayerova H, Singhal PC.
64. *J Gen Virol.* 2014 Nov;95(Pt 11):2346-55. doi: 10.1099/vir.0.069641-0. Epub 2014 Aug 21. Cell-to-cell transfer of HIV infection: implications for HIV viral persistence. Costiniuk CT1, Jenabian MA2.
65. Grahammer, F., Wanner, N. & Huber, T. B. Podocyte regeneration: who can become a podocyte? *Am. J. Pathol.* 183, 333–335 (2013).
66. Ray, P. E. et al. A novel HIV-1 transgenic rat model of childhood HIV-1-associated nephropathy. *Kidney Int.* 63, 2242–2253 (2003).
67. Liapis, H., Romagnani, P. & Anders, H. J. New insights into the pathology of podocyte loss: mitotic catastrophe. *Am. J. Pathol.* 183, 1364–1374 (2013).
68. Zhong, J. et al. Expression of HIV 1 genes in podocytes alone can lead to the full spectrum of HIV 1 associated nephropathy. *Kidney Int.* 68, 1048–1060 (2005).
69. Zuo, Y. et al. HIV-1 genes vpr and nef synergistically damage podocytes, leading to glo-

- merulosclerosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17, 2832–2843 (2006).
70. HIV-associated immune complex kidney disease. Nobakht E, Cohen SD, Rosenberg AZ, Kimmel PL. *Nat Rev Nephrol.* 2016 May;12(5):291-300. doi: 10.1038/nrneph.2015.216. Review
71. Stock PG, Barin B, Murphy B, Hanto D, Diego JM, Light J, et al. Outcomes of kidney transplantation in HIV-infected recipients. *N Engl J Med* 2010;363(21):2004-14.
72. Gorritz JL, Gutierrez F, Trullas JC et al. Consensus document on the management of renal disease in HIV-infected patients. *Nefrologia* 2014; 34 (Suppl 2): 1–81
73. Lucas GM, Ross MJ, Stock PG et al. Clinical practice guideline for the management of chronic kidney disease in patients infected with HIV: 2014 update by the HIV medicine association of the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis* 2014; 59: e96–e138.
74. *PLoS Med.* 2015 Mar 31;12(3):e1001809. Development and validation of a risk score for chronic kidney disease in HIV infection using prospective cohort data from the D:A:D study. Mocroft A, Lundgren JD, Ross M, Law M, Reiss P, Kirk O, Smith C, Wentworth D, Neuhaus J, Fux CA, Moranne O, Morlat P, Johnson MA, Ryom L; D:A:D study group; Royal Free Hospital Clinic Cohort; INSIGHT study group; SMART study group; ESPRIT study group.
75. Mallipattu, S. K., Wyatt, C. M. & He, J. C. The new epidemiology of HIV-related kidney disease. *J. AIDS Clin. Res.* S4, 001 (2012).
76. Cohen, S. D. & Kimmel, P. L. Immune complex renal disease and human immunodeficiency virus infection. *Semin. Nephrol.* 28, 535–544 (2008).
77. HIV-associated immune complex kidney disease. Nobakht E, Cohen SD, Rosenberg AZ, Kimmel PL. *Nat Rev Nephrol.* 2016 May;12(5):291-300. doi: 10.1038/nrneph.2015.216. Review.
78. Foy, M. C. et al. Comparison of risk factors and outcomes in HIV immune complex kidney disease and HIV-associated nephropathy. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 8, 1524–1532 (2013)
79. Cohen, S. D. & Kimmel, P. L. Renal biopsy is necessary for the diagnosis of HIV-associated renal diseases. *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* 5, 22–23 (2009).
80. *Kidney Int.* 2009 February ; 75(4): 428–434. The spectrum of kidney disease in patients with AIDS in the era of antiretroviral therapy. Christina M. Wyatt1, Susan Morgello2,3, Rebecca Katz-Malamed1, Catherine Wei4, Mary E. Klotman4, Paul E. Klotman5, and Vivette D. D'Agati6
81. Lescure, F. X. et al. HIV-associated kidney glomerular diseases: changes with time and HAART. *Nephrol. Dial. Transplant.* 27, 2349–2355 (2012).
