



# Impacts de l'infection par le VIH/VIS et des antirétroviraux sur les atteintes du tissu adipeux : rôle de la fibrose et du vieillissement

Jennifer Gorwood

## ► To cite this version:

Jennifer Gorwood. Impacts de l'infection par le VIH/VIS et des antirétroviraux sur les atteintes du tissu adipeux : rôle de la fibrose et du vieillissement. Biologie cellulaire. Sorbonne Université, 2020. Français. NNT : 2020SORUS139 . tel-03276867

**HAL Id: tel-03276867**

<https://theses.hal.science/tel-03276867>

Submitted on 2 Jul 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Sorbonne Université

École doctorale Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique

ED 394

*Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA) – INSERM UMR\_S 938 / Equipe B. Fève  
« Lipodystrophies, adaptations métaboliques et hormonales, et vieillissement »*

## **Impacts de l'infection par le VIH/VIS et des antirétroviraux sur les atteintes du tissu adipeux : rôle de la fibrose et du vieillissement**

Par Jennifer Gorwood

Thèse de doctorat de Sciences

Dirigée par Claire Lagathu et Véronique Béréziat

Présentée et soutenue publiquement le 1<sup>er</sup> décembre 2020

Devant un jury composé de :

<b>Pr Bertrand FRIGUET</b> , PU	Président du jury
<b>Pr Francesc VILLARROYA</b> , PU	Rapporteur
<b>Pr Alexandra CALMY</b> , PU-PH	Rapportrice
<b>Dr Xavier PRIEUR</b> , MCU	Examinateur
<b>Dr Claire LAGATHU</b> , MCU	Directrice de thèse
<b>Dr Véronique BÉRÉZIAT</b> , MCU	Co-encadrante de thèse



# Sorbonne Université

École doctorale Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique  
ED 394

*Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA) – INSERM UMR\_S 938 / Equipe B. Fève  
« Lipodystrophies, adaptations métaboliques et hormonales, et vieillissement »*

## **Impacts de l'infection par le VIH/VIS et des antirétroviraux sur les atteintes du tissu adipeux : rôle de la fibrose et du vieillissement**

Par Jennifer Gorwood

Thèse de doctorat de Sciences

Dirigée par Claire Lagathu et Véronique Béréziat

Présentée et soutenue publiquement le 1<sup>er</sup> décembre 2020

Devant un jury composé de :

<b>Pr Bertrand FRIGUET</b> , PU	Président du jury
<b>Pr Francesc VILLARROYA</b> , PU	Rapporteur
<b>Pr Alexandra CALMY</b> , PU-PH	Rapportrice
<b>Dr Xavier PRIEUR</b> , MCU	Examinateur
<b>Dr Claire LAGATHU</b> , MCU	Directrice de thèse
<b>Dr Véronique BÉRÉZIAT</b> , MCU	Co-encadrante de thèse



# **Impacts de l'infection par le VIH/VIS et des antirétroviraux sur les atteintes du tissu adipeux : rôle de la fibrose et du vieillissement**

## **RÉSUMÉ**

Le tissu adipeux (TA) est affecté lors de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) puisqu'il est ciblé simultanément par le virus et les antirétroviraux (ARV). Les perturbations des fonctions métaboliques et sécrétoires du TA ont des répercussions sur l'ensemble de l'organisme participant aux atteintes cardiométraboliques. Premièrement, j'ai démontré l'impact du virus lui-même sur la dysfonction du TA au travers de modèles *in vivo* (TA issus de macaques ou de patients infectés), et *in vitro* de cellules souches adipocytaires humaines (ASC). J'ai mis en évidence que le TA issu de macaques ou de patients infectés présente une fibrose accrue, de petits adipocytes et une augmentation de marqueurs de vieillissement. En accord, les protéines du VIH Tat et Nef induisent une accumulation de collagènes, une sénescence, un stress oxydant, des dysfonctions mitochondrielles et altèrent l'adipogenèse des ASC. Deuxièmement, je me suis intéressée à l'impact des inhibiteurs d'intégrase (INI) sur le TA. En effet, une prise de poids plus importante, liée à une augmentation du TA, a récemment été observée chez les patients infectés par le VIH recevant une combinaison d'ARV comprenant un INI. *In vivo*, dans le TA de macaques non infectés mais traités par des INI, j'ai mis en évidence une fibrose péri-adipocytaire accrue, associée à une hypertrophie adipocytaire. J'ai démontré *in vitro* que malgré leur effet proadipogénique, le traitement par les INI abouti à la formation d'adipocytes dysfonctionnels résistants à l'insuline. Mon travail a permis d'évaluer les effets respectifs du VIH et des INI dans les atteintes du TA et de mieux comprendre les mécanismes en cause.

*Mots clés : tissu adipeux, VIH, fibrose, inhibiteurs d'intégrase, sénescence, cellules souches du tissu adipeux*

## **Impact of HIV/SIV infection and antiretroviral treatment on adipose tissue alterations: role of fibrosis and aging**

## **ABSTRACT**

Adipose tissue (AT) is a tissue affected during infection with the human immunodeficiency virus (HIV) as it is simultaneously targeted by the virus and antiretroviral therapy (ART). Alteration of AT metabolic and secretory functions have whole body consequences which contribute to cardiometabolic diseases. First, I demonstrated the impact of HIV itself on AT dysfunction using two *in vivo* models (AT from infected macaques or patients), and an *in vitro* model of human adipocyte stem cells (ASCs). I showed that AT from macaques or from infected individuals displayed increased fibrosis, small adipocytes and increased markers of aging. In agreement, the HIV proteins Tat and Nef induced collagen accumulation, senescence, oxidative stress, mitochondrial dysfunctions, and altered adipogenesis of ASCs. Secondly, I evaluated the impact of Integrase Strand Transfer Inhibitors (INSTIs) on AT. Indeed, a greater weight gain; linked to an increase in AT, has recently been demonstrated in patients infected with HIV and receiving an ART regimen containing an INSTI. *In vivo*, AT of uninfected but INSTI treated macaques, presented increased peri-adipocyte fibrosis, associated with adipocyte hypertrophy. I have demonstrated *in vitro* that despite their proadipogenic effect, INSTI-treatment led to the formation of dysfunctional insulin-resistant adipocytes. My PhD allowed to assess the effects of HIV infection and INTIIs on AT alterations and to better understand the mechanisms involved.

*Key words: adipose tissue, HIV, fibrosis, integrase inhibitors, senescence, adipose stem cells*



## REMERCIEMENTS

Je tiens en premier lieu à remercier tous les membres du jury qui ont accepté de participer à l'évaluation de mon travail de thèse, en particulier le *Pr Bertrand Friguet* de me faire l'honneur de la présider et d'avoir suivi l'évolution de mes recherches au cours de mes comités de suivi de thèse. J'adresse mes sincères remerciements à mon rapporteur et ma rapportrice, les *Pr Francesc Villarroya* et *Pr Alexandra Calmy* pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail et d'avoir accepté d'évaluer ce manuscrit. Je remercie également le *Dr Xavier Prieur* d'avoir accepté de participer à ce jury en tant qu'examinateur et d'avoir accordé du temps à la lecture de ce manuscrit.

Un grand merci du fond du cœur aux *Dr Claire Lagathu* et *Dr Véronique Béréziat* qui ont codirigé ma thèse. Merci pour vos conseils, votre soutien, votre bienveillance, votre écoute et vos encouragements. Les mots me manquent. Ça a commencé avec une tasse de jeune padawan en master 1. Merci de m'avoir prise sous votre aile et de m'avoir guidée tout en me laissant de l'autonomie sur ce projet de recherche. Et parce qu'on ne parle pas que sciences merci aussi pour tous ces moments géniaux et heureux partagés ensemble au labo et en dehors et sans lesquels ma thèse n'aurait pas été la même. Un grand merci aussi de m'avoir communiqué l'enthousiasme et l'intérêt pour la recherche. Ce projet me tenait beaucoup à cœur. Merci aussi d'avoir instauré les apéros zoom du mercredi soir pendant les confinements, j'ai beaucoup apprécié ce rdv hebdomadaire qui m'a aidé à tenir le cap pendant cette période si particulière. Merci pour toutes ces années ! J'espère un jour avoir vos qualités pédagogiques, votre patience, vos qualités humaines et devenir une enseignante-rechercheuse comme vous ! Je vous dois beaucoup et je ne serais pas la personne que je suis aujourd'hui sans votre direction bienveillante et vos encouragements.

Je remercie le *Pr Bruno Fève*, directeur de l'unité, merci pour tes conseils professionnels et scientifiques. Merci d'être toujours disponible et à l'écoute malgré ton emploi du temps chargé et merci pour ton humour à toute épreuve même lors des confinements ! Merci de m'avoir transmis et communiqué le goût de la recherche, je t'admire beaucoup. Merci de m'avoir permis d'appartenir à cette équipe de recherche, je réalise la chance que j'ai eue.

Je remercie très chaleureusement le *Pr Jacqueline Capeau* d'avoir été présente tout au long de ma thèse. Un grand merci pour vos conseils professionnels et scientifiques, votre œil expert, votre pertinence et vos encouragements. Je vous admire beaucoup et j'ai beaucoup appris à vos côtés. Merci pour nos discussions scientifiques passionnantes et merci de m'avoir communiqué le goût de la recherche. Merci pour votre disponibilité, votre écoute et votre réactivité. Merci pour vos qualités pédagogiques, je connais très peu de personnes qui savent, comme vous, expliquer simplement des sujets plus complexes. Merci d'avoir été l'une des raisons pour lesquelles je suis venue dans ce laboratoire.

A tous ceux qui ont partagé le bureau 707 au cours de ma thèse : *Laura*, *Anna*, *Matthieu*, *Héloïse*, *Marie*, *Emilie Courty*, et *Sophie*. Merci pour les fous rires, les danses sur le remix de motus et la gym aérobic, les discussions personnelles et professionnelles, les sorties, les soirées aux Blouses blanches et au Bidule, l'été du déjeuner presque parfait et de la carbomobile. Un grand merci pour vos conseils, votre écoute et votre soutien durant la thèse et tous ces moments joyeux partagés ensemble. J'ai beaucoup apprécié de partager ces années et ce bureau avec vous tous. Merci aux Toulousaines *Marie* et *Emilie Courty*, grâce à vous la poche et la chocolatine n'ont plus de secrets pour moi, même si je reste encore dans la team pain au chocolat ;). *Emily Courty*, un grand merci de m'avoir accueillie chez toi à Montréal, j'ai adoré visiter cette ville ! *Héloïse*, j'ai appris à te connaître au cours de ma thèse, merci pour ton écoute, tes conseils avisés, ta bonne humeur et ton grain de folie. Je te souhaite de t'épanouir dans ta vie personnelle et professionnelle et de trouver le poste d'ingénieur que tu souhaites. *Matthieu* un grand merci pour ta contribution scientifique à ces travaux ! Il n'aurait pas pu voir le jour sans toi. Un grand merci aussi pour ta patience infinie et tes conseils techniques ! Je te souhaite de t'épanouir dans ta vie professionnelle et personnelle. *Laura* et *Anna*, un grand merci pour toutes nos discussions interminables, pour votre écoute, votre soutien, votre bienveillance et vos conseils ☺ Merci et de m'avoir supportée dans le bureau même quand je râlais un peu trop^^ Merci aussi pour toutes les sorties et les soirées

improvisées ou organisées. Merci pour votre amitié. Je vous souhaite à toutes les deux de vous épanouir aussi bien dans votre vie personnelle que professionnelle. Je vous souhaite que ces années au laboratoire vous apportent autant que cela m'a apporté. Laura, garde en mémoire et continu à avoir cet émerveillement pour les nouvelles manips, les nouveaux résultats et pour ton sujet en particulier les exosomes et les CMLV;) Je suis sûre que vous allez réussir toutes les deux brillamment vos thèses, vous avez toutes les qualités pour !

*Emilie Capel*, un grand merci pour ton amitié, ta gentillesse, ton aide et ton soutien. Merci aussi pour ton humour et ta plume caustique qui me font toujours beaucoup rire. Merci pour ta patience infini, ton écoute et ta disponibilité ! Un grand merci pour tes conseils techniques, organisationnels, personnels et pour ton écoute. Reste comme tu es ! Merci de m'avoir épaulée pendant cette thèse, d'avoir partagé ton expérience et les mêmes galères de la thèse.

*Camille Bourgneuf*, merci pour ton amitié. Merci pour tes conseils et ton soutien mutuel surtout dans cette fin de thèse. Tu es une scientifique brillante ! Je te souhaite plein de bonheur et de trouver ta voie professionnelle.

*Martine Auclair*, merci de m'avoir prodigué tes précieux conseils techniques et d'avoir animé les déjeuners au labo ! Je n'arrive pas à croire que tu partes bientôt à la retraite, le laboratoire sans toi ce ne sera plus pareil ! Merci pour ta générosité et ta patience !

*Carine*, merci pour tous tes conseils sur le postdoc, ta gentillesse et pour nos discussions au Bidule et aux Blouses blanches. Tu es une chercheuse hors paires, je te souhaite d'obtenir un poste et ton sujet sur les glucocorticoïdes et le vieillissement à l'air passionnant.

*Audrey* et *Jean* qui ont étaient stagiaires sur ce projet de recherche. Merci pour vos contributions scientifiques à ces travaux, votre bonne humeur, votre bonne volonté, votre implication et d'avoir montré votre intérêt technique et scientifique pour le projet. Je vous souhaite de vous épanouir dans vos vies professionnelles, je suis sûre que ça se passe très bien pour vous.

Merci au Dr *Marthe Moldes* pour tous les conseils que tu m'as dispensé au cours de ces quatre années de thèse et pour ta disponibilité et au Dr *Bertrand Blondeau* pour tes conseils avisés et de m'avoir formée pour les enseignements de 2V415. Merci au Dr *Alexandra Grosfeld* d'avoir été mon enseignante au cours du master à Jussieu, merci pour tes conseils et pour nos échanges au sein du laboratoire.

Merci à *Natacha Roblot*, première personne que j'ai revue à la sortie du confinement de mars au laboratoire ! Merci pour ta gentillesse, ta disponibilité et pour ton aide au laboratoire.

*Cindy*, après avoir fait ton stage de M1 au labo sur le projet VIH, tu es devenue une amie. Tout d'abord, merci pour ta contribution scientifique à ce travail. Ensuite, merci pour ton amitié. Je te souhaite que tout se passe du mieux possible pour ta thèse, tu as toutes les qualités pour la recherche. Je sais que je ne prends pas très souvent de tes nouvelles mais le cœur y est. C'est à chaque fois un plaisir d'avoir de tes nouvelles et de te voir. Je te souhaite de trouver ta voie personnelle et professionnelle et de tendre vers ta définition du bonheur.

Merci au Dr *Michael Atlan* d'avoir contribué à ces travaux et de nous avoir donné l'accès aux prélèvements de liposuccion afin d'isoler les ASC.

Merci aux Dr *Soraya Fellahi* et Dr *Jean-Philippe Bastard* pour leur aide sur les dosages ELISA à Tenon.

Merci à *Olguiine* pour ton aide et pour ta bonne humeur et *Arnaud* pour ton efficacité et ta rapidité, comme Lucky Luke, tu passes des commandes plus vite que ton ombre. Merci aussi à *Ibrahima* et à *Nicolas* pour votre expertise administratif et d'avoir contribué à la mise en place des contrats et des départs en congrès. *Nicolas* merci aussi d'avoir partagé les apéros zoom des confinements, merci pour tes conseils, ta patience, et pour nos discussions lors des soirées avec le laboratoire en terrasse.

Merci au Pr **Franck Bocvara** pour nos discussions en congrès et nos échanges sur la recherche sur le VIH et les pathologies cardiovasculaires à Milan et à Bâle.

Merci au Dr **Bénédicte Antoine** pour nos échanges au déjeuner et d'avoir supporter nos rires dans ton bureau à côté.

Merci **Guillaume** pour tes conseils et pour la visite de Cambridge. Ce fut fort sympathique.

Merci aux Pr **Corinne Vigouroux** et au Dr **Camille Vatier** pour votre gentillesse et votre disponibilité.

Merci Dr **Sonja Janmaat** pour tes conseils sur le postdoc, ta gentillesse et ta bonne humeur.

Un grand merci à tous les autres membres de l'équipe anciens et présents pour la bonne ambiance au laboratoire : **Alexandrine Liboz**, **Dr Nathalie Di Clemente**, **Dr Ghislaine Guillemain**, **Dr Isabelle Jérôme**, **Dr Olivier Lascols**, **Dr Charlotte Dupont**, **Pr Rachèle Lévy**, **Dr Chrystèle Racine**, **Dr Nathalie Josso**, **Dr Jean-Yves Picard**, **Karine Poussin**, **Dr Anne-Claire Guenantin**, **Dr Nolwenn Birand**, **Dr Thi Thu Huong Do** et **Dr Marion Buyse**. **Alexandrine**, tu es la prochaine, plein de courage ! Je te souhaite plein de belles choses et je suis sûre que tu feras une très belle fin de thèse !

Merci aux membres du comité d'organisation des journées de l'école doctorale : **Delphine, Héloïse, Yuan, Pauline, Marion, Lea, Thomas, Sarah et Anastasia**. Cette expérience fut forte enrichissante et je suis contente de l'avoir partagé avec vous. C'était la première fois que je sélectionnais des abstracts et que je participais à un jury poster.

**Pauline** et **Marion**, un grand merci à mes deux amies avec qui j'ai traversé les hauts et les bas de la thèse au CRSA. Un grand merci pour votre amitié. Merci d'avoir partagé tous ces moments ensemble : les vacances, les soirées, les sorties, la gym suédoises et le yoga, les jeux, les pauses déjeuners et goûters à Kourilsky, les organisations de congrès et la Norvège avec toutes ses péripéties. Merci pour nos fous rires et nos discussions aussi bien sur la thèse que sur la vie où l'on perd la notion du temps ! ☺ Merci aussi pour nos visio zoom de 4h pendant les confinements en pyjama et pilou pilou. Merci de partager la même passion pour Harry Potter et pour Disney ;) Merci pour votre soutien sans faille, quelque soit l'endroit du monde où l'on sera, j'espère vous garder comme amies. Enfin merci d'avoir contribué et de contribuer encore à mon bonheur.

Le comité Poudlarchenne 2018 : **Camille, Indira, Grégoire (alias Titou), Emilie, Marion et Pauline**. Un grand merci pour cette superbe aventure du comité des doctorants du séminaire annuel du CRSA. Merci pour les réunions déjeuners qui partent parfois loin du sujet du départ, les ateliers créatifs, pour votre énergie et votre bonne humeur. Réaliser ce projet avec vous m'a apporté tellement de joie ! Merci d'être partie à fond dans le délire Harry Potter. J'ai vécu le meilleur de ce que l'on peut vivre dans une équipe. Merci à **Titou** pour ton humour et tes blagues qui ont animé nos réunions qui nous a été bien utile pour trouver les noms d'équipe. Merci aussi pour ton expertise informatique et sonore qui a rendu le jeu possible. Tu as un don pour l'enseignement et la recherche donc ne baisse pas les bras, tu es fait pour ça. **Indira**, merci pour ta gentillesse, ta créativité, ton implication et ton organisation dans les cadeaux et les powerpoints de thèse. Les amis, merci pour votre amitié et j'espère que l'on se fera des soirées revivals avec nos robes de sorciers et nos écharpes de thèse même encore dans 10 ans et en visio s'il le faut !

Merci à **Yves Chrétien** pour ton expertise informatique, ta gentillesse et ta disponibilité.

Un grand merci à **Fatiha Merabtene** et **Brigitte Solhonne** pour votre expertise en anatomopathologie et d'avoir contribuer à ces travaux. Un grand merci aussi à **Romain Morichon** pour ta patience, tes conseils sur l'olympus et ton expertise technique sur les logiciels de quantification de fibrose et image j. Sans vous, ces travaux de recherche n'auraient pas pu aboutir.

Un grand merci au Pr **Xavier Houard** de m'avoir donné l'opportunité de réaliser mon premier stage en laboratoire de recherche en deuxième année de licence et de m'avoir transmis le goût de la recherche. Merci de m'avoir écoutée et conseillée durant mon parcours universitaire.

Merci à toutes les autres personnes du CRSA avec qui j'ai pu échanger pendant cette thèse sur le centre et lors du séminaire annuel du centre de recherche. J'espère que le séminaire reprendra un jour en présentiel et je souhaite bon courage au CAS et au futur comité des doctorants qui animera le jeux et une session ;)

Je remercie très sincèrement le Pr Olivier Lambotte et le Dr Christine Bourgeois de m'avoir ouvert les portes de votre laboratoire dès ma troisième année de licence, ça commence à dater maintenant. Merci pour votre transmission contagieuse de votre passion pour la recherche. Dès qu'on discute recherche et sciences, je vois vos sourires qui apparaissent et vos yeux qui pétillent de manière communicative. Un grand merci pour votre générosité, pour vos conseils et votre gentillesse. Merci d'avoir contribué à ma formation de bébé chercheuse et de m'avoir donné ma chance. C'est toujours un plaisir de vous voir, d'échanger et de travailler avec vous. J'ai beaucoup appris avec vous aussi bien humainement que sur le plan professionnel.

Merci au Pr Roger Le Grand, au Dr Delphine Desjardins à toutes les personnes du CEA et du KB qui ont travaillé sur la cohorte SIVART et de nous avoir permis de participer à cette étude.

Merci aussi aux Pr Valérie Pourcher, Dr Guillaume Pourcher, Pr Christine Kathlama et Dr Frédéric Charlotte pour votre collaboration sur la cohorte ObeVIH et de nous avoir fait confiance sur l'étude du tissu adipeux.

Je remercie également tous les anciens et présents du laboratoire du KB. Merci pour votre bonne humeur, votre gentillesse, vos conseils et votre aide lorsque j'étais sur site. Ça a été un plaisir de travailler avec vous : Houria, Abderraouf, Anaelle, Binta, Audrey, Stéphane, Marie, Carole, Vixra, Camille, Marie-Guislaine, Manon, Juliette, Chloé, Anastasia, Christy, Sixtine, Adela, Soledad, Cyrielle, Juliette, Carole, Gaëtane. Une petite mention spéciale à Abderraouf qui m'a formé aux manip en Master 2, merci pour ta bonne humeur, ta pédagogie et ta patiente.

Merci aux patients d'avoir accepté de faire parti de ces recherches.

Merci au Dr Ronan le Bouffan, au Dr Raphaëlle Griffone, au Pr Dominique Boucher, au Dr Joan Tordjman au Pr Patricia Serradas, au Pr Ann Lohoff, et aux équipes pédagogiques de LV001 et 2V415 avec qui j'ai travaillé à Jussieu. Merci de m'avoir intégré dès mon arrivée dans l'équipe. Ce fut un plaisir de travailler avec vous durant ces 3 années. Merci de m'avoir transmis les bases de l'enseignement, de la pédagogie et de la transmission des connaissances scientifiques. Le but étant de transmettre un peu de l'intérêt et la passion pour la biologie.

Je remercie toute l'équipe de Sidaction et en particulier Serawit, Nora et Vincent pour l'organisation de tous les évènements et congrès de Sidaction qui sont des souvenirs inoubliables. Merci pour vos conseils et nos échanges sur la recherche sur le VIH. Je remercie également le comité scientifique de Sidaction de m'avoir donné ma chance et permis de faire ces 4 ans de thèse.

Grâce à Sidaction, j'ai également rencontré des amis, Aurélie et Matthias. Merci pour nos soirées et nos fous rires à l'UJC, nos retrouvailles à la journée des jeunes chercheurs et la journée scientifique de Sidaction. Ça me fait toujours autant de plaisir de vous voir et d'avoir de vos nouvelles à l'occasion par message ou autour d'un verre. Vous vous êtes bien battus et j'ai admiré votre persévérance au cours de vos thèses respectives, vos projets n'ont pas toujours été si faciles. Matthias toujours avec ton style impeccable et jamais sans ton chapeau. Je suis sûre que tu seras un chercheur hors pair en immunologie. Aurélie merci pour ta bonne humeur et ta gentillesse. à tous les deux, merci pour votre amitié.

Les congrès sont des lieux d'échanges, scientifiquement et humainement très enrichissants. Je remercie donc également toutes les personnes que j'ai rencontré en congrès et avec qui j'ai échangé et partagé de bons moments : Zaineb, Suzain et Sonia à Maison-Alfort dans les supers locaux de l'ENVA, Sonia et Raphaël à Bâle merci pour nos discussions interminables au Macdo ou à l'italien et vive la raclette suisse ;), Lise, Jean, Léa, Elodie, Sylvain, Laurence et Béatrice à Magog-Orford merci d'avoir affronté avec moi la neige et le froid et pour tous ces moments partagés : les jeux gonflables, la luge, les

*bonhommes de neige, les raquettes et l'expérience culinaire du risotto au popcorn. Merci à Max, Lucy, Alexandra, Nicolas, Noé, Maëva, Anaëlle et Thibault à l'Université des Jeunes Chercheurs de Sidaction à Carry-le-Rouet. J'ai adoré partager avec vous cette semaine où l'on pouvait aller faire un plouf à la pause déjeuner.*

*Enfin, pour clôturer les remerciements professionnels, merci au Pr Philip Gorwood de m'avoir permis de faire mes premiers pas dans un laboratoire de recherche à Bichat à l'époque où les mots PCR et Western-blot me paraissaient encore comme des mots étranges et magiques !*

*Merci aussi à la musique qui m'a accompagné tout au long de ma thèse qui m'a reboostée dans les moments difficiles et motivée à avancer. Pour n'en citer que quelques-uns : Elton John, Queen, Céline Dion, les compositeurs des musiques des films Harry Potter ou encore le cast d'Alexander Hamilton.*

*Je ne remercie pas la maladie COVID-19 ni le coronavirus SARS-COV-2.*

*Merci à Charlotte de partager ton goût et ta passion pour l'art. Merci de m'avoir transmis certaines tes connaissances en particulier sur les tableaux de la Renaissance et notre cher Léonard de Vinci ! Merci de m'avoir appris à associer art et relaxation, à contempler la beauté d'une œuvre d'art et de ressentir la joie et l'apaisement que cela apporte. Je te souhaite de vivre une vie épanouissante et que ton travail de guide se développe. Je crois beaucoup en ton projet et je suis sûre que tu vas y arriver !*

*Merci à tous ceux avec qui j'ai passé des superbes soirées à l'Antidote, ça me fait toujours plaisir de vous voir : Gaël, Anthony, Fred, Gabrielle et Dylan, Gabriel et Zaz, Charlotte et Athavan, Camcam et Ophélie, Yannick et Mathilde.*

*Manon merci de m'avoir raconté les péripéties de ton travail lors de nos déjeuners à Kourilsky.*

*Un grand merci à Maëva et Adèle pour votre amitié. Avec Pauline, nous étions le quatuor du master. Merci pour ces moments passés ensemble, nos journées discussions et nos visites à Angers ☺ Merci pour votre gentillesse, vos conseils et d'avoir participé à mon bonheur. Maëva merci de m'avoir initiée au paddle se fut laborieux mais on a bien rigolé et en sortant on était fière de nous ! Je te souhaite de trouver ta voie dans la recherche et l'enseignement et de t'épanouir avec Vincent et ton petit chien dans votre superbe maison. Merci de m'avoir fait découvrir Angers et la Vendée, j'ai beaucoup aimé cette région. Adèle merci pour tous tes conseils ta gentillesse, ton écoute et ta bienveillance merci pour les après-midis passés au salon de thé ☺ Je te souhaite le meilleur avec Farés et d'aimer ta nouvelle vie à Brive-la-Gaillarde.*

*Magali un grand merci pour notre colocation ! J'ai adoré les 4 ans passés dans notre appartement à Nation. Quel plaisir et quelle liberté cette vie parisienne ! Merci aussi à Nicolas. Merci pour les cafés psylosophiques, les soirées crêpes, raclette, japonais, et les discussions interminables, on a bien rigolé.*

*Alexia, un grand merci pour ton amitié. Merci pour ces vacances partagées à Londres et à Budapest, ces zooms interminables des confinements et même après ☺*

*Alexandra ma véto préférée et youtubeuse chevronnée ☺ J'admire ta capacité à t'adapter à toute situation et à partir à l'autre bout du monde en Malaisie pour accomplir tes rêves. Je te souhaite de t'épanouir dans ton nouveau boulot à station F et qui sait où la vie nous mènera au Japon ou ailleurs dans le monde j'espère qu'on gardera contact (la Malaisie a été un bon test). Merci pour ton amitié, ton soutien, tes conseils et ton écoute. Merci d'avoir été et d'être le point de ralliement et l'organisatrice de la majorité de nos soirées, vacances et évènements où tout le monde se retrouve dans la joie et la bonne humeur. Tu as cette capacité à rassembler tout le monde et de passer ensemble des supers moments et pour cela un grand merci ☺*

*Adri merci pour ta générosité et ta cool attitude, ta capacité à parler à tout le monde. Je te souhaite de tout mon cœur que tu réalises ton rêve d'aller au Japon d'un façon ou d'une autre.*

*Ben merci pour ton amitié, ton écoute, pour tous ces bons moments passés ensemble ☺ et merci pour tes qualités de dessinateur ;)*

*Ma petite **Maud**. On se connaît depuis la L1, ça fait déjà quelques années. Un grand merci pour ton amitié. Merci d'avoir été à l'écoute et d'avoir trouvé les mots justes quand parfois j'avais besoin d'être réconforté. Je te souhaite le meilleur et de t'épanouir dans ta vie personnelle autant que tu aimes ton travail à Marseille.*

*Un grand merci à **Marie Favre** pour ton amitié. Merci beaucoup pour ton écoute, ton soutien et ta disponibilité lors d'appels téléphoniques impromptus. Un grand merci pour nos discussions sur le sens de la vie et les valeurs qui nous définissent. Parfois on se perd de vue et on se retrouve mais l'amitié ne change pas et reste intacte au cours de années. Je te souhaite plein de bonheur ☺*

*Merci à **Aude** pour ton énergie débordante et ta bonne humeur ! Merci aussi pour tous les superbes weekends et vacances passées ensemble entre rando, calanques et plages sous le soleil de Marseille. Je te souhaite une très belle fin de thèse ! Je ne doute pas que tu es une chercheuse brillante ;) Plein de courage pour la dernière ligne droite !*

***Julia, Julien**, j'ai partagé beaucoup de moments avec vous et j'ai appris à vous connaître avec le temps et j'en apprends encore un peu plus chaque jour. Merci aussi pour ces moments de paddle et d'avoir pensé à moi quand vous avez parlé à votre oncle ça m'a beaucoup touché. Je vous souhaite plein de bonheur dans votre appart parisien avec la petite June ! Julia je te souhaite aussi plein de courage pour ton travail je suis sûre que tu es une ostéopathe animalière hors paire !*

***Alexandra, Adrian, Marie, Maud, Aude, Jérôme, Antoine H., Antoine S., Benjamin, Marion et Pauline** merci pour les soirées jeux, les weekends et les vacances à Molliets, à Marseille et à la Ciotat j'ai partagé beaucoup de moments de bonheur avec vous. Un immense merci !*

*Un grand merci à la team Paris-Montagne aka : **Stéphanie, Manu, Willy, Kévin, Valentine, Annitha, Anael, Raoul, Flo, Arnaud, Guigui, Léna, Jonas et Linda**. Bien que les années passent, cela me fait toujours autant plaisir de vous voir et cela me met toujours autant en joie. On en a partagé des moments depuis « la colonie de vacances » oups pardon depuis l'organisation du festival de sciences. Les soirées, les anniversaires (ça y est on fête les anniversaires des 30 ans ! ;)), les weekends, les vacances en France et en Europe et maintenant même les mariages ! Avec la team jour et la team nuit^^ Un grand merci pour votre amitié dans la bonne humeur, la joie et la musique. **Manu, Stéphanie et Willy**, mes amis de PM encore parisiens que je vois régulièrement avec qui je peux avoir des débats à toutes heures et pendant des heures et à qui je peux demander conseils quand ça va et quand ça ne va pas. Merci pour votre soutien indéfectible. J'ai l'impression qu'avec vous je peux être vraie et authentique et ça n'a pas de prix ! Un grand merci pour tout ! Votre amitié fait de moi une personne meilleure et je suis heureuse que vous fassiez partie de ma vie. Un grand merci aussi à **Manu** pour le coaching durant une partie de l'écriture de thèse, tu as été très courageux et persévérant même quand je t'envoyais bouler.*

*Un grand merci à **Anaïs** et à **Marine**, mes amies de longues dates de Daniélou. Merci d'avoir partagé votre intérêt pour la culture, pour les expositions et les pièces théâtres même si de temps en temps, une soirée papotage au resto est tout aussi géniale ! **Marine** un grand merci pour ton amitié, ton soutien et ta générosité. Merci pour toutes ces soirées, ces discussions et les voyages à Amsterdam et Prague. On se connaît depuis Daniélou et j'ai vraiment appris à te connaître en PCEM1 (les anciens savent) ! **Anaïs** un grand merci pour ton amitié, ton soutien et ta gentillesse. Nous sommes amies depuis le collège à Daniélou, la SFX et ses pains aux chocolats. Merci pour toutes ces soirées, ces discussions, ces weekends et ces vacances passées ensemble à l'île de ré ☺ Merci aussi de partager la passion pour : la culture britannique, Londres, les comédies musicales et l'univers HP.*

*Merci à tous mes amis de m'avoir soutenu, écouté, conseillé dans les moments difficiles et de doutes. Et surtout merci d'avoir partagé tous ces moments heureux plein de rires et de jeux et merci d'avoir contribué à mon bonheur ! Je vous aime*

*Hervé et Mireille Gallier, un grand merci à mon parrain et ma marraine de cœur, de me suivre et de me soutenir depuis toute petite.*

*Je remercie également mes oncles et tantes et bien sûr tous mes cousins et cousines. Côté Gorwood, Philip et Sophie, Nanou et Edwin, Audrey et Guillaume, Uhaïna et Maxime, Emily et Nicolas, Jenna et Aurélien, Wendy et Nathan, Timothée et Camille et Peter et les nouvelles générations Camille, Raphaëlle, Maël et Elena. Côté Corrihons, Anne, Christine, Geneviève et Jean-Luc, Magali et Nicolas, Tara, Fabien et Claire, Pascaline et Clément, Charlotte et les nouvelles générations Alexis et Matthieu.*

*Un grand merci à Mamie Roselyne d'avoir toujours été présente, d'avoir cru en moi et de m'avoir soutenu tout au long de mon parcours universitaire. Un grand merci également Alan et Ania d'avoir toujours été présents, d'avoir cru en moi et de m'avoir partagé et transmis quelques éléments de la culture anglaise que j'adore. Merci à mes trois grands-parents qui m'ont permis de créer plein de supers souvenirs en famille et j'espère qu'il y en aura plein d'autres encore ! ;)*

*Un immense merci à ma mère Isabelle et à mon frère William. Je vous suis infiniment reconnaissante et je vous dois beaucoup. Merci d'avoir cru en moi, de m'avoir soutenu et de m'avoir donné toutes mes chances pour réaliser cette thèse. Un grand merci à mon père David, à Alexander (le Petit) et à Jade. J'ai également une pensée émue pour Valérie, j'aurai aimé que tu assistes à ma thèse et je remercie aussi Rebekka alias Brooklyn et Alexander (le Grand) alias Bruder.*

*A toute ma famille, je vous aime et je vous souhaite le meilleur.*

*Enfin, je dédie cette thèse à mes parents et à mes grands-parents. J'espère que vous serez fiers de moi. Cette thèse, c'est aussi un peu la vôtre. Merci de m'avoir toujours soutenue chacun à votre manière, je ne vous en serai jamais assez reconnaissante.*

*A tous ceux qui ne s'arrêteront pas aux remerciements, je vous souhaite une bonne lecture de cette thèse !*



# SOMMAIRE

<b>AVANT-PROPOS .....</b>	<b>1</b>
<b>I. LE TISSU ADIPEUX BLANC : UN ORGANE CLÉ DU MÉTABOLISME ET SES PERTURBATIONS AU CŒUR DES MALADIES CARDIOMÉTABOLIQUES.....</b>	<b>2</b>
<b>A.Présentation des tissus adipeux .....</b>	<b>2</b>
1) Types de tissus adipeux .....	2
2) Localisation .....	2
3) Composition.....	3
<b>B.Les adipocytes .....</b>	<b>5</b>
1) Fonctions métaboliques de l'adipocyte blanc .....	5
a) Stockage de l'adipocyte.....	5
b) Mobilisation des acides gras et du glycérol.....	6
2) Fonction sécrétoire de l'adipocyte blanc.....	7
a) Protéines secrétées spécifiquement par l'adipocyte .....	7
b) Cytokines et chimiokines.....	7
<b>C.Les cellules de la fraction stroma-vasculaire .....</b>	<b>8</b>
1) Les précurseurs adipocytaires .....	8
a) Définition et caractérisation.....	8
b) Fonctions .....	9
c) La différenciation adipocytaire .....	10
1. La détermination et l'engagement des précurseurs adipocytaires.....	10
2. L'adipogenèse .....	11
2) Les cellules de l'immunité.....	13
3) Les cellules du réseau vasculaire .....	14
<b>D.La matrice extracellulaire, un nouvel acteur du tissu adipeux.....</b>	<b>15</b>
1) Les composants de la matrice extracellulaire.....	15
2) Le remodelage de la MEC, un processus dynamique .....	18
3) Le remodelage de la MEC, un événement nécessaire à l'adipogenèse .....	18
<b>E.Pathologies du tissu adipeux.....</b>	<b>19</b>
1) Présentation des pathologies .....	19
a) Excès de tissu adipeux : surpoids et obésité .....	19
b) Redistribution du tissu adipeux et lipodystrophies.....	20
2) Altérations adipocytaires.....	21
a) Expansion du tissu adipeux : hypertrophie et hyperplasie .....	21
b) Dysfonctions adipocytaires et défaut d'adipogenèse .....	23
3) Inflammation et infiltration des cellules immunitaires.....	24
4) La fibrose du tissu adipeux : un remodelage de la matrice extracellulaire .....	25
a) Caractéristiques de la fibrose du tissu adipeux chez le sujet obèse .....	25
b) Processus de la mise en place de la fibrose .....	26
5) Résistance à l'insuline : défaut de signalisation insulinique .....	28
a) Voies de signalisation de l'insuline.....	28
1. Effet prolifératif de l'insuline : la voie des MAPK .....	29
2. Effets métaboliques de l'insuline : la voie Akt/PKB.....	30
b) Résistance à l'insuline .....	31
<b>F.Lipotoxicité et complications cardiométaboliques .....</b>	<b>31</b>
<b>II. ALTÉRATIONS DU TISSU ADIPEUX CHEZ LES PATIENTS INFECTÉS PAR LE VIH TRAITÉS PAR DES ANTIRÉTROVIRAUX.....</b>	<b>34</b>
<b>A.Infection par le VIH et impact sur le tissu adipeux .....</b>	<b>34</b>
1) Origine et histoire naturelle de la maladie .....	34
a) Origine du virus et épidémiologie .....	34

b)	Histoire naturelle de l'infection.....	34
2)	Modèles animaux d'infection VIH.....	36
3)	Structure et réPLICATION du VIH .....	37
a)	Génome du VIH-1.....	37
b)	Cycle de réPLICATION .....	37
4)	Protéines du VIH .....	39
a)	Protéines structurales .....	39
b)	Les protéines régulatrices .....	40
c)	Les protéines accessoires .....	41
5)	Réservoirs et effets bystander des protéines virales.....	42
6)	Le tissu adipeux, une nouvelle cible du virus.....	43
a)	Altérations du TA chez les patients naïfs de traitement .....	43
b)	Le tissu adipeux, un réservoir longtemps négligé du VIH.....	45
7)	Article 1: Impact of HIV/simian immunodeficiency virus infection and viral proteins on adipose tissue fibrosis and adipogenesis .....	45
a)	Contexte de l'étude et résumé des résultats .....	45
b)	Discussion et perspectives .....	47
<b>B.Impact des antirétroviraux sur le tissu adipeux.....</b>		<b>49</b>
1)	Les différentes classes d'antirétroviraux .....	49
a)	Les inhibiteurs de la transcriptase inverse .....	51
b)	Les inhibiteurs de la protéase .....	52
c)	Les inhibiteurs d'entrée et de fusion.....	53
d)	Les inhibiteurs d'intégrase .....	53
2)	Antirétroviraux et atteintes du tissu adipeux .....	55
a)	Lipodystrophie et molécules de première génération .....	55
b)	Prise de poids et nouveaux antirétroviraux : les inhibiteurs d'intégrase .....	57
c)	Atteintes du tissu adipeux et comorbidités .....	58
3)	Mécanismes physiopathologiques des antirétroviraux sur le tissu adipeux .....	58
a)	Toxicité mitochondriale et stress oxydant .....	58
b)	Inflammation.....	58
c)	Fibrose du tissu adipeux.....	59
4)	Article 2: The Integrase Inhibitors Dolutegravir and Raltegravir Exert Proadipogenic and Profibrotic Effects and Induce Insulin Resistance in Human/Simian Adipose Tissue and Human Adipocytes .....	60
a)	Contexte de l'étude et résumé des résultats .....	60
b)	Discussion et perspectives .....	62
<b>III. VIEILLISSEMENT DU TISSU ADIPEUX DES PATIENTS INFECTÉS PAR LE VIH SOUS ANTIRÉTROVIRAUX.....</b>		<b>65</b>
<b>A.Marqueurs et mécanismes du vieillissement chez les personnes infectées par le VIH .....</b>		<b>65</b>
1)	Instabilité génomique et altération de l'architecture du noyau.....	66
2)	Attrition des télomères, altérations épigénétiques.....	67
3)	Stress oxydant et dysfonctions mitochondrielles .....	68
4)	Défaut de la protéostase .....	70
5)	<i>Inflammaging</i> et immunsénescence .....	71
6)	La sénescence cellulaire.....	72
7)	Épuisement des cellules souches mésenchymateuses .....	74
<b>B.Le tissu adipeux : un nouvel acteur du vieillissement.....</b>		<b>75</b>
1)	Redistribution du tissu adipeux au cours du vieillissement.....	75
2)	Le vieillissement du tissu adipeux.....	75
3)	Rôle majeur des ASC dans le vieillissement du tissu adipeux .....	76
<b>C.Article 3: SIV infection and the HIV proteins Tat and Nef induce senescence in adipose tissue and human adipose stem cells, resulting in adipocyte dysfunction .....</b>		<b>77</b>
1)	Contexte de l'étude et résumé des résultats.....	77
2)	Discussion et perspectives.....	79

<b>IV. DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>81</b>
A.Avantages et limites des modèles utilisés.....	81
B.Quels sont les mécanismes à l'origine de la fibrose et du vieillissement accentué du tissu adipeux dans un contexte d'infection par le VIH .....	84
1) Mécanismes impliqués dans la fibrose .....	84
2) A la croisée des chemins : mécanismes impliqués à la fois dans la fibrose et le vieillissement .	85
C.Quelles sont les conséquences du vieillissement et de la fibrose du tissu adipeux sur la dérégulation métabolique dans un contexte d'infection par le VIH.....	86
1) Hypertrophie adipocyttaire.....	86
2) Prise de poids : rôle du tenofovir alafémide et du bictégravir .....	87
3) Résistance à l'insuline et comorbidités associées au défaut de TA .....	88
D.Le déclin du tissu adipeux beige : une nouvelle hypothèse de la dérégulation du métabolisme chez les patients infectés par le VIH.....	90
E.Réversibilité des effets antirétroviraux et thérapeutiques .....	93
1) Les atteintes du tissu adipeux liées aux inhibiteurs d'intégrase sont-elles réversibles ? .....	93
2) Stratégies thérapeutiques de prévention ou traitement de la fibrose et/ou du vieillissement du tissu adipeux.....	93
F.Dialogue entre composantes immunitaire et métabolique dans les atteintes du tissu adipeux ...	94
<b>V. CONCLUSION GÉNÉRALE : POURQUOI LE TISSU ADIPEUX EST UNE CIBLE PRIVILÉGIÉE DU VIH ET DES ANTIRÉTROVIRAUX ?.....</b>	<b>97</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>99</b>



***Le bonheur n'est pas une chose toute faite ; il découle de tes propres actions.***  
*Dalaï-Lama*

***Le gras, c'est la vie.***  
*Karadoc, Livre II de Kaamelott, épisode 76.*



# ABRÉVIATIONS PRINCIPALES

ACC : *Acetyl-CoA Carboxylase*  
AGL : Acide Gras Libre  
AMPK : *AMP-activated protein kinase*  
ARV : antirétroviraux  
ASC : *Adipose Stem Cells*, cellules souches mésenchymateuses du tissu adipeux  
ATGL : *Adipose Triglyceride Lipase*  
BIC : Bictégravir  
BMP : *Bone Morphogenetic Protein*  
C/EBP : *CCATT/enhancer binding protein*  
CSM : Cellules souches mésenchymateuses  
CGI-58 : *Comparative Gene Identification 58*  
CTGF : *Connective Tissue Growth Factor*  
DTG : Dolutégravir  
ERO : espèces réactives de l'oxygène  
EVG : Elvitégravir  
FABP4 : *Fatty Acid Binding protein 4*  
FAS : *Fatty Acid Synthase*  
FSV : Fraction stroma-vasculaire  
HIF-1 $\alpha$  : *Hypoxia Inducible Factor -1 $\alpha$*   
IL- : Interleukin-  
IMC : Indice de masse corporelle  
INI : Inhibiteur de l'intégrase du VIH  
LHS : Lipase Hormono-Sensible  
LPL : Lipoprotéine Lipase  
MCP1 : Monocyte Chemoattractant Protein 1  
MEC : Matrice extracellulaire  
MMP : Métalloprotéinases matricielles  
NAC : N Acétyl-Cystéine, antioxydant  
Nef : *Negative regulatory factor*  
NRTI : *Nucleoside Analog Reverse Transcriptase Inhibitor*, inhibiteur de la transcriptase inverse nucléosidique

NNRTI : *Non-Nucleoside Analog Reverse Transcriptase Inhibitor*, inhibiteur de la transcriptase inverse non nucléosidique  
PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor*  
PI : *Protease Inhibitor*, Inhibiteur de la protéase  
PLIN1 : périlipine-1  
PPAR $\gamma$  : *Peroxisome proliferator-activator receptor  $\gamma$*   
RAL : Raltégravir  
RE : Réticulum endoplasmique  
RI : Récepteur de l'insuline  
SASP : *Senescence-Associated Secretory Phenotype*  
SREBP-1c : *Sterol Regulatory Element-binding Protein-1c*  
TA : Tissu adipeux  
TAB : Tissu adipeux brun  
TAF : Tenofovir alafénamide  
TASC : Tissu adipeux sous-cutané  
Tat : *Trans-activator of transcription*  
TAV : Tissu adipeux viscéral  
TDF : tenofovir disoproxil  
TG : Triglycérides  
TGF- $\beta$  : *Transforming Growth Factor- $\beta$*   
TNF $\alpha$  : *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$*   
VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*  
Vif : *Viral infectivity Factor*  
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine  
VIS : Virus de l'Immunodéficience Simienne  
Vpr : *Viral protein R*



# TABLES DES ILLUSTRATIONS ET DES TABLEAUX

Figure 1 : Localisation tronculaire des tissus adipeux sous-cutanés et viscéraux adapté de (Lee et al. 2013).....	3
Figure 2 : Composition cellulaire du tissu adipeux dans un contexte physiologique adapté de (Bourgeois et al. 2019).....	4
Figure 3 : Schéma de l'adipogenèse adapté de (Bourgeois et al. 2019).....	12
Figure 4 : Schéma de la formation et de la maturation du collagène adapté de (Kadler et al. 2007).....	16
Figure 5 : Images des fibres de collagène dans le tissu adipeux en microscopie électronique (A) et sur une coupe histologique colorée au rouge Sirius (B). Les images sont adaptées de (Panettiere et al. 2011, Sun et al. 2013).....	17
Figure 6 : Schéma de la composition de la matrice extracellulaire tiré de (Divoux 2012).....	17
Figure 7 : Schéma des deux types d'obésité : androïde en forme de « pomme » et gynoïde « forme de poire » adapté de (Vague 1956) .....	19
Figure 8 : Schéma de l'expansion physiologique du tissu adipeux adapté de (Sun et al. 2011)....	22
Figure 9 : Images des deux types de fibrose sur des coupes de tissu adipeux colorées au rouge Sirius chez un sujet obèse : périlobulaire (A) et péricellulaire (flèches) (B) adaptées de (Divoux et al. 2010).....	26
Figure 10 : Schéma de l'expansion pathologique du tissu adipeux et du remodelage de la matrice extracellulaire adapté de (Sun et al. 2011) .....	28
Figure 11 : Schéma des voies mitogéniques et métaboliques de l'insuline adapté de (Capeau 2003) et de C. Lagathu .....	29
Figure 12 : Schéma du transport du glucose insulino-dépendant adapté de (Capeau 2003).....	30
Figure 13 : Relation entre les pathologies du tissu adipeux et le risque de développer des comorbidités adaptés de C. Lagathu et (Ahima and Lazar 2013) .....	32
Figure 14 : Schéma de la lipotoxicité, stockage ectopique des graisses dans les tissus périphériques.....	32
Figure 15 : Schéma de l'histoire naturelle de l'infection par le VIH adapté de (Fauci et al. 1996) .....	35
Figure 16 : Génome du VIH codant pour neuf protéines virales adaptée de (Prokofjeva et al. 2016).....	37
Figure 17 : Schéma du cycle répliquatif du virus adapté de C. Lagathu.....	39
Figure 18 : Schéma de la structure d'un virion mature du VIH.....	40
Figure 20 : Schéma de l'inhibition des étapes du cycle répliquatif du VIH selon les différentes classes d'antirétroviraux.....	49
Figure 22 : Schéma du mécanisme d'action de l'intégrase (A) et des inhibiteurs d'intégrase (B).....	54
Figure 23 : Les marqueurs du vieillissement chez les patients infectés par le VIH sous antirétroviraux adapté de (Lopez-Otin et al. 2013) et de (Lagathu et al. 2017).....	66
Figure 24 : Schéma de la formation de la lamine A mature à partir de prélamine A en physiologie (A) ou accumulation excessive de prélamine A lors de l'inhibition de l'activité Zmptse24 par les PI .....	67
Figure 25 : Les effets <i>bystander</i> des protéines du VIH : Tat, Nef, Vpr et Gp120.....	72
Figure 26 : Schéma de l'activation des voies de signalisation de l'arrêt du cycle cellulaire : p16 et p53/p21 adapté de (Liu et al. 2020).....	73
Figure 27 : Caractéristiques d'une cellule sénescante d'après C. Lagathu.....	74
Figure 28 : Caractéristiques du vieillissement du tissu adipeux et influence sur les comorbidités adaptés de (Stout et al. 2017) et de C. Lagathu .....	76

Figure 29 : Schéma bilan des altérations du tissu adipeux induites par le VIH/VIS et les protéines virales.....	80
Figure 30 : Schéma bilan des altérations du tissu adipeux induites par le VIH/VIS et les inhibiteurs d'intégrase : liens entre vieillissement, fibrose et déclin du tissu adipeux beige. Réversibilité des effets des antirétroviraux et thérapeutiques.....	92
Tableau 1 : Tableau des NRTI classés selon l'analogie du nucléoside.....	52
Tableau 2 : Tableau récapitulatif des atteintes décrites dans le tissu adipeux sous-cutané des patients infectés par le VIH selon la classe d'antirétroviraux et le type de redistribution.....	60

# AVANT-PROPOS

L'infection par le VIH est une pandémie qui touche aujourd'hui 38 millions de personnes et seulement 67% d'entre eux ont eu accès à des traitements antirétroviraux. Les antirétroviraux ont permis un allongement de la durée de vie des patients. Néanmoins, les personnes développent des comorbidités classiquement liées à l'âge, et ce de façon plus précoce que dans la population générale, associées ou non à une redistribution du tissu adipeux. Ces anomalies, déjà vues avec certains inhibiteurs de protéase, sont à nouveau prévalentes avec les inhibiteurs d'intégrase, suggérant non seulement un rôle du virus lui-même, présent dans les réservoirs du TA, mais aussi des inhibiteurs d'intégrase. De façon intéressante, ces altérations phénotypiques et fonctionnelles du tissu adipeux sont similaires à celles retrouvées au cours du vieillissement en faveur d'un vieillissement accentué du tissu adipeux et pourraient jouer un rôle non négligeable dans les complications cardiovasculaires et métaboliques observées chez ces patients. L'objectif de ma thèse est donc d'évaluer les effets respectifs du VIH et des inhibiteurs d'intégrase sur les atteintes du TA afin de mieux comprendre les mécanismes en cause, pouvant participer à la mise en place des complications cardiométraboliques.

Dans le chapitre d'introduction, je commencerai par replacer le contexte de notre recherche en introduisant le tissu adipeux, sa composition et ses fonctions physiologiques ainsi que des exemples de pathologies du tissu adipeux (lipodystrophies, obésité). Je poursuivrai sur l'état actuel des connaissances sur l'infection par le VIH et les antirétroviraux et plus spécifiquement sur leurs effets sur le tissu adipeux. Enfin, je décrirai le vieillissement des patients infectés et traités en particulier au niveau du tissu adipeux ainsi que les caractéristiques de la sénescence cellulaire induite par le virus et les traitements.

# I. Le tissu adipeux blanc : un organe clé du métabolisme et ses perturbations au cœur des maladies cardiométaboliques

## A. Présentation des tissus adipeux

### 1) Types de tissus adipeux

Le tissu adipeux (TA) blanc est le TA majoritaire chez l'homme et est impliqué dans la régulation de la balance énergétique, *via* ses fonctions de stockage et de sécrétion (Ouchi et al. 2011). Le TA joue un rôle important dans la défense de l'hôte, l'immunité, la régénération tissulaire, la production de cytokines inflammatoires et de chimiokines, le stockage et la mobilisation d'énergie (Schoettl et al. 2018, Longo et al. 2019, Scheja and Heeren 2019).

Il existe aussi les TA brun (TAB) et TA beige qui possèdent une fonction de thermogénèse et participent à la dépense énergétique (Lidell et al. 2013, Bartelt and Heeren 2014, Rui 2017).

### 2) Localisation

Le TA blanc représente 15-20% de la masse corporelle. Il existe un dimorphisme sexuel : les femmes ont plus de TA que les hommes et vont stocker préférentiellement les graisses dans le bas du corps alors que les hommes vont stocker d'avantage au niveau tronculaire (Geer and Shen 2009, Lee et al. 2013). Le TA blanc comprend des dépôts sous-cutanés (TASC) et viscéraux/profonds (TAV) caractérisés par une composition cellulaire et des rôles métaboliques et sécrétoires distincts (Lee et al. 2013), qui peuvent également varier selon leur localisation. A titre d'exemple, le péritoine sépare les TASC abdominaux superficiel et profond, qui ont des spécificités propres/distinctes. Les précurseurs adipocytaires du TASC superficiel ont un potentiel de différenciation plus important en réponse aux signaux pro-adipogéniques que ceux du TASC profond (Walker et al. 2008).

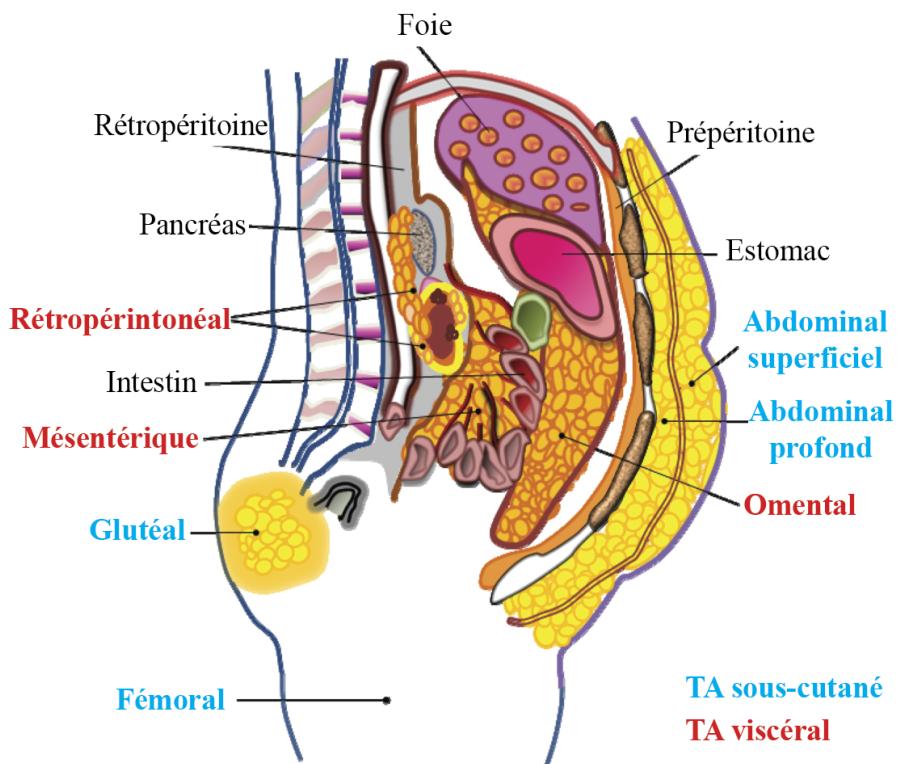
Le TASC est situé sous la peau dans de nombreux endroits du corps : crânial, facial, abdominal, glutéal et fémoral (entre autres) (Figure 1). Il joue un rôle dans le stockage énergétique, mais sert également d'isolant thermique et de protection mécanique (Alexander et al. 2015).

Chez l'homme, le TAV se trouve en profondeur autour des organes internes et derrière le péritoine. Le TA omental recouvre l'épiploon, l'intestin grêle et l'estomac, et le TA mésentérique se trouve au niveau de l'intestin. Des dépôts moins volumineux se situent au

niveau gonadique et rétropéritonéal (Shen et al. 2003). Le TAV possède également une activité métabolique et son accumulation favorise le développement de pathologies cardiométaboliques (Tchkonia et al. 2010).

D'autres TA blancs existent avec des caractéristiques et fonctions très spécifiques. Parmi eux, nous pouvons citer le TA de la moelle osseuse, le TA péricardique et épicardique ou encore le TA mammaire mais sur lesquels je ne reviendrai pas.

Le TAB est situé dans la zone intrascapulaire et dorsolombaire chez le nouveau-né et au niveau cervical, supraclaviculaire et paravertébral chez l'adulte. Il est métaboliquement actif en réponse au froid (Cypess et al. 2013, Lidell et al. 2013). Le TA beige ou *bright* (pour *brown in white*) est situé au sein du TASC. Il est activé par le froid afin de produire de la chaleur (Harms and Seale 2013). D'autres modèles que l'homme sont utilisés afin d'étudier le TA comme la souris, le rat et le macaque. Cependant, la localisation du TA diffère souvent d'une espèce à une autre.



**Figure 1 : Localisation tronculaire des tissus adipeux sous-cutanés et viscéraux adapté de (Lee et al. 2013).**

Les TAV en rouge regroupent le TA rétropéritonéal, mésentérique et omental. Tandis que les TASC en bleu sont abdominaux sous-cutané et profond, glutéaux et fémoraux.

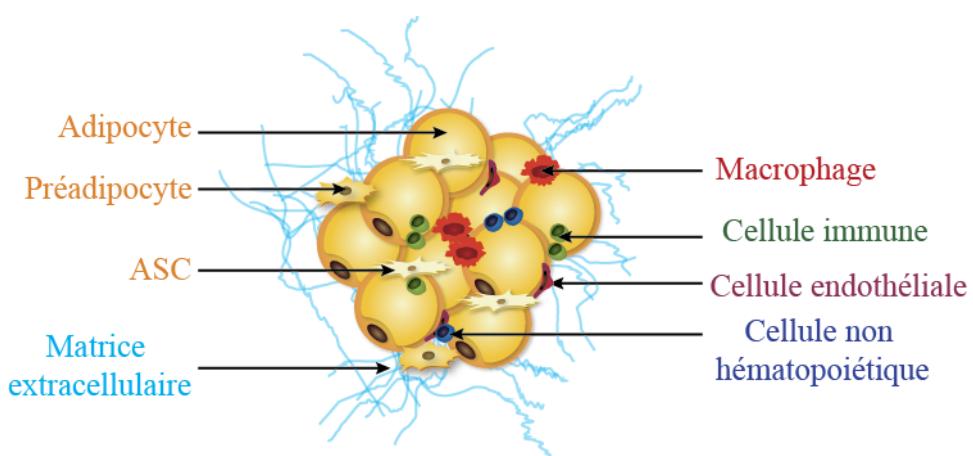
### 3) Composition

Deux fractions composent le TA : une **fraction adipocytaire** contenant les adipocytes (partie B) qui occupent plus de 90% du volume chez l'homme, et une **fraction stroma-vasculaire**

**(FSV)** (partie C) , hétérogène, comprenant des précurseurs adipocytaires (préadipocytes et ASC pour *Adipose Stem Cells*), des cellules immunitaires (notamment les lymphocytes T et les macrophages), et des cellules du réseau vasculaire (péryctes, cellules endothéliales, cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) et des fibroblastes.

Des terminaisons nerveuses présentent dans le TA conduisent notamment les signaux sympathiques et parasympathiques qui régulent l'activité métabolique des adipocytes et leurs fonctions paracrine et endocrine. L'innervation joue un rôle clé dans l'activité du TA brun et blanc mais également du TA beige (Bartelt and Heeren 2014). Chaque adipocyte brun est innervé par le système nerveux sympathique. L'activation du système nerveux sympathique en réponse au froid ou à tout autre stimulus  $\beta$ -adrénergique induit d'une part, l'expression d'UCP1, et d'autre part, favorise la production d'AGL via la lipolyse (partie B-adipocytes). Ces deux éléments sont nécessaires à l'adipocyte brun pour assurer la production de chaleur et donc d'augmentation de la dépense énergétique (Frontini et al. 2013, Harms and Seale 2013). Concernant le TA blanc, le TAV étant plus innervé que le TASC, cela pourrait expliquer en partie l'effet de territorialité tel que son activité lipolytique plus intense (Bartness and Song 2007, Ibrahim 2010).

Comme tous les tissus conjonctifs, l'ensemble des cellules du TA repose sur une **matrice extracellulaire (MEC)** (partie D) (Figure 2). Le TA s'organise en lobules. Le lobule est une entité du TA constitué d'un groupe d'adipocytes entouré d'une cloison fine constituée de tissu conjonctif contenant des fibroblastes, des macrophages, des mastocytes et des fibrilles de collagènes.



**Figure 2 : Composition cellulaire du tissu adipeux dans un contexte physiologique adapté de (Bourgeois et al. 2019).**

*Le TA est composé de deux fractions : les adipocytes et les cellules de la fraction stroma-vasculaire. ASC : Adipose Stem Cells ou cellules souches mésenchymateuses du tissu adipeux. Dans ce schéma, les fibroblastes et les péryctes sont regroupés sous le nom de cellules non hématopoïétiques.*

## B. Les adipocytes

L'adipocyte est l'unité métabolique du TA car il exerce à la fois des fonctions métaboliques et sécrétrices. Les adipocytes blancs sont caractérisés par une vacuole ou gouttelette lipidique unique et contiennent peu d'organites. Leur diamètre varie de 20 à 200 µm. Les adipocytes dans le TASC sont plus gros par rapport au TAV chez la femme alors que chez l'homme, ils ont la même taille (Lee et al. 2013). A l'inverse, les adipocytes bruns sont de petits adipocytes multiloculaires avec de petites gouttelettes lipidiques et de nombreuses mitochondries. Grâce à leur protéine découplante UCP1, présente au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale, ils jouent un rôle dans la thermogenèse induite par le froid et les catécholamines (Cypess et al. 2013). Ils possèdent une signature sécrétoire qui leur est propre (Villarroya et al. 2019). L'adipocyte beige possède des caractéristiques à la fois du brun et du blanc. Il est différencié à partir d'un précurseur différent du précurseur brun dans le TASC blanc ou transdifférencié à partir d'adipocyte blanc préexistant (Harms and Seale 2013).

### 1) Fonctions métaboliques de l'adipocyte blanc

L'adipocyte joue un rôle important dans la régulation de la balance énergétique et le métabolisme lipidique. L'une des fonctions clé du TA est sa capacité à stocker de l'énergie sous forme de triglycérides (TG) (lipogenèse et estérification) en réponse à l'insuline et libérer des acides gras libres (AGL) et du glycérol (lipolyse) en réponse aux catécholamines.

#### a) Stockage de l'adipocyte

Les AGL proviennent en majorité du sang circulant et sont le résultat de l'hydrolyse par la LPL (Lipoprotéine Lipase) des TG contenus dans les chylomicrons et les VLDL (*Very Low density Lipoprotein*). Ils entrent dans l'adipocyte par des transporteurs comme les FATP (*Fatty Acid Transport Protein*) et le récepteur scavenger CD36, et se fixent à des protéines de liaison des AGL comme la FABP4 (*Fatty Acid Binding Protein 4*). L'insuline favorise l'expression et la localisation à la membrane plasmique de ces transporteurs (Bose et al. 2002). La sensibilité à l'insuline du TA et ses voies de signalisation dans l'adipocyte seront abordées dans la partie E-Pathologies du TA.

Afin de permettre le stockage de substrats énergétiques en période postprandiale, deux mécanismes anaboliques se distinguent : l'estérification des AGL en TG et la lipogenèse *de novo*. La lipogenèse *de novo*, définie comme la synthèse de TG à partir de glucose, est très faible dans les adipocytes humains (Lee et al. 2013). Une fois entré dans l'adipocyte, le glucose subit la

glycolyse et entre dans la mitochondrie afin de suivre le cycle de Krebs pour obtenir de l'acétyl-CoA. Il devient le malonyl-CoA catalysé par l'acétyl-CoA carboxylase (ACC). Ensuite, une succession de malonyl-CoA est ajoutée à un acétyl-CoA afin de former un AGL comme un palmitate, un myristate ou un stéarate sous l'action d'une enzyme clé de la lipogenèse, la FAS (*Fatty Acid Synthase*) (Vijayakumar et al. 2017). L'AGL nouvellement synthétisé est ensuite soit allongé par des élongases, soit insaturé par la SCD1 (*Stearoyl-CoA desaturase 1*), soit estérifié. L'estérification permet la formation d'un TG à l'aide d'un complexe enzymatique dans le RE (réticulum endoplasmique). Le TG va ensuite être stocké dans la gouttelette lipidique de l'adipocyte mature.

Le TASC est métaboliquement plus favorable que le TAV et ses adipocytes ont une plus grande capacité de stockage (Tchkonia et al. 2005, Macotela et al. 2012). Il est plus sensible à l'insuline (Zierath et al. 1998, Bodis and Roden 2018), capte d'avantage les AGL et a une activité augmentée de la LPL qui favorise leur stockage sous forme de TG (Fried et al. 1993, Caserta et al. 2001).

### b) Mobilisation des acides gras et du glycérol

En période de jeûne ou d'exercice physique, l'organisme mobilise les substrats énergétiques par la lipolyse dans le TA pour libérer des AGL utilisés par la  $\beta$ -oxydation dans le foie, le muscle et le cœur. La lipolyse est un processus catabolique stimulé lorsque les catécholamines (adrénaline, noradrénaline) se fixent aux récepteurs  $\beta$ -adrénergiques ( $\beta$ -AR), et activent la voie de l'AC (adénylate cyclase) / PKA (Protéine Kinase A). L'augmentation intra-adipocytaire d'AMPc (adénosine monophosphate cyclique) phosphoryle et active la PLIN1 (périlipine-1) et la LHS (Lipase Hormono-Sensible) situées sur la membrane de la gouttelette lipidique (Dalen et al. 2004, Takahashi et al. 2013, Wang et al. 2013). La PLIN1 phosphorylée, libérée alors de CGI-58 (*Comparative Gene Identification 58*), active l'ATGL (la TG lipase). L'ATGL, la LHS et la MGL (monoacylglycéride lipase) permettent la libération de 3 AGL et d'un glycérol (Zechner 2015). Le glycérol est ensuite recyclé par le foie et utilisé pour la production hépatique de glucose car les adipocytes blancs n'ont pas de glycérol kinase. En période postprandiale, la lipolyse basale est inhibée par l'insuline via l'activation de la phosphodiesterase. Les adipocytes se distinguent selon leur signature protéique qui leur confère des sensibilités différentes selon les dépôts, en particulier entre TASC et TAV. Le TAV est plus lipolytique que le TASC et est utilisé lorsqu'une disponibilité immédiate d'énergie est nécessaire (Ibrahim 2010).

## **2) Fonction sécrétoire de l'adipocyte blanc**

Le TA sécrète de nombreuses hormones et cytokines appelées adipokines telles que l'adiponectine, la résistine ou le TGF- $\beta$  (*Transforming Growth Factor- $\beta$* ), ou encore l'IGF (*Insulin Growth Factor*). Il active les hormones sexuelles et les glucocorticoïdes, et produit également des composants de la MEC, des métabolites lipidiques et des exosomes contenant des microARN (miR). Cette fonction endocrine a été découverte avec l'identification de la leptine en 1994 (Zhang et al. 1994). Le TAV a une fonction sécrétoire augmentée par rapport au TASC (Scheja and Heeren 2019).

### **a) Protéines secrétées spécifiquement par l'adipocyte**

La leptine est une adipokine codée par le gène *LEP* qui se fixe à son récepteur (db) (Aleffi et al. 2005). Elle est produite en majorité par les adipocytes du TASC (Zhang et al. 1994). Sa concentration plasmatique est corrélée à l'IMC (Indice de Masse Corporelle) et à la masse de TA (Mantzoros et al. 2011). Elle diminue la prise alimentaire en agissant sur l'hypothalamus et augmente la production de chaleur (Friedman and Halaas 1998) et favorise l'innervation sympathique du TA blanc (Wang et al. 2020). Cette hormone agit également sur le renouvellement osseux et la fertilité (Scheja and Heeren 2019). La leptine a une action pro-inflammatoire sur les monocytes/macrophages et les lymphocytes T CD4+ (Loffreda et al. 1998, Lord et al. 1998, Santos-Alvarez et al. 1999, Zarkesh-Esfahani et al. 2004).

L'adiponectine (ACRP30 ou ADIPOQ) est présente dans le sang sous forme de monomère, d'homotrimère mais sa forme active est l'oligomère (constitué de 2 à 6 homotrimères) (Scherer et al. 1995, Nakano et al. 1996, Scheja and Heeren 2019). Sa concentration plasmatique est inversement corrélée à l'IMC (Ryo et al. 2004). Elle est d'avantage secrétée par le TAV par rapport au TASC (Motoshima et al. 2002). D'une part, elle active l'AMPK (*AMP-activated protein kinase*) et favorise la  $\beta$ -oxydation des AGL dans le muscle et le foie, et d'autre part, elle inhibe la production hépatique de glucose. L'adiponectine participe donc la sensibilité à l'insuline (Yamauchi et al. 2014). Elle possède également des propriétés anti-inflammatoires (Kumada et al. 2004, Ohashi et al. 2010). De plus, elle joue un rôle protecteur contre l'athérosclérose mais de façon paradoxale, elle est augmentée et délétère à un stade avancé des maladies cardiovasculaires (Woodward et al. 2017).

### **b) Cytokines et chimiokines**

Au sein du TA, l'adipocyte est également capable de sécréter certaines cytokines et chimiokines en réponse aux signaux environnementaux (inflammation, hypoxie). Parmi ces

cytokines pro-inflammatoires se trouvent l'IL-6 (*interleukin-6*), l'IL-8, TNF $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor  $\alpha$* ), PAI1 (*Plasminogen Activator Inhibitor-1*) ou encore MCP1 (*Monocyte Chemoattractant Protein 1*). L'IL-6 est une cytokine pro-inflammatoire dont le tiers de sa concentration circulante est sécrétée par le TA (Fried et al. 1998). Sa sécrétion est induite par des cytokines pro-inflammatoires, lors d'une lipolyse excessive et de l'exercice physique (Pedersen 2007, Matsubara et al. 2012, Zhang et al. 2014). Ses concentrations dans le sang et dans le TA sont corrélées à l'IMC et à la résistance à l'insuline (Vgontzas et al. 1997, Fried et al. 1998, Bastard et al. 2002). Par ailleurs, l'IL-8 ou CXCL8 est une chimiokine pro-inflammatoire produite par les adipocytes mais aussi par les macrophages, les lymphocytes T, les cellules endothéliales et les précurseurs adipocytaires (Bruun et al. 2001). L'IL-8 est plus exprimée dans le TAV que dans le TASC. Les concentrations d'IL-8 plasmatiques et secrétées par le TA sont corrélées à l'IMC et à la résistance à l'insuline (Straczkowski et al. 2002, Bruun et al. 2003, Bruun et al. 2004). L'IL-8 favorise également la résistance à l'insuline des adipocytes (Pradhan et al. 2001, Kobashi et al. 2009).

Cependant, dans un contexte physiologique, le TA est un environnement anti-inflammatoire grâce une coopération entre les adipocytes et des cellules de la FSV : les cellules immunitaires et les précurseurs adipocytaires (Ding et al. 2009, Lee et al. 2017).

## C. Les cellules de la fraction stroma-vasculaire

Les cellules de la FSV correspondent à toutes les cellules autres que les adipocytes qui composent le TA. Elles sont plus nombreuses dans le TAV comparé au TASC rapportées à la masse du TA (Van Harmelen et al. 2004, Russo et al. 2014).

### 1) Les précurseurs adipocytaires

#### a) Définition et caractérisation

Les précurseurs adipocytaires représentent 20 à 40% des cellules de la FSV et regroupent les ASC et les préadipocytes. Les ASC sont des cellules souches mésenchymateuses (CSM) spécifiques du TA multipotentes et capables de se différencier en ostéoblastes, myocytes, chondrocytes et adipocytes *in vitro et in vivo* (Erickson et al. 2002, Lee et al. 2003, Choi et al. 2006, Zheng et al. 2006, Mauney et al. 2007, Rodeheffer et al. 2008, Maumus et al. 2011, Frazier et al. 2016). La majorité des précurseurs adipocytaires se situent à proximité des vaisseaux mais les ASC sont aussi présentes autour des adipocytes (Maumus et al. 2011, Frazier et al. 2016). Les préadipocytes sont unipotents et enchaînés dans la membrane basale (Tang et al. 2008, Traktuev et al. 2008, Baer et al. 2013).

Des études révèlent qu'il existe plusieurs sous-populations de précurseurs adipocytaires au sein d'un même dépôt chez l'homme (Gao et al. 2017, Merrick et al. 2019, Raajendiran et al. 2019). Par ailleurs, les précurseurs adipocytaires présentent des caractéristiques qui diffèrent entre les localisations de TA (Tchkonia et al. 2006, Raajendiran et al. 2019). En effet, les précurseurs adipocytaires du TASC ont une capacité adipogénique et proliférative augmentée par rapport au TAV *in vitro* (Tchkonia et al. 2005, Baglioni et al. 2012, Macotela et al. 2012, Russo et al. 2014).

Les précurseurs adipocytaires expriment un certain nombre de marqueurs membranaires permettant de les caractériser et de les isoler. Cependant, il n'y a pas de marqueurs membranaires spécifiques qui permettent de distinguer les ASC des préadipocytes (Cawthorn et al. 2012). Les ASC humaines ont une morphologie spécifique avec de longues protrusions de 80µm de long (Maumus et al. 2011) et sont cultivables pendant une série de passages (jusqu'à P10-P12) (da Silva Meirelles et al. 2006, Baer et al. 2013). Elles ont les mêmes caractéristiques que les CSM qui sont définies par 3 critères : i) l'adhérence au plastique, ii) l'expression positive de CD73, CD90, CD105 et négative de CD11b, CD14, CD45 et HLA-DR) leur capacité à se différencier en 3 lignées mésenchymateuses chondrocytaire, adipocytaire et ostéoblastique (Donnenberg et al. 2015). En dehors de la définition des CSM, il n'y pas de série de marqueurs consensus. Les ASC expriment des facteurs de transcription qui maintiennent leur statut indifférencié comme Oct4 et Nanog (Maumus et al. 2011, Pan et al. 2019). Les expressions de la glycoprotéine CD34 ou de marqueurs des péricytes ( $\alpha$ SMA, CD140) sont sujettes à débat (Tang et al. 2008, Traktuev et al. 2008, Maumus et al. 2011). CD34, initialement exprimée dans la moelle osseuse, est un marqueur des cellules souches et des précurseurs qui a un rôle dans la prolifération et bloque la différenciation (Suga et al. 2009, Scherberich et al. 2013). Les ASC *in situ* appartiennent à la population CD34+ de la FSV (Sengenes et al. 2005, Traktuev et al. 2008, Maumus et al. 2011) mais son expression diminue *in vitro* (Maumus et al. 2011, Russo et al. 2014). En revanche, l'expression de CD34 par les ASC est maintenue en culture 3D (Scherberich et al. 2013).

## b) Fonctions

Les précurseurs adipocytaires assurent le renouvellement des adipocytes au sein du TA. Les ASC possèdent également une fonction sécrétoire importante qui leur permet d'assurer différentes fonctions. Ainsi, les ASC stabilisent les vaisseaux sanguins et ont un effet pro-angiogénique *via* la sécrétion de VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) et HGF

(*Hepatocyte Growth Factor*) (Scherberich et al. 2013). Elles sont impliquées dans la régénération et la réparation tissulaire suite à une lésion *via* l'action paracrine de facteurs de croissance et de cytokines dans le TA mais aussi lorsqu'elles sont injectées dans le cerveau ou le cœur (Baer et al. 2013, Frazier et al. 2016). Les ASC ont également des propriétés immunsuppressives *in vivo* et *in vitro*, qui participent à l'homéostasie du TA (Puissant et al. 2005, Yanez et al. 2006, Engela et al. 2013, Luz-Crawford et al. 2013, Frazier et al. 2014). Au sein du TA, elles sont les principales cellules productrices de composants de la MEC (Vila et al. 2014). Enfin, *via* leur recrutement et leur différenciation, les précurseurs adipocytaires participent à l'hyperplasie et jouent donc un rôle clé dans l'expansion du TA.

### c) La différenciation adipocytaire

En conditions physiologiques, la durée de vie d'un adipocyte est de 10 ans et 10% des adipocytes sont renouvelés chaque année chez l'homme grâce à la différenciation de précurseurs adipocytaires en adipocytes (Spalding et al. 2008, Arner et al. 2013). Celle-ci commence par la détermination de ces précurseurs.

#### 1. La détermination et l'engagement des précurseurs adipocytaires

Les ASC sont déterminées en préadipocytes (Rodeheffer et al. 2008). D'une part, certains facteurs nutritionnels extracellulaires stimulent la détermination des ASC en préadipocytes et l'engagement des préadipocytes vers l'adipogenèse, tels que BMP2, BMP4 (*Bone Morphogenetic Protein*) (Kang et al. 2009, Macotela et al. 2012, Suenaga et al. 2013) ou bien KLF6, 9 et 15 (*Krüppel-Like Family*) (Gray et al. 2002, Brey et al. 2009). D'autre part, certaines voies de signalisation comme Wnt/β-caténine ou Notch 1 inhibent la détermination des précurseurs adipocytaires. Wnt-5a et Wnt10b se fixent au récepteur frizzled et inhibent l'adipogenèse au profit de l'ostéogenèse (Sarjeant and Stephens 2012). A l'inverse, Wnt-5b se lie à son récepteur Ror (*Rare related orphan receptor*) et a un effet pro-adipogénique (Christodoulides et al. 2009). Notch 1 favorise la prolifération des ASC au détriment de l'adipogenèse (Shan et al. 2017). De plus, Pref-1 (*Preadipocyte factor-1*) est exprimé par les préadipocytes, son expression diminue au cours de l'adipogenèse car il inhibe la transcription de PPARγ (*Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma*) et C/EBPα (*CCAAT-Enhancer-Binding Proteins*) (Smas and Sul 1993, Sarjeant and Stephens 2012). Enfin, le microenvironnement est également important dans la phase de détermination des ASC en préadipocytes. A titre d'exemple, une sous-population de précurseurs adipocytaires dans la FSV a été caractérisée et se différencie en adipocytes de manière efficace *in vitro* (Lin-, Scal+,

CD34+, CD24+, PDGFR $\alpha$ + ) avec un faible potentiel adipogénique *in vivo* (Rodeheffer et al. 2008, Tang et al. 2008). Tous ces facteurs influencent la détermination des précurseurs qui est suivie de la différentiation des préadipocytes en adipocytes matures.

## 2. L’adipogenèse

L’adipogenèse est définie comme la différenciation des précurseurs en adipocytes matures (Sarjeant and Stephens 2012). Elle dépend de l’expression séquentielle et coopérative de facteurs de transcription, ce qui permet de distinguer des phases précoces et tardives de la différenciation adipocytaire. Durant la phase précoce, les facteurs de transcription C/EBP  $\beta$  et  $\delta$  sont exprimés et augmentent l’expression de PPAR $\gamma$  et SREBP1c (*Sterol Regulatory Element Binding Protein 1c*). Durant la phase tardive, l’expression des facteurs C/EBP  $\beta/\delta$  diminue au profit de l’expression des facteurs C/EBP $\alpha$  et de PPAR $\gamma$ , qui activent à leur tour l’expression de marqueurs de différenciation terminale. En parallèle, SREBP1c favorise l’expression des gènes du métabolisme glucido-lipidique comme la FAS et l’ACC. Les ASC du TASC ont une plus grande capacité à accumuler des lipides et à exprimer des facteurs proadipogéniques comme PPAR $\gamma$  ou C/EBP $\alpha$ . L’adipogenèse des précurseurs adipocytaires du TAV nécessite l’ajout de BMP4 *in vitro* (Macotela et al. 2012). Les marqueurs de différenciation terminale comme FABP4 ou FAS sont impliqués dans le stockage et l’accumulation de lipides. Ainsi, l’adipocyte blanc mature acquiert une sensibilité à l’insuline et une forte capacité de stockage des substrats énergétiques au sein de sa gouttelette lipidique (Figure 3). Cette dernière est composée d’une membrane qui contient des lipides et des protéines comme PLIN-1 ou CGI-58 (Tansey et al. 2004). Ces protéines sont les gardiennes de la gouttelette lipidique en assurant son intégrité et le bon fonctionnement du métabolisme adipocytaire. Voici plus en détails, les grandes familles des acteurs transcriptionnels de l’adipogenèse.

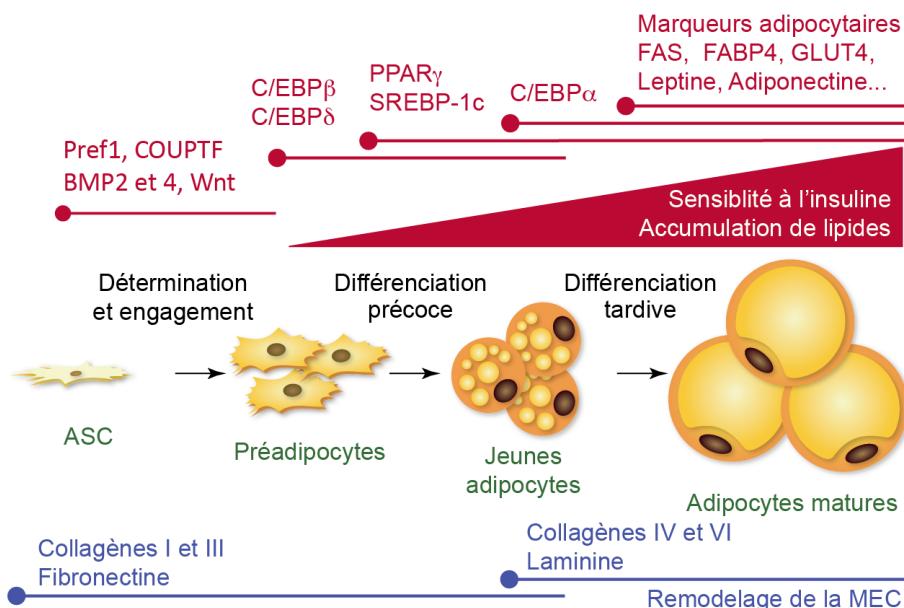


Figure 3 : Schéma de l'adipogenèse adapté de (Bourgeois et al. 2019).

Les ASC (adipose stem cells) se déterminent et s'engagent en préadipocytes. Au cours de la différenciation adipocitaire il y a deux étapes : une étape précoce lorsque le préadipocyte se différencie en jeune adipocyte contenant plusieurs gouttelettes lipidiques et une étape tardive où le jeune adipocyte devient un adipocyte mature uniloculaire sensible à l'insuline. C/EBP $\beta/\delta/\alpha$  : CCAAT-Enhancer-Binding Proteins  $\beta/\delta/\alpha$ , PPAR $\gamma$  : Peroxisome Proliferator Activated Receptor  $\gamma$ , SREBP1c : Sterol Regulatory Element Binding Protein 1c, FAS : Fatty Acid Synthase, FABP4 : Fatty Acid Binding Protein 4, GLUT4 : transporteur du glucose 4.

### La famille des C/EBP

La famille des C/EBP inclut C/EBP $\alpha$  et C/EBP $\beta/\delta$ . Ces facteurs de transcription appartiennent à la famille des leucine-zipper basique. C/EBP $\beta$  est nécessaire à l'expansion clonale et à la phase précoce de l'adipogenèse. C/EBP $\beta/\delta$  ont pour gènes cibles *CEBPA* et *PPARG*. C/EBP $\alpha$  est un facteur de la phase tardive de l'adipogenèse. Ses effets pro-adipogénique et anti-prolifératif passent par l'activité de PPAR $\gamma$  (Rosen et al. 2002, Wang et al. 2015). Ses gènes cibles sont similaires à ceux de PPAR $\gamma$  : *RI* (récepteur de l'insuline), *LEP*, *ADIPOQ*, *SREBP1C* (Wang et al. 2015).

### PPAR $\gamma$

PPAR $\gamma$  possède deux isoformes :  $\gamma 1$  exprimée dans tous les tissus et  $\gamma 2$  qui est exprimée dans le TA et le foie. C'est un facteur de transcription de la famille des récepteurs nucléaires hormonaux. Il a donc besoin d'un ligand pour être activé. Ce ligand peut être d'origine endogène (prostaglandines) ou pharmacologique (thiazolidenidiones (TZD)). Pour fonctionner, il s'hétérodimérisé avec le récepteur des acides rétinoïques (RXR). Il a de nombreux gènes cibles dont *FABP4*, *LPL*, *ADIPOQ*, *LIPE*, *CEBPA*, *SREBP1C* ou encore *PLIN1*. PPAR $\gamma$  est un facteur de transcription et un facteur clé de l'adipogenèse qui inhibe en parallèle la prolifération de précurseurs adipocytaires. L'expression de PPAR $\gamma 2$  est nécessaire et suffisante pour induire l'adipogenèse des préadipocytes (Liao et al. 2007, Sarjeant and Stephens 2012).

### La famille SREBP/ADD1

SREBP1c est un récepteur hélice-boucle-hélice leucine zipper sous forme de dimère qui participe à la phase tardive de l'adipogenèse. Son expression est régulée par C/EBP $\alpha$  et PPAR $\gamma$  et son activité est régulée par l'insuline. Il est impliqué dans l'induction de la lipogenèse en activant l'expression de gènes clés comme *ACACA* (*Acetyl-CoA Carboxylase A*) ou *SCD1*. *FAS* est un gène cible de SREBP1c mais la *FAS* peut être induite dans les adipocytes indépendamment de celui-ci (Kim and Spiegelman 1996, Sekiya et al. 2007). De plus, SREBP1c est nécessaire mais pas suffisant pour l'adipogenèse contrairement à PPAR $\gamma$ . Cependant, SREBP1c serait capable de contrôler la production de ligands endogènes de PPAR $\gamma$  (Tang and Lane 2012).

En conclusion, les précurseurs adipocytaires jouent un rôle clé dans l'adipogenèse et l'expansion du TA. Leur phénotype et leur fonction dépendent de leur environnement modulé notamment par les cellules immunitaires.

## 2) Les cellules de l'immunité

Les cellules de l'immunité innée et acquise représentent une part non négligeable de la FSV et sont présentes en différentes proportions dans le TA. Le TA contient un réservoir de cellules souches hématopoïétiques capables de se différencier en cellules immunitaires. Les macrophages et les mastocytes appartiennent au système immunitaire inné et sont les premières lignes de défenses contre les pathogènes. Les mastocytes régulent la croissance des vaisseaux au sein du TA chez les sujets sains (Lee et al. 2018). Les cellules immunitaires sécrètent la majorité des cytokines et chimiokines dans le TA (Cildir et al. 2013). Parmi les cellules immunitaires adaptatives, le TA contient des lymphocytes T, B et iNKT (*invariant natural killer T*). Les macrophages et les lymphocytes T sont les deux fractions les plus représentées parmi les cellules immunitaires du TA blanc (Zatterale et al. 2019). La proportion de cellules de l'immunité est plus importante dans le TAV que dans le TASC. En effet, le TAV contient des structures appelées « milky spots » correspondant à des clusters de leucocytes ayant une composition variable de lymphocytes T (Kaminski and Randall 2010, Meza-Perez and Randall 2017).

Les macrophages résidents du TA ont un rôle de surveillance immunitaire mais ils sont également impliqués dans le remodelage de la MEC et régulent l'angiogenèse (Cildir et al. 2013, Caslin et al. 2020). Chez l'individu sain, ils sont abondants dans le TA, et plus nombreux dans le TAV que dans le TASC (Bruun et al. 2005). Ils présentent d'avantage un phénotype M2 anti-inflammatoire (Zatterale et al. 2019). Cependant, leur classification est basée sur des études *in vitro*, et selon les stimuli utilisés, leur phénotype varie entre deux profils extrêmes M1 et M2 (Gordon and Taylor 2005, Caslin et al. 2020). Les macrophages M2 dits « anti-inflammatoires »

sont caractérisés par la production d'arginase 2, la sécrétion de facteurs anti-inflammatoires comme IL-10 (*Interleukin-10*) et l'IL1-RA (antagoniste du récepteur de l'IL-1 $\beta$ ) (Zatterale et al. 2019). De plus, PPAR $\gamma$  ainsi que ses agonistes favorisent l'orientation des macrophages vers un phénotype M2 (Bouhlel et al. 2007, Oh et al. 2010). Les macrophages M1 dits « pro-inflammatoires », expriment iNOS, et sécrètent TNF $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-6 ou encore MCP1 (Caslin et al. 2020). MCP1 et TNF $\alpha$  favorisent également le recrutement de macrophages dans le TA (Mack et al. 2009). Les macrophages du TA sécrètent également une variété d'autres molécules comme des facteurs de croissance de type TGF- $\beta$  et VEGF, des enzymes protéolytiques, des espèces réactives de l'oxygène (ERO), du monoxyde d'azote (NO) ou encore des prostaglandines (Caslin et al. 2020).