82. Bani-Hani, S. et al. Renal disease in AIDS: it is not always HIVAN. *Clin. Exp. Nephrol.* 14, 263–267 (2010).
83. Berliner, A. R. et al. Observations on a cohort of HIV-infected patients undergoing native renal biopsy. *Am. J. Nephrol.* 28, 478–486 (2008).
84. Meehan, S. M., Kim, L. & Chang, A. A spectrum of morphologic lesions of focal segmental glomerulosclerosis by Columbia criteria in human immunodeficiency virus infection. *Virchows Arch.* 460, 429–435 (2012).
85. *Am J Kidney Dis.* 2016 Aug;68(2):e9-e10. doi: 10.1053/j.ajkd.2016.06.003. AJKD Atlas of Renal Pathology: HIV-Associated Immune Complex Kidney Disease (HIVICK). Fogo AB1, Lusco MA2, Najafian B3, Alpers CE3.
86. *World J Nephrol.* 2016 Jul 6;5(4):321-7. Renal biopsy: Still a landmark for the nephrologist. Visconti L, Cernaro V, Ricciardi CA, Lacava V, Pellicanò V, Lacquaniti A, Buemi M, Santoro D.

87. Am J Kidney Dis. 2000 Mar;35(3):448-57. Current indications for renal biopsy: a questionnaire-based survey. Fuiano G, Mazza G, Comi N, Caglioti A, De Nicola L, Iodice C, Andreucci M, Andreucci VE.
88. Hanash S. Disease proteomics. *Nature* 2003;422(6928):226–232.
89. Park MR, Wang EH, Jin DC et al., Establishment of a 2-D human urinary proteomic map in IgA nephropathy. *Proteomics* 2006;6: 1066-76.
90. Janech MG, Raymond JR, Arthur JM. Proteomics in renal research. *Am J Renal Physiol* 2007;292: F501-12.
91. Pang JX, Ginanni N, Dongre AR, et al. Biomarker discovery in urine by proteomics. *J proteome Res* 2002; 1:161-9.
92. Zoysa JR, Tpham PS. Podocyte biology in human disease. *Nephrology (Carlton)* 2005; 10:362-7.
93. Kerjaschki D. Caught flat-footed: podocyte damage and the molecular bases of glomerulosclerosis. *J CLin Invest* 2001; 108:1583-7.
94. Albrethsen J. Reproducibility in protein profiling by MALDI-TOF mass spectrometry. *CLin Chem* 2007; 53: 852-8.
95. Calvano CD, Aresta A, Iacovone M , et al. Optimization of analytical and pre-analytical conditions for MALDI-TOF-MS human urine protein profiles. *J Pharm Biomed Anal* 2010; 51: 907-14.
96. Fiedler GM, Baumann S, Leichtle A, et al. Standardized peptidome profiling of human urine by magnetic bead separation and matrix-assisted laser desorption/ionization time-on-flight mass spectrometry. *CLin Chem* 2007; 53:421-8.
97. Julian BA, Wittke S, Haubitz M, et al. Urinary biomarkers of IgA nephropathy and other IgA-related diseases. *World J Urol* 2007;25:467-76.
98. Xu BJ, Shyr Y, Liang X, et al. Proteomic patterns and prediction of glomerulosclerosis and its mechanisms. *J Am Soc Nephro* 2005; 16:2967-75.
99. Papale M, Di Paolo S, Magistroni R et al. Urine proteome analysis may allow noninvasive differential diagnosis of diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2010; 33: 2409-15.
100. Lapolla A, Seraglia R, Molin L, et al. Low molecular weight proteins in urines from healthy subjects as well as diabetic, nephropathic and diabetic-nephropathic patients: a MALDI study. *J Mass Spectrom* 2009; 44: 419-25.