Les **lymphocytes T** représentent 10% des cellules de la FSV dans le TA humain (McLaughlin et al. 2017). Les lymphocytes T sont dits « naïfs » lorsqu'ils n'ont pas rencontré d'antigène. Lorsque les cellules présentatrices d'antigène rencontrent les lymphocytes T, ces derniers sont activés. Les cellules présentatrices d'antigène utilisent le récepteur CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) pour présenter l'antigène. Il existe deux classes de CMH : le CMH-II reconnu par les lymphocytes T CD4+ et CMH-I reconnu par les lymphocytes T CD8+ (Dam et al. 2016). Une fois activés, les lymphocytes T prolifèrent et se différencient selon l'environnement cytokinique en cellules dites auxilliaires ou effectrices « Th » (*T helper*) ou régulatrice « Treg » (Kaminski and Randall 2010).

Dans le TA, les lymphocytes T CD4+ ont en majorité un phénotype Th2 anti-inflammatoire (Zatterale et al. 2019). Ils sécrètent de l'IL-13 et de l'IL-4 qui permettent d'orienter le phénotype M2 anti-inflammatoire des macrophages (Kanneganti and Dixit 2012). Les Treg sont également présents dans le TA chez l'homme (Donninielli et al. 2017, Laparra et al. 2019). Ils participent au maintien de l'environnement immunosuppressif du TA et favorise la sensibilité à l'insuline (Feuerer et al. 2009, Cipolletta et al. 2012).

### 3) Les cellules du réseau vasculaire

Le compartiment vasculaire est composé de cellules endothéliales et de cellules péri-vasculaires impliquées dans le tonus musculaire : les péricytes, les CMLV et les fibroblastes. Le TAV est plus vascularisé que le TASC et donc plus riche en cellules endothéliales (Russo et al. 2014). Les fonctions du réseau vasculaire consistent en l'apport de nutriments, facteurs de croissance, hormones, cytokines, CSM et permettent l'infiltration des cellules immunitaires en

particulier des monocytes/macrophages et des polynucléaires neutrophiles (Powell and Mousa 2007). Ces apports sont régulés par des pores à la surface des vaisseaux (Kamba et al. 2006).

Les cellules endothéliales sont des cellules quiescentes. Lorsqu'elles sont activées, celles-ci expriment des molécules d'adhérence permettant le passage des cellules immunitaires. Elles sont également capables de proliférer et de migrer sous l'action de facteurs pro-angiogéniques. Elles sont d'origine mésenchymateuse et expriment CD31 (appelé aussi PECA-1, *Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule 1*) et VE-cadherin (*Vascular Endothelial-cadherin*) (Potente et al. 2011). Les cellules endothéliales ont un effet paracrine sur les adipocytes (Cao 2007). Dans certaines conditions, les cellules endothéliales et les péricytes sont capables de se différencier en adipocytes *in vitro* (Rosen and Spiegelman 2014). La dysfonction endothéliale au niveau des vaisseaux est un facteur clé du développement de l'athérosclérose. Ce processus forme des plaques d'athérome au niveau des vaisseaux et participe à la survenue d'évènements et de pathologies cardiovasculaires (Gimbrone and Garcia-Cardena 2016).

## D. La matrice extracellulaire, un nouvel acteur du tissu adipeux

### 1) Les composants de la matrice extracellulaire

La MEC du TA a été originellement décrite en 1963 comme un réseau de fibres de collagènes entourant les adipocytes et les capillaires (Napolitano 1963). La MEC est un réseau complexe de macromolécules (protéines et polysaccharides) formant un lien entre les différents groupes de cellules. Elle joue un rôle dans l'architecture, le soutien et la communication intercellulaire et cellule-matrice au sein du tissu. La majorité des composants de la MEC du TA est sécrétée par les précurseurs adipocytaires, les macrophages et d'une moindre façon par les adipocytes (Divoux and Clement 2011, Vila et al. 2014).

La MEC du TA est composée de protéines de structure : les collagènes fibrillaires I et III, et les collagènes non fibrillaires IV et VI mais également d'élastine.

Le collagène a pour unité de base la chaîne  $\alpha$  appelé préprocollagène. Le préprocollagène est adressé au RE et devient un procollagène par clivage de sa séquence signal. Le procollagène est mûr par hydroxylation puis par glycosylation dans le RE et dans l'appareil de Golgi. Dans le RE, les trois chaînes  $\alpha$  s'assemblent pour former une triple hélice. Les procollagènes sont sécrétés par exocytose dans des vésicules sous forme inactive et sont clivés par des protéases : les BMP en Nter et les ADAMTs (*A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin*

*motifs*) en Cter (Colige et al. 2005). La LOX (*lysyl oxidase*) permet l’assemblage des collagènes fibrillaires sous forme de fibrille (Figure 4). Chez le sujet sain, la quantité de collagènes est plus importante dans le TASC que dans le TAV (Divoux et al. 2010).

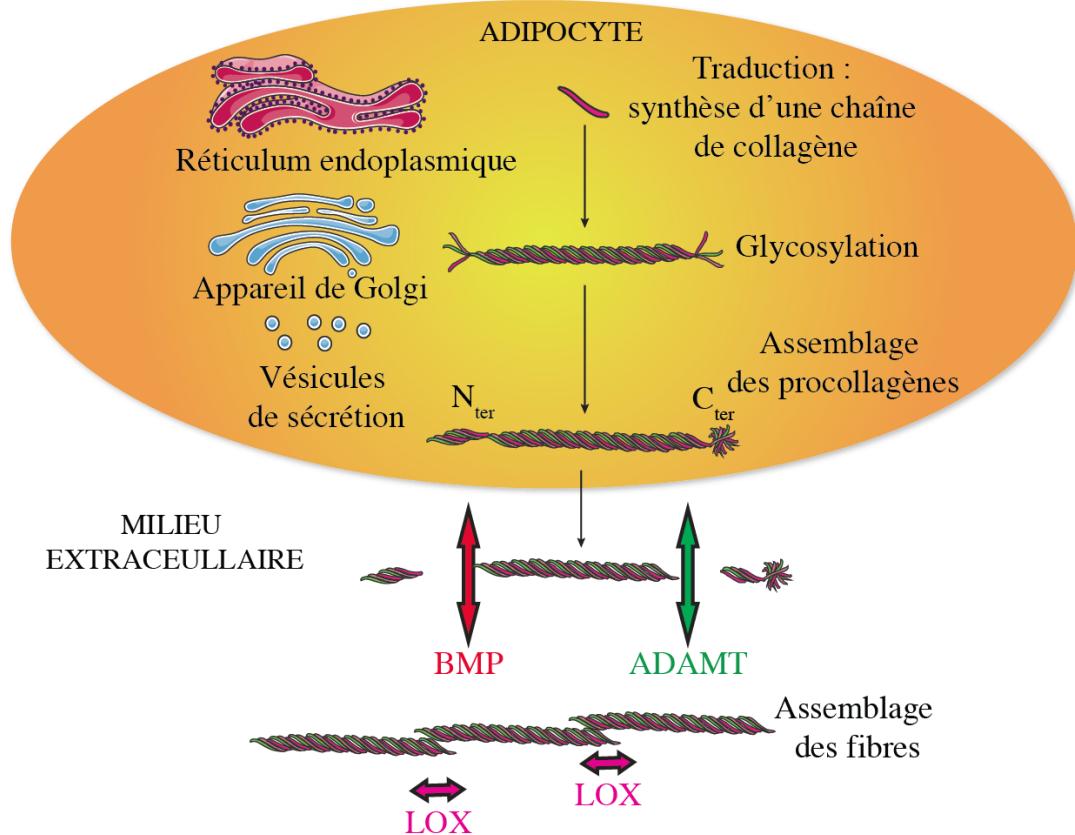
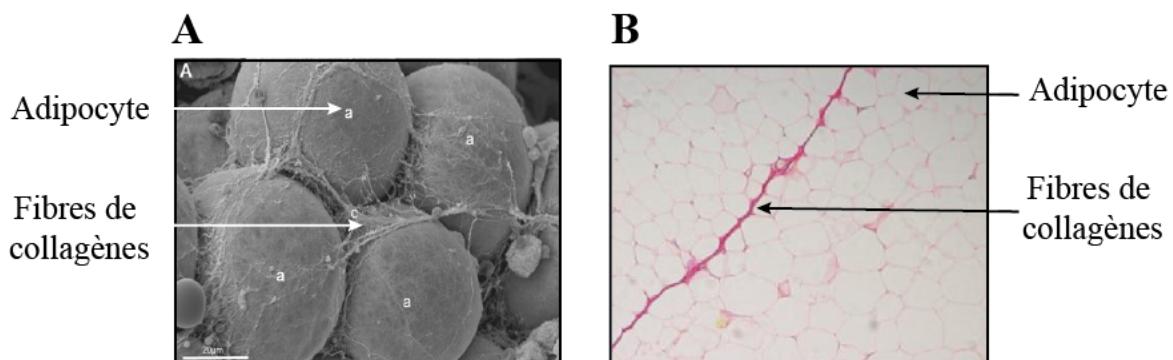


Figure 4 : Schéma de la formation et de la maturation du collagène adapté de (Kadler et al. 2007).

BMP bone morphogenic proteins, ADAMT : a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, LOX : lysyl oxidase.

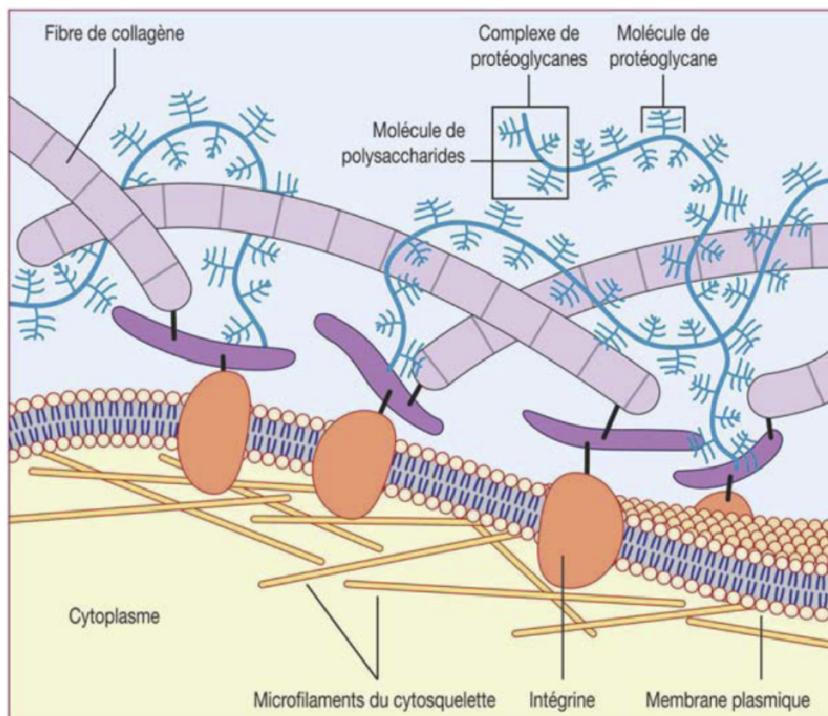
**L’élastine**, confère des propriétés d’élasticité au tissu et subit une maturation similaire à celle des collagènes (Mithieux and Weiss 2005). La MEC du TA contient également des protéines d’adhérence (Sun et al. 2013). En effet, l’adipocyte mature est entouré d’une lame basale contenant un réseau de collagène IV, laminine, fibronectine et d’héparane sulfate (Pierleoni et al. 1998) (figure 5).



**Figure 5 : Images des fibres de collagènes dans le tissu adipeux en microscopie électronique (A) et sur une coupe histologique colorée au rouge Sirius (B). Les images sont adaptées de (Panettiere et al. 2011, Sun et al. 2013).**

Le rouge Sirius colore tous les collagènes.

La **fibronectine** est un dimère ubiquitaire impliqué dans la migration et l'adhérence cellulaire au cours du développement et favorise le thrombus lors d'une lésion vasculaire (Wang and Ni 2016). Les **protéoglycane**s comme la décorine et le perlécane sont composés de noyaux ou *cores* protéiques et d'oses : les glycosaminoglycanes. Ils ont pour fonctions d'hydrater le tissu et de limiter la biodisponibilité des facteurs de croissance ou des MMP (métalloprotéinases matricielles) qui dégradent des composants de la MEC (Christiaens and Lijnen 2006). De façon générale, les protéines d'adhérence contiennent des sites de liaison aux collagènes et aux intégrines. Ces récepteurs membranaires activent des voies de mécano-transduction en transformant un signal mécanique en signal chimique intracellulaire. Les intégrines reçoivent des signaux de modifications de la MEC et engendrent des changements du cytosquelette (microtubules et microfilaments d'actine) ayant pour conséquence une régulation de l'expression des gènes et la présence ou non de récepteurs à la membrane plasmique (Figure 6). Ainsi, les intégrines sont impliquées dans des processus cellulaires variés comme la prolifération, la migration, et l'apoptose mais aussi dans la différenciation.



**Figure 6 : Schéma de la composition de la matrice extracellulaire tiré de (Divoux 2012).**

Les intégrines font le lien entre le cytosquelette intracellulaire et des composants de la MEC comme les collagènes au niveau extracellulaire.

## **2) Le remodelage de la MEC, un processus dynamique**

La MEC est le résultat d'un équilibre dynamique entre synthèse et dégradation de ses composants. Les MMP en particulier, mais aussi les protéases sériques et les cathepsines (des cystéines protéases), dégradent la MEC. Il existe différents types de MMP : collagénases, gélatinases, stromélysines et matrilysinés. Elles sont produites en majorité par les précurseurs adipocytaires mais aussi par les macrophages dans le TA. Les MMP jouent un rôle important dans tous les processus physiologiques nécessitant le remodelage de la MEC comme le développement ou la réparation tissulaire suite à une lésion. Les MMP favorisent aussi l'expansion du TA et permettent d'augmenter la taille des adipocytes au cours de la croissance chez l'homme mais aussi lors de l'adipogenèse (Napolitano 1963, Cinti et al. 1984, Scherer et al. 1998, Bouloumié et al. 2001, Meissburger et al. 2011).

Les composants de la MEC possèdent de multiples rôles dans le TA. Un remodelage de la MEC du TA comme une fibrose peuvent être associés à des dysfonctions de cet organe observées dans certaines pathologies du TA.

## **3) Le remodelage de la MEC, un événement nécessaire à l'adipogenèse**

Le remodelage de la MEC est un événement précoce de l'adipogenèse avec une diminution de la quantité de la fibronectine, des collagènes I et III au profit d'une augmentation de la quantité de la laminine et des collagènes IV, V et VI indiquant un passage d'un réseau de collagènes fibrillaires à non fibrillaires (Lilla et al. 2002, Vila et al. 2014). Ce remaniement de la MEC induit un remaniement du cytosquelette des adipocytes en cours de différentiation et active l'expression de gènes de la lipogenèse comme *GAPDH* (glycéraldéhyde 3 phosphatase déshydrogénase) et *FAS* (Divoux and Clement 2011). En parallèle, les MMP agissent sur la rigidité des collagènes péricellulaires et permettent aux préadipocytes de se gorger de lipides et d'augmenter en volume. Elles induisent aussi la libération locale de facteurs de croissance (Sun et al. 2013). Les MMP2, MMP9 et MMP14 jouent un rôle important dans l'adipogenèse et le métabolisme lipidique *in vitro* et *in vivo* (Bouloumié et al. 2001, Lilla et al. 2002, Chun et al. 2006, Bourlier et al. 2012, Vila et al. 2014). De plus, les cathepsines K, S, et L dégradent la fibronectine qui empêche les modifications du cytosquelette et inhibent la différenciation adipocytaire (Spiegelman and Ginty 1983, Taleb et al. 2006). Le remodelage de la MEC est donc indispensable pour l'adipogenèse.

## E. Pathologies du tissu adipeux

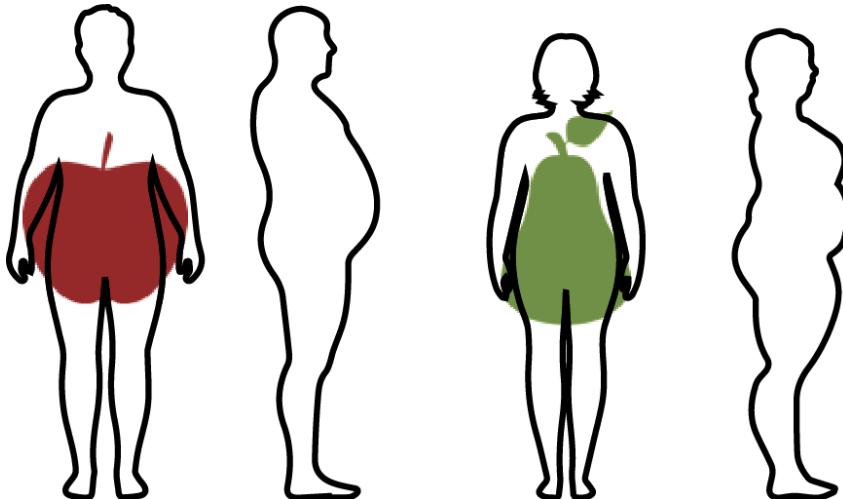
Le TA joue un rôle majeur dans l'homéostasie énergétique de l'organisme. Ainsi une altération de ses fonctions va avoir des répercussions sur l'ensemble de l'organisme. J'aborde à présent certains aspects de la physiopathologie du TA, notamment dans le contexte de l'obésité et des lipodystrophies. En effet, ces deux pathologies d'étiologie différente présentent des atteintes similaires au niveau du TA.

### 1) Présentation des pathologies

#### a) Excès de tissu adipeux : surpoids et obésité

L'obésité est définie comme un excès de masse grasse ayant des conséquences néfastes pour la santé et par un IMC supérieur à  $30 \text{ kg/m}^2$  selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). En effet l'obésité est classée selon l'IMC : normal 18-25, en surpoids 25-30, obèse 30-40 et obèse morbide à plus de  $40 \text{ kg/m}^2$ .

Deux types d'obésité se distinguent : l'obésité gynoïde qui correspond à une accumulation de TASC au niveau gluteo-fémoral (partie inférieure du corps), de l'obésité androïde ou viscérale qui correspond à une accumulation de TA au niveau central (surtout du TAV) qui est plus délétère pour l'organisme (Vague 1956) (Figure 7).



**Figure 7 : Schéma des deux types d'obésité : androïde en forme de « pomme » et gynoïde « forme de poire » adapté de (Vague 1956).**

*Un dimorphisme sexuel existe entre l'homme et la femme dans la prise de poids et de TA. L'obésité androïde est d'avantage observé chez l'homme avec une accumulation tronculaire du tissu adipeux et augmente le risque de comorbidités tandis que chez la femme non ménopausée, le TA augmente dans le bas du corps qui serait moins délétère pour l'organisme.*

Parmi les critères de diagnostic, le tour de taille doit être supérieur à 94 cm pour les femmes et 80 cm pour les hommes. Le développement de l'obésité résulte le plus souvent de facteurs à la

fois génétiques et environnementaux parmi lesquels on retrouve l'âge, le microbiote intestinal, la sédentarité et la suralimentation.

Des modèles animaux ont été mis au point afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de l'obésité. Ceux classiquement utilisés sont des souris sous régime hyperlipidique ou des modèles génétiques d'obésité avec une mutation homozygote du gène de la leptine (*ob/ob*) ou de son récepteur (*db/db*) (Chen et al. 1996, Zhang et al. 2015). Les souris *ob/ob* sont hyperphagiques, obèses et résistantes à l'insuline (Friedman and Halaas 1998).

L'obésité est un facteur de risque de pathologies cardiométaboliques telles que la résistance à l'insuline, le diabète, l'athérosclérose, l'hypertension, la dyslipidémie, la stéatose hépatique ou encore l'infarctus du myocarde ou les cardiomyopathies (Despres and Lemieux 2006, Longo et al. 2019). Ainsi, des traitements pharmaceutiques et chirurgicaux ont été mis en place afin de réduire l'obésité et ses complications associées. En effet, les traitements médicamenteux sont peu efficaces sur la perte de poids. En revanche, la chirurgie bariatrique est pratiquée chez les personnes avec un IMC de plus de  $40 \text{ kg/m}^2$  ou de  $35 \text{ kg/m}^2$  avec au moins une comorbidité. Elle permet une perte jusqu'à 25% de la masse grasse et une amélioration du diabète, de l'hypertension, de l'hypertriglycéridémie et de la sensibilité à l'insuline (Sjostrom et al. 2004). Les patients doivent être motivés et répondre à certains critères de prise en charge. Ils subissent un suivi pré et post-opératoire rigoureux. Quatre procédures principales existent : l'anneau gastrique ajustable, la gastrectomie pariétale ou *sleeve* (chirurgies de restriction), la dérivation bilio-pancréatique (chirurgie de malabsorption), et la dérivation gastrique en Y-de-Roux ou gastric *bypass* (chirurgie mixte malabsorative et restrictive) (Wolfe et al. 2016).

### **b) Redistribution du tissu adipeux et lipodystrophies**

Les lipodystrophies sont un ensemble hétérogène de pathologies caractérisées par une redistribution anormale du TA associées à des troubles métaboliques comme la dyslipidémie, la stéatose hépatique et une résistance à l'insuline sévère. Cette redistribution correspond à une perte (lipoatrophie) de TASC associée ou non à des zones d'accumulation du TAV abdominal ou du TASC sous formes de lipomes. Les syndromes lipodystrophiques peuvent être d'origine génétique ou acquise.

Lorsque la lipoatrophie est localisée, la lipodystrophie est dite partielle tandis qu'elle est dite généralisée lorsque la perte de TA est totale. La lipoatrophie localisée est souvent associée à une accumulation anormale de TA ou lipohypertrophie. Cette lipohypertrophie locale peut être abdominale ou dans une zone atypique, tels que les lipomes cervicaux de TASC, appelés bosses

de bison, observés chez certains patients infectés par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine) sous ARV (antirétroviraux) (Bereziat et al. 2011). Par ailleurs, le vieillissement physiologique est également associé une redistribution du TA qui s'apparente à une lipodystrophie avec une accumulation du TASC et du TAV abdominaux et une perte de TASC des membres et du visage (Kuk et al. 2009) (voir chapitre III : Vieillissement du tissu adipeux des patients infectés par le VIH).

De façon attendue, les gènes mutés dans les lipodystrophies génétiques codent des protéines impliquées dans l'adipogenèse (*PPARG*, *CEBPA*), dans le métabolisme lipidique (*SEIPIN/BCLS2*, *AGPAT2*, *RI*), ou la formation de la gouttelette lipidique (*PLIN1*) (Sollier et al. 2020). Cependant, certaines lipodystrophies sont également liées à des mutations de gènes codant des protéines mitochondrielles comme *MFN2* (Rocha et al. 2017, Capel et al. 2018) ou encore les lamine A/C, des protéines de structure nucléaire dont les mutations sont également responsables de syndromes de vieillissement accéléré (Vigouroux et al. 2000, Decaudain et al. 2007, Bereziat et al. 2011). La forme la plus répandue de lipodystrophie liée au gène *LMNA* est la lipodystrophie familiale de Dunnigan.

La lipodystrophie secondaire aux traitements antirétroviraux (ARV) de l'infection par le VIH est la plus fréquente des lipodystrophies acquises et sera abordée plus en détails dans le chapitre II : l'infection par le VIH et les traitements ARV. D'autres lipodystrophies peuvent être acquises suite à un excès de glucocorticoïdes exogènes ou endogènes, comme le syndrome de Cushing, ou liées à des anomalies immunologiques comme les syndromes de Barraquer-Simons et Lawrence caractérisés par une perte de TA au cours de l'enfance dans le haut du corps et compensé par un stockage des graisses dans le bas du corps (Sollier et al. 2020).

En conclusion, les lipodystrophies ont pour conséquences un phénotype clinique commun avec une perte de TASC et des complications métaboliques associées.

## 2) Altérations adipocytaires

De façon intéressante, bien que d'étiologies différentes, les pathologies du TA peuvent présenter des altérations structurales et fonctionnelles communes comme la fibrose, l'inflammation, les défauts de stockage et de mobilisation qui conduisent le plus souvent à une altération des capacités d'expansion du tissu adipeux.

### a) Expansion du tissu adipeux : hypertrophie et hyperplasie

Le TA est un tissu doté d'une grande plasticité, qui est reflété par sa capacité d'expansion en réponse à un environnement énergétique. L'expansion du TA résulte de l'augmentation des

adipocytes en volume (hypertrophie) et/ou en nombre (hyperplasie). En parallèle de l'expansion du TA, l'angiogenèse est nécessaire pour assurer les besoins en nutriments des nouveaux adipocytes. Le TASC, plus que le TAV, est capable de changer de taille rapidement pour répondre à la variation de disponibilité des nutriments (Ibrahim 2010, Lotta et al. 2017, Vasan et al. 2018). En situation physiologique, il existe un lien spatio-temporel entre angiogenèse et adipogenèse. En effet, lorsque les apports énergétiques augmentent, l'augmentation de la taille des adipocytes conduit à une hypoxie locale induisant l'activation du facteur de transcription clé de l'hypoxie est HIF-1 $\alpha$  (*hypoxia inducible factor*) (Cao 2007, Christiaens and Lijnen 2010). Ce dernier permet d'activer l'angiogenèse et l'expansion saine du TA (Figure 8).

Cependant, l'hypertrophie de l'adipocyte est contrainte physiquement par le réseau de MEC qui l'entoure et la gouttelette lipidique a une capacité maximale de stockage (Drolet et al. 2008, Sun et al. 2013). Lorsque l'adipocyte a atteint sa taille maximale, il stimule la production de nouveaux adipocytes (hyperplasie) afin de stocker le surplus énergétique (Faust et al. 1978, Cleary et al. 1979). L'hyperplasie requiert la prolifération et la différenciation des précurseurs adipocytaires. L'expansion saine du TA implique l'hyperplasie préférentiellement dans le TASC (Drolet et al. 2008, Joe et al. 2009, Pellegrinelli et al. 2016, Guillermier et al. 2017, Vishvanath and Gupta 2019) (Figure 8).

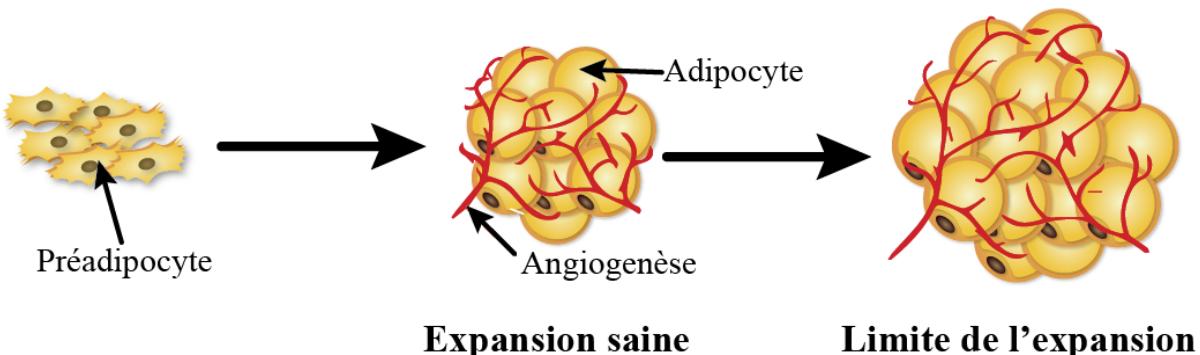


Figure 8 : Schéma de l'expansion physiologique du tissu adipeux adapté de (Sun et al. 2011).

*Les préadipocytes se différencient en adipocytes, c'est l'adipogenèse. Lorsque de nouveaux adipocytes apparaissent en parallèle de l'angiogenèse, l'expansion du TA est dite saine. Dans un premier temps, les adipocytes s'hypertrophient, et dans un second temps, des précurseurs adipocytaires sont recrutés afin de se différencier et de former de nouveaux adipocytes.*

Au cours de **l'obésité**, la balance énergétique est dérégulée par un excès d'apport énergétique. Lorsque ces excès positifs deviennent chroniques, une **hypertrophie adipocytaire** se développe dans le TASC et le TAV (Drolet et al. 2008, Joe et al. 2009, Wang et al. 2013, Kim et al. 2014, Jeffery et al. 2015, Vishvanath and Gupta 2019).

Dans un contexte d'obésité, il a été émis l'hypothèse que l'expansion du TASC est limitée à cause d'un défaut d'hyperplasie (Cinti et al. 2005, Pellegrinelli et al. 2016). En effet, plusieurs études ont montré que dans ce contexte, l'**hyperplasie** a lieu préférentiellement dans le TAV

chez l'homme et dans des modèles murins sous régime hypergras (Arner et al. 2013, Wang et al. 2013, Kim et al. 2014, Jeffery et al. 2015). Le défaut d'hyperplasie du TASC a des répercussions sur le TASC et sur le TAV. En effet, plusieurs altérations sont observées dans ces deux tissus telles qu'une fibrose, une inflammation et des **dysfonctions adipocytaires** (Pellegrinelli et al. 2016, Vishvanath and Gupta 2019).

### b) Dysfonctions adipocytaires et défaut d'adipogenèse

Au cours de l'obésité associée à des comorbidités, on parle d'expansion pathologique du TA. Dans ce contexte, l'hypertrophie adipocytaire est associée à une résistance à l'insuline, une lipolyse accrue conduisant à la mise en place d'une hypertriglycéridémie, d'un diabète et d'une inflammation systémique (Tchkonia et al. 2010, Veilleux et al. 2011, Michaud et al. 2014, Muir et al. 2016). De plus, les adipocytes hypertrophiques sont plus sensibles à l'apoptose ou à la nécrose, participant à l'inflammation locale (Pellegrinelli et al. 2016, Vishvanath and Gupta 2019). Le défaut d'expansion du TA est également associé à l'acquisition d'un phénotype pro-inflammatoire, profibrotique et une diminution du potentiel adipogénique des précurseurs adipocytaires (Lacasa et al. 2007, Marcellin et al. 2017, Gustafson et al. 2019, Liu et al. 2020). De façon intéressante, chez les patients **lipodystrophiques**, la perte des capacités de stockage engendrée par la lipoatrophie est associée à la présence de petits adipocytes dysfonctionnels, caractérisés par une altération de l'adipogenèse et une résistance à l'insuline du TASC ainsi qu'une lipotoxicité (Vigouroux et al. 2011, Patni and Garg 2015).

Les pathologies du TA sont associées à des altérations du réseau nerveux. Ainsi, au cours de l'obésité, les fibres nerveuses sensorielles sont dysfonctionnelles et les signaux sympathiques sont perturbés entre le système nerveux central et le TA (Guilherme et al. 2019).

Les pathologies du TA sont aussi associées à des **altérations des fonctions endocrines** du TA. Les patients obèses présentent une hyperleptinémie mais sont également résistants à la leptine conduisant à un perte de la régulation de la prise alimentaire (Friedman and Halaas 1998). À l'opposé, dans les syndromes lipodystrophiques, la leptine plasmatique est diminuée en accord avec la perte de masse grasse. L'adiponectine quant à elle est diminuée dans les deux situations, en accord avec la résistance à l'insuline (Haque et al. 2002). Sa diminution favorise un état pro-inflammatoire et une accumulation du TAV, participant à la mise en place des comorbidités. En accord, la concentration plasmatique d'adiponectine est inchangée chez les patients obèses « métaboliquement sains » par rapport aux individus minces (Matsuzawa 2006, Aguilar-Salinas et al. 2008). Chez ces patients, le stockage des AGL se ferait préférentiellement dans le TASC,

avec une absence de limitation des capacités d'expansion du TA et l'adiponectine jouerait un rôle protecteur contre le risque cardiométabolique (Kusminski et al. 2016).

### **3) Inflammation et infiltration des cellules immunitaires**

Lors d'un changement du microenvironnement comme par exemple un excès de lipides ou une infection virale, la composition immunitaire est modifiée avec un recrutement de cellules immunitaires qui participent à une inflammation locale et systémique de bas grade (Zatterale et al. 2019). Dans le TA, cette dérégulation des cellules immunitaires favorise également les dysfonctions métaboliques (Vigouroux et al. 2011, Stout et al. 2017).

Les macrophages représentent jusqu'à 40% des cellules du TA (Liu et al. 2017, Reilly and Saltiel 2017). L'apoptose des adipocytes libère des chimiokines comme CCL2 et CCL5. Les macrophages s'accumulent alors autour des adipocytes morts et forment une structure en couronne appelée « *crown-like structure* » (CLS) dans le TAV (Cinti et al. 2005, Cancello et al. 2006). Ils se gorgent de lipides et deviennent des cellules spumeuses géantes (Keophiphath et al. 2010). Des lymphocytes T effecteurs mémoires sont également recrutés au niveau des CLS du TA (Yang et al. 2010). Les cytokines pro-inflammatoires activent les voies de l'inflammation JNK et NFkB, et favorisent la polarisation M1 pro-inflammatoire des macrophages (Arkan et al. 2005, Chawla et al. 2011). Cependant, cette activation M1 dite « métabolique » diffère de celle observée lors d'une infection car les macrophages sont primés par des lipides. Le phénotype des macrophages est discuté : soit majoritairement M2 (CD206, CD163/MAC2+) (Pasarica et al. 2009) soit en équilibre entre M1 (CD40+) et M2 (Divoux et al. 2010) avec un phénotype mixte (Zeyda et al. 2007). Les macrophages altèrent l'adipogenèse dans le TASC (Liu et al. 2017, Reilly and Saltiel 2017). De manière concomitante à une augmentation de l'inflammation, les macrophages favorisent la fibrose du TASC et TAV (Strissel et al. 2007, Pasarica et al. 2009, Sun et al. 2013).

Au cours de l'obésité, les neutrophiles sont transitoirement recrutés dans le TA et déclenchent un processus inflammatoire en favorisant le recrutement des lymphocytes T, des lymphocytes B, des mastocytes et des cellules dendritiques (Elgazar-Carmon et al. 2008, Talukdar et al. 2012). Ces dernières, induisent une expansion de lymphocytes T CD4+ Th17 pro-inflammatoires (Cho et al. 2016). De plus, l'augmentation des lymphocytes T CD4+ pro-inflammatoires Th1, des lymphocytes T CD8+ et la diminution des lymphocytes T CD4+ Th2 favorisent la différentiation M1 des macrophages du TAV (Nishimura et al. 2009, Lee et al. 2018). La déplétion des Treg, iNKT et éosinophiles dans le TAV participe de façon indirecte à l'inflammation locale et à la résistance à l'insuline (Feuerer et al. 2009, Winer et al. 2009, Lee et al. 2018). En accord, les

cellules immunitaires qui s’infiltrent dans le TASC et le TAV favorisent la résistance à l’insuline comme les neutrophiles (Wang et al. 2009), les macrophages (Liu et al. 2017, Reilly and Saltiel 2017), les lymphocytes T (Feuerer et al. 2009) et B (Winer et al. 2011). Les macrophages participent à l’intolérance au glucose *via* leur sécrétion de TNF $\alpha$  (Stanley et al. 2011, Winer et al. 2011, Cho et al. 2016). Les adipokines pro-inflammatoires comme l’IL-6 ou la résistine sont augmentées et sécrétées en majorité par les cellules immunitaires dans le TASC et dans le TAV de sujets obèses (Ouchi et al. 2011). Par le biais de ces cytokines pro-inflammatoires, une communication s’établie entre les cellules du TA et modulent leurs phénotypes. Les adipocytes et les préadipocytes augmentent également leur production de facteurs pro-inflammatoires et contribuent ainsi à l’inflammation (Lacasa et al. 2007, Keophiphath et al. 2009, Vila et al. 2014).

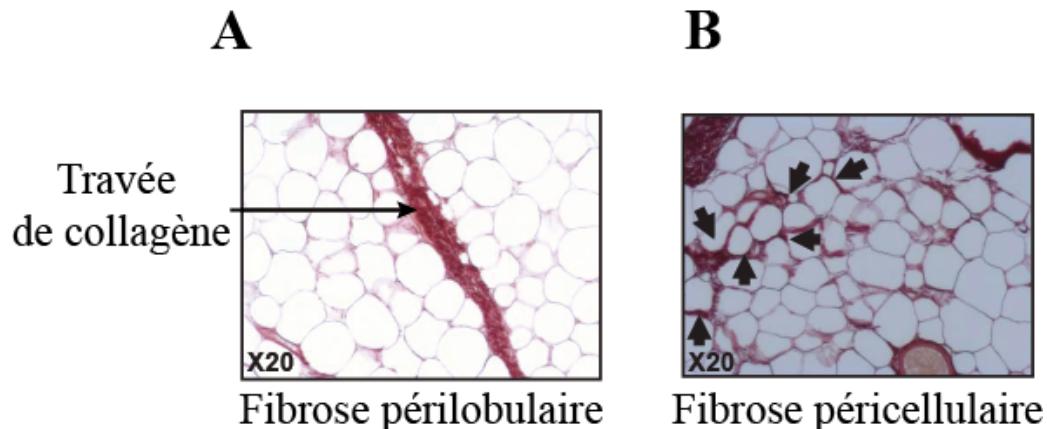
#### **4) La fibrose du tissu adipeux : un remodelage de la matrice extracellulaire**

##### **a) Caractéristiques de la fibrose du tissu adipeux chez le sujet obèse**

La synthèse de la MEC est un facteur déterminant dans la réparation tissulaire mais lorsque cette MEC s’accumule de façon excessive, elle devient un dépôt fibreux au sein du tissu appelé fibrose. La fibrose du TA a été bien documentée au cours de l’obésité. Elle est caractérisée par une augmentation des composants de la MEC : des collagènes I, III, IV et VI, de la tenascine C et de la décorine (Divoux and Clement 2011, Sun et al. 2013). Elle a été montrée pour la première fois dans le TASC de sujet obèses (Strissel et al. 2007, Henegar et al. 2008). Deux types de fibrose se distinguent : périlobulaire et péricellulaire. La fibrose périlobulaire est sous forme de travées autour des lobules contenant principalement des collagènes I et III. La fibrose péricellulaire se trouve autour des adipocytes avec du collagène VI (Figure 9). Elle est augmentée dans le TASC et dans le TAV chez les sujets obèses (Divoux et al. 2010). De plus, dans le TASC, le collagène VI est corrélé avec l’IMC et le poids du TA (Pasarica et al. 2009). Il est cependant absent du TA chez les enfants sains (Tam et al. 2012). Des mastocytes, des macrophages et des préadipocytes sont également présents dans les dépôts fibrotiques du TA chez le sujet obèse (Keophiphath et al. 2009, Divoux et al. 2010). Les mastocytes favorisent la production de collagène VI (Divoux et al. 2012, Hirai et al. 2014).

De nombreux régulateurs moléculaires de la composition de la MEC appelée « protéines matricielles » augmentent dans le TA au cours l’obésité et participe à sa fibrose comme SPARC (*Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine* ou osteonectin ou BM-40) (Atorrasagasti et al. 2019), ostéopontine (Kiefer et al. 2008), TGF- $\beta$  (Fain et al. 2005), CTGF (*Connective Tissue Growth Factor* ou CCN2) (Pellegrinelli et al. 2014), activine A (Zaragozi et al. 2010) et

thrombospondine 1 (Varma et al. 2008). Certains de ces facteurs comme SPARC, l'activine A et CTGF inhibent l'adipogenèse et participent aux dysfonctions adipocytaires (Tan et al. 2008, Keophiphath et al. 2009, Kos et al. 2009, Zaragosi et al. 2010).



**Figure 9 : Images des deux types de fibrose sur des coupes de tissu adipeux colorées au rouge Sirius chez un sujet obèse : périlobulaire (A) et péricellulaire (flèches) (B) adaptées de (Divoux et al. 2010).**

Le rouge Sirius colore tous les collagènes.

Le remodelage de la MEC modifie les propriétés physico-chimiques du TA et altère ses fonctions métaboliques et sécrétoires (Lackey et al. 2014). La fibrose, en particulier péricellulaire, induit des contraintes mécaniques sur les adipocytes et altère ainsi les capacités de stockage et d'expansion du TA (Khan et al. 2009, Pasarica et al. 2009). La fibrose du TA est aussi associée à une résistance à l'insuline, une mort adipocytaire et une inflammation (Khan et al. 2009, Vila et al. 2014). L'accumulation de collagènes induit une dérégulation du métabolisme lipidique et de l'homéostasie glucidique qui pourrait favoriser le développement d'un diabète de type 2 dans un contexte d'obésité (Khan et al. 2009, Pasarica et al. 2009, Divoux et al. 2010, Divoux and Clement 2011, Sun et al. 2013, Abdennour et al. 2014, Hasegawa et al. 2018). De façon, intéressante la fibrose péricellulaire empêche la perte de poids et l'amélioration des comorbidités chez les patients suite à une chirurgie bariatrique (Divoux et al. 2010). C'est donc un paramètre important à suivre dans les pathologies du TA.

### b) Processus de la mise en place de la fibrose

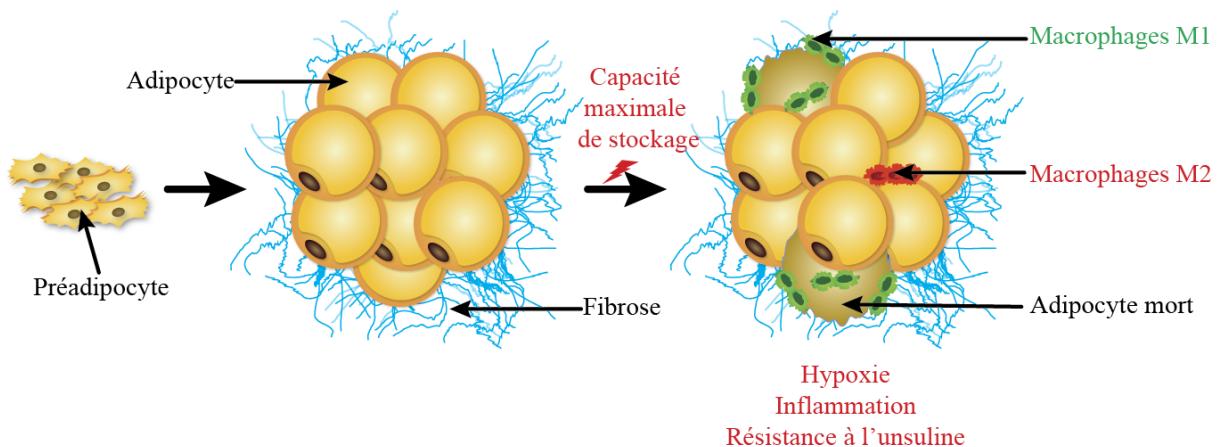
Comme cité plus haut, les **précurseurs adipocytaires** jouent un rôle central dans la synthèse de MEC en physiologie mais aussi en pathologie dans la fibrose du TA. En effet, des facteurs pro-fibrotiques comme TGF- $\beta$  et CTGF induisent la transition épithélio-mésenchymateuse des précurseurs adipocytaires vers un phénotype myofibroblastique qui exprime  $\alpha$ SMA ( $\alpha$  smooth muscle actin), augmente leur production de collagènes et diminue leur potentiel adipogénique (Bourlier et al. 2012, Desai et al. 2014, Pellegrinelli et al. 2014, Marcellin et al. 2017, Marcellin et

al. 2019). D'autres protéines sont caractéristiques d'un phénotype pro-fibrosant des ASC comme CD9<sup>high</sup> et PDGFR $\alpha$  (Marcelin et al. 2017). Le TGF- $\beta$  est un facteur pro-fibrotique majeur, sécrété notamment par les adipocytes et les macrophages (Wynn 2008). Son activité est modulée par des composants de la MEC comme la trombospondine 1, le laminican ou encore la décorine (Sun et al. 2013). Par ailleurs, les **macrophages** régulent la fibrose du TA. Ils attirent les cellules du système immunitaire *via* la sécrétion des chimiokines et cytokines, synthétisent des composants de la MEC tels que des collagènes I et VI et de la fibronectine et sécrètent les MMP2 et MMP9 (Bourlier et al. 2008). Dans un contexte inflammatoire, les macrophages produisent du TGF- $\beta$  et de l'activine A qui activent les précurseurs adipocytaires (Vila et al. 2014). L'activine A augmente également la production de composants de la MEC par les précurseurs adipocytaires (Keophiphath et al. 2009, Zaragozi et al. 2010). Les **adipocytes** sont également impliqués dans la fibrose du TA mais de façon moindre. Cependant, en réponse à certains stimuli comme l'hypoxie, le TGF- $\beta$  ou l'inflammation, l'adipocyte augmente sa production de collagènes (Pellegrinelli et al. 2014).

**Deux hypothèses** se distinguent au cours de l'obésité sur l'origine de la fibrose et le lien avec l'inflammation. La première hypothèse suggère que **l'inflammation cause la fibrose** du TA. Une étude de fibrose du TAV chez la souris a montré que la surexpression des gènes de l'inflammation précède celle des composants de la MEC. D'autres études de cinétique sont cependant nécessaires chez l'homme (Kwon et al. 2012). Les adipocytes hypertrophiques meurent plus facilement par apoptose ou nécrose. Cela induit le recrutement des cellules immunitaires et la formation de CLS. Les facteurs comme IL-6, TNF $\alpha$  et TGF- $\beta$  sont augmentés et induisent ainsi la prolifération et la production de composants de la MEC par les précurseurs adipocytaires participant ainsi à la mise en place d'une fibrose du TA (Lacasa et al. 2007, Wynn 2008, Keophiphath et al. 2009, Bourlier et al. 2012, Marcelin et al. 2017, Unamuno et al. 2019).