101. *J Am Soc Nephrol*. 2008 May;19(5):877-83. HIV-1 upregulates VEGF in podocytes. Korgaonkar SN1, Feng X, Ross MD, Lu TC, D'Agati V, Iyengar R, Klotman PE, He JC.
102. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012 Dec 15;61(5):565-73. Urinary markers of kidney injury and kidney function decline in HIV-infected women. Shlipak MG1, Scherzer R, Abraham A, Tien PC, Grunfeld C, Peralta CA, Devarajan P, Bennett M, Butch AW, Anastos K, Cohen MH, Nowicki M, Sharma A, Young MA, Sarnak MJ, Parikh CR.
103. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009 Apr;4(4):763-71. Iron-related proteins: candidate urine biomarkers in childhood HIV-associated renal diseases. Soler-García AA1, Johnson D, Hathout Y, Ray PE.
104. *Dis Markers*. 2014;2014:315824. doi: 10.1155/2014/315824. Epub 2014 Dec 17. Proteomic analysis of serum and urine of HIV-monoinfected and HIV/HCV-coinfected patients undergoing long term treatment with nevirapine. Wongtrakul J, Thongtan T, Roytrakul S, Kumrapich B, Janphen K, Praparattanapan J, Supparatpinyo K, Smith DR.
105. *PLoS One*. 2014 Jan 30;9(1):e87731. Urinary peptide profiling to differentiate between minimal change disease and focal segmental glomerulosclerosis. Pérez V1, Ibernón M2, López D3, Pastor MC4, Navarro M2, Navarro-Muñoz M1, Bonet J2, Romero R5.
106. *Kidney Blood Press Res*. 2012;35(5):314-25. Uromodulin and (1)-antitrypsin urinary peptide analysis to differentiate glomerular kidney diseases. Navarro-Muñoz M1, Ibernón M, Bonet J, Pérez V, Pastor MC, Bayés B, Casado-Vela J, Navarro M, Ara J, Espinal A, Fluvià L, Serra A, López D, Romero R.
107. *BMC Nephrol*. 2013 Apr 11;14:82. Poor histological lesions in IgA nephropathy may be reflected in blood and urine peptide profiling. Graterol F, Navarro-Muñoz M, Ibernón M, López D, Troya MI, Pérez V, Bonet J, Romero R.
108. *Transplant Proc*. 2009 Jul-Aug;41(6):2111-4. Effect of low doses of atorvastatin on the urinary peptide profile of kidney transplant patients. Pérez V., Navarro-Muñoz M, Bayés B, Lauzurica R, Pastor MC, Troya M, Bonet J, Ibernón M, Navarro M, Serra A, Núñez A, Romero R.
109. *Pharmacology*. 2011;87(3-4):161-8. Proteomic approach to the study of statin pleiotropy in kidney transplant patients. Pérez V1, Navarro-Muñoz M, Mas S, Bayés B, Pastor MC, Martínez-Cáceres E, Lauzurica R, Egido J, Romero R.
110. *Transplant Proc*. 2010 Oct;42(8):2924-7. Effect of paricalcitol on the urinary peptidome of kidney transplant patients. Pérez V1, Sánchez A, Bayés B, Navarro-Muñoz M, Lauzurica R, Pastor MC, Romero R.
111. *Eur J Pharmacol*. 2013 Jun 5;709(1-3):72-9. Magnetic bead-based proteomic technology to study paricalcitol effect in kidney transplant recipients. Pérez V1, Sánchez-Escuredo A, Lauzurica R, Bayés B, Navarro-Muñoz M, Pastor MC, Cañas L, Bonet J, Romero R.
112. *Kidney Int*. 2011 Aug;80(4):338-47. The rediscovery of uromodulin (Tamm-Horsfall protein): from tubulointerstitial nephropathy to chronic kidney disease. Rampoldi L, Scolari F, Amoroso A, Ghiggeri G, Devuyst O.
113. *Pediatr Nephrol*. 2014 Jul;29(7):1151-8. doi: 10.1007/s00467-013-2563-z. Epub 2013 Jul 24. Uromodulin: old friend with new roles in health and disease. Iorember FM, Vehaskari VM.
114. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2010 Jul 30;24(14):1971-8. Identification of a uromodulin fragment for diagnosis of IgA nephropathy. Wu J, Wang N, Wang J, Xie Y, Li Y, Liang T, Wang J, Yin Z, He K, Chen X.
115. Kwak NJ, Wang EH, Heo IY, Jin DC, Cha JH, Lee KH, Yang CW, Kang CS, Choi YJ: Proteomic analysis of alpha-1-antitrypsin in immunoglobulin A. nephropathy. *Proteomics Clin Appl* 2007, 1(4):420–428.
116. Casado-Vela J, del Pulgar TG, Cebrian A, et al. Human urine proteomics: building a list of human urine cancer biomarkers. *Expert Rev Proteomics* 2001; 8:347-60.
117. Sharma K, Lee S, Han S, et al. Two-dimensional fluorescence difference gel electrophoresis analysis of the urine proteome in human diabetic nephropathy. *Proteomics* 2005; 5:2648-55.
118. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, et al. HIV Outpatient Study Investigators. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1998;338(13): 853-860.
119. Szczech LA, Gupta SK, Habash R, et al. The clinical epidemiology and course of the spectrum of renal diseases associated with HIV infection. *Kidney Int*. 2004;66(3): 1145-1152.
120. Wyatt CM, Arons RR, Klotman PE, Klotman ME. Acute renal failure in hospitalized patients with HIV: risk factors and impact on in-hospital mortality. *AIDS*. 2006;20(4): 561-565.

121. Roling J, Schmid H, Fischereider M, Draenert R, Goebel FD. HIV-associated renal diseases and highly active antiretroviral therapy-induced nephropathy. *Clin Infect Dis* 42: 1488-1495, 2006.
122. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification 2002. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: S1-266.
123. NCEP ATP III 2001. Clinical practice guidelines. www.nhlbi.nih.gov > Clinical Practice Guidelines.
124. The expert panel. Third report of the national cholesterol education program NCEP expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults(ATP III). Final report. *Circulation* 2002 ,106 ,3143-421
125. *Circulation* 2005,112 ;2735-2752 AHA/NHLBI . Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/ National Heart , lung, and blood institute Scientific Satatement.
126. ADA 2011: Clinical Practice Table of Contents — January 2011, 34 (Supplement 1) — Diabetes Care.
127. Samir K. Gupta, Joseph A. Esustace, Jonathan A. Winston , et al. Guidelines for the management of chronic kidney disease in HIV- infected patients : Recommendations of the HIV Medicine Association of the Infectious diseases Society of America. *CID* 2005;40 (1 Junio).
128. Panel de expertos del Grupo de estudio de Sida (GESIDA) y del plan Nacional sobre el Sida (PNS). Diagnóstico, tratamiento y prevención de las alteraciones renales en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. Recomendaciones del grupo de estudio del Sida/Plan nacional sobre el sida. *EIMC* 2010;28 (8);520.
129. Fernando Lozano, Eugena Negredo y Carlos Quereda. Nefrotoxicidad del tratamiento antirretroviral. *AIDS* 2008, 22 (Nim. ESP 1): S22-S32.
130. Dr Szczech, Duke University Medical Center. Renal Dysfunction and Tenofovir toxicity in HIV-infected patients. *Topic in HIV medicine* 2008, 16 (4)-122-126.
131. Steven G. Deeks, Andrew N. Phillips. HIV infection, antiretroviral treatment ageing , and non AIDS relates morbidity. *BMJ* 2009, 338:a3172.
132. Thushan I. de Silva, Frank A. Post, Mathew D. Griffin, Davis H. Dockrell. HIV-1 infection and the kidney: An evolving challenge in HIV medicine. *Mayo Clin Proc Sept* 2007 ;82 (9) 1103-1116.
133. S. Naicker, J. Fabian. Risk factors for the development of chronic kidney disease with HIV/AIDS. *Clinical nephrology* vol.74 Suppl 1/2010 (S51-S56).