La deuxième hypothèse propose que **l'inflammation soit une conséquence de la fibrose**. Lors d'une augmentation rapide et soutenue d'apport énergétique, l'hypertrophie peut être associée à des zones hypoxiques au sein du TA. Cette hypoxie trop importante est délétère sur l'angiogenèse et en conséquence, une raréfaction des vaisseaux est observée. De plus, l'angiogenèse n'est donc plus synchrone avec l'adipogenèse. L'activation de HIF-1 $\alpha$  favorise la dysfonction des adipocytes (Halberg et al. 2009, Jiang et al. 2011, Krishnan et al. 2012), la prolifération des ASC (Russo et al. 2014) et induit la fibrose du TA (Halberg et al. 2009, Sun et al. 2013) (Figure 10). Parallèlement, la rigidité des collagènes contraint les adipocytes et favorise

leur nécrose (Chun et al. 2006, Khan et al. 2009). Les cellules immunitaires sont alors recrutées et créent une inflammation locale (Lin et al. 2016).



**Figure 10 : Schéma de l'expansion pathologique du tissu adipeux et du remodelage de la matrice extracellulaire adapté de (Sun et al. 2011).**

Les préadipocytes se différencient en adipocytes, c'est l'adipogenèse. Lorsque la balance énergétique est positive, les adipocytes deviennent hypertrophiques. Puis lorsque la capacité maximale de stockage est atteinte et que l'angiogenèse n'est plus synchrone avec l'adipogenèse, l'expansion du TA devient pathologique. Des zones d'hypoxie se créent et induisent le développement d'une fibrose du TA. Parallèlement, certains adipocytes hypertrophiques meurent et favorisent l'infiltration de macrophages M1 et M2 qui forment des crown-like structures. Le TA devient alors inflammatoire et résistant à l'insuline.

Ces deux hypothèses sont complémentaires. Une étude suggère que la fibrose du TASC résultait de la production de collagènes par les macrophages et que celle du TAV serait induite suite à une hypoxie (Villaret et al. 2010). Par ailleurs, il est important de noter que fibrose et inflammation ne sont pas toujours liées (Marcelin et al. 2017). En accord, au laboratoire nous avons mis en évidence une fibrose non inflammatoire dans le TASC hypertrophique cervical des patients lipodystrophiques (Bereziat et al. 2011).

## 5) Résistance à l'insuline : défaut de signalisation insulinique

### a) Voies de signalisation de l'insuline

L'adipocyte mature est sensible à l'insuline. L'insuline est une hormone sécrétée par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas. Elle diminue la concentration de glucose dans le sang afin qu'il soit stocké dans les organes périphériques comme le foie, le muscle ou le TA.

Le récepteur à l'insuline est un récepteur à tyrosine kinase composé de quatre sous-unités, 2  $\alpha$  extracellulaires qui se lient à l'insuline ( $RI\alpha$ ) et deux  $\beta$  kinase ( $RI\beta$ ) transmembranaires. Lorsque l'insuline se fixe, le RI change de conformation permettant le rapprochement des deux  $RI\beta$  qui se trans-autophosphorylent et activent ses substrats par phosphorylation sur les tyrosines (Jensen and De Meyts 2009).

L'insuline se fixe à son récepteur et active potentiellement plusieurs voies de signalisation. Parmi elles, la voie PI3K/Akt est impliquée dans les réponses métaboliques et la voie des MAPK (*Mitogen-activated protein kinase*) régule la prolifération et la différenciation cellulaire.

## 1. Effet prolifératif de l'insuline : la voie des MAPK

L'activation de la voie des MAPK implique les effets pro-survie et prolifératifs de l'insuline. Le RI active SHC (*src homologous and collagen protein*) d'une part, et IRS-1 d'autre part qui vont tous deux recruter le complexe Grb2/Sos (*Growth factor receptor-bound protein 2/Son of Sevenless*). Celui-ci active alors la protéine G Ras qui active la MAPKK RAF (*Rapidly Accelerated Fibrosarcoma*). Une cascade de phosphorylations permet ainsi l'activation des deux MAPK ERK1/2 (*extracellular signal-regulated kinase*) (Saltiel and Kahn 2001) (Figure 11). Les deux ERK activent la kinase p90rsk et en parallèle entrent dans le noyau pour activer la transcription de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire.

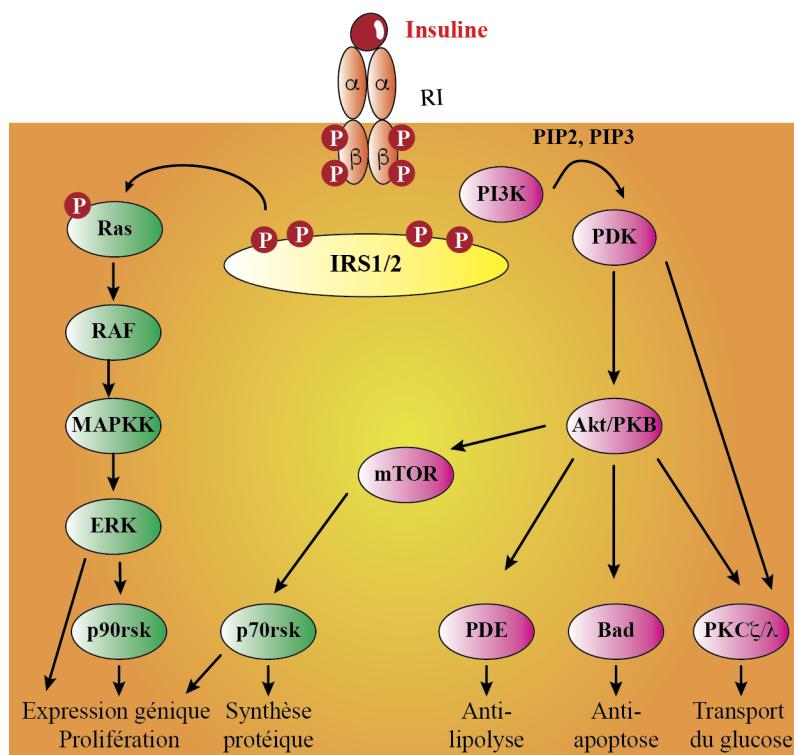


Figure 11 : Schéma des voies mitogéniques et métaboliques de l'insuline adapté de (Capeau 2003) et de C. Lagathu.

Lorsque l'insuline se fixe à son récepteur RI, il s'autophosphoryle et active par phosphorylation l'insulin receptor substrat IRS1/2. IRS1 active alors la voie mitogénique MAPK (vert) et la voie métabolique Akt/PKB (rose). RAF : Rapidly Accelerated Fibrosarcoma, MAPKK : mitogene-activated protein kinase kinase, ERK : extracellular signal-regulated kinase, p90rsk et p70 rsk : ribosomal s6 kinases, PI3K : phosphatidylinositol-kinase de type 3, PIP2 : phosphoinositide-4,5-biphosphate, PIP3 : phosphoinositide-3, 4, 5-triphosphate, PDK : PKC $\zeta/\lambda$  : protéine kinase C $\zeta/\lambda$ , Bad, PDE : phosphodiesterase mTOR : mammalian target of rapamycin.

## 2. Effets métaboliques de l'insuline : la voie Akt/PKB

IRS1 (*Insulin Receptor Substrat 1*) phosphorylé active la PI3K (phosphinosite 3 kinase), qui phosphoryle ses substrats en position 3 les phosphoinositides membranaires. Il active alors la kinase PDK (*phosphoinositide-dependent protein kinase*) qui phosphoryle et active Akt/PKB (protéine kinase B) afin d'exercer ses effets métaboliques. Akt active également la voie mTOR (*mammalian target of rapamycin*) en inhibant TSC1/2 (*tuberous sclerosis complex*). mTOR phosphoryle alors la kinase p70rsk et induit la synthèse protéique et la prolifération cellulaire. Akt active l'expression de SREBP1c qui favorise la lipogenèse (Kim et al. 1998, Dif et al. 2006). Akt a une action anti-lipolitique en activant la phosphodiesterase (PDE) qui diminue la concentration intracellulaire d'AMPc et diminue ainsi l'activité de la LHS. Akt favorise la survie cellulaire en inhibant le facteur pro-apoptotique Bad (Maiuri et al. 2010) (Figure 11). Enfin, PDK et Akt activent toutes les deux la PKC  $\zeta/\lambda$  favorisant la translocation des vésicules contenant GLUT4 de l'appareil de Golgi à la membrane plasmique (Figure 12). De façon intéressante, GLUT4 est d'avantage exprimé dans le TAV que dans le TASC et la captation du glucose est plus élevée dans le TAV (Virtanen et al. 2002, Veilleux et al. 2009, Christen et al. 2010).

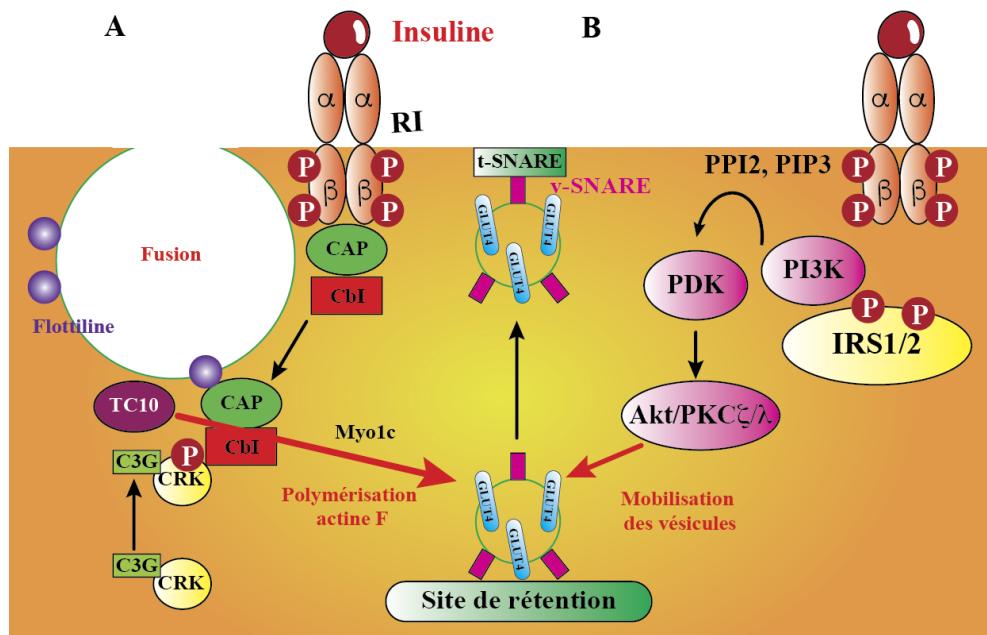


Figure 12 : Schéma du transport du glucose insulino-dépendant adapté de (Capeau 2003).

Lorsque l'insuline se fixe à son récepteur RI, il s'auto-phosphoryle et active par phosphorylation l'insulin receptor substrat IRS1/2 d'une part, le changement du cytosquelette d'actine est induit suite à l'activation de la GTPase TC10 (A) et d'autre part, l'activation de la voie AKT / PKC $\zeta/\lambda$  permet de mobiliser les vésicules contenant GLUT4 (B). A l'aide d'une polymérisation des fibres d'actine grâce à MyoC, elles vont fusionner afin de localiser le transporteur de glucose GLUT4 à la membrane plasmique. PI3K : phosphatidylinositol-kinase de type 3, PIP2 : phosphoinositide-4,5-biphosphate, PIP3 : phosphoinositide-3, 4, 5-triphosphate, PKC $\zeta/\lambda$  : protéine kinase C $\zeta/\lambda$ , Vamp2 : Vesicle-associated membrane protein 2, Syn4 : Syntaxin 4, Munc18c : mammalian uncoordinated-18, Synip : Syntaxin 4-interacting protein, SNAP23 : synaptosomal-associated protein 23, CAP : c-Cbl associated protein, C3G : Crk adaptator protein.

Lorsque l'insuline se fixe à son récepteur RI il s'autophosphoryle et active par phosphorylation l'insuline receptor substrat IRS1/2 d'un part, le changement du cytosquelette d'actine est induit (A) et d'autre part, l'activation de la voie AKT / PKC $\zeta/\lambda$  permet de mobiliser les vésicules contenant GLUT4 (B).

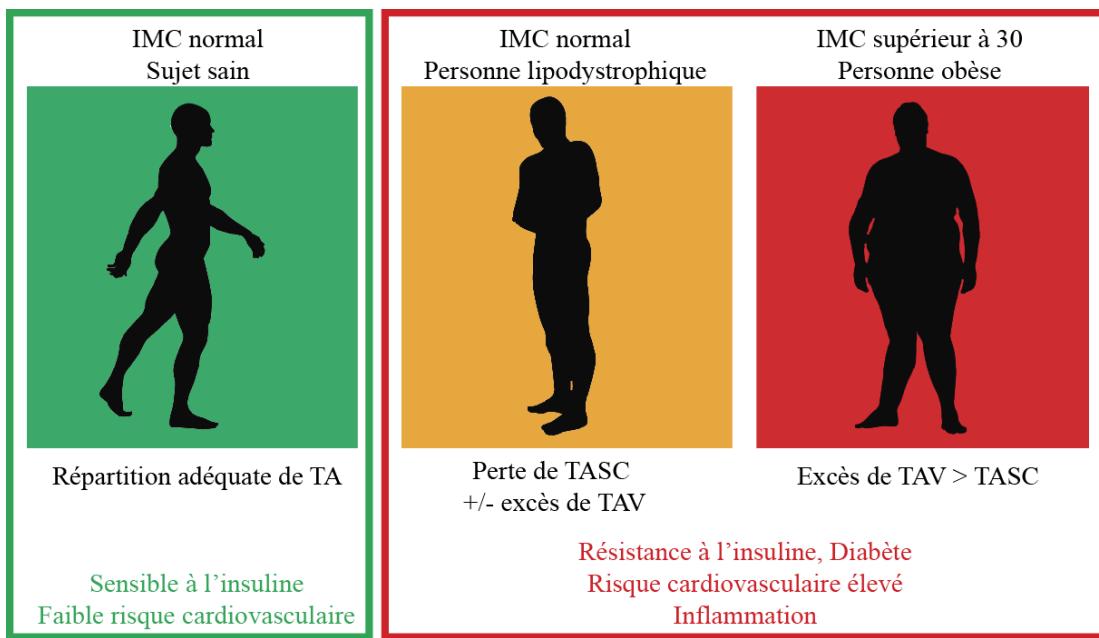
### b) Résistance à l'insuline

Au niveau cellulaire, l'arrêt du signal insulinique a lieu lorsque l'insuline est internalisée avec son récepteur, puis le complexe est adressé aux endosomes. En physiologie, le nombre de RI reste constant à la membrane plasmique car un faible nombre de RI est dégradé lors de l'internalisation. Divers acteurs moléculaires agissent sur la voie insulinique et jouent un rôle inhibiteur. Les phosphotyrosine phosphatases PTPases comme PTP-B déphosphorylent le RI et IRS-1 ce qui les désactivent. L'insuline exerce ainsi une boucle de rétrocontrôle négative (Kido et al. 2001). Par ailleurs, les phosphorylations sur les sérine-thréonine du RI et de IRS-1 ont une action inhibitrice (Longo et al. 2019). De nombreux facteurs phosphorylent IRS-1 sur la sérine 312 comme PKC  $\theta$ , IKK  $\beta$  (*inhibitor of NF $\kappa$ B*) (Gao et al. 2004), JNK (c-JUN NH2-terminale kinase) (Fujishiro et al. 2003), IRAK (*interleukin-1 receptor-associated kinase*) (Kim et al. 2005). Enfin, divers stress cellulaires comme le stress oxydant (Furukawa et al. 2004), l'hypoxie (Regazzetti et al. 2009) ou encore le stress du RE (Xu et al. 2010) altèrent la voie de signalisation de l'insuline dans les adipocytes.

Au niveau de l'organisme, la résistance à l'insuline subvient lorsqu'un défaut d'induction de la voie de signalisation est observé dans ses tissus cibles (foie, TA, muscle). Au cours de l'obésité, différents éléments participent à la mise en place de la résistance à l'insuline du TA : l'infiltration immunitaire (McLaughlin et al. 2017), la sécrétion de facteurs inflammatoires comme TNF $\alpha$  (Ruan and Lodish 2003) et IL-6 (Lagathu et al. 2003), la concentration élevée d'acide gras (Nguyen et al. 2005), la diminution d'adiponectine (Ryo et al. 2004) et la fibrose (Alba et al. 2018, Hasegawa et al. 2018).

## F. Lipotoxicité et complications cardiométaboliques

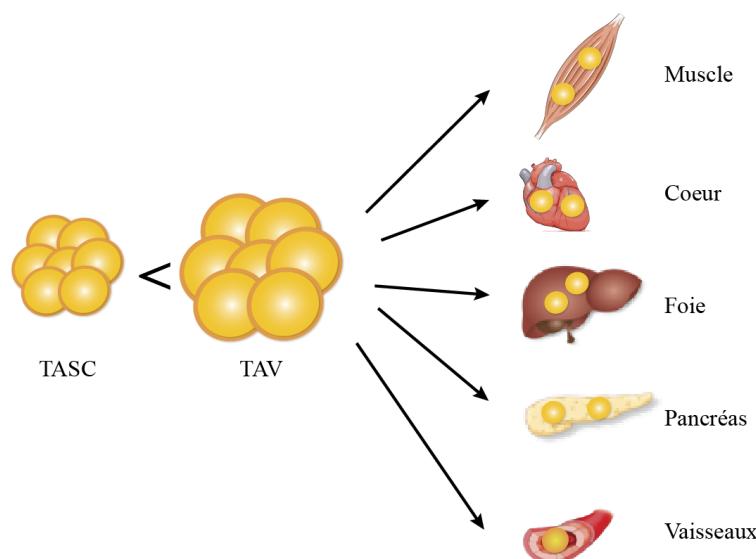
Une expansion limitée du TASC favorise une accumulation dans le TAV connu pour être plus délétère pour l'organisme (Alligier et al. 2013). Le défaut de stockage du TASC peut être lié à la lipoatrophie, à la lipohypertrophie ou à l'obésité. Ainsi, une expansion excessive du TAV participe à la mise en place d'une lipotoxicité et de comorbidités comme une dyslipidémie, une résistance à l'insuline, un diabète, une stéatose hépatique, et des maladies cardiovasculaires (Heilbronn et al. 2004, Lee et al. 2013) (Figure 13).



**Figure 13 : Relation entre les pathologies du tissu adipeux et le risque de développer des comorbidités adaptés de C. Lagathu et (Ahima and Lazar 2013).**

TA : tissu adipeux, TASC : tissu adipeux sous-cutané, TAV : tissu adipeux viscéral.

Les acides gras libres (AGL) et les métabolites lipidiques (céramides) sont cytotoxiques (Chaurasia and Summers 2015) et peuvent être stockés dans d'autres tissus périphériques, c'est la lipotoxicité (Figure 14). L'augmentation des AGL dans le sang favorise également la résistance à l'insuline des organes périphériques (Rochford 2010, Tchkonia et al. 2010). Les AGL se fixent à TLR4 et activent les voies JNK et IKK  $\beta$  qui phosphorylent IRS1 sur ses résidus sérine (Nguyen et al. 2005). Ils peuvent induire des stress oxydants et du RE responsables de la résistance à l'insuline. Les AGL inhibent le transport du glucose (Boden 2011).



**Figure 14 : Schéma de la lipotoxicité, stockage ectopique des graisses dans les tissus périphériques.**

Lorsque le TASC et le TAV n'assurent plus leur fonction de stockage, les AGL vont se stocker dans d'autres tissus comme le muscle squelettique, le foie, le cœur, le pancréas et les vaisseaux.

La dyslipidémie est définie comme l'augmentation de la quantité de triglycérides (TG) dans le sang associé à une diminution des HDL (lipoprotéines de haute densité). L'HDL est riche en esters de cholestérol, qui les transporte jusqu'au foie où ceux-ci sont éliminés. La dyslipidémie favorise l'athérosclérose. L'athérosclérose est un élément clé des maladies cardiovasculaires. Elle consiste en la formation de plaques d'athérome constituées d'un cœur lipidique et d'une chappe fibreuse qui touchent les artères. La rupture de la plaque peut participer à des événements cardiovasculaires selon sa localisation (accidents vasculaires cérébraux, infarctus du myocarde, troubles circulatoires des membres inférieurs). Par ailleurs, la lipotoxicité et l'athérosclérose peuvent aussi favoriser les cardiomyopathies et une dysfonction cardiaque (Ferrara et al. 2019). Chez les patients infectés par le VIH, l'hypertension et les maladies cardiovasculaires sont plus importantes que dans la population générale et sont favorisées par l'accumulation de TAV (Balasubramanyam et al. 2004, Lake et al. 2017, Beraldo et al. 2018, Srinivasa et al. 2018).

La stéatose hépatique non-alcoolique (*non alcoholic fatty liver disease* ou NAFLD) se caractérise par l'accumulation de lipides dans le foie. Elle favorise l'inflammation du foie et peut évoluer en NASH (*non-alcoholic steatohepatitis*) puis en fibrose hépatique qui altère les fonctions du tissu. Sans traitement et prise en charge, cela peut conduire au développement d'un hépatocarcinome. La prévalence de la stéatose hépatique est augmentée avec les maladies métaboliques comme la résistance à l'insuline, le diabète de type 2 et l'hypertension (Ferrara et al. 2019).

Lorsque ces tissus métaboliques deviennent résistants à l'insuline, ils ne répondent plus en présence d'insuline et ne stockent plus le glucose, entraînant une hyperglycémie, c'est stade pré-diabétique. Le diabète de type 2 fait alors suite à un épuisement des cellules  $\beta$  du pancréas. L'incidence du diabète augmente depuis quelques décennies aussi bien chez les personnes infectées par le VIH que dans la population générale (Rasmussen et al. 2012, Nansseu et al. 2018).

Lors de pathologies qui touchent le TA, des altérations et une redistribution sont observées et contribuent au développement de pathologies cardiométraboliques. Au cours de l'infection par le VIH, des atteintes du TA sont observées à la fois liées au virus mais aussi aux traitements antirétroviraux.

## **II. Altérations du tissu adipeux chez les patients infectés par le VIH traités par des antirétroviraux**

### **A. Infection par le VIH et impact sur le tissu adipeux**

#### **1) Origine et histoire naturelle de la maladie**

L'infection par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine) est une pandémie mondiale dont les premiers cas ont été détectés en Californie et à New-York dans le début des années 1980. Le virus du VIH est responsable du SIDA (Syndrome de l'immunodéficience Acquise), stade ultime de la maladie, favorisant le développement de pathologies opportunistes comme le sarcome de Kaposi ou la tuberculose, mais aussi des syndromes généralisés comme des pneumonies et des lymphadénopathies (Rolston and Bodey 1986). Le virus a été isolé pour la première fois en 1983 par Françoise Barré-Sinoussi et Luc Montagnier (Barre-Sinoussi et al. 1983).

#### **a) Origine du virus et épidémiologie**

Le VIH est un **rétrovirus** du genre des lentivirus (Briggs et al. 2003). L'ancêtre du VIH est le VIS (Virus de l'Immunodéficience Simienne), qui infecte les grands primates. L'épidémie a débuté en République Démocratique du Congo dans les années 1920-1930 et se serait propagée dans le monde à partir du port de Kinshasa (Faria et al. 2014).

Deux types de virus se côtoient : le **VIH-1 et le VIH-2** qui diffèrent selon le mécanisme de pathogénie rétrovirale qui reste encore à clarifier.

Le VIH-2 est moins virulent que le VIH-1 et touche une plus petite population, principalement en Afrique. Au sein du type VIH-1, le plus fréquent, il existe différents groupes (Sharp and Hahn 2011). Le groupe M touche 40 millions de personnes et se retrouve partout à travers le monde. Plusieurs facteurs expliquent cette pandémie : l'évolution lente de la maladie, la capacité du virus à muter fréquemment et à échapper aux défenses immunitaires notamment en inhibant l'action des facteurs de restriction de la réPLICATION virale. De plus, il n'existe pas de symptômes spécifiques en début d'infection et le stade SIDA se développe plusieurs années après la contamination.

#### **b) Histoire naturelle de l'infection**

L'histoire naturelle de la maladie débute par une contamination par transmission sanguine, sexuelle ou de la mère à l'enfant (*in utero*, pendant l'accouchement ou l'allaitement). Le virus infecte les lymphocytes T CD4+ ainsi que les macrophages et se répand dans l'organisme.

La **primo-infection** est une période d'environ 3 semaines pendant laquelle le virus se réplique abondamment et infecte de nombreux lymphocytes T CD4+, conduisant à une charge virale élevée (Simon and Ho 2003) (Figure 15). Une déplétion importante des lymphocytes T CD4+ est observée et plus de  $10^{10}$  nouveaux virions sont produits par jour. Un état grippal avec de la fièvre et des adénopathies peuvent être des symptômes non spécifiques.

Entre trois et neuf semaines, le **syndrome du VIH aigu** peut se présenter. Le virus a alors une réPLICATION maximale et se dissémine dans les tissus et les organes lymphoïdes (Fauci et al. 1996). Le système immunitaire est activé, des anticorps spécifiques anti-VIH sont produits et sont détectables dans le sérum durant toute l'infection (séropositivité). En parallèle, une réponse de lymphocytes T CD8+ cytotoxiques dirigés contre le virus se met en place ainsi qu'une sécrétion d'anticorps neutralisants permettant la diminution de la charge virale (Fauci 2003, Bouvin-Pley et al. 2013).

Ensuite, sans traitement ARV, survient la **période de latence** qui dure huit à dix ans au maximum. La charge virale est stable et le nombre des lymphocytes T CD4+ est maintenu grâce à un renouvellement plus important. Le virus se réplique peu sous la pression de la réponse immunitaire et est majoritairement sous forme latente dans ses réservoirs tissulaires.

Puis, arrive le moment où le taux de CD4+ et le système immunitaire ne contiennent plus la réPLICATION du virus. Le **stade SIDA** est atteint lorsque que le taux de lymphocytes T CD4+ est inférieur à 200 cellules/ $\mu$ L. La personne est dite immunodéprimée et les infections opportunistes peuvent alors se développer.

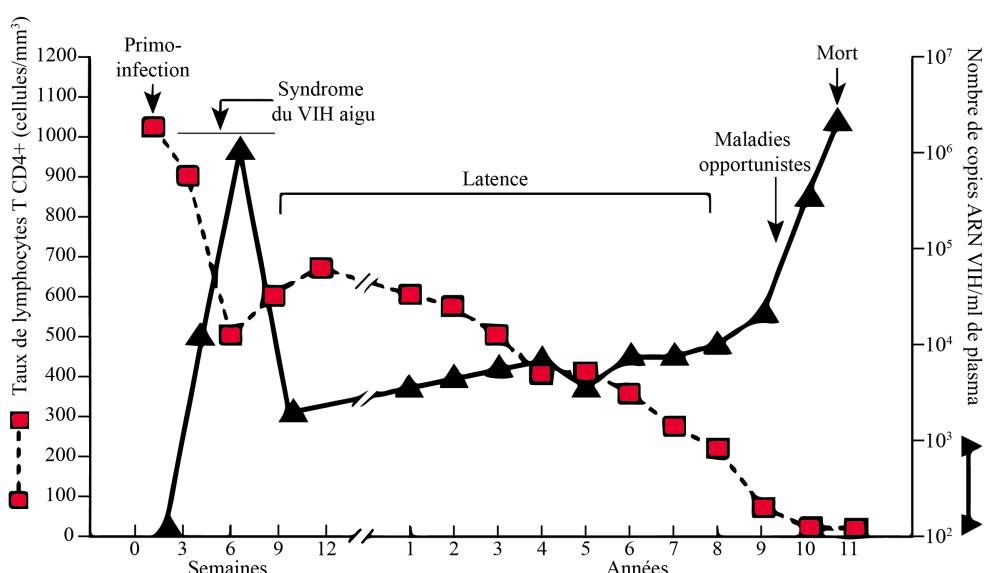


Figure 15 : Schéma de l'histoire naturelle de l'infection par le VIH adapté de (Fauci et al. 1996).

Avec les ARV, le nombre de CD4+ est maintenu et la charge virale reste faible et stable même si le virus est toujours présent sous forme latente. La production du virus est contrôlée par les ARV qui ciblent différentes étapes de la réPLICATION du VIH.

La majorité des personnes infectées par le VIH sont des **progresseurs typiques** c'est-à-dire des individus avec une charge virale élevée et un nombre de lymphocytes T CD4+ bas sans traitement. Il existe une population de patients infectés par le VIH qui contrôle spontanément le virus. Les non progresseurs à long terme ou **élite contrôleur**s du VIH représentent moins de 1% des patients VIH. Ils ont une charge virale indétectable en l'absence d'ARV et gardent un taux élevé de lymphocytes T CD4+ même après des années d'infection par le VIH (Noel et al. 2019). Cette population est très intéressante pour comprendre comment leur système immunitaire fonctionne afin de contrôler le virus et potentiellement donner des pistes pour d'autres traitements ou pour un vaccin.

## 2) Modèles animaux d'infection VIH

Les **rongeurs** sont des modèles peu utilisés dans la recherche sur le VIH/SIDA. Seul un modèle complexe de souris avec un système immunitaire humanisé peut être infecté par le VIH (Denton and Garcia 2011). Cependant, des modèles transgéniques exprimant de façon constitutive une partie du génome ou une protéine du VIH permettent d'étudier les mécanismes physiopathologiques du virus. Par exemple, la souris Tg26 qui exprime une partie du génome viral sans le gène gag-pol (Villarroya et al. 2010) et la souris qui exprime Vpr (Agarwal et al. 2013) ont notamment été utilisées pour décrire leurs effets sur le métabolisme et le TA.

**Les primates non humains** sont des modèles privilégiés pour étudier les infections en particulier celle du VIH. 98% de leur génome est commun avec celui de l'homme. Ces modèles permettent l'étude de la capacité du virus à muter et à échapper au système immunitaire, des dysfonctions immunitaires, de la réPLICATION et de la latence virale dans les réservoirs tissulaires.

Les macaques verts d'Afrique sont les hôtes naturels du VIS. Ils peuvent néanmoins avoir une charge virale élevée, une diminution des lymphocytes T CD4+ et une activation du système immunitaire en phase aigüe lorsqu'ils sont infectés mais leurs cellules immunitaires répondent et contrôlent le virus. Ce modèle est intéressant pour comprendre la réponse immunitaire efficace contre la progression de la maladie.

Les macaques d'Asie ne sont pas des porteurs sains du VIS et développent un stade SIDA avec la souche VISmac.

Les trois modèles majoritairement utilisés dans la recherche sur le VIH/SIDA sont le macaque nain (*macaca nemestrina*), le macaque rhésus (*macaca mulatta*) et le macaque cynomolgus (*macaca fascicularis*) (Hatzioannou and Evans 2012). La progression et la pathologie de la maladie varient selon les espèces et la souche du virus utilisée. Le macaque rhésus, d'origine indienne, est le modèle le plus répandu en recherche et évolue vers un stade SIDA entre un et

deux ans post-infection. SIVmac251 et SIVmac239 sont deux souches de virus majoritairement utilisées et isolées de macaque rhésus qui induisent chez l'hôte une charge virale élevée. Le **macaque cynomolgus** également appelé macaque crabier vit en Asie du Sud-Est notamment sur l'île Maurice et en Indonésie. C'est un bon modèle pour étudier l'infection chronique du virus car la pathogenèse du VIS est moins sévère que chez le macaque rhésus. Ce dernier a une virémie plasmatique plus faible, une perte plus lente du taux de lymphocytes T CD4+ et un maintien de la réponse immunitaire (Reimann et al. 2005).

Les modèles primates permettent donc d'étudier la pathogenèse du virus, la réPLICATION virale ainsi que la transmission et sont des modèles précliniques pour les vaccins et les microbicides.

### 3) Structure et réPLICATION du VIH

#### a) Génome du VIH-1

Le VIH-1 est un virus à ARN double brin d'environ 145 nm de diamètre (Briggs et al. 2003). Son génome de 9,7 kb est flanqué de deux régions LTR (*long term repeats*). Il est composé de 9 gènes qui codent pour neuf protéines : trois protéines précurseurs structurales (Gag, Pol et Env), deux protéines régulatrices (Tat et Rev) et quatre protéines accessoires : Nef, Vif, Vpr et Vpu (Figure 16). Le VIH-2 et le VIS expriment les mêmes protéines que le VIH-1 à l'exception de Vpu. Vpu est exprimée par quelques souches du VIS alors qu'une autre protéine Vpx est exprimée par le VIH-2 et le VIS.

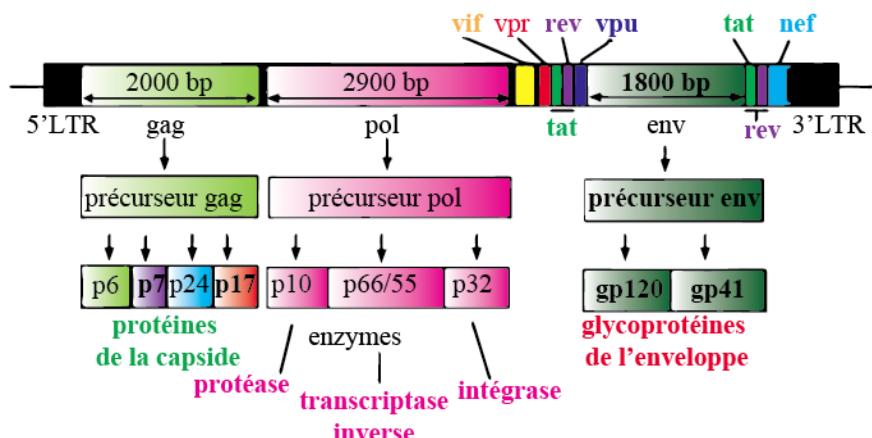


Figure 16 : Génome du VIH codant pour neuf protéines virales adaptée de (Prokofjeva et al. 2016).

#### b) Cycle de réPLICATION

Le VIH se réPILE au sein de ses cellules cibles qui co-exPRIMENT le récepteur CD4 et les co-récepteurs CCR5 (exprimé par les lymphocytes T CD4+ mémoires effectrices, les monocytes/macrophages) ou CXCR4 (exprimé par les lymphocytes T CD4+ naïfs). Le virus a

plus d'affinité pour les cellules immunitaires activées et infecte préférentiellement les lymphocytes T CD4+ mémoires (Chomont et al. 2009, Yukl et al. 2013, Soriano-Sarabia et al. 2014, von Stockenstrom et al. 2015). Par ailleurs, le VIH-1 infecte d'avantage les lymphocytes T folliculaires *helper* situés dans les ganglions et les Treg chez les patients sous ARV (Tran et al. 2008, Lindqvist et al. 2012). Le VIH infecte d'avantage les lymphocytes T CD4+ que les macrophages. Les macrophages disposent d'une plus faible concentration de dNTP nécessaires à la transcription inverse de l'ARN viral en ADN proviral (Diamond et al. 2004). Cependant, au cours de la progression de l'infection, la déplétion de lymphocytes T CD4+ est associée à une augmentation du nombre de macrophages infectés qui produisent de nouveaux virions (Smith et al. 2003).

Le cycle de réPLICATION virale se fait en plusieurs étapes (Figure 17) (Prokofjeva et al. 2016) :

1) **L'entrée et la fusion** : les glycoprotéines de l'enveloppe du VIH, Gp120 et Gp41, se lient aux CD4 exprimés par les lymphocytes T CD4+ et les macrophages. Puis Gp120 change de conformation afin que le complexe Gp120/CD4 se lie au co-récepteur CCR5 ou CXCR4. La glycoprotéine Gp41 s'insère dans la membrane, entraînant la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane plasmique. La capsid virale se déverse alors dans la cellule hôte (Araujo and Almeida 2013).

2) **La transcription inverse** : l'ARN proviral est rétrotranscrit en ADN double brin par la transcriptase inverse. Puis, le complexe de préintégration (PIC) comprenant entre autres l'intégrase et la transcriptase inverse virale se forme. La protéine accessoire Vpr participe à l'importation nucléaire du PIC via sa séquence NLS (*nuclear localisation signal*).

3) **L'intégration de l'ADN proviral** au génome de la cellule infectée est réalisée à l'aide de l'intégrase. Celle-ci hydrolyse l'ADN nucléaire de façon non spécifique réalise la ligation avec les extrémités LTR de l'ADN proviral.

4) **La transcription et la traduction** du virus s'effectuent grâce à la machinerie cellulaire. La transcription est favorisée par Tat, qui augmente la processivité de l'ARN polymérase cellulaire grâce au recrutement de facteurs de transcription comme le facteur d'elongation P-TEFb. Les ARNm viraux sont obtenus grâce à différents types d'épissage alternatif. Par ailleurs, la polyadénylation des ARNm viraux en 3' assure leur stabilité lors de la transcription (Swanson and Malim 2008). Dans la phase précoce, l'épissage à deux sites permet d'obtenir un ARN codant pour les protéines accessoires : Vpr, Vpu, Vif et les protéines régulatrices Tat et Rev. L'épissage alternatif sur un seul site permet d'obtenir les ARN codants pour le précurseur des protéines de l'enveloppe Env et une protéine accessoire, Nef. Dans la phase tardive, l'ARN non épissé est transcrit à partir du promoteur pour les gènes gag et pol.

La traduction des ARNm viraux en protéines est réalisée par la machinerie cellulaire. La protéase joue un rôle de maturation en clivant le précurseur pol des enzymes indispensables à la réPLICATION virale qui vont constituer le virion : la transcriptase inverse, l'intégrase et la protéase. La protéase du VIH clive également le précurseur protéique gag en Gp120 et Gp41.

5) **L'assemblage** de la particule virale est régulée par Vpu et Vif.

6) Le virion immature **bourgeonne** alors à partir de la membrane plasmique de la cellule infectée sous le contrôle de Vpu. Le virion devient mature et infectieux lorsque la protéase agit à nouveau et clive les précurseurs gag et gag-pol (Freed 2015).

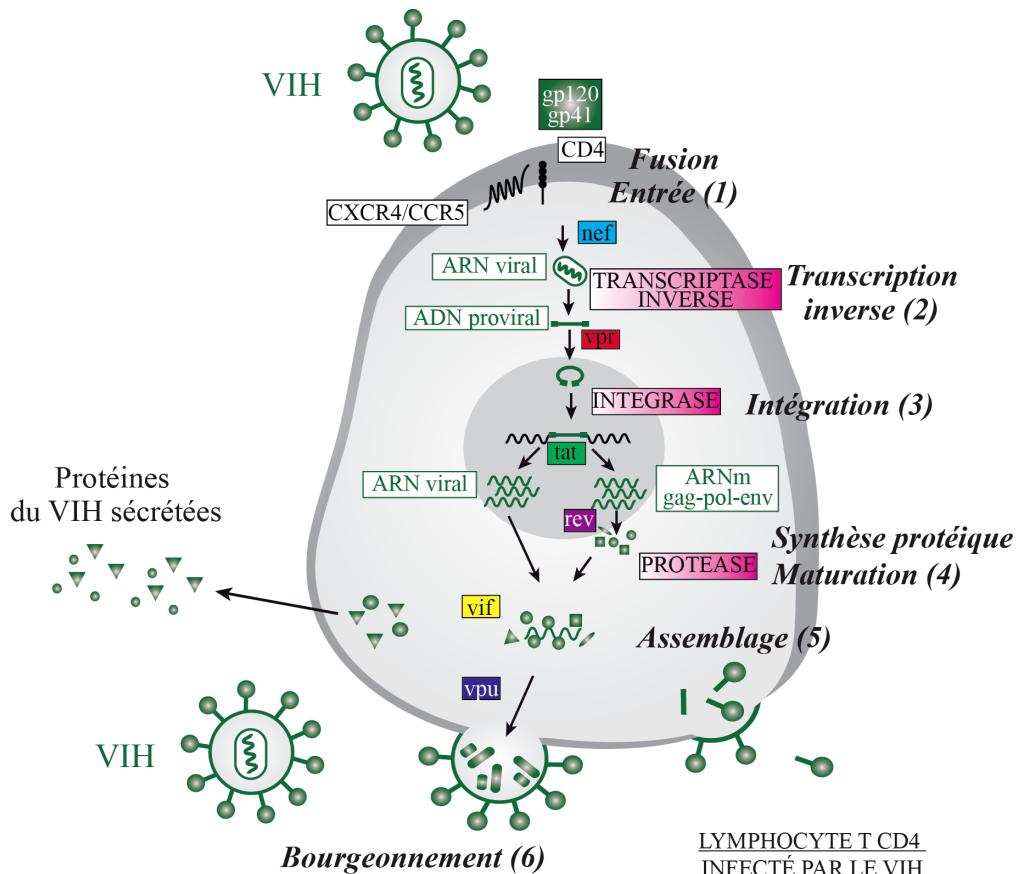


Figure 17 : Schéma du cycle répliquatif du virus adapté de C. Lagathu.

Parallèlement à la production de nouveaux virions, la cellule infectée sécrète des protéines virales comme Vpr, Tat, Gp120 ou Nef qui peuvent avoir des effets délétères sur des cellules avoisinantes non infectées. Ce phénomène est appelé effet « bystander » ou effet spectateur (Moon and Yang 2006, Raymond et al. 2011, Debaisieux et al. 2012, Rozzi et al. 2017).

## 4) Protéines du VIH

### a) Protéines structurales

Le gène *Env* code pour un précurseur protéique, Gp160 qui subit une maturation dans le RE afin d'obtenir les glycoprotéines de l'enveloppe Gp120 et Gp41. Gp41 est transmembranaire tandis que Gp120 est une protéine de surface.

Les gènes *gag* et *pol* sont transcrits en précurseurs *gag* et *gag-pol*. Le précurseur protéique Gag p55 regroupe quatre protéines : p17 (ou MA), la matrice qui se lie à l'enveloppe virale, p24 (ou CA) qui constitue la capsid, p7 (ou NC) qui constitue la nucléocapsid et enfin p6 impliquée dans le bourgeonnement, dernière étape de la réPLICATION virale. Gagp55 se lie à l'ARN viral, s'oligomérise et se fixe à la membrane plasmique via l'ancre myristoylée de MA. Les protéines p24 et p7 forment des multimères et l'ensemble constitue la capsid immature (Bell and Lever 2013). Le précurseur *gag-pol* une fois clivé, produit les trois enzymes du VIH : la protéase, la transcriptase inverse et l'intégrase (Prokofjeva et al. 2016).

Les protéines sont localisées dans les différents compartiments de la particule virale. L'intégrase (IN ou p32) et la transcriptase inverse (RT ou p66/51) sont incluses avec l'ARN viral. Les protéines Vif, Vpr et Nef sont localisées dans la capsid avec p24. p24 est détectable dans le sang et constitue un critère diagnostic (Cunningham et al. 1993). L'ARN est protégé par la nucléocapsid p7. La protéase (PR ou p10) et p6 se situent entre la capsid et la matrice. Enfin, l'enveloppe est composée de p17 et d'une membrane lipidique contenant les glycoprotéines Gp120 et Gp41 (Figure 18).

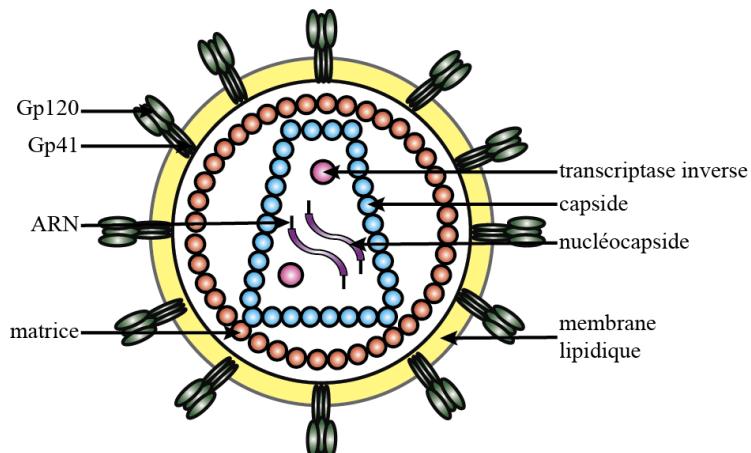


Figure 18 : Schéma de la structure d'un virion mature du VIH.

### b) Les protéines régulatrices

La protéine **Tat (transactivator of transcription)** est une protéine de 16 kDa qui favorise la transcription en se liant au TAR (*trans-activation response*) en 5'LTR des ADN proviraux et à des facteurs de transcription comme P-TEF ou NF $\kappa$ B. Le complexe TAR-Tat-P-TEFb recrute l'ARN polymerase II cellulaire (Debaisieux et al. 2012, Fiume et al. 2012, Prokofjeva et al. 2016). Tat favorise également l'infection virale en augmentant l'expression de CXCR4 et CCR5 dans les lymphocytes T CD4+ (Rayne et al. 2010, Rayne et al. 2010).

La protéine **Rev** (*regulator of expression of virions proteins*) joue un rôle dans la phase précoce de réPLICATION en inhibant l'activité de l'intégrase *via* sa liaison avec son domaine LEDGF/p75. Rev empêche ainsi une genotoxicité avec des intégrations trop nombreuses de l'ADN proviral dans le génome de la cellule hôte (Grewe and Uberla 2010). Rev se lie au RPE (*rev responsive element*) sur les ARNm viraux Gag, Gag-Pol et Env afin d'empêcher l'épissage de ces longs ARNm et d'induire leur exportation *via* son signal NES (*nuclear export signal*). Il augmente ainsi le nombre de copies d'ARNm traduits en protéines Gag, Pol et Env. Rev est également impliquée dans la formation de la capsidé contenant l'ARN viral au cours de la phase tardive du cycle de réPLICATION (Grewe and Uberla 2010).