134. Amanda Mocroft, Ole Kirk, Peter Reiss, Stephane de Wit, Dalibor Sedlacek, Marek Beniowski , et al. Estimated glomerular filtration rate, chronic kidney disease and antiretroviral drug use in HIV-positive patients. *AIDS* 2010, 24: 1667-1678.
135. T. Fulop, J Oliver, R.S Meador , J. Hall, N. Islam , Et al. Screening for chronic kidney disease in the ambulatory HIV population. *Clinical nephrology* vol 73 No3 2010 (190-196).
136. A. Di Bagio, R. Rosso, F. Vitale, F. Cardinale, M. P. Sormano ,et al. Risk factors for chronic kidney disease among human immunodeficiency virus-infected patients: A European case control study. *Clinical Nephrology* vol 75. No 6/ 2011 (518-523).
137. Philippe Flandre, Pascal Pugliese, Lise Cuzin, Corinne Isnard Bagnis, Ivan Tack, Andre Cabie, et al. Risk factors of chronic kidney disease in HIV-infected patients. *Clin. J. Am Soc Nephrol* 6: 1700-1707, 2011.
138. Erin Medden, Grace Lee, Donal P. Kotler, Christine Wanke, E. Lewis, et al. Association of antiretroviral therapy with fibrinogen levels in HIV infection. *AIDS* 2008 March 30, 22(6) 707-715.

139. Hoffmann CJ, Katherine FL, Victoria J, Salome C, Craig I, Moore RD, Chaisson RE, Grant AD, Churchyard GJ. Changing predictors of mortality over time from cART start: implications for care. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011 Aug 26.
140. Guzmán-Fulgencio M, Medrano J, Rallón N, Echeverría-Urabayen A, Miguel Benito J, Restrepo C, García-Álvarez M, Vispo E, San Roman J, Sánchez-Piedra C, Soriano V, Resino S. Soluble markers of inflammation are associated with Framingham scores in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy. *J Infect*. 2011 Aug 12.
141. Neuhaus J, Jacobs DR Jr, Baker JV, Calmy A, Duprez D, La Rosa A, Kuller LH, Pett SL, Ristola M, Ross MJ, Shlipak MG, Tracy R, Neaton JD. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis*. 2010 Jun 15;201(12):1788-95.
142. Jong E, Meijers JC, van Gorp EC, Spek CA, Mulder JW. Markers of inflammation and coagulation indicate a prothrombotic state in HIV-infected patients with long-term use of antiretroviral therapy with or without abacavir. *AIDS Res Ther*. 2010 Apr 16;7:9.
143. Baker JV, Neuhaus J, Duprez D, Kuller LH, Tracy R, Belloso WH, De Wit S, Drummond F, Lane HC, Ledergerber B, Lundgren J, Nixon DE, Paton NI, Neaton JD; INSIGHT SMART Study Group. Changes in inflammatory and coagulation biomarkers: a randomized comparison of immediate versus deferred antiretroviral therapy in patients with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011 Jan 1;56(1):36-43.
144. Boulware DR, Hullsiek KH, Puroon CE, Rupert A, Baker JV, French MA, Bohjanen PR, Novak RM, Neaton JD, Sereti I; INSIGHT Study Group. Higher levels of CRP, D-dimer, IL-6, and hyaluronic acid before initiation of antiretroviral therapy (ART) are associated with increased risk of AIDS or death. *J Infect Dis*. 2011 Jun 1;203(11):1637-46.
145. Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, Ledergerber B, Lundgren J, Neuhaus J, Nixon D, Paton NI, Neaton JD; INSIGHT SMART Study Group. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med*. 2008 Oct 21;5(10):e203.