### c) Les protéines accessoires

Les protéines accessoires sont indispensables à la pathogenèse du VIH *in vivo* (Malim and Emerman 2008).

La protéine **Nef** (*Negative regulatory factor*) favorise la pathogenèse du VIH (Dickie et al. 1993, Baba et al. 1999, Dickie 2000, Gorry et al. 2007). Nef augmente la production de virions en activant la transcription du VIH *via* l'activation de la voie ERK ou de régulateurs positifs comme IRF-2 (Simmons et al. 2001, Witte et al. 2008) et favorise la sécrétion de nouveaux virions infectieux (Ross et al. 1999). Sa concentration plasmatique est corrélée à la progression de l'infection du VIH et maintient la survie des cellules infectées (Jacob et al. 2017). Son expression est précoce et requise pour la réPLICATION virale. Nef induit l'activation des cellules immunitaires, la réPLICATION du virus et sa réactivation lorsqu'il est sous forme latente (Fujinaga et al. 1995, Gorry et al. 2007). Nef joue aussi un rôle dans l'échappement à la surveillance du système immunitaire. Il favorise l'endocytose de CD4 et CMH-1 à la surface des lymphocytes T CD4+ infectés (Garcia and Miller 1992, Schwartz et al. 1996, Wildum et al. 2006, Landi et al. 2011, Raymond et al. 2011). Cela évite la reconnaissance des cellules infectées par les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques mais aussi la surinfection d'une cellule déjà infectée, qui entraînerait sa mort prémature. Lorsque Nef est myristoylée en N terminal, elle interagit avec les membranes cellulaires et des kinases possédant des domaines SH3 agissant ainsi sur le trafic intracellulaire (Pereira and daSilva 2016, Moroco et al. 2018). De plus, Nef séquestre aussi le facteur de restriction SERINC5, qui empêche l'entrée du virus dans une nouvelle cellule cible (Jacob et al. 2017).

La protéine **Vpr (viral protein R)** est exprimée tardivement. Vpr peut entrer dans les cellules librement et se localiser dans le cytosol, le noyau ou la mitochondrie. Elle est recrutée dans l'étape d'encapsidation en se liant à Gagp55. Après l'entrée du virus dans la cellule, Vpr est associée à l'ARN viral et permet l'import nucléaire du PIC (ADN viral et intégrase). Cependant, elle n'est pas indispensable pour la réplication du virus mais favorise l'infectivité virale dans les macrophages (Wang and Su 2019). Vpr favorise également l'arrêt du cycle cellulaire en phase G2, phase où le promoteur LTR est le plus actif (Goh et al. 2004, Blondot et al. 2014, Liang et al. 2015).

La protéine **Vpx (viral protein x)** est une protéine présente dans le VIH-2 et le VIS (Apetrei et al. 2004). Cette protéine virale est essentielle pour l'infection des macrophages et des cellules dendritiques (Goujon et al. 2007, Westmoreland et al. 2014). Vpx, comme Vpr, adresse le PIC au noyau (Singhal et al. 2006). Elle permet également l'échappement contre les défenses de l'hôte au niveau des cellules immunitaires innées en inhibant notamment la voie NF $\kappa$ B (Su et al. 2019).

La protéine **Vpu (viral protein U)** altère la réponse immune notamment en inhibant NF $\kappa$ B dans les cellules infectées (Jain et al. 2018, Langer et al. 2019). Elle favorise la réplication virale *in vivo* en activant l'internalisation du CD4 (Wildum et al. 2006).

La protéine **Vif (viral infectivity factor)** est une protéine nécessaire à la réplication du VIH dans les lymphocytes T CD4+ et les macrophages. Elle constitue un facteur de virulence (Rose et al. 2004). Elle induit la poly-ubiquitination de APOBEC3G (*Apolipo- protein B mRNA-editing enzyme 3G*), un facteur de restriction, et l'adresse au protéasome. En l'absence de Vif, APOBEC3G est une désaminase qui induit des mutations de l'ADN proviral lors de la rétrotranscription (Feng et al. 2014, Ikeda et al. 2019).

## 5) Réservoirs et effets bystander des protéines virales

De nombreux tissus sont des **réservoirs du VIH** car ils contiennent des lymphocytes T CD4+ et des macrophages infectés. Parmi eux, se trouvent le tractus gastro-intestinal, la muqueuse gastrique, les ganglions lymphatiques, le tractus génital, le système nerveux central, le foie mais aussi la rate, la moelle osseuse et le TA. Le virus est alors sous forme latente ou se réplique faiblement (Ndung'u et al. 2019).

Les cellules infectées produisent de nouveaux virions et sécrètent des protéines virales telles que Tat, Nef, Gp120 et Vpr (Giralt et al. 2011). Ces protéines induisent des altérations fonctionnelles dans les cellules infectées mais peuvent également entrer et avoir un impact dans les cellules avoisinantes non infectées. Ce phénomène est appelé « **effet bystander ou spectateur** ». Les protéines Tat, Nef ou Vpr sont des protéines retrouvées dans le sang des patients naïfs de traitement et sous ARV (Boya et al. 2004, Hoshino et al. 2007, Raymond et al. 2011, Ferdinand et al. 2018). Les effets *bystander* sur les cellules avoisinantes non infectées ont été observés en premier dans les lymphocytes T CD4+ non infectés. Les protéines telles que Tat, Nef, Gp120 et Vpr sont responsables de leur apoptose (Lenassi et al. 2010, Raymond et al. 2011, Richard et al. 2013, Jacob et al. 2017, Campestrini et al. 2018).

Les protéines Gp120, Tat et Nef induisent l’apoptose dans des types cellulaires autres que ceux du système immunitaire (Fiala et al. 2004, Acheampong et al. 2005, Dickens et al. 2017, Gupta et al. 2017, Rozzi et al. 2017). Elles peuvent induire la voie intrinsèque (diminution de Bcl-2 anti-apoptotique et activation des caspases) ou extrinsèque de l’apoptose (*via* Fas/FasL ou la sécrétion de TNF $\alpha$ ) (Perl and Banki 2000, Muratori et al. 2009, Gibellini et al. 2011, Debaisieux et al. 2012, Garg and Joshi 2017, Rozzi et al. 2017).

Tat, Nef, Gp120 et Vpr peuvent également altérer les fonctions cellulaires du système immunitaire (Cerboni et al. 2007, Ward et al. 2009, Richard et al. 2010, Debaisieux et al. 2015), des vaisseaux (Gibellini et al. 2011, Hijmans et al. 2019, Agarwal et al. 2020) et du cerveau (Khan et al. 2016, Rozzi et al. 2017). Toutes ces altérations cellulaires participeraient aux comorbidités et perturbations cognitives observées chez les patients infectés par le VIH. Les protéines du VIH induisent également des altérations (stress oxydant, dysfonctions mitochondrielles, altération de l’autophagie) associées à la sénescence cellulaire et cet aspect sera abordé dans le chapitre III.

## 6) Le tissu adipeux, une nouvelle cible du virus

Les atteintes du TA ont été originellement associées aux ARV chez les patients infectés par le VIH. La question du rôle propre du virus et des protéines virales au sein du TA a été quelque peu documentée et des questions mécanistiques subsistent.

### a) Altérations du TA chez les patients naïfs de traitement

Au début de l’étude de l’infection du VIH, un phénomène de *wasting syndrome* ou cachexie a été observé chez les patients ayant une déplétion importante de lymphocytes T CD4+. Elle est

définie par une perte de poids de plus de 10% avec une perte de TA et de muscle (Rivera et al. 1998). Elle est associée à un déficit calorique, une diminution de l'absorption due aux perturbations gastro-intestinales, et à une augmentation du métabolisme énergétique basal résultant d'une augmentation du catabolisme protéique (Melchior et al. 1991, Sharpstone et al. 1996, Kotler 1998). Au niveau du TA, ce syndrome est caractérisé par une diminution de la taille des adipocytes. Plus tard, au stade SIDA, les femmes perdent davantage de TA périphérique tandis que les hommes perdent davantage de masse musculaire (Grinspoon et al. 1997).

Certains patients naïfs de traitements, qui ne sont pas au stade SIDA, présentent une redistribution (Madge et al. 1999) ou une perte de TA (Visnagarwala et al. 2005). Ces modifications de répartition peuvent être associées à des altérations fonctionnelles du TA, en particulier : une toxicité mitochondriale (Garrabou et al. 2011, Vidal et al. 2012), une diminution de l'expression des gènes adipogéniques, de stockage des lipides et des adipokines (PPAR $\gamma$ , CEBP $\alpha$ , LPL, FABP4, leptine, adiponectine), et une augmentation de l'expression des cytokines inflammatoires (IL-6) (Giralt et al. 2006, Vidal et al. 2012). En accord, les concentrations plasmatiques d'adiponectine et de leptine sont diminuées (Das et al. 2006).

D'autres études ont été menées sur le TA de macaques infectés par le VIS et non traités. Le TA de ces animaux présente des désordres métaboliques similaires à ceux observés chez les patients infectés par le VIH, caractérisés par une activation des cellules immunitaires, une augmentation des cellules de la FSV, une hypertriglycéridémie, une augmentation de l'expression de cytokines et une diminution de l'expression de gènes adipogéniques (Damouche et al. 2015, Couturier et al. 2016). Par ailleurs, une étude intéressante montre qu'un régime hypergras exacerbe l'infiltration des cellules immunitaires dans le TA et la pathogenèse du VIS chez un modèle de macaques verts d'Afrique (He et al. 2019). De plus, la souris transgénique Tg26, exprimant une partie du génome du VIH, présente une diminution du TAV associée à une augmentation de l'inflammation locale et systémique, une diminution de l'expression de marqueurs adipogéniques dans le TASC et le TAV et une diminution locale et circulante des concentrations de leptine et d'adiponectine (Villarroya et al. 2010). L'ensemble de ces données suggèrent donc que l'infection par le VIH peut être responsable par elle-même d'atteintes du TA.

En revanche, peu de travaux se sont intéressés aux mécanismes liés à l'impact du VIH sur le TA de patients infectés par le VIH ainsi qu'au rôle du virus et des protéines virales dans les atteintes du TA.

## **b) Le tissu adipeux, un réservoir longtemps négligé du VIH**

Le TA est un tissu réservoir du VIH et du VIS (Couturier et al. 2015, Damouche et al. 2015, Couturier et al. 2016, Couturier and Lewis 2018). En effet, l'ADN et l'ARN du VIH ont été mesurés dans les lymphocytes T CD4+ et les macrophages chez les patients, et dans un modèle de macaque infecté par le VIS. Les lymphocytes T CD4+ et les macrophages sont plus activés chez les macaques infectés par rapport au groupe contrôle. Les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques sont augmentés et proches des capillaires tandis que les lymphocytes T CD4+ résidents sont à distance et diminués dans le TASC et le TAV du modèle simien d'infection. De plus, ces lymphocytes T CD4+ infectés sont compétents pour la réPLICATION virale (Damouche et al. 2015). La grande proportion de lymphocytes T CD4+ résidents mémoires dans le TA le rend d'autant plus susceptible au VIH (Couturier et al. 2015, Damouche et al. 2017). Cependant, une question subsiste. Les cellules non-immunitaires du TA comme les ASC ou les adipocytes peuvent-elles être infectées par le VIH. Par ailleurs, la biodistribution des ARV diffère au sein du TA selon leurs propriétés physico-chimiques ce qui module la persistance ou non du virus sous traitement ARV (Couturier et al. 2018).

## **7) Article 1: Impact of HIV/simian immunodeficiency virus infection and viral proteins on adipose tissue fibrosis and adipogenesis**

Mon sujet de thèse a pour but de comprendre les mécanismes physiopathologiques des atteintes du TA liées au VIH et aux ARV. Nous avons donc étudié l'impact du VIH *in vivo* sur le TA issu de macaques ou de patients infectés et/ou traités, et *in vitro* sur des cellules souches adipeuses humaines (ASC) traitées par les protéines virales Tat et Nef. Ces études ont été possibles grâce à plusieurs collaborations. En collaboration avec l'équipe du Pr O Lambotte, le Dr C Bourgeois et le Pr R Le Grand, nous avons eu accès à un modèle de macaque infecté par le VIS. Les biopsies de patients infectés et traités ont été obtenues en collaboration avec le Pr V Pourcher et le Dr G Pourcher. Enfin, nous avons isolé les ASC à partir de liposuccion du TASC abdominal de donneurs sains en collaboration avec le Dr M Atlan.

### **a) Contexte de l'étude et résumé des résultats**

Comme décrit plus haut, les patients infectés par le VIH naïfs de traitement présentent une redistribution et des altérations du TA (Visnegarwala et al. 2005, Giralt et al. 2006, Garrabou et al. 2011, Vidal et al. 2012) suggérant un rôle de l'infection VIH et des protéines virales dans les atteintes du TA. De plus, les patients infectés par le VIH présentent une fibrose du TA mais qui

n'a pas été caractérisée (Bastard et al. 2002, Utay et al. 2018). En revanche, dans un contexte d'obésité sans infection, la fibrose du TA a été bien documentée et les ASC y jouent un rôle clé (Divoux et al. 2010, Sun et al. 2013, Marcelin et al. 2017). Par ailleurs, les protéines virales comme Tat et Nef sont sécrétées par les cellules infectées et peuvent avoir des effets délétères dits *bystander* sur des cellules avoisinantes non infectées comme les ASC et les adipocytes (Raymond et al. 2011, Debaisieux et al. 2012). Nous avons donc émis l'hypothèse que le virus et les protéines virales induisent des atteintes du TA dont une accumulation de MEC et que cette dernière était produite en partie par les ASC.

Dans cette étude, nous avons montré que d'une part l'infection VIS/VIH mais aussi les protéines virales Tat et Nef, induisaient une fibrose accrue et une altération de l'adipogenèse. Le TA de macaques infectés par le VIS présentait des adipocytes plus petits et une expression génique de *PPARG* diminuée (facteur clef de l'adipogenèse), suggérant une dysfonction adipocytaire. Le TA de ces animaux présentait également une fibrose plus importante que celui des macaques non traités, avec un effet plus marqué dans le TASC par rapport au TAV. Cette fibrose était caractérisée par une augmentation de l'expression des collagènes I et VI, de la fibronectine et du TGF- $\beta$ , un facteur majeur de la fibrose. Ces données ont été confirmées dans des prélèvements de TASC et de TAV de patients obèses infectés par le VIH et sous ARV. Afin de valider que le virus lui-même était responsable de la mise en place de cette fibrose dans le TA, nous avons mené des études *in vitro* sur des ASC. L'exposition des ASC aux protéines du VIH, Tat et Nef, favorisait l'acquisition d'un phénotype pro-fibrosant, caractérisé par l'expression de  $\alpha$ SMA, de TGF- $\beta$  et de différents composants de la MEC. Le traitement par Nef conduisait également à une baisse de la différenciation adipocytaire, caractérisée par une diminution du contenu en triglycérides et de l'expression de marqueurs adipogéniques, et accentuait la production de MEC dans des adipocytes différenciés *in vitro* dans un modèle original de culture en 3D.

# **Impact of HIV/simian immunodeficiency virus infection and viral proteins on adipose tissue fibrosis and adipogenesis**

**Jennifer Gorwood<sup>a</sup>, Christine Bourgeois<sup>b</sup>, Matthieu Mantecon<sup>a</sup>, Michael Atlan<sup>a,c</sup>, Valérie Pourcher<sup>d</sup>, Guillaume Pourcher<sup>e</sup>, Roger Le Grand<sup>b</sup>, Delphine Desjardins<sup>b</sup>, Bruno Fève<sup>a,f</sup>, Olivier Lambotte<sup>b,g</sup>, Jacqueline Capeau<sup>a</sup>, Véronique Béreziat<sup>a,\*</sup> and Claire Lagathu<sup>a,\*</sup>**

**Objective:** HIV-infected patients receiving antiretroviral treatment (ART) often present adipose tissue accumulation and/or redistribution. Adipose tissue has been shown to be an HIV/SIV reservoir and viral proteins as Tat or Nef can be released by infected immune cells and exert a bystander effect on adipocytes or precursors. Our aim was to demonstrate that SIV/HIV infection *per se* could alter adipose tissue structure and/or function.

**Design:** Morphological and functional alterations of subcutaneous (SCAT) and visceral adipose tissue (VAT) were studied in SIV-infected macaques and HIV-infected ART-controlled patients. To analyze the effect of Tat or Nef, we used human adipose stem cells (ASCs) issued from healthy donors, and analyzed adipogenesis and extracellular matrix component production using two dimensional (2D) and three-dimensional (3D) culture models.

**Methods:** Adipocyte size and index of fibrosis were determined on Sirius red-stained adipose tissue samples. Proliferating and adipocyte 2D-differentiating or 3D-differentiating ASCs were treated chronically with Tat or Nef. mRNA, protein expression and secretion were examined by RT-PCR, western-blot and ELISA.

**Results:** SCAT and VAT from SIV-infected macaques displayed small adipocytes, decreased adipogenesis and severe fibrosis with collagen deposition. SCAT and VAT from HIV-infected ART-controlled patients presented similar alterations. *In vitro*, Tat and/or Nef induced a profibrotic phenotype in undifferentiated ASCs and altered adipogenesis and collagen production in adipocyte-differentiating ASCs.

**Conclusion:** We demonstrate here a specific role for HIV/SIV infection *per se* on adipose tissue fibrosis and adipogenesis, probably through the release of viral proteins, which could be involved in adipose tissue dysfunction contributing to cardiometabolic alterations of HIV-infected individuals. Copyright © 2019 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

AIDS 2019, 33:953–964

**Keywords:** adipogenesis, adipose tissue, fibrosis, mesenchymal stromal cells, virus proteins

<sup>a</sup>Sorbonne Université, INSERM UMR\_S938, Centre de Recherche Saint-Antoine, Institut Hospitalo-Universitaire de Cardio-Métabolisme et Nutrition (ICAN), Paris, <sup>b</sup>CEA - Université Paris Sud 11 - Inserm U1184, Center for Immunology of Viral Infections and Autoimmune Diseases, IDMIT Department, IBFJ, 92265 Fontenay-aux-Roses, <sup>c</sup>AP-HP, Hôpital Tenon, Service de Chirurgie Plastique et Esthétique, <sup>d</sup>AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Sorbonne Université, <sup>e</sup>Institut Mutualiste Montsouris, Service de Chirurgie Digestive, <sup>f</sup>AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, PRYSIS, Service d'Endocrinologie, Diabétologie et Reproduction, Paris, and <sup>g</sup>AP-HP, Groupe Hospitalier Universitaire Paris Sud, Hôpital Bicêtre, Service de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Le Kremlin-Bicêtre, France.

Correspondence to Claire Lagathu, PhD, Sorbonne Université, INSERM UMR\_S938, Centre de Recherche Saint Antoine, Institut Hospitalo-Universitaire de Cardio-Métabolisme et Nutrition (ICAN), 27 rue Chaligny, 75012 Paris, France.

E-mail: claire.lagathu@inserm.fr

\* Véronique Béreziat and Claire Lagathu contributed equally to this work.

Received: 13 December 2018; revised: 18 January 2019; accepted: 24 January 2019.

DOI:10.1097/QAD.0000000000002168

## Introduction

HIV-infected patients receiving current antiretroviral treatment (ART) are generally well controlled for HIV replication. However, some of them present fat accumulation and/or redistribution associated with altered adipose tissue homeostasis, differentiation, and function, which could lead to metabolic and cardiovascular comorbidities [1–5].

The pathophysiological mechanisms involved in adipose tissue dysfunction, in the context of HIV infection, are still poorly understood and probably multifactorial. Many studies have involved some ART molecules in these abnormalities [2,6–8]. However, adverse effects of ART cannot explain all aspects of the phenotype. Importantly, adipose tissue has been shown to be a HIV/simian immunodeficiency virus (SIV) reservoir [9–11], and some recent studies suggested that HIV infection *per se* could play an important role in the pathophysiology of adipose tissue alterations and associated metabolic defects. Accordingly, ART-naïve HIV-infected patients can present decreased body fat [12], with sometimes fat redistribution [13], affecting both subcutaneous adipose tissue (SCAT) and visceral adipose tissue (VAT) [14]. VAT accumulation is often associated with metabolic defects, such as liver steatosis, dyslipidemia, insulin resistance and hyperglycemia [14,15]. Within adipose tissue of ART-naïve patients, abnormal adipogenic gene expression and mitochondrial damage have been reported [16–19]. However, the in-vivo mechanisms whereby the virus could induce adipocyte defects in humans are still poorly understood.

Recent evidence indicates that adipose tissue inflammation and fibrosis are hallmarks of metabolically challenged adipocytes in adipose tissue disorders, contributing to the development of comorbidities [20]. In obesity, fibrotic and dysfunctional adipose tissue displays excess collagen deposition, mainly collagen 6, in humans and in rodents [21–24]. Adipocytes and adipose precursors are the main cells producing extracellular matrix (ECM) proteins [25] and, by the acquisition of a profibrotic phenotype [26,27], adipocyte precursors are key actors in the onset of fibrosis [20]. Thus, adipose tissue-resident mesenchymal stem cells (ASCs) can turn into myofibroblast-like cells expressing α-smooth muscle actin (αSMA) and transforming growth factor (TGF)-β [28–31], as a result of an unresolved chronic inflammation. Of note, in *LMNA*-linked lipodystrophy, interscapular fat pads display fibrotic changes but no evidence of ongoing inflammatory processes, suggesting that fibrosis and inflammation are not always associated [32,33]. Fibrotic lesions in adipose tissue have been observed in response to ART in people living with HIV [32,34,35], but the impact of HIV infection itself on adipose tissue fibrosis has never been studied.

As adipose tissue is an HIV reservoir [9–11], we hypothesized that HIV-infected immune cells within adipose tissue could release viral proteins, even in the presence of ART, which could exert a direct effect on bystander cells, such as adipocytes or their precursors. In fact, HIV-viral proteins like Vpr, Tat or Nef have been detected in the plasma of HIV-infected individuals receiving ART [36–38]. The pathogenic role of Vpr, which can corepress peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ), includes decreased adipose tissue depots mass and increased macrophage infiltration in a mouse transgenic model [38]. *In vitro*, several HIV proteins, including Tat or Nef, can induce inflammation and senescence that could alter adipogenesis and affect mature adipocyte function [36–42]. In addition, Tat and Nef alter osteogenesis in bone-marrow mesenchymal stem cells [40]. In this context, our aim was to characterize the impact of HIV/SIV on adipose tissue morphology and function *in vivo* together with the ability of Tat and Nef to alter ECM production by ASCs and adipocytes.

## Methods

### Animals, infection and adipose tissue samples

Seven cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) were infected via the intravenous route with SIVmac251 as previously described [9]. They were not used for any other protocol before euthanasia. Seven non-SIV-infected animals were used as controls. Adult macaques were imported from Mauritius and housed in the animal facilities at the ‘Commissariat à l’Energie Atomique et aux Energies Alternatives’ (CEA, Fontenay-aux-Roses, France), under the accreditation number D92-032-02. The CEA facilities comply with the Standards for Human Care and Use of Laboratory of the Office for Laboratory Animal Welfare (OLAW, USA) under OLAW assurance number #A5826-01 and with the European Directive (2010/63, recommendation N°9). The study was approved by the ‘Ministère de l’Education Nationale, de l’Enseignement Supérieur et de la Recherche’ (France) and the ethics committee ‘Comité d’éthique en expérimentation animale n°44’ under reference 2015102713323361.02 (APAFIS#2453). Ketamine chlorhydrate-sedated animals were euthanized by intravenous injection of sodium pentobarbital (Vetoquinol, Paris, France). SCAT and VAT samples were collected at necropsy, at the same location in each animal. Special care was taken to remove any nonadipose-associated tissues from the depot including lymph nodes. Control animals had a mean age of  $7.2 \pm 1.1$  years and weighed  $9.3 \pm 5.5$  kg. SIV-infected macaques had a mean age of  $4.4 \pm 0.3$  years and weighed  $5.5 \pm 0.6$  kg. The mean duration of SIV infection was of  $342 \pm 31$  days, with a mean viral load of  $6.8 \times 10^4 \pm 2.9 \times 10^4$  RNA copies/ml and a mean CD4 $^{+}$  cell count of  $421 \pm 174/\mu\text{l}$ .

## Adipose tissue samples from human HIV-infected patients and healthy donors

Human SCAT and VAT samples were obtained from HIV-infected and HIV-negative women undergoing bariatric surgery ( $n=4$  per group). Mean age was  $37 \pm 6.2$  years, and  $38.5 \pm 4$  years for HIV-infected and control patients, respectively. BMI was  $47.7 \pm 2.6$  and  $45.8 \pm 2.4 \text{ kg/m}^2$  in HIV-infected and control patients, respectively. HIV infection duration was of  $11.8 \pm 5.3$  years and the mean CD4 $^+$  cell count was  $480 \pm 88/\mu\text{l}$ . None of them had diabetes at the time of the surgery.

Otherwise, human SCAT samples used for adipose-derived mesenchymal stem cell (ASC) isolation were obtained from 14 healthy women undergoing plastic surgery ( $\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$ ) with a mean age of  $47.8 \pm 3.9$  years. All research patients provided informed written consent before their surgery allowing the use of their tissue specimens for research purposes. The protocols followed the Declaration of Helsinki guidelines and were approved by the local ethics committee.

## Adipose stem cell isolation, culture, treatment and differentiation

ASCs were isolated using a collagenase digestion as previously described [43], seeded in  $\alpha$ MEM (Minimum Eagle's Medium) with 10% fetal bovine serum (FBS), 2 mmol/l glutamine, penicillin/streptomycin (all from Gibco, Invitrogen Corporation, San Diego, California, USA), and 2.5 ng/ml basic fibroblast growth factor (PeproTech, Rocky Hill, New Jersey, USA). Upon confluence, adherent cells were trypsinized and seeded at  $10^3 \text{ cells/cm}^2$ . During expansion, cells were exposed or not to 40 ng/ml of the recombinant HIV-proteins Tat or Nef (Jena Bioscience, Jena, Germany) for 15 days. Differentiation of ASCs was induced by addition of proadipogenic medium (DMEM, Dulbecco Modified Eagle's Medium) with 10% FBS, 1  $\mu\text{mol/l}$  dexamethasone, 500  $\mu\text{mol/l}$  IBMX, 1  $\mu\text{mol/l}$  rosiglitazone, 1  $\mu\text{mol/l}$  insulin) for 6 days, and then maintained in DMEM (1  $\mu\text{mol/l}$  insulin) for 8 days. Tat or Nef were added throughout the whole differentiation process. Cells were stained for Oil-red-O (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, Missouri, USA) as described previously [8]. For the three-dimensional (3D) culture, Puramatrix hydrogel (Corning, Fischer Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) was sonicated for 30 min and diluted with 20% sucrose. ASCs were embedded and differentiated in the hydrogel as previously described into round bottom wells of a 96-well plate [25].

## Protein extraction and western blotting

Frozen adipose tissues biopsies were lysed with Laemmli Buffer and ground using a Precellys tissue homogenizer with CKmix ceramic beads (Ozyme, Montigny-le-Bretonneux, France). Proteins were extracted from cell monolayers as previously described [6]. Samples were subjected to SDS-PAGE and blotted onto nitrocellulose

membranes. Specific proteins were detected using antibodies directed against PPAR $\gamma$ , collagen1- $\alpha$ 2, collagen6- $\alpha$ 1 (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, Texas, USA) and tubulin (Sigma-Aldrich). Immunoreactive complexes were detected by horseradish-peroxidase-conjugated secondary antibodies (Cell Signaling Technology, Danvers, Massachusetts, USA) and by enhanced chemiluminescence (Amersham Biosciences GE Healthcare Europe, Velizy-Villacoublay, France).

## RNA isolation and quantitative reverse transcriptase-PCR

Total RNA from human and macaque adipose tissue samples were isolated by Qiazol extraction and purification using Qiagen RNeasy mini-columns according to the manufacturer's instructions (Qiagen, Courtaboeuf, France). Total RNA was isolated from cultured cells using RNeasy mini-columns. mRNA expression was analyzed by RT-PCR as described previously [32,44]. The sequence of primers is available upon request.

## Adipose tissue histology

Light microscopy and immunohistochemical studies were performed as previously described [32]. Briefly, human and macaque adipose tissue samples were collected and fixed in 4% buffered paraformaldehyde (Sigma Aldrich) for 48 h, embedded in paraffin, and sectioned at 5  $\mu\text{m}$ . Adipose tissue sections were deparaffinized and stained with Sirius red for 1 h to detect collagen fibrils. The adipocyte mean areas and index of fibrosis were determined using a semiautomatic image analysis system as previously described [32] in three randomly chosen regions. Parallel sections were immunostained and quantified for collagen6- $\alpha$ 1 expression as previously described [32,44]. The ratio of fibrosis to total adipose tissue surfaces defined the index of fibrosis. Adipocyte size distribution was determined as previously described [32,45].

## TGF- $\beta$ and fibronectin secretion

TGF- $\beta$  and fibronectin concentrations in cell culture media from ASCs were determined after 15 days of incubation with Tat or Nef, by using Quantikine human ELISA kits for fibronectin or multianalyte cartridge ELLA immunoassay for TGF- $\beta$  according to the manufacturer's instructions (Bio-Techne, San Jose, California, USA).

All experiments were performed at least three times ( $n=3-8$ ) on triplicate samples. Data are expressed as means  $\pm$  SEM. Statistical significance between SIV-infected and noninfected macaques, or between HIV-infected and noninfected patients, was determined with nonparametric Mann-Whitney  $U$ -test. Relationships between index of fibrosis and adipocyte size information in VAT and SCAT were visualized by scatter plots and assessed by Pearson correlation analysis. Statistical significance between HIV-protein-treated vs. control

cells was determined with parametric (*t* test) or nonparametric tests, as appropriate.

## Results

### Simian immunodeficiency virus infection alters adipocyte size and induces fibrosis in macaque adipose tissue

SIV infection in macaques, which closely recapitulates the major features of HIV infection [46], allows to assess the impact of the virus on abdominal SCAT and VAT, two depots that accumulate during HIV-linked fat redistribution [2]. We first determined the impact of SIV infection on adipose tissue architecture. The repartition of adipocytes was overall homogeneous in both SCAT and VAT of control macaques with adipocytes of different sizes. In contrast, adipose tissue from SIV-infected macaques had a heterogeneous repartition with clusters of small and of medium-sized adipocytes together with fibrotic bundles (Fig. 1 a). In addition, the percentage of large adipocytes was higher in the control than in the SIV-infected group (Fig. 1b). Accordingly, the mean size of adipocytes measured in adipose tissue of control macaques was higher than that of SIV-infected animals (in SCAT,  $3811 \pm 1230$  vs.  $1866 \pm 142 \mu\text{m}^2$  for control and SIV-infected groups, respectively; in VAT,  $3505 \pm 1036$  vs.  $1955 \pm 156 \mu\text{m}^2$  for control and SIV-infected groups, respectively). We evaluated the level of expression of the main adipogenic transcription factor, PPAR $\gamma$ . We found that its expression was decreased, at the mRNA and protein level, in SIV-infected macaques as compared with controls (Fig. 1c and d). Finally, regarding ECM remodeling, marked collagen deposition was present in both depots of SIV-infected macaques with presence of fibrotic bundles and/or fibrotic thickening of fat lobules as shown by Sirius red staining and a higher index of fibrosis (3.3 and 9.9% area of fibrosis in SCAT for control and SIV-infected group, respectively; 3.2 and 8.8% area of fibrosis in VAT, for control and SIV-infected animals, respectively; Fig. 1a and e). Accordingly, an increased mRNA expression of type 1- $\alpha$ 2 and 6- $\alpha$ 1 collagens was observed in SCAT and to a lesser extent in VAT from infected-macaques, in association with an increased expression of fibronectin and TGF- $\beta$  (Fig. 1f). We searched for relationships between adipocyte mean size and the fibrosis index in SIV-infected and control macaques. We observed a negative correlation in SCAT ( $P=0.03$ ,  $R=-0.72$ ) but not VAT ( $P=0.11$ ,  $R=-0.57$ ).

### HIV infection alters adipocyte size and induces fibrosis in human adipose tissue

We also examined samples from HIV-infected patients. In agreement with the observations made in SIV-infected macaques, we observed a marked fibrosis in both SCAT and VAT of obese HIV-infected patients compared to

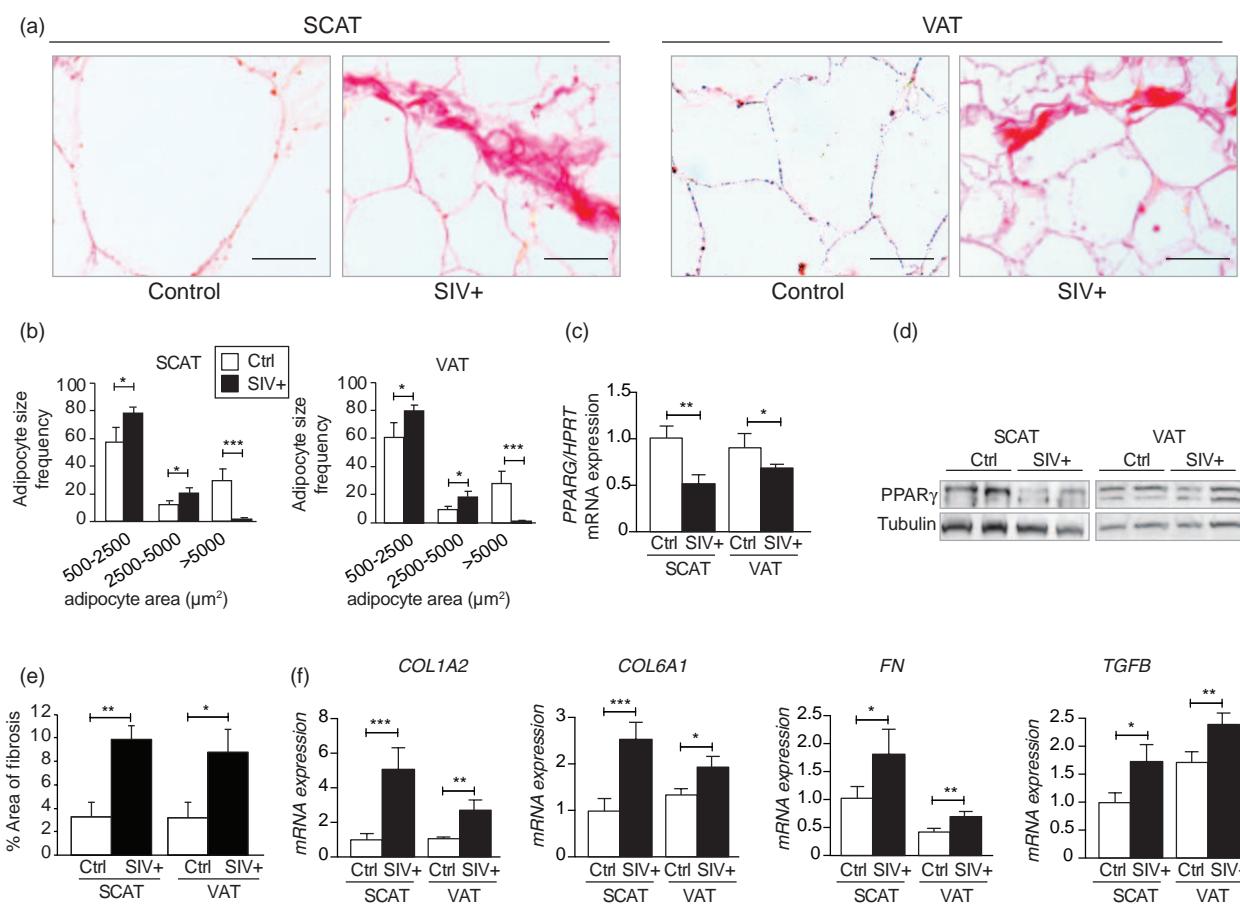
sex-paired, age-paired and BMI-paired noninfected obese individuals (Fig. 2 a). First, fat architecture of HIV-infected human samples was altered, with a higher number of smaller adipocytes (Fig. 2b) and increased fibrosis characterized by compact and thick fibrils of collagen invading the intercellular area. By contrast, in noninfected patients, collagen staining was thinner and mainly located around adipocytes (Fig. 2a and c; i.e. 2.4-fold increased fibrosis in SCAT and 2.0-fold increase in VAT of HIV-infected vs. control patients, respectively). Second, we also observed a 6.4-fold induction in collagen 6- $\alpha$ 1 expression in SCAT but not VAT of HIV-infected patients compared with control samples, as assessed using immunostaining (Fig. 2d and e). Considered together, these data suggest that HIV/SIV infection results in a marked fibrosis in adipose tissue in both depots.

### HIV-proteins Tat and Nef alter extracellular matrix component production in proliferating adipose stem cells *in vitro*

To investigate the mechanisms whereby SIV/HIV infection induced fibrosis in adipose tissue and to identify the cellular and viral actors responsible for ECM remodeling, we studied the impact of two HIV proteins, either on proliferating adipocyte precursors or when these cells were differentiated into adipocytes, by using human ASCs from lean healthy donors. Proliferating ASCs, chronically treated for 15 days with recombinant HIV proteins Tat or Nef, displayed a marked increase in the mRNA and protein levels of collagen 1- $\alpha$ 2 (Fig. 3a) and collagen 6- $\alpha$ 1 (Fig. 3b). Both HIV-proteins induced a profibrotic phenotype in proliferating ASCs, as shown by the increased secretion of fibronectin and TGF- $\beta$ 1 (Fig. 3c and d) and expression of the myofibroblast marker,  $\alpha$ SMA (*ACTA2*) (Fig. 3e). These results strongly suggest that HIV/SIV could induce fibrosis in adipose tissue through the release of Tat and Nef and interaction with ASCs.

### Nef alters adipogenesis and induces extracellular matrix component production in differentiating adipocytes

We differentiated ASCs into adipocytes for 15 days in 2D culture conditions, in order to search whether HIV proteins could also impact ECM component production during the course of adipogenesis. First, Nef, but not Tat, decreased cellular lipid accumulation (Oil-red-O staining; Fig. 4a and b) and the protein and/or mRNA expression of the adipogenic markers *PPARG* and *FABP4* (Fig. 4c and d). These results were in accordance with our in-vivo data, showing a decreased adipocyte size and PPAR $\gamma$  expression in SIV-infected macaques. However, in the 2D-model, Nef or Tat had no significant effect on collagen production (Fig. 4e). In order to unmask an effect of HIV-proteins on ECM composition, we used a 3D system, where ASCs were embedded and differentiated into a peptide hydrogel (Puramatrix). The



**Fig. 1. Subcutaneous and visceral adipose tissue from simian immunodeficiency virus-infected cynomolgus macaques shows reduced adipocyte size and increased fibrosis.** (a) Light microscopy analysis of adipose tissue depots, stained with Sirius red to detect collagen fibers. Representative photographs are shown (magnification X40) (scale bar, 50  $\mu\text{m}$ ). (b) Frequency distribution of adipocyte size in SCAT and VAT depots in control and SIV-infected macaques. (c) PPARG mRNA levels were measured using real-time PCR. The relative mRNA expression levels were normalized to HPRT mRNA. (d) PPAR $\gamma$  and tubulin (loading control) protein levels were measured. Whole-adipose tissue lysates were extracted from fat depots and analyzed by immunoblotting. Representative immunoblots are shown. (e) Index of fibrosis in VAT and SCAT measured as described in 'Material and methods' section. (f) COL1A2, COL6A1, FN and TGFB mRNA levels were measured using real-time PCR. The relative mRNA expression levels were normalized to HPRT mRNA. All results were obtained from triplicate measurements and are expressed as mean  $\pm$  SEM for control and SIV-infected group ( $n = 4-7$  animals per group). \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs. control animals. SIV, simian immunodeficiency virus.

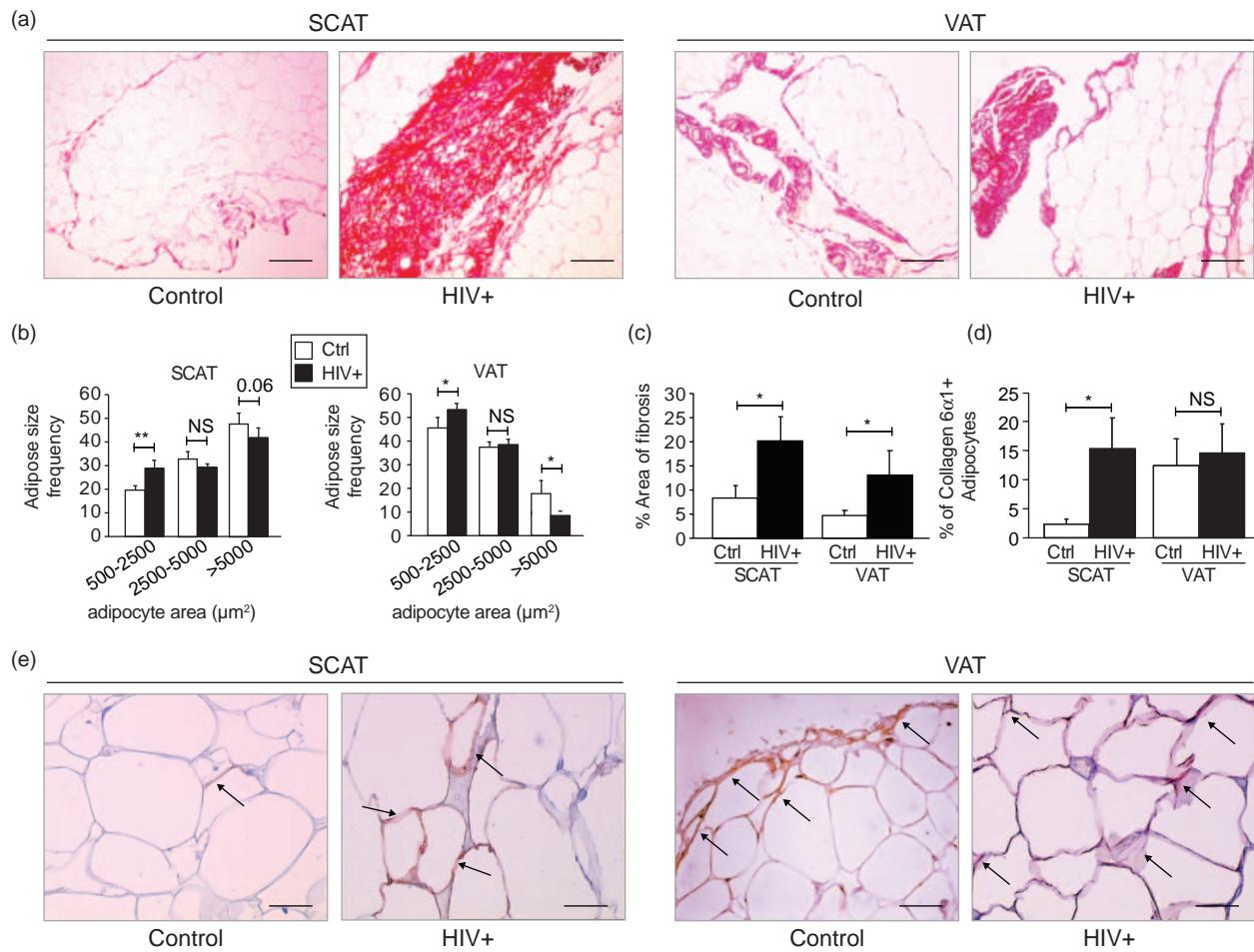
effect of HIV proteins on adipogenesis was similar to that observed in the 2D culture system, as shown by Oil-red-O staining and PPAR $\gamma$  protein expression (Fig. 5a and b). Moreover, Nef induced collagen 1- $\alpha$ 2 expression and both HIV-proteins induced collagen 6- $\alpha$ 1 expression (Fig. 5c).

Altogether, these data demonstrate that HIV proteins can have a direct impact on adipogenesis and ECM component production, in particular when differentiating adipocytes are cultured into a 3D more physiological system, thus recapitulating the observations made in SCAT from SIV-infected macaques and HIV-infected individuals. They also demonstrate that both precursor cells and adipocytes can participate to the onset of fibrosis within adipose tissue.

## Discussion

We show here that the morphological and functional analysis of SCAT and VAT from SIV-infected macaques and HIV-infected individuals revealed fibrosis, with increased deposition of collagens, together with a decreased adipocyte size. To go further, we addressed the specific relationship between ASCs, adipocytes and HIV/SIV infection. We show here, for the first time, that HIV proteins, Tat and Nef, promoted the acquisition of a profibrotic phenotype of human ASCs and to a lesser extent of adipocytes.