146. Madden E, Lee G, Kotler DP, Wanke C, Lewis CE, Tracy R, Heymsfield S, Shlipak MG, Bacchetti P, Scherzer R, Grunfeld C. Association of antiretroviral therapy with fibrinogen levels in HIV-infection. *AIDS*. 2008 Mar 30;22(6):707
147. Tien PC, Choi AI, Zolopa AR, Benson C, Tracy R, Scherzer R, Bacchetti P, Shlipak M, Grunfeld C. Inflammation and mortality in HIV-infected adults: analysis of the FRAM study cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010 Nov 1;55(3):316-22.
148. Phair J, Palella F. Renal disease in HIV-infected individuals. *Curr Opin HIV AIDS*. 2011 Jul;6(4):285-9.
149. Bernardino de la Serna JI, Zamora FX, Montes ML, García-Puig J, Arribas JR. Hypertension, HIV infection, and highly active antiretroviral therapy. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010 Jan;28(1):32-7. Epub 2009 May 1.
150. Pérez-Camacho I, Camacho A, Torre-Cisneros J, Rivero A. Cardiovascular risk factors associated with antiretroviral therapy. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009 Sep;27 Suppl 1:24-32.
151. Sebastián Hernández, Magdalena Vidal and Enric Pedrol. Evaluación del riesgo cardiovascular e intervención en los pacientes con VIH. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Volume 27, Supplement 1, September 2009, Pages 40-47
152. Mar Masiá and Félix Gutiérrez. Factores de riesgo cardiovascular dependientes de la infección por VIH. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* Volume 27, Supplement 1, September 2009, Pages 17-23.
153. Naicker S, Fabian J. Risk factors for the development of chronic kidney disease with HIV/AIDS. *Clin Nephrol*. 2010 Nov;74 Suppl 1:S51-6.

154. Crowley ST, Cantwell B, Abu-Alfa A, Rigsby MO. Prevalence of persistent asymptomatic proteinuria in HIV-infected outpatients and lack of correlation with viral load. *Clin Nephrol.* 2001 Jan;55(1):1-6.
155. Fux CA, Simcock M, Wolbers M, Bucher HC, Hirschel B, Opravil M, Vernazza P, Cavasini M, Bernasconi E, Elzi L, Furrer H; Swiss HIV Cohort Study. Tenofovir use is associated with a reduction in calculated glomerular filtration rates in the Swiss HIV Cohort Study. *Antivir Ther.* 2007;12(8):1165-73.
156. Horberg M, Tang B, Towner W, Silverberg M, Bersoff-Matcha S, Hurley L, Chang J, Blank J, Quesenberry C Jr, Klein D. Impact of tenofovir on renal function in HIV-infected, antiretroviral-naive patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010 Jan 1;53(1):62-9.
157. Choi AI, Shlipak MG, Hunt PW, Martin JN, Deeks SG. HIV-infected persons continue to lose kidney function despite successful antiretroviral therapy. *AIDS.* 2009 Oct 23;23(16):2143-9.
158. Fontseré N, Salinas I, Bonal J, Bayés B, Riba J, Torres F, Rios J, Sanmartí A, Romero R. Are prediction equations for glomerular filtration rate useful for the long-term monitoring of type 2 diabetic patients?. *Nephrol Dial Transplant.* 2006 Aug;21(8):2152-8. Epub 2006 May 15.
159. Fontseré N, Bonal J, Navarro M, Riba J, Fraile M, Torres F, Romero R. A comparison of prediction equations for estimating glomerular filtration rate in adult patients with chronic kidney disease stages 4-5. Effect of nutritional status and age. *Nephron Clin Pract.* 2006;104(4):c160-8.
160. Fontseré N, Bonal J, Salinas I, de Arellano MR, Rios J, Torres F, Sanmartí A, Romero R. Is the new Mayo Clinic Quadratic equation useful for the estimation of glomerular filtration rate in type 2 diabetic patients?. *Diabetes Care.* 2008 Dec;31(12):2265-7. Epub 2008 Oct 3.
161. A. Otero, ALM de Francisco, P. Gayoso, F. García. EPIRCE Study group. Prevalence of chronic renal disease in Spain: Results of the EPIRCE study. *Nefrología* 2010; 30(1): 78-86.