HIV-infected patients receiving current ART, and well controlled for HIV replication, often present trunk fat accumulation associated with metabolic and

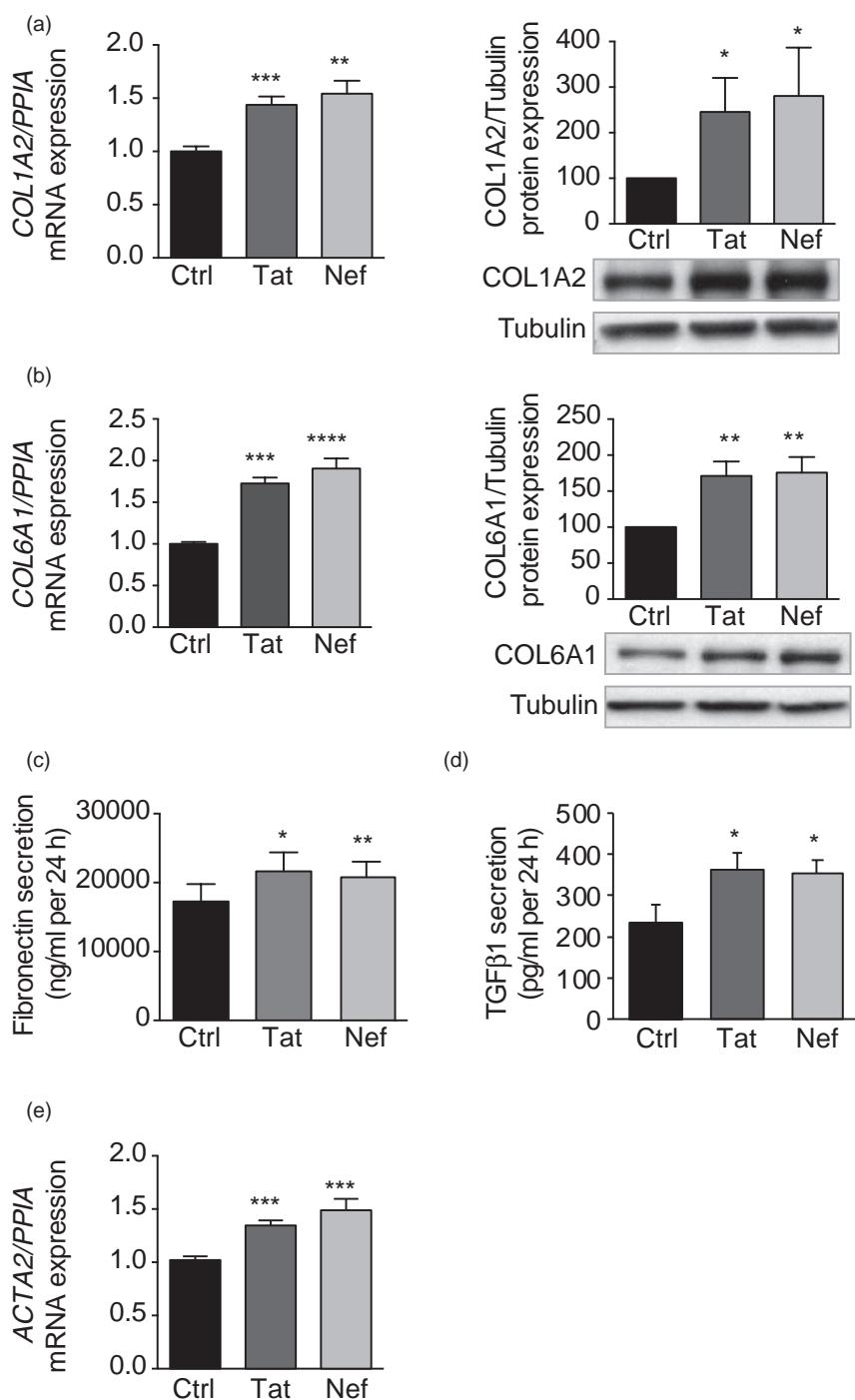


**Fig. 2. Subcutaneous and visceral adipose tissue from HIV-infected obese patients shows reduced adipocyte size and increased fibrosis.** (a) Light microscopy analysis of adipose tissue depots, stained with Sirius red to detect collagen fibers. Representative photographs are shown (magnification  $\times 10$ ) (scale bar, 100  $\mu\text{m}$ ). (b) Frequency distribution of adipocyte size in SCAT and VAT depots in control and HIV-infected treated patients. (c) Index of fibrosis measured in VAT and SCAT as described in the 'Material and methods' section. (d) Quantification and (e) representative photographs of collagen 6 $\alpha$ 1 immunostaining (magnification  $\times 40$ ; scale bar, 25  $\mu\text{m}$ ). Arrows indicate Collagen 6 $\alpha$ 1 positive cells. All results were obtained from triplicate measurements and are expressed as mean  $\pm$  SEM for control and HIV-infected group ( $n=4$  individuals per group). \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs. non-HIV-infected obese individuals. NS, nonsignificant; SCAT, subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue.

cardiovascular comorbidities [1]. Nonetheless, adverse effects of ART cannot explain all these metabolic alterations, and growing evidence suggest that HIV-infection per se could play a role. Importantly, adipose tissue has been shown to be an HIV/SIV reservoir, the virus being located in immune cells [9,10], suggesting that within adipose tissue, infected cells could release viral proteins, such as Tat and Nef [37,47], which in turn could represent key effectors of adipose tissue remodeling.

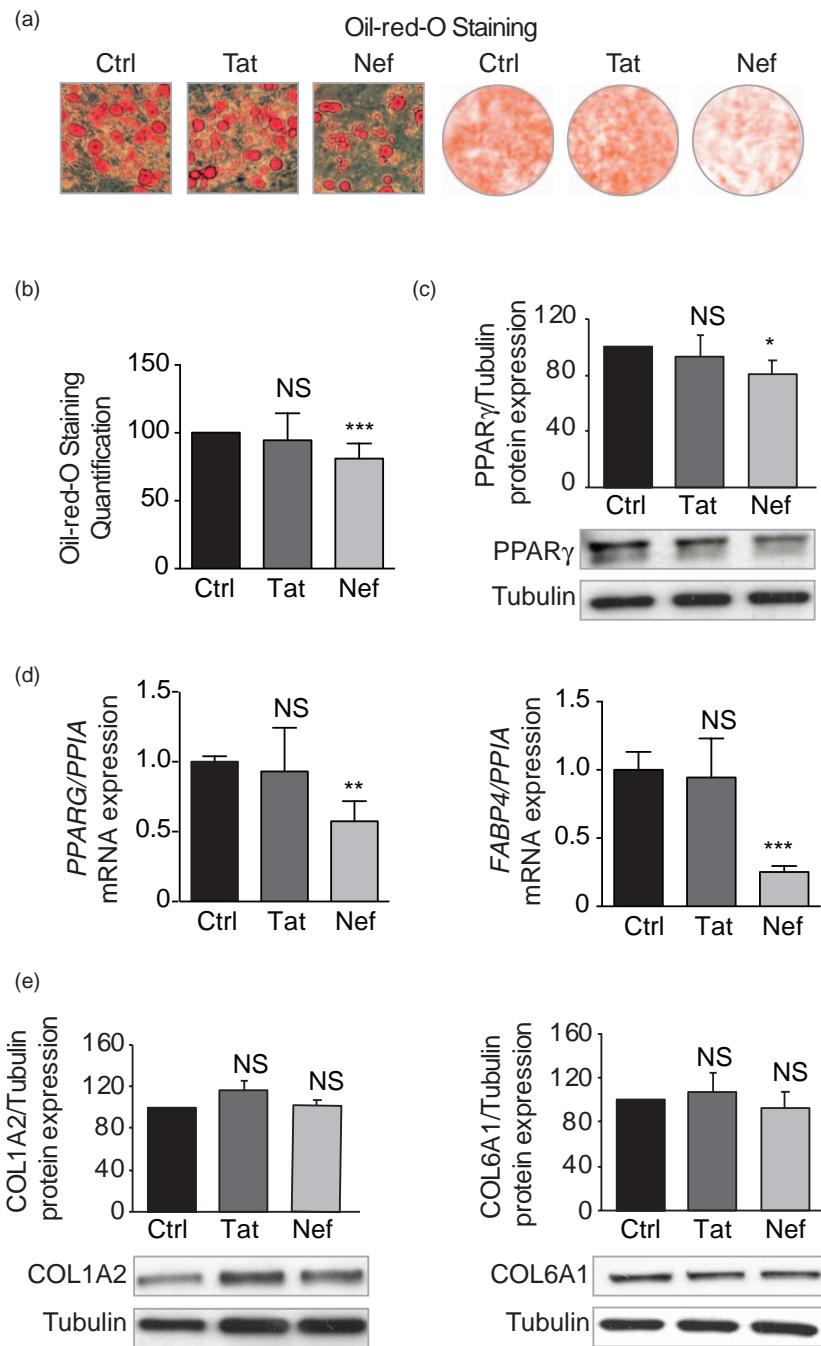
We observed that fibrosis was up to three-fold higher in SCAT and VAT from SIV-infected animals when compared with uninfected macaques [22]. Indeed, SIV infection was associated with fibrotic bundles and increased collagen 1 expression in both depots. These results were also confirmed in adipose tissue from obese

HIV-infected patients treated with ART. In SIV-infected macaques, we observed an increased expression of collagen 6, fibronectin and of the profibrotic factor TGF- $\beta$  in SCAT and to a lesser extent in VAT. These results were also confirmed in adipose tissues from obese HIV-infected patients treated with ART. An increased level of collagen 6 is often associated with pericellular fibrosis, whereas collagen 1 and collagen 3 are usually found in bundles of fibrosis [48]. Our results, regarding increased collagen 6 mainly in SCAT, may highlight different types of fibrosis in VAT or SCAT in both humans and macaques. The differences regarding collagen 6 in VAT between macaques and patients could result from species or sex differences and/or from the metabolic state and could also be related partly to ART in HIV-infected patients. Nonetheless, both our in-vitro results and the presence of an adipose tissue fibrosis in untreated



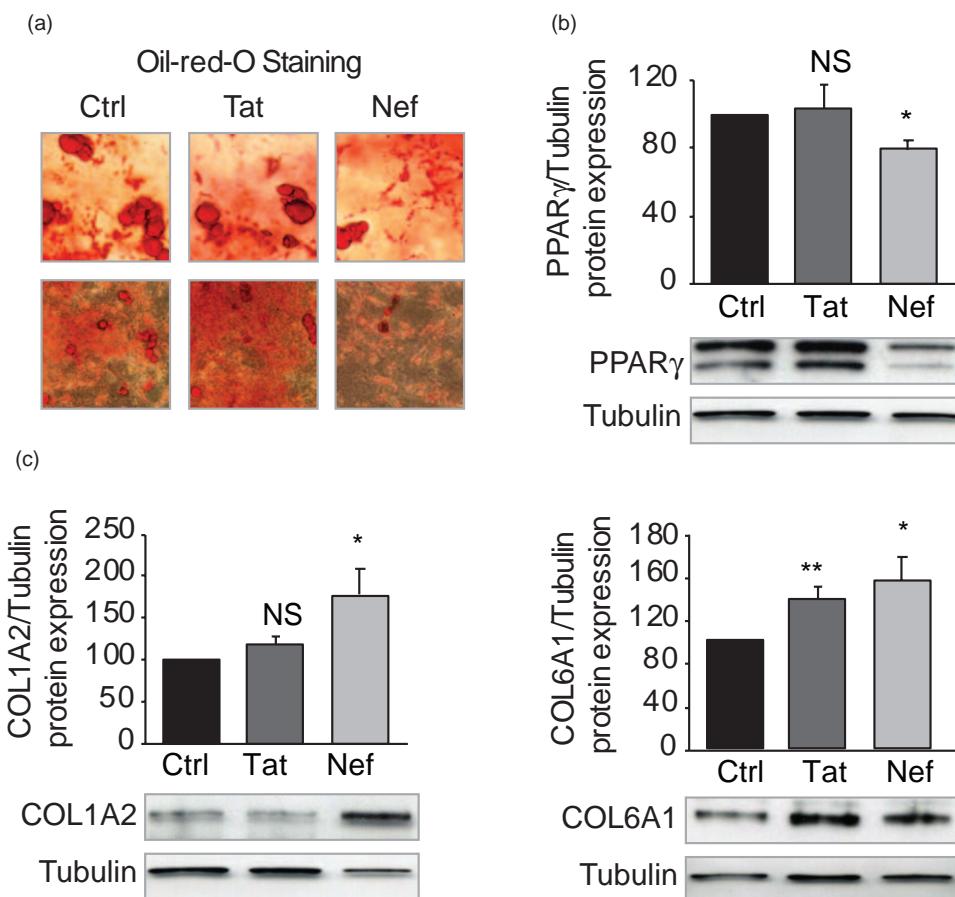
**Fig. 3. Long-term exposure to Tat or Nef of proliferating adipose stem cells increases extracellular matrix component production. ASCs were maintained in a proliferating and undifferentiated state for 15 days.** Total mRNA and whole-cell lysates were extracted from ASCs, treated or not with HIV-proteins Tat or Nef, and analyzed by RT-PCR and immunoblotting, respectively. (a) COL1A2 and (b) COL6A1 mRNA levels normalized to PP1A mRNA and representative immunoblots and quantification normalized to tubulin (loading control) are shown. Fibronectin (c) and TGF $\beta$ 1 (d) levels in the cell culture media were determined with ELISA. (e) ACTA2 mRNA levels normalized to PP1A mRNA. Results are expressed as ng/ml per 24 h for fibronectin and as pg/ml per 24 h for TGF $\beta$ 1. Results are presented as mean  $\pm$  SEM. All experiments were performed in triplicate. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001 vs. control cells. ASCs, adipose stem cells.

## 2D differentiation



**Fig. 4. Effect of a chronic treatment with Tat or Nef on adipogenesis and extracellular matrix component production of adipocyte-differentiating adipose stem cells grown in 2D culture.** ASCs were differentiated into adipocytes in the presence of Tat or Nef. To evaluate the adipogenic potential of ASCs, cells were stained with Oil-Red-O 14 days postinduction of differentiation. (a) Representative micrographs of cells (left, magnification  $\times 10$ ) and scans of culture dishes (right) are shown. (b) quantification of Oil-Red-O staining expressed as percent of control cells. Whole-cell lysates were extracted at day 14 postinduction of differentiation from ASCs and analyzed by immunoblotting for PPAR $\gamma$  (c) and tubulin (loading control) protein expression. Representative immunoblots are shown. (d) PPARG and FABP4 mRNA levels measured using real time RT-PCR. The relative mRNA expression levels were normalized to PPIA. (e) Representative immunoblots of Collagen 1A2, Collagen 6A1 and tubulin (loading control) are shown. Results are presented as mean  $\pm$  SEM. All experiments were performed in triplicate. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs. control cells. ASCs, adipose stem cells; NS, nonsignificant.

### 3D matrix differentiation



**Fig. 5. Chronic treatment with Tat or Nef alters adipogenesis and extracellular matrix component production of adipocyte-differentiating adipose stem cells grown in 3D culture.** Adipogenesis and ECM remodeling of ASCs differentiated for 15 days in the 3D culture model using puramatrix were evaluated. (a) Representative micrographs of Oil-Red-stained adipocytes (top; magnification  $\times 40$  and bottom; magnification  $\times 10$ ). (b) Representative immunoblots of PPAR $\gamma$  (c) Collagen 1A2, Collagen 6A1 and tubulin (loading control) are shown. Whole-cell lysates were extracted at day 15 postinduction of differentiation and analyzed by immunoblotting. Results are presented as mean  $\pm$  SEM. All experiments were performed in triplicate. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , vs. control cells. ASCs, adipose stem cells; ECM, extracellular matrix; NS, nonsignificant.

SIV-infected macaques indicate a key role for SIV/HIV infection in collagen deposition and fibrosis.

Adipose precursors and other stroma–vascular cells of adipose tissue have been implicated in the onset of fibrosis [23–24]. Here, we showed that, in proliferating ASC, Tat and Nef altered ECM component production as shown by increased pro-fibrotic markers (TGF- $\beta$ , fibronectin, and  $\alpha$ -SMA). These results are in accordance with a myofibroblast-like phenotype of ASCs [27,29,30]. Similar patterns were observed in mesenchymal precursors in the case of muscle fibrosis [49]. This phenotype could result from interactions between ASCs and macrophages, the latter being a major regulator of fibrosis [20,27,31,50]. Furthermore, the impact of Tat and Nef in 3D-differentiated ASC are modest and suggest that mainly adipose precursor, and to a lesser extent adipocyte,

participate to the onset of HIV-induced fibrosis. Of note, it would be interesting to study the impact on ECM in adipose tissue of other secreted HIV proteins as Vpr. It should be noted that ASCs were isolated from SCAT in accordance with HIV/SIV-induced collagen 6 production in SCAT rather than VAT.

In obese individuals, fibrosis negatively correlates with adipocyte size and has been suggested to limit adipocyte plasticity, therefore, contributing to the onset of metabolic alterations [20]. Accordingly, in our study, HIV/SIV infection was associated with smaller adipocytes in both SCAT and VAT and adipocyte mean size was negatively related to the size of fibrosis in SCAT of SIV-infected and control macaques. As previously described by the group of Villarroya [51], we observed a dramatic decrease in the adipogenic effector PPAR $\gamma$  suggesting

that HIV infection itself could contribute to adipose tissue failure to expand, leading to fat redistribution. In line with this observation, we found that Nef can alter adipogenesis of ASCs as shown by reduced lipid accumulation and expression of adipogenic markers in both 2D and 3D models of differentiation. Nef has been shown to interact with PPAR $\gamma$  in hematopoietic progenitors, suggesting a possible mechanism whereby Nef alters adipogenesis [52]. Moreover, fibrosis could also have a negative effect on adipogenesis, through the action of the profibrotic factor TGF- $\beta$  [53]. Hypoxia can also participate to the onset of fibrosis and altered adipocyte differentiation and represents a possible pathway, which remains to be investigated [54]. Finally, adipose tissue inflammation can lead to excessive synthesis of ECM proteins. HIV infection is associated with low-grade inflammation in adipose tissue [19], characterized by immune cells recruitment [55,56], which can directly participate to the onset of fibrosis in SCAT and VAT [27,50]. However, several studies on chronically SIV-infected macaques showed no increased inflammatory cytokine expression in adipose tissue [9,11] supporting the idea that HIV infection can be directly responsible for fibrosis in adipose tissue.

We acknowledge that our study has some limitations. First, our in-vivo data provide association and not causality. We have evaluated Tat and Nef but not the other HIV proteins that could also induce fibrosis. Several reasons could potentially explain the differences between human and macaques regarding collagen 6, including differences in species, sex (female patients vs. male macaques), metabolic state (obese vs. lean) and/or ART. Otherwise, results obtained in human adipose tissue samples were limited to women presenting morbid obesity and undergoing bariatric surgery and can neither be directly extrapolated to all people living with HIV, nor to men. The number of patients was low, nonetheless, obese HIV-infected patients were paired for sex, age and BMI to noninfected obese individuals, and all samples were withdrawn by surgical biopsies at similar locations. As well, a similar necropsy procedure was performed for adipose tissue samples from macaques.

Altogether, these results allow a better understanding of adipose tissue alteration in SIV-infected macaques and HIV-infected patients. We show here for the first time that HIV/SIV infection per se is associated with adipose tissue fibrosis and dysfunction that could, in turn, participate to the onset of cardiovascular and metabolic disorders commonly observed in ART-controlled HIV-infected patients.

## Acknowledgements

We thank the patients, Professor K. Clément's team and in particular Dr S. André for providing surgical samples of

adipose tissue from noninfected obese individuals, Dr R. Ho Tsong Fang for veterinary assistance and the IDMIT core facilities for excellent technical assistance. We also thank R. Morichon for his help on the analysis of adipocyte size, F. Merabtene (UMS30 LUMIC, Sorbonne Université) for performing the Sirius red-stained adipose tissue sections and T. Ejjalmanesh, A. Kergoat, C. Rose for their participation to some of the experimental work.

This research work was supported by a Sidaction PhD Fellowship (J.G.), by an ANRS grant (C.L. and V.B.) and by the 'Programme Investissements d'Avenir' (PIA) managed by the ANR (ANR-11-INBS-0008 and ANR-10-EQPC-02-01).

**Funding:** This research was supported by a Sidaction PhD Fellowship (J.G.), an ANRS grant (N17020DR), the 'Programme Investissements d'Avenir' (ANR-11-INBS-0008 infrastructure and ANR-10-EQPC-02-01 FlowCyTech facility) (IDMIT), Inserm and Sorbonne Université funding.

**Author contribution and approval of text:** Conception and design of the experiments: J.G., C.L., V.B., J.C., D.D., C.B., O.L. Acquisition of data: J.G., C.L., M.M., V.B. Analysis of the data: J.G., C.L., V.B. Contribution of reagents/biological materials: C.B., G.P., M.A., O.L., R.L., V.P., D.D. Writing of the article: J.G., C.L., V.B., J.C., B.F. All authors approved the final manuscript.

## Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

## References

1. Lake JE, Stanley TL, Apovian CM, Bhasin S, Brown TT, Capeau J, et al. **Practical review of recognition and management of obesity and lipohypertrophy in human immunodeficiency virus infection.** *Clin Infect Dis* 2017; **64**:1422–1429.
2. McComsey GA, Moser C, Currier J, Ribaudo HJ, Paczuski P, Dubé MP, et al. **Body composition changes after initiation of raltegravir or protease inhibitors: ACTG A5260s.** *Clin Infect Dis* 2016; **62**:853–862.
3. Bernaldo RA, Meliscki GC, Silva BR, Navarro AM, Bollela VR, Schmidt A, et al. **Anthropometric measures of central adiposity are highly concordant with predictors of cardiovascular disease risk in HIV patients.** *Am J Clin Nutr* 2018; **107**:883–893.
4. Bakal DR, Coelho LE, Luz PM, Clark JL, De Boni RB, Cardoso SW, et al. **Obesity following ART initiation is common and influenced by both traditional and HIV/ART-specific risk factors.** *J Antimicrob Chemother* 2018; **73**:2177–2185.
5. Srinivasa S, Fitch KV, Torriani M, Zanni MV, Defilippi C, Christenson R, et al. **Relationship of visceral and subcutaneous adipose depots to markers of arterial injury and inflammation among individuals with HIV.** *AIDS* 2018; **33**:229–236.
6. Caron M, Auclair M, Vissian A, Vigouroux C, Capeau J. **Contribution of mitochondrial dysfunction and oxidative stress to cellular premature senescence induced by antiretroviral thymidine analogues.** *Antivir Ther* 2008; **13**:27–38.
7. Lagathu C, Kim M, Maachi M, Vigouroux C, Cervera P, Capeau J, et al. **HIV antiretroviral treatment alters adipokine expression and insulin sensitivity of adipose tissue in vitro and in vivo.** *Biochimie* 2005; **87**:65–71.

8. Hernandez-Vallejo SJ, Beaupere C, Larghero J, Capeau J, Lagathu C. **HIV protease inhibitors induce senescence and alter osteoblastic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells: beneficial effect of pravastatin.** *Aging Cell* 2013; **12**:955–965.
9. Damouche A, Lazure T, Avettand-Fenoel V, Huot N, Dejacq-Rainsford N, Satie AP, et al. **Adipose tissue is a neglected viral reservoir and an inflammatory site during chronic HIV and SIV infection.** *PLoS Pathog* 2015; **11**:e1005153.
10. Couturier J, Suliburk JW, Brown JM, Luke DJ, Agarwal N, Yu X, et al. **Human adipose tissue as a reservoir for memory CD4+ T cells and HIV.** *AIDS* 2015; **29**:667–674.
11. Couturier J, Agarwal N, Nehete PN, Baze WB, Barry MA, Jagannadha Sastry K, et al. **Infectious SIV resides in adipose tissue and induces metabolic defects in chronically infected rhesus macaques.** *Retrovirology* 2016; **13**:30.
12. Visnegarwala F, Raghavan SS, Mullin CM, Bartsch G, Wang J, Kotler D, et al. **Sex differences in the associations of HIV disease characteristics and body composition in antiretroviral-naïve persons.** *Am J Clin Nutr* 2005; **82**:850–856.
13. Madge S, Kinloch-de-Loes S, Mercey D, Johnson MA, Weller IV. **Lipodystrophy in patients naïve to HIV protease inhibitors.** *AIDS* 1999; **13**:735–737.
14. Agarwal N, Balasubramanyam A. **Viral mechanisms of adipose dysfunction: lessons from HIV-1 Vpr.** *Adipocyte* 2015; **4**:55–59.
15. Balasubramanyam A, Sekhar RV, Jahoor F, Jones PH, Pownall HJ. **Pathophysiology of dyslipidemia and increased cardiovascular risk in HIV lipodystrophy: a model of 'systemic steatosis'.** *Curr Opin Lipidol* 2004; **15**:59–67.
16. Garrabou G, Lopez S, Moren C, Martinez E, Fontdevila J, Cardellach F, et al. **Mitochondrial damage in adipose tissue of untreated HIV-infected patients.** *AIDS* 2011; **25**:165–170.
17. Rozzi SJ, Avdoshina V, Fields JA, Trejo M, Ton HT, Ahern GP, et al. **Human immunodeficiency virus promotes mitochondrial toxicity.** *Neurotox Res* 2017; **32**:723–733.
18. Gallego-Escudero JM, Villarroya J, Domingo P, Targarona EM, Alegre M, Domingo JC, et al. **Differentially altered molecular signature of visceral adipose tissue in HIV-1-associated lipodystrophy.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999/2013; **64**:142–148.
19. Vidal F, Domingo P, Villarroya F, Giralt M, Lopez-Dupla M, Gutierrez M, et al. **Adipogenic/lipid, inflammatory, and mitochondrial parameters in subcutaneous adipose tissue of untreated HIV-1-infected long-term nonprogressors: significant alterations despite low viral burden.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012; **61**:131–137.
20. Sun K, Tordjman J, Clement K, Scherer PE. **Fibrosis and adipose tissue dysfunction.** *Cell Metab* 2013; **18**:470–477.
21. Henegar C, Tordjman J, Achard V, Lacasa D, Cremer I, Guerre-Millo M, et al. **Adipose tissue transcriptomic signature highlights the pathological relevance of extracellular matrix in human obesity.** *Genome Biol* 2008; **9**:R14.
22. Divoux A, Tordjman J, Lacasa D, Veyrie N, Hugol D, Aissat A, et al. **Fibrosis in human adipose tissue: composition, distribution, and link with lipid metabolism and fat mass loss.** *Diabetes* 2010; **59**:2817–2825.
23. Pasarica M, Gowronska-Kozak B, Burk D, Remedios I, Hymel D, Gimble J, et al. **Adipose tissue collagen VI in obesity.** *J Clin Endocrinol Metab* 2009; **94**:5155–5162.
24. Khan T, Muise ES, Iyengar P, Wang ZV, Chandalia M, Abate N, et al. **Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI.** *Mol Cell Biol* 2009; **29**:1575–1591.
25. Pellegrinelli V, Heuvingsh J, du Roure O, Rouault C, Devulder A, Klein C, et al. **Human adipocyte function is impacted by mechanical cues.** *J Pathol* 2014; **233**:183–195.
26. Lacasa D, Taleb S, Keophiphath M, Miranville A, Clement K. **Macrophage-secreted factors impair human adipogenesis: involvement of proinflammatory state in preadipocytes.** *Endocrinology* 2007; **148**:868–877.
27. Bourlier V, Sengenes C, Zakaroff-Girard A, Decaunes P, Wdziekonski B, Galitzky J, et al. **TGFbeta family members are key mediators in the induction of myofibroblast phenotype of human adipose tissue progenitor cells by macrophages.** *PLoS One* 2012; **7**:e31274.
28. Marcellin G, Ferreira A, Liu Y, Atlan M, Aron-Wisnewsky J, Pelloux V, et al. **PDGFRalpha-mediated switch toward CD9 (high) adipocyte progenitors controls obesity-induced adipose tissue fibrosis.** *Cell Metab* 2017; **25**:673–685.
29. Desai VD, Hsia HC, Schwarzbauer JE. **Reversible modulation of myofibroblast differentiation in adipose-derived mesenchymal stem cells.** *PLoS One* 2014; **9**:e86865.
30. Diaz-Flores L, Gutierrez R, Lizartza K, Gomez MG, Garcia Mdel P, Saez FJ, et al., Anat Rec (Hoboken). **Behavior of in situ human native adipose tissue CD34+ stromal/progenitor cells during different stages of repair. Tissue-resident CD34+ stromal cells as a source of myofibroblasts.** *Anatomical record* 2015; **298**:917–930.
31. Wynn TA. **Cellular and molecular mechanisms of fibrosis.** *J Pathol* 2008; **214**:199–210.
32. Bereziat V, Cervera P, Le Dour C, Verpont MC, Dumont S, Vantyghem MC, et al., Lipodystrophy Study Group. **LMNA mutations induce a non-inflammatory fibrosis and a brown fat-like dystrophy of enlarged cervical adipose tissue.** *Am J Pathol* 2011; **179**:2443–2453.
33. Le Dour C, Wu W, Bereziat V, Capeau J, Vigouroux C, Worman HJ. **Extracellular matrix remodeling and transforming growth factor-beta signaling abnormalities induced by lamin A/C variants that cause lipodystrophy.** *J Lipid Res* 2017; **58**:151–163.
34. Bastard JP, Caron M, Vidal H, Jan V, Auclair M, Vigouroux C, et al. **Association between altered expression of adipogenic factor SREBP1 in lipoatrophic adipose tissue from HIV-1-infected patients and abnormal adipocyte differentiation and insulin resistance.** *Lancet* 2002; **359**:1026–1031.
35. Utay NS, Kitch DW, Yeh E, Fichtenbaum CJ, Lederman MM, Estes JD, et al., A5317 AIDS Clinical Trials Group Team. **Telmisartan therapy does not improve lymph node or adipose tissue fibrosis more than continued antiretroviral therapy alone.** *J Infect Dis* 2018; **217**:1770–1781.
36. Dupin N, Buffet M, Marcellin AG, Lamotte C, Gorin I, Ait-Arkoub Z, et al. **HIV and antiretroviral drug distribution in plasma and fat tissue of HIV-infected patients with lipodystrophy.** *AIDS* 2002; **16**:2419–2424.
37. Raymond AD, Campbell-Sims TC, Khan M, Lang M, Huang MB, Bond VC, et al. **HIV Type 1 Nef is released from infected cells in CD45(+) microvesicles and is present in the plasma of HIV-infected individuals.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011; **27**:167–178.
38. Agarwal N, Iyer D, Patel SG, Sekhar RV, Phillips TM, Schubert U, et al. **HIV-1 Vpr induces adipose dysfunction in vivo through reciprocal effects on PPAR/GR co-regulation.** *Sci Transl Med* 2013; **5**:213ra164.
39. Diaz-Delfin J, Domingo P, Wabitsch M, Giralt M, Villarroya F. **HIV-1 Tat protein impairs adipogenesis and induces the expression and secretion of proinflammatory cytokines in human SGBS adipocytes.** *Antivir Ther* 2012; **17**:529–540.
40. Beaupere C, Garcia M, Larghero J, Feve B, Capeau J, Lagathu C. **The HIV proteins Tat and Nef promote human bone marrow mesenchymal stem cell senescence and alter osteoblastic differentiation.** *Aging Cell* 2015; **14**:534–546.
41. Otake K, Omoto S, Yamamoto T, Okuyama H, Okada H, Okada N, et al. **HIV-1 Nef protein in the nucleus influences adipogenesis as well as viral transcription through the peroxisome proliferator-activated receptors.** *AIDS* 2004; **18**:189–198.
42. Cotter EL, Chew N, Powderly WG, Doran PP. **HIV type 1 alters mesenchymal stem cell differentiation potential and cell phenotype ex vivo.** *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011; **27**:187–199.
43. Zhu M, Heydarkhan-Hagvall S, Hedrick M, Benhaim P, Zuk P. **Manual isolation of adipose-derived stem cells from human lipoaspirates.** *J Vis Exp* 2013; **79**:e50585.
44. Lagathu C, Eustace B, Prot M, Frantz D, Gu Y, Bastard JP, et al. **Some HIV antiretrovirals increase oxidative stress and alter chemokine, cytokine or adiponectin production in human adipocytes and macrophages.** *Antivir Ther* 2007; **12**:489–500.
45. Dalle H, Garcia M, Antoine B, Boehm V, Huong Do TT, Buyse M, et al. **Adipocyte glucocorticoid receptor deficiency promotes adipose tissue expandability and improves the metabolic profile under corticosterone exposure.** *Diabetes* 2019; **68**:305–317.
46. Reimann KA, Parker RA, Seaman MS, Beaudry K, Beddall M, Peterson L, et al. **Pathogenicity of simian-human immunodeficiency virus SHIV-89.6P and SIVmac is attenuated in cynomolgus macaques and associated with early T-lymphocyte responses.** *J Virol* 2005; **79**:8878–8885.
47. Debaisieux S, Rayne F, Yezid H, Beaumelle B. **The ins and outs of HIV-1 Tat.** *Traffic* 2012; **13**:355–363.
48. Divoux A, Clement K. **Architecture and the extracellular matrix: the still unappreciated components of the adipose tissue.** *Obes Rev* 2011; **12**:e494–e503.

49. Uezumi A, Ito T, Morikawa D, Shimizu N, Yoneda T, Segawa M, et al. Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. *J Cell Sci* 2011; **124** (Pt 21):3654–3664.
50. Vila IK, Badin PM, Marques MA, Monbrun L, Lefort C, Mir L, et al. Immune cell Toll-like receptor 4 mediates the development of obesity- and endotoxemia-associated adipose tissue fibrosis. *Cell Rep* 2014; **7**:1116–1129.
51. Giralt M, Domingo P, Villarroya F. HIV-1 infection and the PPARgamma-dependent control of adipose tissue physiology. *PPAR Res* 2009; **2009**:607902.
52. Prost S, Le Dantec M, Auge S, Le Grand R, Derdouch S, Auregan G, et al. Human and simian immunodeficiency viruses deregulate early hematopoiesis through a Nef/PPARgamma/STAT5 signaling pathway in macaques. *J Clin Invest* 2008; **118**:1765–1775.
53. Pellegrinelli V, Carobbio S, Vidal-Puig A. Adipose tissue plasticity: how fat depots respond differently to pathophysiological cues. *Diabetologia* 2016; **59**:1075–1088.
54. Halberg N, Khan T, Trujillo ME, Wernstedt-Asterholm I, Attie AD, Sherwani S, et al. Hypoxia-inducible factor 1alpha induces fibrosis and insulin resistance in white adipose tissue. *Mol Cell Biol* 2009; **29**:4467–4483.
55. Kaminski DA, Randall TD. Adaptive immunity and adipose tissue biology. *Trends Immunol* 2010; **31**:384–390.
56. d'Ettorre G, Paiardini M, Zaffiri L, Andreotti M, Ceccarelli G, Rizza C, et al. HIV persistence in the gut mucosa of HIV-infected subjects undergoing antiretroviral therapy correlates with immune activation and increased levels of LPS. *Curr HIV Res* 2011; **9**:148–153.

## b) Discussion et perspectives

Nous avons observé une fibrose dans le TASC et le TAV ainsi qu'une augmentation de la quantité de collagène VI dans le TASC des patients et dans le modèle macaque infecté. Le collagène VI est un marqueur de fibrose péricellulaire, associée à des dysfonctions métaboliques (Khan et al. 2009, Pasarica et al. 2009, Divoux et al. 2010). Il serait intéressant de discerner la fibrose péricellulaire de la périlobulaire dans notre modèle. Nous avons également observé que les protéines du VIH Tat et Nef induisaient la production de collagènes dans les ASC et dans une moindre mesure dans les adipocytes, et participeraient ainsi à la mise en place de cette fibrose chez les patients. Dans d'autres types cellulaires, il a été décrit que les protéines Tat et Nef induisaient la production de TGF- $\beta$  (Zauli et al. 1992, Poggi and Zocchi 2006, Chompre et al. 2019) et une augmentation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (Debaisieux et al. 2012, Clark et al. 2017, Lehmann et al. 2019, Mukhamedova et al. 2019), participant ainsi à la production de collagènes. Tat peut également se lier aux intégrines  $\alpha 5\beta 1$  and  $\alpha V\beta 3$ , ce qui pourrait être un autre mécanisme pro-fibrotique dans les ASC et les adipocytes (Monini et al. 2012, Shimojo et al. 2015, Chang et al. 2017). Tat et Nef pourraient donc agir de façon directe (*via* les intégrines) ou indirecte (*via* la voie du TGF- $\beta$  ou de l'inflammation) dans les ASC, pour favoriser la production de la MEC au sein du TA.

Les modifications de la composition de la MEC pourraient être aussi liées à la modulation de l'activité de certaines MMP par Tat (Rozzi et al. 2017, Bozzelli et al. 2019, Sil et al. 2020). Pour aller plus loin dans cette étude et tester cette dernière hypothèse, nous souhaitons étudier l'impact du virus et des protéines du VIH Tat et Nef sur l'activité des MMP. De plus, les macrophages ont été impliqués dans la fibrose du TA au cours de l'obésité (Vila et al. 2014). Il serait intéressant d'analyser leur rôle potentiel pro-fibrosant dans nos modèles.

Dans notre modèle expérimental, seul Nef altère l'adipogenèse des ASC. Cela est en accord avec la littérature. Il a été montré que Nef interagissait avec PPAR $\gamma$  (Otake et al. 2004, Prost et al. 2008) ce qui pourrait être un mécanisme possible dans les ASC. Nous souhaitons réaliser des co-immunoprécipitations afin de confirmer cette interaction dans notre modèle. Nef pourrait également affecter l'accumulation des lipides non seulement en diminuant l'adipogenèse mais également en inhibant la lipogenèse ou en augmentant la lipolyse. L'effet de Tat sur l'adipogenèse est dépendant des modèles (Cotter et al. 2011, Diaz-Delfín et al. 2012).

Nous avons émis l'hypothèse que les cellules infectées au sein du TA sécrètent Tat et Nef, et vont avoir des impacts sur les cellules avoisinantes (ASC et adipocytes). Tat et Nef sont

détectables dans le sang de patients infectés et contrôlés (Raymond et al. 2011, Tugizov et al. 2013, Gupta et al. 2017, Ferdin et al. 2018). Pour compléter notre étude, il aurait été intéressant de pouvoir mesurer les concentrations de Tat et Nef dans le TA *in vivo*. Par ailleurs, nous nous sommes concentrés dans ce travail sur les protéines virales sécrétées Tat et Nef mais d'autres protéines ont un effet connu sur le TA. En effet, l'impact du virus dépend du modèle utilisé et de la protéine virale étudiée. Vpr co-réprime PPAR $\gamma$  et par conséquent l'expression de ses gènes cibles (*FABP4*, *ADIPOQ*, *PPARG*, *GLUT4*, *LPL*, *PLIN1*) dans les adipocytes (Shrivastav et al. 2008). De plus, Vpr induit également des dysfonctions mitochondrielles et l'apoptose des adipocytes (Balasubramanyam et al. 2007, Agarwal et al. 2013, Agarwal and Balasubramanyam 2015). Il serait pertinent d'étudier l'impact des protéines Vpr et Gp120 dans notre modèle d'ASC humaines.

Les altérations du TA des patients infectés traités associées ou non à une redistribution ou une prise de poids sous ARV pourraient contribuer au développement d'un diabète ou des maladies cardiovasculaires (Balasubramanyam et al. 2004, Kuller et al. 2008, Herrin et al. 2016, Hulgan 2018). De plus, des études suggèrent que Vpr, Tat et Nef pourraient contribuer au développement de la dyslipidémie et de l'athérosclérose observées chez les patients VIH. Vpr induit une lipolyse accrue qui a pour conséquence, une stéatose hépatique, une hyperglycémie et une résistance à l'insuline chez la souris (Agarwal et al. 2013, Agarwal and Balasubramanyam 2015). Nef altère aussi le métabolisme lipidique dans les macrophages en augmentant l'expression d'ABCA1 (*ATP-binding cassette A1*), un transporteur qui favorise l'accumulation des lipides (Cui et al. 2014). Tat augmente aussi la libération du cholestérol (Mohseni Ahooyi et al. 2018, Sviridov et al. 2020). Pour aller plus loin, il serait donc important d'évaluer l'effet des protéines virales sur le métabolisme lipidique et la fonction endothéliale.

Le macaque cymolagus infecté par SIVmac251 est un bon modèle d'étude d'infection chronique du VIS (Reimann et al. 2005). De plus, leur charge virale moyenne est inférieure à  $10^5$  et leur taux de CD4+ moyen est supérieur à 200 CD4+/mm $^3$  (Mannioui et al. 2009). Ils sont donc bien en infection chronique et non au stade SIDA, et leurs atteintes du TA ne sont donc pas liées à une perte importante de TA et de muscle. Par ailleurs, le macaque est un bon modèle pour l'étude du TA et des maladies métaboliques. L'obésité chez le macaque est similaire à la pathologie humaine avec une augmentation de la leptine, de la glycémie et du risque de diabète (Chen et al. 2002), une diminution de l'adiponectine et une résistance à l'insuline (Hotta et al. 2001). Nous avons observé une diminution de l'expression des marqueurs adipogéniques dans le

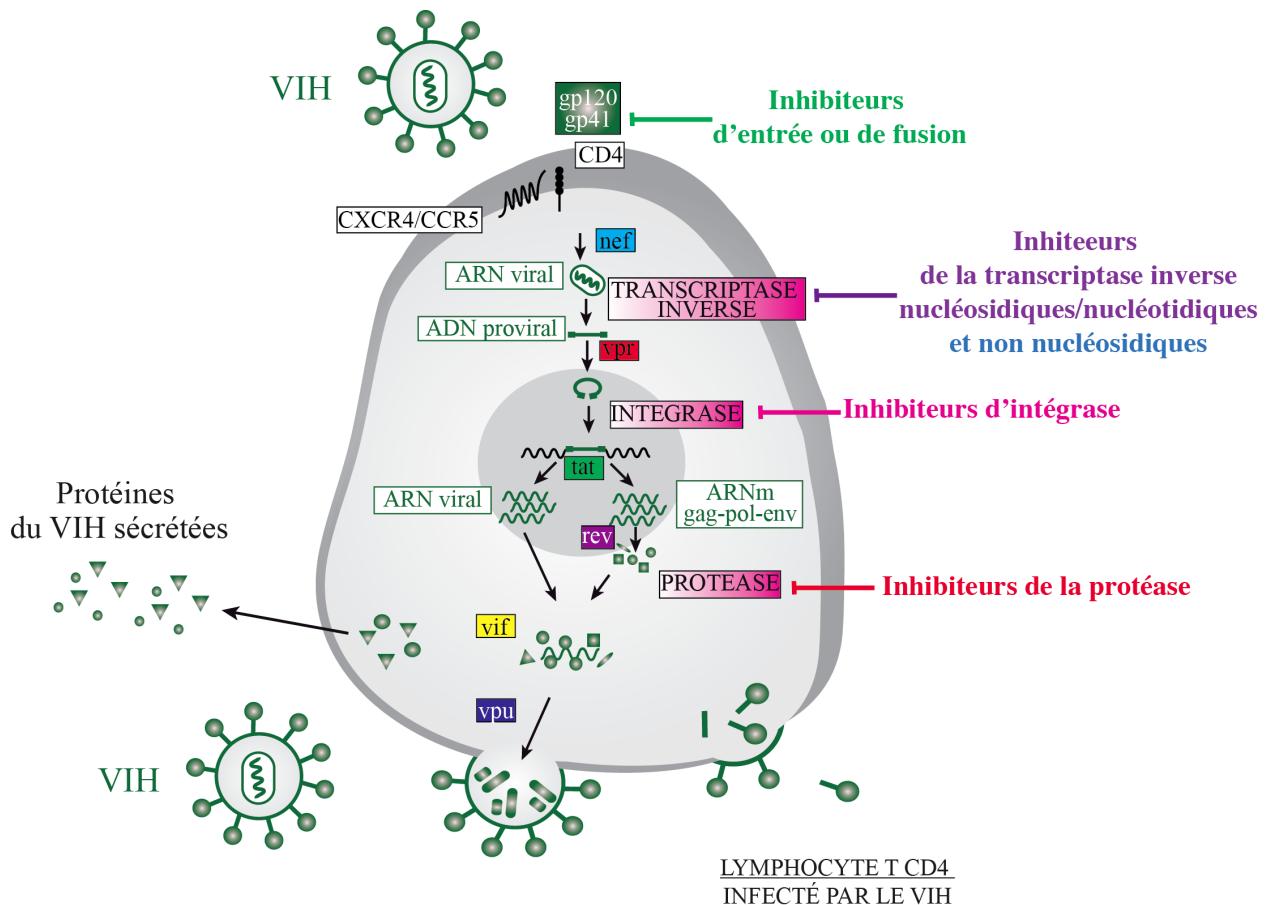
TA de macaques infectés en accord avec l'étude de Couturier *et al* menée sur des macaques rhésus infectés (Couturier et al. 2016).

En conclusion, l'infection par le VIH/VIS joue un rôle spécifique dans les atteintes du TA mais ces dernières ont été tout d'abord associées à l'apparition des traitements ARV.

## B. Impact des antirétroviraux sur le tissu adipeux

### 1) Les différentes classes d'antirétroviraux

Les ARV permettent d'empêcher la progression de la pathologie en inhibant les différentes étapes du cycle répliquatif du virus. Ils sont regroupés dans différentes classes : les inhibiteurs d'entrée et de fusion, de la transcriptase inverse, de l'intégrase et de la protéase (Figure 20).



**Figure 20 :** Schéma de l'inhibition des étapes du cycle répliquatif du VIH selon les différentes classes d'antirétroviraux.

Leurs effets secondaires ont amené le développement de classes de molécules dites de « nouvelle génération » davantage prescrits. De fait, on peut les classer en générations selon leur année de mise sur le marché (Figure 21). Ces médicaments ne sont cependant pas suffisants pour

guérir de l'infection car la forme latente du virus au sein des réservoirs empêcherait l'action des ARV. De plus, le virus mute facilement et fréquemment et peut rendre certaines souches résistantes aux ARV. La barrière génétique d'un ARV à la mutation est dite faible lorsque qu'il existe de nombreuses souches du virus résistantes à l'ARV. Le patient est alors en échec virologique et la réPLICATION du VIH n'est pas contrôlée. A l'inverse, une barrière génétique d'un ARV élevée indique qu'il est nécessaire que la souche virale subisse plusieurs mutations avant de devenir résistante à l'ARV.

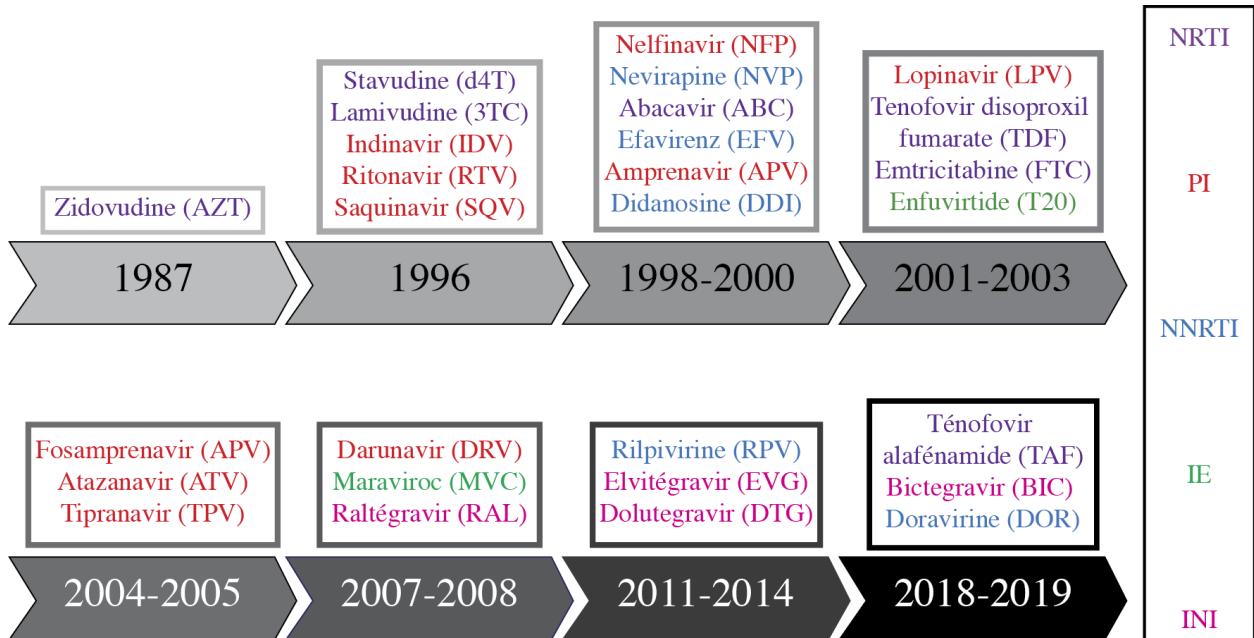


Figure 21 : Frise chronologique de la mise sur le marché en France des principaux antirétroviraux d'après le site de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé ((ANSM)).

NRTI : inhibiteur nucléosidique ou nucléotidique de la transcriptase inverse (violet), PI : inhibiteur de la protéase (rouge), NNRTI : inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (bleu), IE : inhibiteur d'entrée ou de fusion (vert), INI : inhibiteur d'intégrase (rose).

Les études pharmacocinétiques des ARV permettent de déterminer les valeurs thérapeutiques avec une efficacité optimale, le nombre de prise par jour et la Cmax. La Cmax est la concentration maximale des ARV mesurée dans le sang entre deux prises. Cette concentration est souvent utilisée dans les modèles *in vitro* (Bazzoli et al. 2010). Cependant, la concentration plasmatique totale d'un ARV est composée de sa fraction libre et de sa fraction liée aux protéines plasmatiques. Les ARV sont libérées dans le sang, distribuées aux tissus dans l'organisme et dégradés dans le foie. La biodisponibilité des ARV dépend des transporteurs utilisés et des enzymes hépatiques qui les métabolisent (Michaud et al. 2012).

La distribution et les concentrations plasmatiques et intracellulaires des ARV dépendent également de leurs propriétés physico-chimiques. En effet, les inhibiteurs de la transcriptase

inverse nucléosidiques sont de faible poids moléculaire, se lient faiblement aux protéines plasmatiques et sont hydrophiles. A l'inverse, les inhibiteurs de la protéase sont plutôt lipophiles et se lient fortement aux protéines dans le sang (Jones et al. 2001). Deux études ont montré que certains ARV comme les inhibiteurs de la transcriptase inverse non nucléosidiques et les inhibiteurs d'intégrase pouvaient être séquestrés sous forme inactive dans les adipocytes (Dupin et al. 2002, Couturier et al. 2018).

### a) Les inhibiteurs de la transcriptase inverse

Les deux premières drogues antirétrovirales mises sur le marché sont des inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse la zidovudine (AZT) en 1987 et la stavudine (d4T) en 1994. Les inhibiteurs de la transcriptase inverse sont des analogues nucléosidiques (NRTI, *nucleoside analog reverse-transcriptase inhibitors*), nucléotidique (tNRTI, *nucleotide analog reverse-transcriptase inhibitors*) ou non nucléosidiques (NNRTI, *non nucleoside analog reverse-transcriptase inhibitors*). Ils bloquent l'étape précoce de la réPLICATION virale. Ils ont d'abord été prescrits en monothérapie mais rapidement des virus résistants à la zidovudine sont apparus menant à l'utilisation d'une combinaison de molécules de différentes classes afin de contrôler la réPLICATION du VIH et maintenir une charge virale faible (Prokofjeva et al. 2016).

Les **tNRTI et NRTI** sont des analogues des substrats, à savoir les nucléotides ou nucléosides nécessaires à la transcriptase inverse (Tableau 1). Lorsqu'ils entrent dans la cellule, ils sont phosphorylés par les kinases cellulaires. Les NRTI et les tNRTI ont besoin d'être triphosphorylés pour agir dans la cellule. Les tNRTI (analogues nucléotidiques) sont sous forme monophosphorylée lorsqu'ils entrent dans la cellule infectée tandis que les NRTI ne possèdent pas de groupement phosphate à l'entrée de la cellule. Pour les NRTI, la première phosphorylation est donc une étape limitante dans la cellule afin de pouvoir exercer son activité inhibitrice sur la transcriptase inverse. Les NRTI et les tNRTI bloquent la synthèse de l'ADN lorsqu'ils sont incorporés car ils n'ont pas de fonction hydroxyle en 3' (Cihlar and Ray 2010). AZT, d4T et lamivudine (3TC) appartiennent à la première génération des NRTI nucléosidiques et nucléotidiques tandis que didanosine (DDI), abacavir (ABC), emtricitabine (FTC) et tenofovir disoproxil fumarate (TDF) (tNRTI) constituent la seconde génération. Le Tenofovir alafénamide (TAF), un dérivé du tNRTI tenofovir, est une molécule de troisième génération. Il a été autorisé en 2016 aux USA et en 2018 en France (De Clercq 2016).

Analogues d'TTP	Analogues d'CTP	Analogues d'ATP	Analogues d'GTP
Stavudine (d4T) Zidovudine (AZT)	Lamivudine (3TC) Entricitabine (FTC)	Didanosine (ddI) Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) Tenofovir alafénamide (TAF)	Abacavir (ABC)

Tableau 1 : Tableau des NRTI classés selon l'analogie du nucléoside.

**Les NNRTI** sont des inhibiteurs non-compétitifs. La première génération de NNRTI regroupe l'efavirenz (EFV) et la nevirapine (NVP). La deuxième génération comprend l'etravirine (ETR), la rilpivirine (RPV) et la doravirine (DOR). Actuellement, l'EFV est le plus prescrit des NNRTI.

Les NRTI et les NNRTI ont une barrière génétique faible à la mutation, il y a de nombreuses souches résistantes à l'AZT et au d4T qui confèrent des résistances croisées à d'autres NRTI. Deux mécanismes expliquent cette résistance : l'excision d'un composé phosphorylé par la transcriptase inverse et de la diminution de l'affinité de cette enzyme pour des substrats synthétiques. La combinaison NRTI/NNRTI est cependant efficace et est encore prescrite aujourd'hui. Actuellement, l'OMS recommande deux NNRTI comme TDF/FTC (Truvada) ou ABC/3TC (Kivexa), avec un inhibiteur d'intégrase (INI) ou Efv (Organization 2019). De plus, le Truvada est utilisé pour la PreP ou prophylaxie préexposition. Ce traitement préventif fait l'objet d'un suivi médical.

### b) Les inhibiteurs de la protéase

Les inhibiteurs de la protéase (PI) ont révolutionné la prise en charge des patients, avec la mise en place de la trithérapie qui associe deux NRTI et un PI. Cette combinaison de différentes classes d'inhibiteurs appelée HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*) était efficace chez les patients et est recommandée aujourd'hui comme seconde ligne de traitement ARV.

Les PI possèdent une structure semi-peptidique et sont des inhibiteurs compétitifs de la protéase insensibles au clivage protéolytique (Michaud et al. 2012). La première génération de PI comprend l'indinavir (IDV), le ritonavir (RTV), le saquinavir (SQV) et le nelfinavir (NFV). La deuxième génération regroupe l'amprénavir (APV), le lopinavir (LPV), l'atazanavir (ATV) et le darunavir (DRV). Les PI ont une barrière génétique élevée et peu de souches sont résistantes aux PI.

Les PI sont généralement associés au ritonavir qui a un effet « *booster* ». En effet, ils ont une demi-vie courte car ils sont dégradés rapidement par les enzymes protéolytiques du foie, les

enzymes cytochromes P450 (CP450) et en particulier la CYP3A4 (Moyle and Back 2001). Le ritonavir a une affinité plus forte pour CYP3A4 que les autres PI et son association à une concentration faible permet de prolonger la durée et la concentration des autres PI (Michaud et al. 2012).

### c) Les inhibiteurs d'entrée et de fusion

Les inhibiteurs d'entrée et de fusion bloquent l'entrée du virus dans la cellule. Ils ont une faible barrière génétique et donc beaucoup de virus sont résistants à cette classe d'ARV. Par conséquent, ils sont très peu utilisés (Prokofjeva et al. 2016).

L'enfuvirtide (T20) est un inhibiteur de fusion. Il se lie au gp41 du VIH et empêche ainsi sa fusion avec la membrane de la cellule cible. Le T20 est un peptide de synthèse coûteux qui nécessite deux injections par jour.

Le maraviroc est un inhibiteur sélectif du co-récepteur CCR5. Il empêche la liaison de Gp120 à CCR5. Il ne peut pas être utilisé comme traitement contre les souches du VIH qui reconnaissent le co-récepteur CXCR4, le tropisme du patient doit donc être évalué avant de lui administrer ce médicament.

### d) Les inhibiteurs d'intégrase

Les inhibiteurs d'intégrase (INI) représentent une nouvelle classe d'ARV récemment mise sur le marché. Les INI regroupent : le raltegravir (RAL), le dolutégravir (DTG), l'elvitégravir (EVG) et le bictégravir (BIC). Ces molécules sont des acides organiques dicétones qui ciblent l'intégrase du VIH qui catalyse l'intégration de l'ADN proviral au génome de la cellule hôte. L'INI se fixe sur le site catalytique de l'enzyme et chélate les ions Mg<sup>2+</sup> et Mn<sup>2+</sup>. Il empêche ainsi l'interaction de l'enzyme avec son co-facteur cellulaire LEDGF/p75 (*lens epithelium-derived growth factor/p75*) (Fan et al. 2011). LEDGF/p75 est nécessaire pour l'intégration de l'ADN proviral (Vandekerckhove et al. 2006, Shun et al. 2007) (Figure 22).

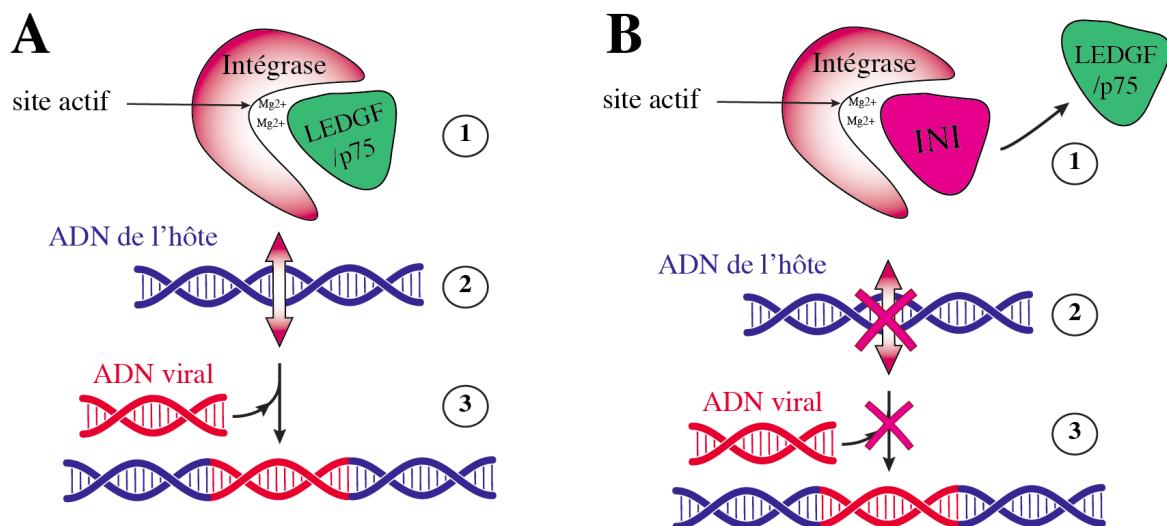


Figure 22 : Schéma du mécanisme d'action de l'intégrase (A) et des inhibiteurs d'intégrase (B).

*A : 1- le facteur de transcription cellulaire LEDGF/p75 se fixe au magnésium (Mg<sup>2+</sup>) dans le site actif de l'intégrase du VIH, 2- l'intégrase peut alors agir et cliver l'ADN de l'hôte afin d'ajouter l'ADN viral au sein du génome cellulaire, 3- ligature entre l'ADN viral et génomique de l'hôte. B : 1- l'inhibiteur d'intégrase (INI) se fixe aux Mg<sup>2+</sup> dans le site actif de l'enzyme et empêche la fixation de LEDGF, 2-l'intégrase ne peut plus cliver l'ADN de l'hôte, 3- l'ADN viral ne peut plus s'intégrer au génome de l'hôte.*

Le RAL a été mis sur le marché en France en 2007. Il est très efficace et est encore prescrit aujourd’hui pour les femmes enceintes ou qui ont un désir de grossesse et pour les patients co-infectés par la tuberculose. L’elvitégravir (EVG) est associé à un booster, le cobicistat. Le DTG est l’INI majoritairement prescrit et est utilisé en première intention chez les personnes diagnostiquées avec une infection VIH. De plus, le DTG a une plus grande résistance à la mutation et une demi-vie plus longue (McPherson et al. 2018). Le cabotégravir, un analogue du DTG, a une demi-vie longue, il n'est pas encore approuvé en Europe ou aux États-Unis et fait l'objet de nombreuses études cliniques en phase 3. Un essai clinique récent a montré l'efficacité du cabotégravir et de la rilpivirine injectés tous les deux mois sur le contrôle de la charge virale mais la FDA (*Food and Drug Administration*) a refusé sa mise sur le marché (Swindells et al. 2020). Le bictégravir (BIC) est une molécule approuvée en France en 2018 qui est aussi efficace que le DTG (Sax et al. 2017) mais peu de recul existe sur celle-ci.

Les INI sont une classe d’ARV très efficace qui diminue rapidement la charge virale et améliore la reconstitution immunologique (Cruciani and Parisi 2019). Ainsi, des essais cliniques de bithérapie contenant un INI ont été réalisés dans le but d’alléger le traitement des patients

Les ARV permettent le contrôle de la réplication virale mais en contrepartie ils sont responsables de effets secondaires dont une redistribution du TA observée chez les patients.

## 2) Antirétroviraux et atteintes du tissu adipeux

### a) Lipodystrophie et molécules de première génération

L'utilisation des molécules ARV de première génération a conduit à l'apparition de **syndromes lipodystrophiques** caractérisés par une lipoatrophie périphérique du TASC (membres et visage) associée ou non à une accumulation tronculaire de TA. Entre 1990 et le début des années 2000, la prévalence de la lipodystrophie représentait environ 50% des personnes infectées sous ARV (Miller et al. 2003, Domingo et al. 2012). Chez certains patients, elle pouvait être associée à une accumulation de TASC dorso-cervical appelée bosse de bison (Mallon et al. 2005). La lipodystrophie est diagnostiquée en clinique grâce à une échelle permettant de mesurer la sévérité de la redistribution du TA (Carr et al. 2003).

La lipodystrophie liée au VIH a été décrite pour la première fois suite à la mise en place de la trithérapie correspondant à l'association des ARV de première génération : deux NRTI (en particulier d4T et ZDV), et d'un PI (en particulier NFV et LPV/r) (Bacchetti et al. 2005, Study of Fat and Metabolic Change in 2006, Boothby et al. 2009, Caron-Debarle et al. 2010). Cependant, certains NNRTI tel que l'EFV, ont été impliqués dans la lipoatrophie (Haubrich et al. 2009). Malgré la mise en place de nouveaux traitements moins délétères (tels que les NNRTI) favorisant une augmentation de la masse du TASC des membres, le syndrome lipodystrophique persiste (Martin et al. 2004, Ribera et al. 2013). Par ailleurs, quelques études suggèrent que la perturbation du système nerveux sympathique favoriserait la redistribution du tissu adipeux chez les patients lipodystrophiques infectés par le VIH sous ARV (Fliers et al. 2003, van Gurp et al. 2006). De nombreuses études ont été menées *in vivo* et *in vitro*, pour comprendre les mécanismes impliqués dans **l'effet des ARV de première génération** (Caron-Debarle et al. 2010, Lagathu et al. 2017).

Le **TASC abdominal lipoatrophique** présente des adipocytes en apoptose, une infiltration de cellules immunitaires (avec des *crown-like structures*) et une inflammation (sécrétion de TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) (Kannisto et al. 2003, Jan et al. 2004, Gallego-Escuredo et al. 2013). Il est caractérisé par une diminution de l'expression des gènes impliqués dans la biogénèse des mitochondries (*PPARGC1A*), l'adipogenèse (*PPARG*, *SREBP1C*, *CEBPA*), le métabolisme lipidique (*LPL*, *FASN*, *LIPE*, *FABP4*, *CD36*) et glucidique (*GLUT4*) (Giralt et al. 2006). *In vitro*, les traitements par le d4T et l'AZT, et certains PI (LPV, SQV, APV et IDV) sont incriminés dans ces atteintes (Dowell et al. 2000, Caron et al. 2007, Lagathu et al. 2007, Gallego-Escuredo et al. 2010, Diaz-Delfin et al. 2011, Leroyer et al. 2011, Minami et al. 2011, Manente et al. 2012, Walker et al. 2014). Les PI plus récents comme l'ATV/r ou le DRV/r semblent avoir moins

d'effets délétères (Kim et al. 2006, Jones et al. 2008, Caso et al. 2010, Minami et al. 2011, Capel et al. 2012, Perez-Matute et al. 2012, Hernandez-Vallejo et al. 2013). En accord avec ces observations, le TASC abdominal des patients lipodystrophiques recevant des molécules de première génération présente des petits adipocytes (Bastard et al. 2002), une résistance à l'insuline et une diminution de la sécrétion de leptine et de l'adiponectine en réponse à certains NRTI et PI (Cammalleri and Germinario 2003, Rudich et al. 2003, Jan et al. 2004, Hadigan et al. 2006, Caron-Debarle et al. 2010, Giralt et al. 2011, Capel et al. 2012, Klos et al. 2019). L'altération de la différenciation des adipocytes et la mort adipocytaire seraient responsables de la diminution du nombre d'adipocytes et pourraient expliquer la perte de TASC observée chez ces patients.

La **lipohypertrophie centrale** est une accumulation abdominale de TA (TASC et TAV) (de Waal et al. 2013). Elle est apparue dès le début de la mise sous ARV et est encore observée de nos jours. Jusqu'à 70% des patients infectés par le VIH sous ARV présentent une accumulation tronculaire de TA seule (Dube et al. 2007, Wohl and Brown 2008, Gelpi et al. 2019). Elle est principalement associée aux PI (Moyle et al. 2010, McComsey et al. 2016). Grâce aux études cliniques, des facteurs de risque se distinguent : l'âge, le sexe féminin et l'IMC initial des individus (Moyle et al. 2010).

Peu d'études ont été réalisées sur le **TAV des patients lipodystrophiques** notamment car il n'est pas facilement accessible. Les ARV ne semblent pas exercer d'effets délétères sur l'expression des gènes adipogéniques, la captation du glucose, la lipolyse ou l'accumulation de lipides (Hadigan et al. 2006, Gallego-Escuredo et al. 2013, Walker et al. 2014). La capacité d'expansion du TAV ne semble donc pas être altérée contrairement à celle du TASC chez les patients lipodystrophiques liés au VIH. L'hypertrophie du TAV pourrait donc être un mécanisme compensatoire pour pallier à la capacité de stockage défectueuse du TASC (Giralt et al. 2011).

Concernant la **bosse de bison**, des biopsies ont montré dans ce tissu de petits adipocytes avec un phénotype proche de celui des adipocytes bruns : une augmentation du nombre de mitochondries et de l'expression des marqueurs de TA brun (PRDM16, UCP1) et de SREBP1c et PPAR $\gamma$  (Guallar et al. 2008, Bereziat et al. 2011, Cereijo et al. 2015). Ce TA très particulier présente une fibrose mais pas d'inflammation car le nombre de CD68 et de *crown-like structures* semblent inchangés comparés au TASC cervical ou de personnes non infectées (Bereziat et al. 2011).

## b) Prise de poids et nouveaux antirétroviraux : les inhibiteurs d'intégrase

Avec le développement des nouvelles molécules, une prise de poids est souvent observée rapidement après la prise d'ARV en parallèle de la reconstitution immunologique (Koethe et al. 2016). C'est le phénomène de « retour à la santé » (*return to health*). Cependant, les individus infectés par le VIH prennent plus de poids que les individus de la population générale (Erlandson et al. 2016), avec une accumulation homogène du TA dans le corps aussi bien au niveau des membres qu'au niveau tronculaire (Debroy et al. 2019, Venter et al. 2019).

Des études récentes suggèrent un rôle plus important des INI par rapport aux PI ou aux NNRTI dans la prise de poids (Bhagwat et al. 2017, Bakal et al. 2018, Bourgi et al. 2019) que ce soit chez les patients infectés naïfs de traitement qui débutent une thérapie en combinaison avec un INI (Reynes et al. 2013, Young et al. 2015, McComsey et al. 2016, Menard et al. 2017, Group 2019, Venter et al. 2019, Calmy et al. 2020, Venter et al. 2020) ou chez des patients contrôlés qui changent de classe d'ARV pour un INI (Domingo et al. 2014, Norwood et al. 2017, Waters et al. 2018, Debroy et al. 2019, Gatell et al. 2019, Katlama et al. 2019, Koethe et al. 2020, Lake et al. 2020). La majorité des études cliniques sur la prise de poids sous INI montre un effet plus important du DTG par rapport au RAL et à l'EVG (Norwood et al. 2017, Bourgi et al. 2019, Sax et al. 2019, Bourgi et al. 2020). Le BIC semble avoir des effets similaires sur la prise de poids que le DTG chez les patients naïfs (Sax et al. 2019, Wohl et al. 2019). Il faut cependant rester prudent avec ces études cliniques car de multiples autres facteurs peuvent influencer la prise de poids comme le microbiote, les effets secondaires digestifs liés aux ARV, les modifications de l'humeur et autres troubles psychologiques dont souffrent d'avantage les personnes infectées par le VIH, la mauvaise qualité du sommeil ou encore l'arrêt du tabac, autant de facteurs qui ne sont pas toujours pris en compte dans ces études. L'un des principaux facteurs de risque de la prise de poids sous INI est le genre féminin. De plus, chez les patients naïfs de traitements, une origine afro-américaine, une charge virale élevée, un taux de CD4+ bas, un IMC bas et une prise de TAF sont des facteurs aggravants (Bakal et al. 2018, Bhagwat et al. 2018, Debroy et al. 2019, Hill et al. 2019). Chez les patients sous *switch* avec un INI, les facteurs aggravants sont l'âge et un IMC élevé (Lake 2019, Lake et al. 2020).

Quelques études ont été réalisées *in vitro* et montrent que RAL ne semble pas avoir d'effet sur l'adipogenèse et les adipocytes (Minami et al. 2011, Perez-Matute et al. 2011, Moure et al. 2016). De plus, une étude montre que l'EVG altère l'adipogenèse (Moure et al. 2016).

L'ensemble de ces effets et les mécanismes physiopathologiques liés aux INI seront discutés dans le chapitre 4) Article 2.

### **c) Atteintes du tissu adipeux et comorbidités**

Les patients infectés par le VIH peuvent donc développer une lipodystrophie ou prendre du poids sous ARV. L'ensemble de ces altérations sont associées à une résistance à l'insuline, une stéatose hépatique et une augmentation du risque cardiovasculaire (Jan et al. 2004, Erlandson et al. 2017, Fourman et al. 2017). De manière générale, l'accumulation du TAV et la lipodystrophie chez les patients VIH augmentent d'avantage le risque de syndrome métabolique, de complications cardiovasculaires et de mortalité (Balasubramanyam et al. 2004, Lake et al. 2011, Scherzer et al. 2011, Langkilde et al. 2018, Srinivasa et al. 2018). Les PI ont largement été incriminés dans ces perturbations métaboliques en particulier la résistance à l'insuline, mais l'effet des autres classes d'ARV ne peut être exclu (Miller et al. 1998, Caron-Debarle et al. 2010).

## **3) Mécanismes physiopathologiques des antirétroviraux sur le tissu adipeux**

### **a) Toxicité mitochondriale et stress oxydant**

Une toxicité mitochondriale a été observée dans le TASC et le TAV de patients lipodystrophiques principalement avec l'utilisation des NRTI et des NNRTI. Elle se caractérise par une diminution de l'ADN mitochondrial (ADNmt), de l'expression de PGC1 $\alpha$ , et des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale (Shikuma et al. 2001, Walker et al. 2002, Kannisto et al. 2003, Giralt et al. 2006, De Pauw et al. 2009, Gallego-Escuredo et al. 2013, Walker et al. 2014).

*In vivo* et *in vitro*, les NRTI analogues de la thymidine ont été associés à une dysfonction des mitochondries (caractérisée par un défaut de potentiel membranaire associé à une augmentation de la masse mitochondriale compensatoire) et un stress oxydant qui participeraient aux altérations et à l'apoptose des adipocytes, favorisant la perte de TASC chez les patients lipodystrophiques (Anderson 2001, Walker et al. 2002, Lagathu et al. 2007, Caron et al. 2008, Boothby et al. 2009, Capel et al. 2012).

### **b) Inflammation**

L'utilisation des PI est associée au recrutement des cellules immunitaires et à une augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires dans le TASC (Kannisto et al.

2003, Jan et al. 2004, Shikuma et al. 2014). Il a été montré que les NRTI, l'EFV et les PI de première génération augmentent l'expression de facteurs inflammatoires dans les préadipocytes, les adipocytes et les macrophages (El Hadri et al. 2004, Lagathu et al. 2007, Gallego-Escuredo et al. 2010, Diaz-Delfin et al. 2011, Capel et al. 2012). Par ailleurs, une accumulation de lymphocytes T CD8+ est observée dans le TAV chez les patients infectés et sous ARV (Couturier et al. 2015, Damouche et al. 2017, Koethe et al. 2018). Cette accumulation est d'avantage le reflet d'un recrutement au niveau du TA que le résultat de la prolifération des lymphocytes T CD8+ résidents (Palmer et al. 2005, Focosi et al. 2010, Damouche et al. 2017). Il est important aussi de noter qu'une augmentation de lymphocytes T CD8+ et des lymphocytes T CD4+ mémoires dans le TASC est associée au diabète chez les patients infectés sous ARV (Brown et al. 2005, De Wit et al. 2008, Bastard et al. 2019, Wanjalla et al. 2019). Concernant les macrophages du TA, la quantité de macrophages mesurée dans le TASC et dans le TAV varie selon les études chez les patients sous HAART (Jan et al. 2004, Gallego-Escuredo et al. 2013, Shikuma et al. 2014). L'inflammation favorise la résistance à l'insuline du TA mais aussi une fibrose *via* l'induction de TGF- $\beta$  et l'apoptose des adipocytes, et contribuerait donc aux effets délétères observés chez les patients (Kannisto et al. 2003, Lihn et al. 2003, Jan et al. 2004, Johnson et al. 2004).

### c) Fibrose du tissu adipeux

Très peu d'études se sont intéressées à la fibrose du TA chez les patients VIH. Une étude récente réalisée chez les patients recevant un INI ou un PI associé à un NRTI ou un NNRTI montre l'existence d'une fibrose dans le TASC abdominal avec une augmentation des collagènes I et VI, de la fibronectine (Bastard et al. 2002, Utay et al. 2018). Aucune étude ne s'est intéressée à la fibrose du TAV chez les patients contrôlés sous ARV. La fibrose du TA pourrait contribuer à l'existence de petits adipocytes observée notamment en réponse aux ARV de première génération. Elle pourrait également être secondaire aux dysfonctions des adipocytes (hypertrophie) ou l'inflammation locale qui sont observés dans le TA de certains patients infectés sous ARV.

En conclusion, les patients infectés par le VIH peuvent développer différentes redistribution et atteintes du TA selon la classe et la génération d'ARV (Tableau 2).

			
<b>Redistribution du TA naïfs de traitements</b> Défaut d'adipogenèse Inflammation Atteinte mitochondriale	<b>Lipoatrophie périphérique ou généralisée</b> <b>1ère génération ARV</b> Défaut d'adipogenèse Dysfonctions adipocytaires Fibrose Inflammation Atteinte mitochondriale Stress oxydant	<b>Lipohypertrophie centrale certains PI</b> Fibrose Inflammation	<b>Prise de poids /Obésité INI</b> Quelles sont les atteintes ?

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des atteintes décrites dans le tissu adipeux sous-cutané des patients infectés par le VIH selon la classe d'antirétroviraux et le type de redistribution.

ARV : antirétroviraux, PI : inhibiteurs de la protéase, INI : inhibiteurs de l'intégrase, TA : tissu adipeux, TASC : tissu adipeux sous-cutané.

#### 4) Article 2: The Integrase Inhibitors Dolutegravir and Raltegravir Exert Proadipogenic and Profibrotic Effects and Induce Insulin Resistance in Human/Simian Adipose Tissue and Human Adipocytes

##### a) Contexte de l'étude et résumé des résultats

La prise de poids et les atteintes du TA sont des préoccupations majeures chez les patients infectés par le VIH, de par leurs rôles dans les complications cardiométraboliques. Une prise de poids est dite significative lors qu'elle est de + 5% du poids et cela est basé sur les études cliniques qui évaluent l'efficacité d'une drogue sur la perte de poids chez les patients obèses (Hill et al. 2019). Très peu d'études se sont intéressées aux mécanismes qui sous-tendent l'accumulation de TA induite par les INI. De plus, l'impact des INI sur la sensibilité à l'insuline fait débat (Young et al. 2015, Dirajlal-Fargo et al. 2016, Hulgan 2018, Langkilde et al. 2018, Offor et al. 2018, Calza et al. 2019, Katlama et al. 2019). Même si la toxicité métabolique de ces derniers n'est pas démontrée, il a été rapporté des cas de diabète chez des patients suite à un changement de combinaison thérapeutique incluant un INI (Kamei et al. 2015, Fong et al. 2017, Horikawa et al. 2018, McLaughlin et al. 2018). Le but de notre étude est donc d'évaluer l'impact des INI sur le phénotype et la fonction du TA *in vivo* et *in vitro*.

L'analyse du TASC et du TAV de patients obèses infectés par le VIH, traités ou non par des INI, a révélé une fibrose péri-adipocytaire accrue dans le TAV en présence d'INI. En accord,

dans un modèle original de macaques non infectés mais traités par des INI, nous avons observé une fibrose accrue, associée à une hypertrophie adipocytaire et une augmentation de l'expression de marqueurs adipogéniques. Une diminution de l'expression de l'adiponectine dans le TASC était en faveur de la présence d'adipocytes dysfonctionnels. *In vitro*, en réponse aux INI, les ASC humaines isolées à partir de donneurs sains et les adipocytes différenciés *in vitro* ont acquis un phénotype pro-fibrosant. En accord avec les observations faites sur le TASC et TAV, *in vitro* les INI favorisaient l'accumulation des triglycérides, augmentaient l'expression de marqueurs adipogéniques, mais diminuaient l'expression d'adiponectine suggérant une situation dichotomique dans laquelle les INI exercent un effet proadipogénique associé à une dysfonction adipocytaire.

L'ensemble de ces résultats, qui révèlent l'effet délétère des INI sur le TA, permet une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans l'accumulation de TA et des complications cardiométaboliques observées chez les patients infectés par le VIH sous INI.

# The Integrase Inhibitors Dolutegravir and Raltegravir Exert Preadipogenic and Profibrotic Effects and Induce Insulin Resistance in Human/Simian Adipose Tissue and Human Adipocytes

Jennifer Gorwood,<sup>1</sup> Christine Bourgeois,<sup>2</sup> Valérie Pourcher,<sup>3,4</sup> Guillaume Pourcher,<sup>5</sup> Frédéric Charlotte,<sup>6</sup> Matthieu Mantecon,<sup>1</sup> Cindy Rose,<sup>1</sup> Romain Morichon,<sup>1</sup> Michael Atlan,<sup>1,7</sup> Roger Le Grand,<sup>2</sup> Delphine Desjardins,<sup>2</sup> Christine Katlama,<sup>3,4</sup> Bruno Fève,<sup>1,8</sup> Olivier Lambotte,<sup>2,9</sup> Jacqueline Capeau,<sup>1</sup> Véronique Béreziat,<sup>1,a</sup> and Claire Lagathu<sup>1,a,✉</sup>

<sup>1</sup>Sorbonne Université, Inserm Unité Mixte de Recherche S938, Centre de Recherche Saint-Antoine, Institut Hospitalo-Universitaire de Cardio-Métabolisme et Nutrition, Paris, France, <sup>2</sup>Commissariat à l'Energie Atomique, Université Paris Sud 11, Inserm U1184, Center for Immunology of Viral Infections and Autoimmune Diseases, Infectious Disease Models and Innovative Therapies Department, Fontenay-aux-Roses, France, <sup>3</sup>Assistance publique—Hôpitaux de Paris, Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Service de maladies infectieuses et tropicales, Paris, France, <sup>4</sup>Sorbonne Université-Inserm, Institut Pierre Louis d'Épidémiologie et de Santé Publique, Paris, France, <sup>5</sup>Obesity Center, Institut Mutualiste Montsouris, Paris Descartes University, Paris, France, <sup>6</sup>Assistance publique—Hôpitaux de Paris, Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Service d'Anatomie Pathologique, Paris, France, <sup>7</sup>Assistance publique—Hôpitaux de Paris, Hôpital Tenon, Service de Chirurgie Plastique et Esthétique, Paris, France, <sup>8</sup>Assistance publique—Hôpitaux de Paris, Hôpital Saint-Antoine, Pathologies de la Résistance à l'Insuline et de l'Insulino-Sensibilité, Service d'Endocrinologie, Diabétologie et Reproduction, Paris, France, and <sup>9</sup>Assistance publique—Hôpitaux de Paris, Hôpital Bicêtre, Service de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Kremlin-Bicêtre, France

**Background.** Although some integrase strand transfer inhibitors (INSTIs) promote peripheral and central adipose tissue/weight gain in people with human immunodeficiency virus (PHIV), the underlying mechanism has not been identified. Here, we used human and simian models to assess the impact of INSTIs on adipose tissue phenotype and function.

**Methods.** Adipocyte size and fibrosis were determined in biopsies of subcutaneous and visceral adipose tissue (SCAT and VAT, respectively) from 14 noninfected macaques and 19 PHIV treated or not treated with an INSTI. Fibrosis, adipogenesis, oxidative stress, mitochondrial function, and insulin sensitivity were assessed in human proliferating or adipocyte-differentiated adipose stem cells after long-term exposure to dolutegravir or raltegravir.

**Results.** We observed elevated fibrosis, adipocyte size, and adipogenic marker expression in SCAT and VAT from INSTI-treated noninfected macaques. Adiponectin expression was low in SCAT. Accordingly, SCAT and VAT samples from INSTI-exposed patients displayed higher levels of fibrosis than those from nonexposed patients. In vitro, dolutegravir and, to a lesser extent, raltegravir were associated with greater extracellular matrix production and lipid accumulation in adipose stem cells and/or adipocytes as observed in vivo. Despite the INSTIs' proadipogenic and prolipogenic effects, these drugs promoted oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and insulin resistance.

**Conclusions.** Dolutegravir and raltegravir can directly impact adipocytes and adipose tissue. These INSTIs induced adipogenesis, lipogenesis, oxidative stress, fibrosis, and insulin resistance. The present study is the first to shed light on the fat modifications observed in INSTI-treated PHIV.

**Keywords.** integrase inhibitor; adipose tissue; fibrosis; oxidative stress; insulin resistance.

Integrase strand transfer inhibitors (INSTIs) are often prescribed as part of first-line treatment for human immunodeficiency virus (HIV) infection [1] or as a switch strategy in well-controlled older patients [2]. Recently, increased weight/fat gain in INSTI-exposed patients has been observed, and this is a worrying side effect [3–5].

Received 10 December 2019; editorial decision 28 February 2020; accepted 9 March 2020; published online March 13, 2020.

<sup>a</sup>V. B. and C. L. contributed equally to this work.

Correspondence: C. Lagathu, Sorbonne Université, Inserm Unité Mixte de Recherche S938, Centre de Recherche Saint Antoine, 27 rue Chaligny, F-75012 Paris, France ([claire.lagathu@inserm.fr](mailto:claire.lagathu@inserm.fr)).

Clinical Infectious Diseases® 2020;XX(XX):1–16

© The Author(s) 2020. Published by Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For permissions, e-mail: [journals.permissions@oup.com](mailto:journals.permissions@oup.com). DOI: 10.1093/cid/ciaa259

In people with HIV (PHIV), the body mass index (BMI) has been steadily increasing, with greater weight gain after antiretroviral therapy (ART) initiation among women and patients with a low CD4<sup>+</sup> T-cell count [6]. INSTI-based regimens have been associated with further central and peripheral weight/fat gain in ART-naïve and ART-experienced patients [7–10]. This has been reported with dolutegravir (DTG) and, to a lesser extent, raltegravir (RAL) in both groups [4, 5, 9–11].

Adipose tissue (AT) gain can be due to either (i) adipocyte hyperplasia following the recruitment and adipogenesis of adipose stem cells (ASCs) driven by the proadipogenic transcription factors CCAAT/enhancer-binding protein  $\alpha$  (C/EBP $\alpha$ ) and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) or (ii) adipocyte hypertrophy linked to increased lipogenesis, driven

mainly by the transcription factor sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP-1c).

The pathophysiological mechanisms involved in AT dysfunction in the context of HIV infection are still poorly understood and multifactorial. AT inflammation and fibrosis are hallmarks of metabolically challenged adipocytes. At the onset of obesity, AT fibrosis (either perilobular or periadipocyte) is characterized by abnormally high levels of extracellular matrix (ECM) deposition (mainly collagens). Periadipocyte fibrosis and elevated collagen VI levels have been associated with poor metabolic outcomes [12]. The acquisition of a profibrotic phenotype by ASCs (characterized by increased expression of ECM components and  $\alpha$  smooth muscle actin [ $\alpha$ SMA]) is thought to be a key mechanism in the onset of AT fibrosis [12].

The impact of INSTIs on AT morphology and function in vivo has not previously been evaluated. In vitro studies showed that RAL minimally affected adipocyte lineages [13, 14]. The impact of DTG on adipocyte biology has not previously been studied, and the mechanisms involved in INSTIs' effects have yet to be identified. Furthermore, it is not known whether INSTI-induced AT accumulation is metabolically harmful or whether these drugs have an impact on insulin sensitivity. Indeed, increased fat/weight following ART initiation has been linked to an increased risk of insulin resistance and diabetes [15–17].

The objective of the present study was to characterize the impact of INSTIs on AT morphology and function in vivo. We had access to subcutaneous and visceral adipose tissue (SCAT and VAT, respectively) biopsies from 2 unique in vivo models: treated but noninfected macaques, and obese PHIV treated with an INSTI. In vitro, we studied human proliferating ASCs and differentiating/differentiated adipocytes to determine whether DTG or RAL exerted a direct impact on ECM production, adipogenesis, oxidative stress, lipogenesis, and insulin sensitivity.

## MATERIALS AND METHODS

### Adipose Tissue Samples From Macaques

Cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) were imported from Mauritius and housed in the Commissariat à l'Energie Atomique (CEA) animal facility (Infectious Disease Models and Innovative Therapies; government accreditation number D92–032–02). Macaques were treated or not daily for 2 weeks with an INSTI-containing regimen [18] (Supplementary Table 1). Pharmacokinetic studies were performed at first to determine the optimal doses depending on the route of administration, allowing us to obtain plasma concentrations similar to those observed in humans. The study was approved by the French Ministry of Education, Higher Education and Research and the local animal care and use committee (Comité d'Ethique en matière d'Expérimentation Animale 44, Paris, France; reference number 2015102713323361.02, Autorisation de Projet utilisant des Animaux à des Fins Scientifiques number 2453).

The animal facility complied with the Standards for Human Care and Use of Laboratory of the United States Office for Laboratory Animal Welfare (number A5826–01) and the European Directive (2010/63/EU, recommendation number 9). At necropsy, SCAT and VAT samples were collected.

### Adipose Tissue Samples From ART-Treated PHIV

SCAT and VAT biopsies were obtained from obese PHIV from the Study of HIV infection on an obese Cohort [19] undergoing bariatric surgery, treated or not treated with an INSTI-containing regimen (Supplementary Table 2). All patients provided written informed consent.

### Adipose Tissue Histology

Samples were fixed in 4% paraformaldehyde (Sigma-Aldrich, St Louis, Missouri) for 48 hours and stained with Sirius red [20]. Adipocyte size and fibrosis index were determined using a semiautomatic image analysis system [20]. Fibrosis index is defined as the ratio of fibrosis to total AT surfaces. Periadipocyte and perilobular fibrosis were scored as 0, 1, or 2 as previously described [21].

### Isolation, Culture, and INSTI Treatment of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells

Human SCAT samples, used for isolation of ASCs, were obtained from 8 healthy women ( $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ ). All provided their prior written informed consent. The research complied with the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the independent ethics committee [20]. During expansion, ASCs were exposed for 2 weeks to INSTIs at peak concentration ( $C_{\max}$ ) (DTG: 3.1  $\mu\text{g/mL}$ , RAL: 2.1  $\mu\text{g/mL}$ ; SCBT, Dallas, Texas) [22] or to 0.1% dimethyl sulfoxide (DMSO) as a control.

### Adipocyte Differentiation

Adipocyte differentiation was induced for 2 weeks [20]. ASCs were either exposed to DTG or RAL throughout differentiation and analyzed on days 7 and 14, or were first differentiated into adipocytes for 14 days and then exposed to DTG or RAL for 6 days and analyzed on day 20. To evaluate lipid accumulation, cells were stained with Oil-Red-O (Sigma-Aldrich) [20].

### RNA Isolation and Quantitative Reverse-transcription Polymerase Chain Reaction

Total RNA was isolated from macaque AT samples using QIAzol reagent (Macherey-Nagel, Hoerdt, France) or from cultured cells using RNeasy mini-columns (Qiagen, Courtaboeuf, France). Messenger RNA expression was analyzed using reverse-transcription polymerase chain reaction [23, 24] (see Supplementary Tables 3 and 4 for primer sequences).

### Western Blotting

After protein extraction, the samples underwent sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis and were blotted onto nitrocellulose membranes. Specific proteins were detected using antibodies against collagen 1- $\alpha$ 2, collagen 6- $\alpha$ 1

(SCBT), phospho-Akt-ser473, Akt, IR $\beta$ , anti-phosphotyrosine (for phospho-IR $\beta$ ) (Cell Signaling Technology), and tubulin (Sigma-Aldrich).

#### Quantification of Protein Secretion Into Cell Culture Media

The fibronectin concentration was determined using a Quantikine enzyme-linked immunosorbent assay kit (Biotechne, San Jose, California). The adipokine concentration was determined using a Proteome profiler adipokine array kit (Biotechne), according to the manufacturer's instructions.

#### Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction

The production of reactive oxygen species (ROS) was assessed by the oxidation of 5–6-chloromethyl-2,7-dichlorodihydro-fluorescein-diacetate (CM-H<sub>2</sub>DCFDA). We used tetrachloro-tetra-ethyl-benzimidazolyl-carbocyanine iodide (JC-1) to evaluate mitochondrial membrane potential, and the MitoTracker Red probe to measure mitochondrial mass [22, 25] (all from ThermoFisher Scientific). Fluorescence was measured in cells after 120 minutes at 37°C in the dark. Results were normalized to 4',6-diamidino-2-phenylindole fluorescence [26].

#### Insulin Signaling and Glucose Transport

Adipocytes were serum-starved for 18 hours. Insulin sensitivity was evaluated after 7 minutes with 100 nM insulin by Western blot as the ratio of phosphorylated Akt/total Akt and of phospho-IR $\beta$ /total IR $\beta$ . Insulin-stimulated glucose uptake was assessed using the Glucose Uptake Glo assay kit (Promega, Madison, Wisconsin) after 60 minutes with insulin 100 nM. Results were expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean fold increased luminescence.

#### Statistical Analysis

All in vitro experiments were performed between 3 and 10 times in triplicate samples. Differences between INSTI-treated/nontreated patients or ART-treated/nontreated macaques were probed in an unpaired parametric Student *t* test. Differences between INSTI-treated and DMSO-treated cells were probed with a parametric or nonparametric *t* test. Differences in the level of periadipocyte fibrosis were probed in a  $\chi^2$  test. The threshold for statistical significance was set to  $P < .05$ . All analyses were performed using Prism 5.0 software (GraphPad Software, La Jolla, California).

## RESULTS

#### SCAT and VAT From Dolutegravir-Treated Macaques Display Elevated Fibrosis, Large Adipocytes, and High Levels of Adipogenic Markers

Fibrotic bundles and thickening of fat lobules were evidenced by Sirius red staining. The fibrosis index in SCAT was 45.5% for ART-treated vs 24.6% ( $P < .0001$ ) for control macaques. The fibrosis index in VAT was 30.0% in ART-treated vs 14.2%

in control macaques ( $P < .021$ ). These differences were mainly due to marked periadipocyte fibrosis in the SCAT and VAT of ART-treated but not control macaques (Figure 1A and 1B). The adipocyte size distribution was homogeneous in the AT of control macaques, whereas AT from ART-treated macaques presented clusters of large adipocytes ( $> 5000 \mu\text{m}^2$ ) (Figure 1A and 1C). Expression levels of the proadipogenic factors CEBPA and PPARG in SCAT were higher in ART-treated macaques than in controls (Figure 1D), whereas ADIPOQ expression was lower (Figure 1D). These data suggest that INSTIs induce fibrosis, adipocyte enlargement, and gene expression changes in both SCAT and VAT.

#### An INSTI-Containing Regimen Is Associated With Elevated Fibrosis in Human SCAT and VAT, Relative to an INSTI-Sparing Regimen

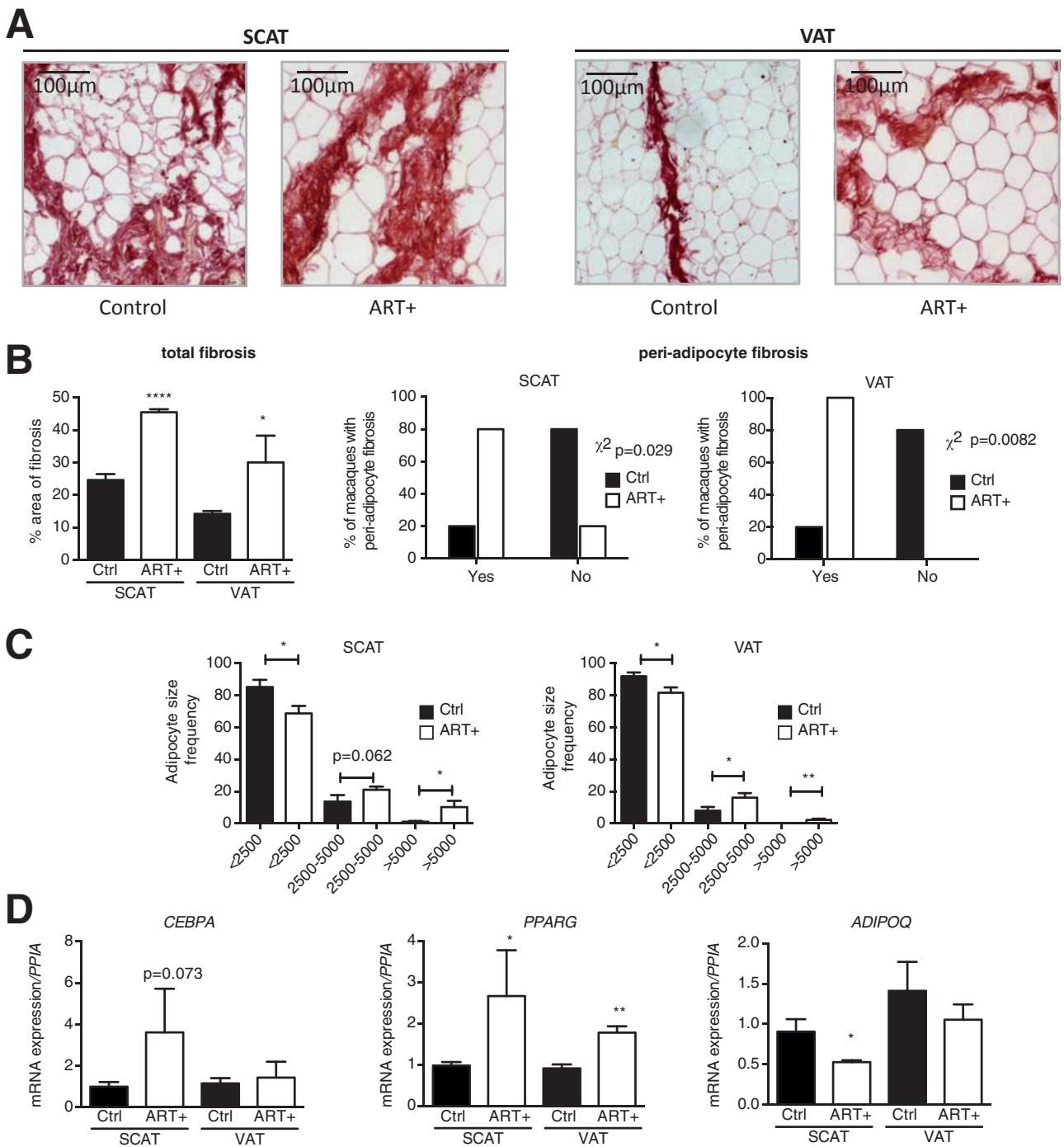
Nineteen PHIV underwent bariatric surgery (Supplementary Table 2). All but 1 patient had received conventional ART before being switched to an INSTI regimen (9 DTG, 3 cobicistat-boosted elvitegravir, 2 RAL), and all but 1 were obese at that time. The mean duration of INSTI treatment was 29 months and the mean weight gain was  $5.2 \pm 1.4 \text{ kg/year}$ . Only 21% (3/14) of INSTI-treated and 40% (2/5) of non-INSTI-treated patients were already obese at 20 years old. Familial cases were reported in 36% (5/14) of INSTI-treated and in 100% (5/5) of non-INSTI-treated patients. The fibrosis index in SCAT and VAT were higher in the 14 INSTI-treated than in the 5 non-INSTI-treated patients (Figure 2A and 2B). In both groups, the SCAT presented perilobular and periadipocyte fibrosis (Figure 2A and 2B). However, the level of periadipocyte fibrosis was higher in the VAT of INSTI-treated than in non-INSTI-treated patients (Figure 2A and 2B).

#### DTG and RAL Induce a Profibrotic Phenotype, Oxidative Stress, and Mitochondrial Dysfunctions in ASCs and in Adipocytes In Vitro

We then studied the impact of DTG and RAL on proliferating ASCs. INSTI treatment led to elevated levels of collagens (Figure 3A), fibronectin (Figure 3B), and the myofibroblast marker  $\alpha$ SMA (ACTA2) (Figure 3C). In adipocytes, the 2 INSTIs upregulated collagen protein expression (Figure 3D). These results strongly suggest that DTG and RAL induce AT fibrosis by promoting a profibrotic phenotype in ASCs and adipocytes. We also observed that INSTIs increased ROS production (Figure 4A and 4C) and induced mitochondrial dysfunction characterized by increased mitochondrial mass and decreased membrane potential (Figure 4B and 4D) in proliferating ASCs and, to a lower extent, in adipocytes.

#### DTG and RAL Promote Adipogenesis and Lipid Accumulation In Vitro

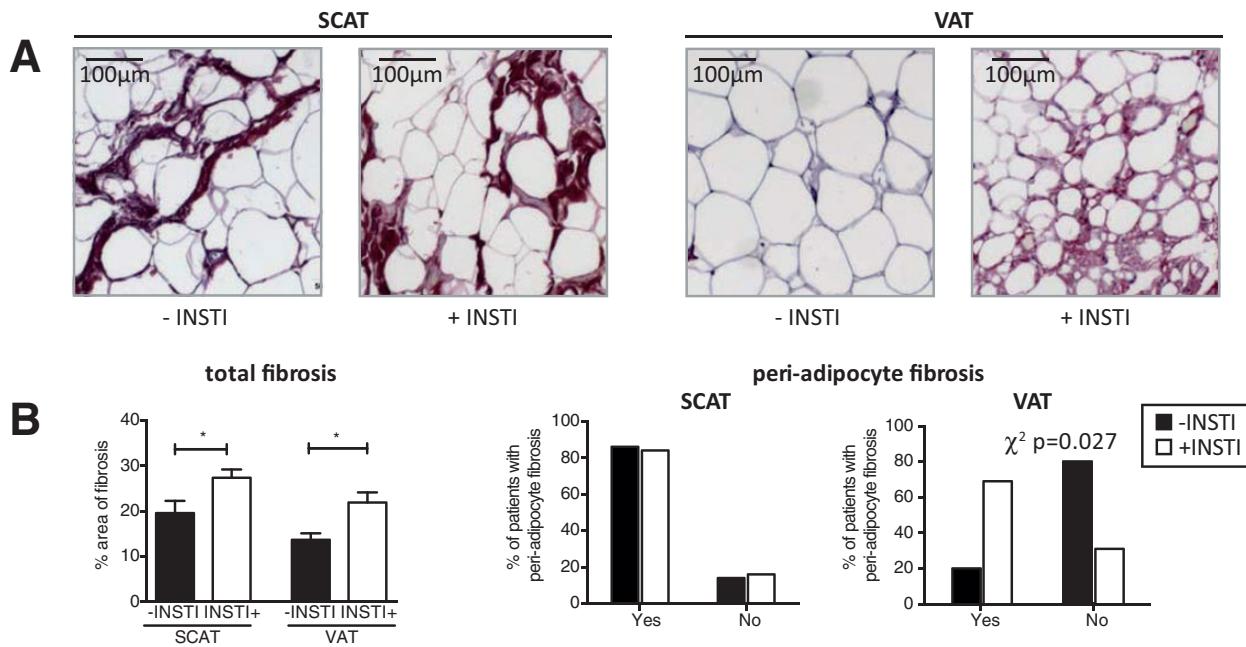
Treatments with DTG and, to a lesser extent, RAL were associated with greater lipid accumulation via elevated expression of proadipogenic markers, particularly at  $C_{\max}$  (Supplementary Figure 1), during early (day 7) and late (day 14) differentiation (Figure 5A and 5B). Both INSTIs increased expression of the proadipogenic



**Figure 1.** Subcutaneous and visceral adipose tissue from antiretroviral therapy-treated (ART+) macaques exhibits fibrosis and elevated adipogenic marker expression. *A*, Light microscopy analysis of adipose tissue depots stained with Sirius red to detect collagen fibers. Representative photographs are shown (magnification:  $\times 10$ ; scale bar, 100  $\mu$ m). *B*, Fibrosis index in subcutaneous adipose tissue (SCAT) and visceral adipose tissue (VAT) was calculated (left panel) and the proportion of macaques with periadipocyte fibrosis was determined, as described in the Materials and Methods (right panel). *C*, Distribution of adipocyte size in SCAT and VAT depots in control and ART+ macaques. *D*, CCAAT/enhancer-binding protein alpha (*CEBPA*), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (*PPARG*), and adiponectin (*ADIPOQ*) messenger RNA (mRNA) levels were measured using real-time polymerase chain reaction. The relative mRNA expression levels were normalized against cyclophilin A (*PPA*). All results were obtained from triplicate measurements and are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean for the control (Ctrl) group and the ART+ group ( $n = 4$ -5 animals per group). \* $P < .05$ , \*\* $P < .01$ , \*\*\* $P < .0001$  vs Ctrl (nontreated) animals.

genes *CEBPA* and *PPARG* (Figure 5C; Supplementary Figure 1). DTG, but not RAL, was also associated with greater gene expression of the prolipogenic factor *SREBP1C* and the lipid metabolism

markers *FAS* and *FABP4* (Figure 5D). It is noteworthy that DTG was associated with decreased expression and/or secretion of adiponectin and leptin (Figure 6A). We showed that DTG also



**Figure 2.** The level of fibrosis in subcutaneous adipose tissue (SCAT) and visceral adipose tissue (VAT) from integrase strand transfer inhibitor (INSTI)-treated obese patients is higher than in patients not treated with INSTIs. *A*, Light microscopy analysis of adipose tissue depots stained with Sirius red to reveal collagen fibers. Representative photographs are shown (magnification  $\times 10$ ; scale bar: 100  $\mu\text{m}$ ). *B*, The fibrosis index in SCAT and VAT was calculated (left panel), and the proportion of patients with periadipocyte fibrosis was measured, as described in the Materials and Methods (right panel). All results were obtained from triplicate experiments and are expressed as the mean  $\pm$  standard error of the mean for INSTI-treated patients ( $n = 14$ ) vs non-INSTI-treated patients ( $n = 5$ ). \* $P < .05$  vs non-INSTI-treated patients.

promoted lipid accumulation when added on already differentiated mature adipocytes (Figure 6B). These results indicate that INSTIs (particularly DTG) enhance adipogenesis and lipogenesis in differentiating ASCs and mature adipocytes.

#### DTG and RAL Induce Insulin Resistance in Adipocytes In Vitro

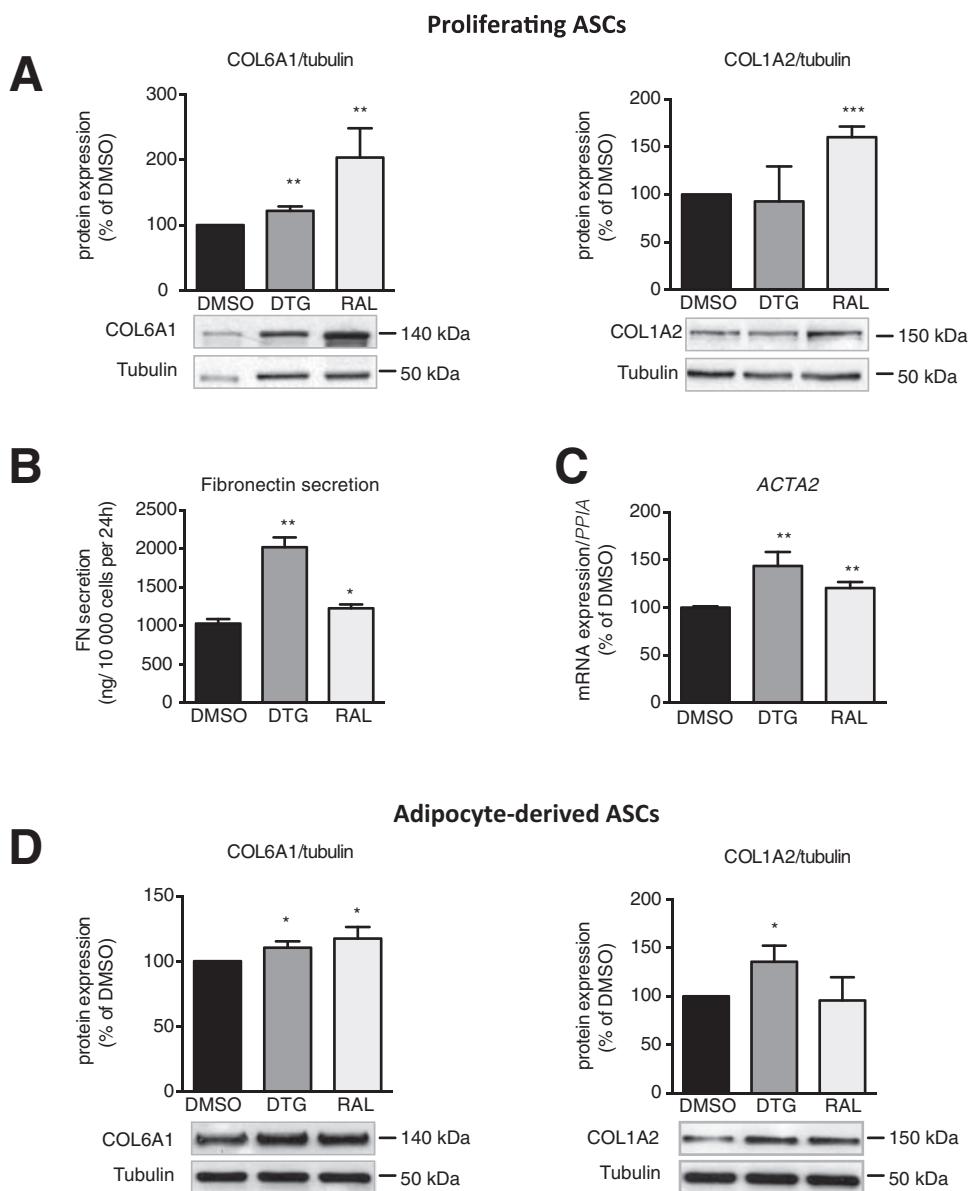
In ASCs treated during (Figure 7A and 7C) or after (Figure 7B and 7D) differentiation, INSTIs inhibited acute insulin-induced phosphorylation of the insulin receptor and Akt (a key enzyme of the insulin signaling pathway) and blunted insulin-induced glucose transport (Figure 7E and 7F). These data indicate that INSTIs favor the onset of insulin resistance.

## DISCUSSION

Here, we used unique in vivo models—INSTI-treated PHIV and noninfected macaques—to show for the first time that treatment with DTG or RAL is associated with elevated AT fibrosis and other adipose alterations. In a series of in vitro experiments, we demonstrated that DTG-treated and, to a lesser extent, RAL-treated ASCs and adipocytes acquired a profibrotic phenotype, enhanced oxidative stress, promoted lipid accumulation (probably through the activation of lipogenic pathways), and favored the onset of insulin resistance in adipocytes.

Several studies have highlighted increases in weight, BMI, incidence of obesity, and an overall increase in body fat with INSTI treatment, especially DTG and RAL [3–5, 7, 8]. Hence, we sought to identify the mechanisms underlying this fat gain.

First, we observed an increase in adipocyte size in the AT of noninfected INSTI-treated macaques, suggesting that INSTIs can induce adipocyte hypertrophy. DTG has been detected within adipocytes and the stromavascular fraction in VAT [27], suggesting that it has access to ASCs and adipocytes in vivo. RAL has a high level of tissue penetration and therefore is likely to accumulate in AT [19]. Consistently, our in vitro data revealed for the first time that DTG and, to a lesser extent, RAL can directly promote lipid accumulation by enhancing both adipogenic and lipogenic pathways in adipocytes. Interestingly, in differentiating ASCs, DTG had a higher impact on lipogenic than adipogenic gene expression, suggesting that DTG-induced adipocyte hypertrophy is rather due to a prolipogenic effect. Raltegravir treatment was associated with a slight elevation in lipid accumulation but did not affect adipogenesis per se, as the expression of the proadipogenic markers PPARG and CEBPA was not elevated as compared to the control. Our findings are in line with literature data showing that RAL did not impact adipogenesis [13, 14, 28]. It has been previously shown that protease inhibitors (atazanavir and lopinavir) and efavirenz can alter adipogenesis, with low levels of adipogenic marker expression in human adipocytes (unpublished data and [13, 25]), suggesting that the INSTIs differ from other antiretrovirals with regard to their impact on adipogenesis and lipogenesis. Thus, our results indicate that DTG and RAL promote adipocyte hypertrophy, thus increasing the fat mass and weight in INSTI-treated patients.

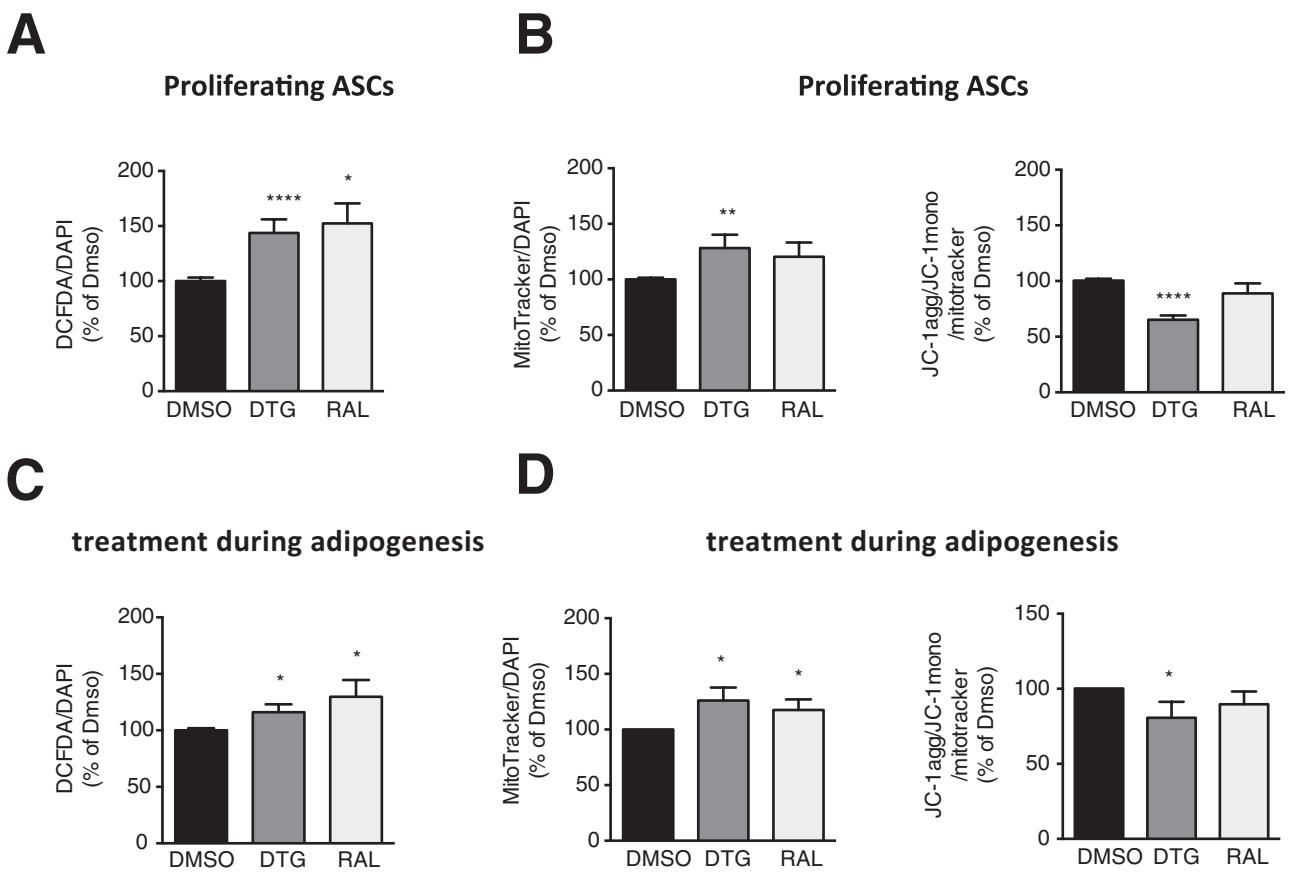


**Figure 3.** Long-term exposure to dolutegravir (DTG) and raltegravir (RAL) in proliferating adipose stem cells (ASCs) and in adipocytes is associated with greater expression of extracellular matrix proteins. *A–C*, ASCs were maintained in a proliferating, undifferentiated state for 15 days, treated with DTG (3.1 µg/mL) or RAL (2.1 µg/mL), and compared with cells treated with .1% dimethyl sulfoxide (DMSO). Total messenger RNA (mRNA) and whole-cell lysates were extracted and analyzed using reverse-transcription polymerase chain reaction and immunoblotting assays, respectively. *A*, Representative immunoblots for human collagen 6 (COL6A1) and 1 (COL1A2), normalized against tubulin as a loading control. *B*, Level of fibronectin (FN) in the cell culture medium was determined with an enzyme-linked immunosorbent assay. The results are expressed as nanograms per 10 000 cells per 24 hours. *C*, Human  $\alpha$ -smooth muscle actin (ACTA2) mRNA levels, normalized against PPIA mRNA. *D*, ASC-differentiated adipocytes were treated with integrase strand transfer inhibitors after 2 weeks of differentiation. Whole-cell lysates were prepared and analyzed in immunoblots. Representative immunoblots for human COL6A1 and COL1A2 (quantified against tubulin as a loading control) are shown. The data are quoted as the mean  $\pm$  standard error of the mean. All experiments were performed in triplicate. \* $P < .05$ , \*\* $P < .01$ , \*\*\* $P < .001$  vs DMSO-treated cells. Abbreviation: PPIA, peptidylprolyl isomerase A.

We hypothesized that this process might result from increased oxidative stress. Indeed, lipohypertrophy in PHIV has previously been linked to mitochondrial toxicity in AT [29], and DTG can induce mitochondrial dysfunction and oxidative stress in CD4 T-lymphocytes [30]. Accordingly, we found that DTG and RAL promoted ROS production and mitochondrial dysfunction.

Fibrosis is a major feature of AT dysfunction [12]. We observed a significant elevation of the fibrosis index in SCAT

and VAT in ART-treated macaques. Accordingly, we found that total fibrosis was elevated in the SCAT and VAT of obese INSTI-exposed PHIV, when compared with patients on an INSTI-sparing regimen. In the context of obesity, elevated fibrosis is mainly due to periadipocyte fibrosis; the latter has been linked to metabolic disorders [12] and was observed in SCAT and VAT of INSTI-treated macaques and in VAT of INSTI-treated patients.



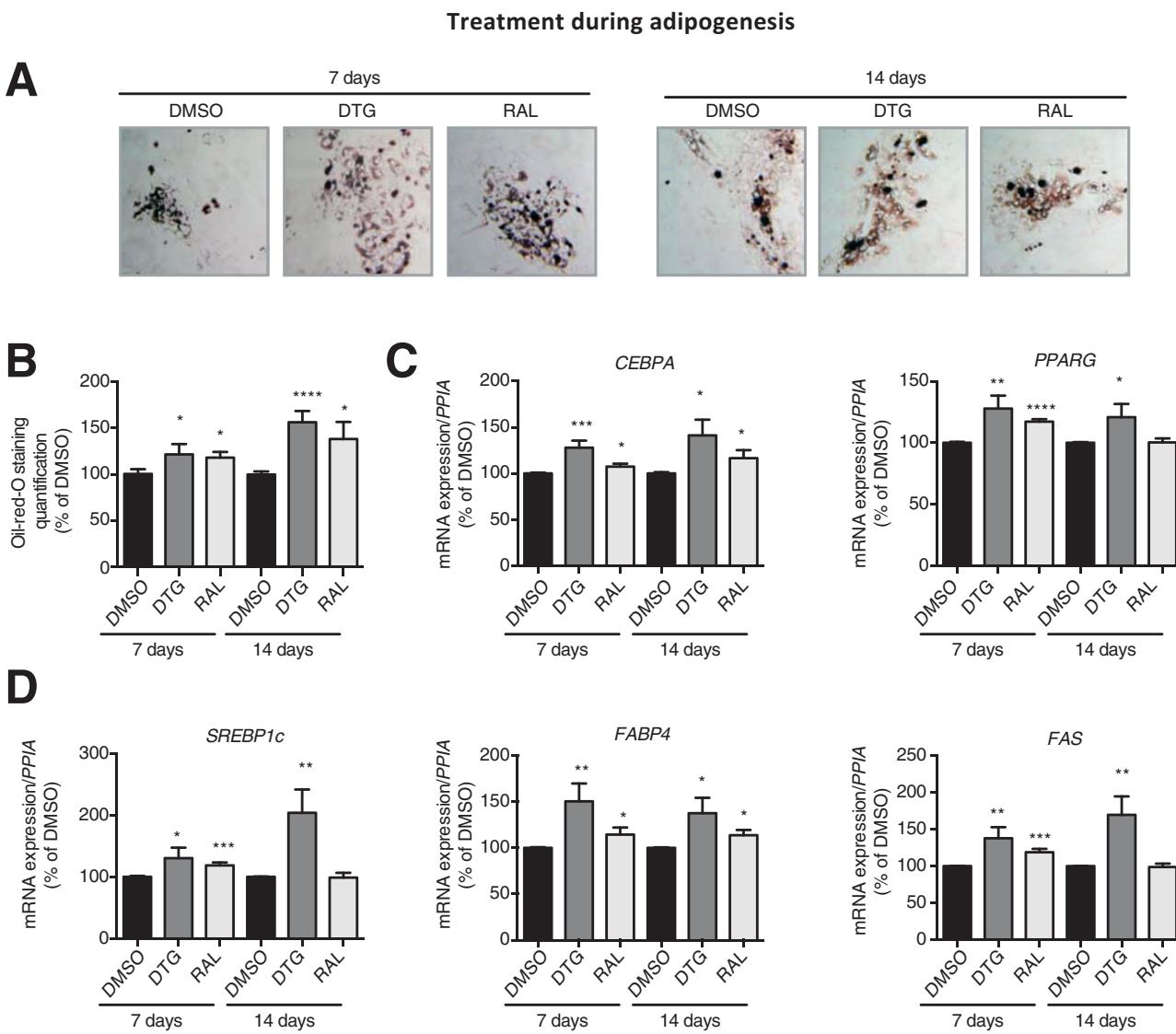
**Figure 4.** Long-term exposure of proliferating adipose stem cells (ASCs) and adipocytes to dolutegravir (DTG) and raltegravir (RAL) is associated with elevated reactive oxygen species (ROS) levels and mitochondrial dysfunction. ASCs were maintained in a proliferating, undifferentiated state (*A* and *B*) or were induced to differentiate into adipocytes (*C* and *D*). The cells were treated for 2 weeks with DTG (3.1 µg/mL) or RAL (2.1 µg/mL) and compared with cells treated with dimethyl sulfoxide (DMSO). ROS production was assessed by CM-H<sub>2</sub>DCFDA in proliferating ASCs (*A*) or in ASC-differentiated adipocytes (*C*), as described in the Materials and Methods. Mitochondrial mass and membrane potential were assessed by MitoTracker and JC-1 aggregation, respectively, in proliferating ASCs (*B*) or in ASC-differentiated adipocytes (*D*), as described in the Materials and Methods. The data are expressed as the mean ± standard error of the mean. All experiments were performed in triplicate. \**P* < .05, \*\**P* < .01, \*\*\**P* < .0001 vs DMSO-treated cells. Abbreviations: CM-H<sub>2</sub>-DCFDA, chloromethyl- diacétate de dichlorodihydrofluorescéine 2',7'; DAPI, 4',6-diamidino-2-phenylindole; JC, tetrachlorotetraethyl-benzimidazolyl-carbocyanine iodide.

There are several possible explanations for these differences between the macaques and the patients, including the duration of INSTI treatment, the species, the sex (the female/male ratio was 1:13 for the macaques and 15:4 for the patients), the metabolic state (morbidly obese patients vs chubby macaques), and the infection status. Moreover, it has recently been shown that tenofovir alafenamide (TAF) promoted more weight gain than tenofovir disoproxil fumarate (TDF) in combination with INSTIs and that TDF could have a protective effect in that setting [5, 31]. All of our treated macaques received TDF. In the ObeVIH study, 2 of the 14 INSTI-treated patients were taking TAF and 2 TDF, whereas 4 of the 5 non-INSTI-treated patients were taking TDF and none TAF. Hence, we cannot rule out an influence of TDF or TAF, in addition to INSTI, on the differences in adipose profiles between the 2 groups of macaques and of patients.

In vitro, we found that both DTG and RAL induced a profibrotic phenotype in ASCs and adipocytes, suggesting that

these cells are key players in the onset of AT fibrosis. Fibrosis can result from AT inflammation [12]; this is rather unlikely in the present context, since RAL has no effect on cytokine secretion in adipocytes and is associated with a decrease in inflammation in endothelial cells [13, 22]. Moreover, an assessment of dorsocervical AT in HIV-linked lipodystrophy revealed that the elevation in AT fibrosis was not associated with inflammation [23]. Taken as a whole, these data indicate that INSTIs have a profibrotic effect, especially at the periadipocyte level, but the mechanisms involved remain speculative.

The impact of INSTIs on insulin sensitivity is still subject to debate. Some researchers have not observed any impact of INSTIs on the homeostatic model assessment of insulin resistance or glycemia [32, 33]. Nonetheless, other researchers have found that DTG and RAL promoted insulin resistance and lowered circulating adiponectin levels [8, 15, 34–36]. Accordingly, adiponectin expression was low in the SCAT of INSTI-treated macaques. Moreover, despite DTG's

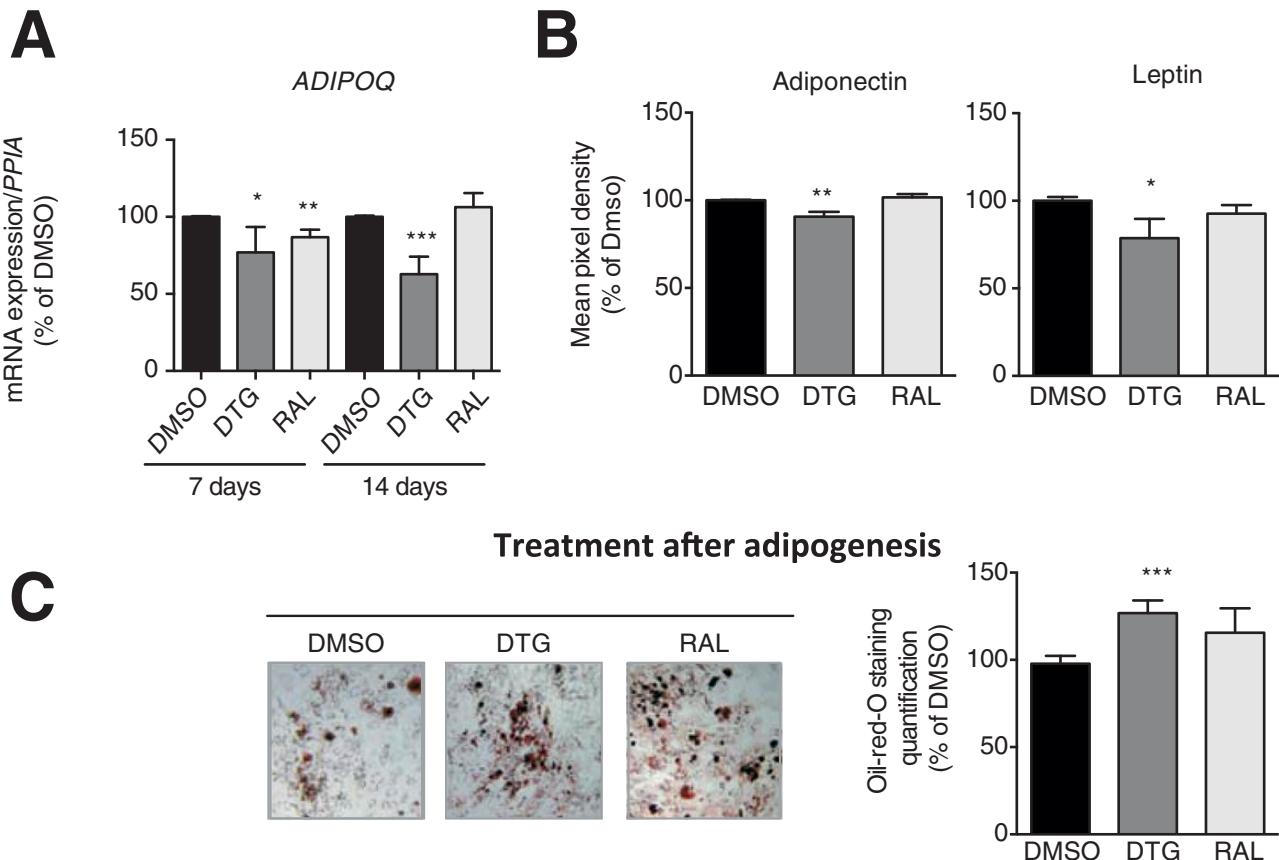


**Figure 5.** Chronic treatment with dolutegravir (DTG) and raltegravir (RAL) at peak concentration is associated with elevated adipogenesis and lipid accumulation in adipocyte-differentiated adipose stem cells (ASCs). A–D, ASCs were differentiated into adipocytes in the presence of dolutegravir (DTG; 3.1 µg/mL) or raltegravir (RAL; 2.1 µg/mL) for 7 or 14 days. A and B, To evaluate ASCs' adipogenic potential, cells were stained with Oil-Red-O at 7 and 14 days after the induction of differentiation. A, Representative micrographs of Oil-Red-O-stained adipocytes (magnification  $\times 20$ ). B, Quantification of Oil-Red-O staining. Total messenger RNA (mRNA) was extracted 7 and 14 days after the induction of differentiation and analyzed using reverse-transcription polymerase chain reaction for human CEBPA and PPARG (C), sterol regulatory element-binding protein 1c (*SREBP1c*), fatty acid-binding protein 4 (*FABP4*), and fatty acid synthase (*FAS*) (D), normalized against *PPIA*. The data are quoted as the mean  $\pm$  standard error of the mean. All experiments were performed in triplicate. \* $P < .05$ , \*\* $P < .01$ , \*\*\* $P < .001$ , \*\*\*\* $P < .0001$  vs dimethyl sulfoxide (DMSO)-treated cells. Abbreviations: CEBPA, CCAAT enhancer binding protein Alpha; PPARG, peroxisome proliferator activated receptor gamma; PPIA, peptidylprolyl isomerase A.

proadipogenic effect in vitro, the drug can damage adipocyte function, as characterized by insulin resistance and low leptin and adiponectin secretion. RAL also induced insulin resistance; this is line with a previous report [28]. Overall, our data suggest that both INSTIs are involved in the onset of insulin resistance, and that this effect may be associated with low adiponectin expression. Otherwise, both INSTIs increased ROS production. Also, DTG induced mitochondrial dysfunction that could participate to ROS generation. Interestingly, elevated levels of oxidative stress have been linked to insulin resistance in vitro and in obese patients

[37, 38]. A study of HIV-infected ART initiators showed that poor AT mitochondrial function was associated with insulin resistance and low adiponectin levels [39]. We therefore suggest that INSTI-induced oxidative stress and/or mitochondrial dysfunction may be involved in the onset of insulin resistance. However, one would not expect elevated *PPARG* expression to be associated with insulin resistance in adipocytes. Our results suggest that INSTIs may induce both adipogenesis and oxidative stress. Despite the INSTIs' proadipogenic effect, moderate mitochondrial toxicity might result in insulin resistance.

## Treatment during adipogenesis

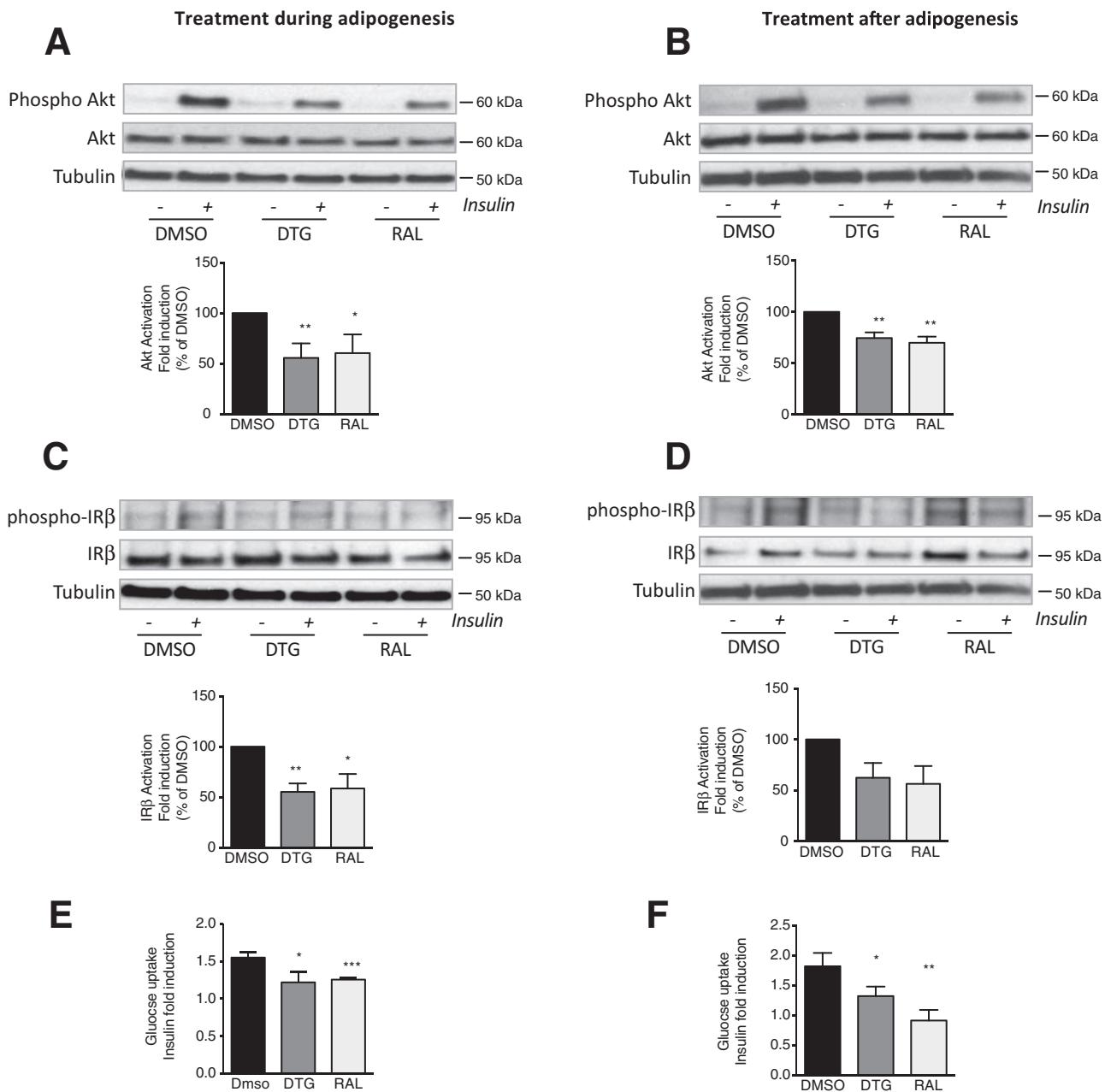


**Figure 6.** Chronic treatment with dolutegravir (DTG) and raltegravir (RAL) at peak concentration is associated with an alteration in adipokine secretion in adipocyte-differentiated adipose stem cells (ASCs) and elevated lipid accumulation in adipocyte-differentiated ASCs treated after adipogenesis. The ASCs were differentiated into adipocytes in the presence of DTG (3.1 µg/mL) or RAL (2.1 µg/mL) for 14 days. *A*, Total messenger RNA (mRNA) was extracted 7 and 14 days after the induction of differentiation and analyzed using reverse-transcription polymerase chain reaction for human adiponectin (*ADIPOQ*). *B*, Adiponectin and leptin levels in the cell culture media were determined with an adipokine array. *C*, Alternatively, DTG and RAL were added after the completion of adipogenesis on day 14 of differentiation, and the cells were cultured for a further 6 days. Cells were stained with Oil-Red-O. Representative micrographs (left panel) and Oil-Red-O staining quantification (right panel; magnification  $\times 20$ ) are shown. The data are quoted as the mean  $\pm$  standard error of the mean. All experiments were performed in triplicate. \* $P < .05$ , \*\* $P < .01$ , \*\*\* $P < .001$  vs dimethyl sulfoxide (DMSO)-treated cells. Abbreviation: *PPIA*, peptidylprolyl isomerase A.

Our study had a number of limitations. First, the observed disparities between human and macaque AT samples with regard to periadipocyte fibrosis were probably due to differences in the duration of treatment, species, sex, metabolic state, and/or infection status. The majority of INSTI-treated patients were black women, in accordance with their increased susceptibility to INSTI-induced weight gain [3, 5]; the results cannot be directly extended to INSTI-associated AT alterations in other groups. The level of fibrosis is probably already high in the AT of morbidly obese patients [20]. Moreover, INSTI-treated macaques were compared with untreated macaques, whereas we compared INSTI-experienced and INSTI-naïve patients. Last, we studied a small number of treated macaques. In addition to INSTI, the macaques and some patients were treated with either TDF or TAF, which could also have an impact on the AT differences observed between groups.

Adipose stem cells isolated from SCAT of healthy women constitute a good tool for investigating the impact of INSTIs, since women are more prone to weight gain than men after INSTI treatment [7, 8]. Moreover, this model allowed us to evaluate the specific impact of each INSTI and thus establish that DTG exerted a greater effect than RAL. Nevertheless, in vitro concentrations of active drugs could differ from the in vivo situation due to different protein level in the medium.

Given that HIV itself is involved in AT alterations, the combined/synergic effects of INSTIs and HIV infection require further investigation. Importantly, AT has been shown to be an HIV/simian immunodeficiency virus (SIV) reservoir [24], HIV infection per se alters AT function [40]. Moreover, we recently demonstrated the specific role of HIV/SIV infection per se on AT fibrosis and adipogenesis, probably through the leakage of the viral proteins Tat and Nef from infected cells within AT



**Figure 7.** Chronic treatment with dolutegravir (DTG) and raltegravir (RAL) blunts insulin-stimulated glucose transport and induces insulin resistance in adipocyte-differentiated adipose stem cells (ASCs). The ASCs were differentiated into adipocytes in the presence of DTG (3.1  $\mu$ g/mL) or RAL (2.1  $\mu$ g/mL) for 14 days (A, C, and E). Alternatively, DTG and RAL were added after the completion of adipogenesis on day 14 of differentiation, and the cells were cultured for a further 6 days (B, D, and F). The cells were then stimulated (or not) with 100 nM insulin for 7 minutes. Whole-cell lysates were prepared and analyzed using immunoblots. Representative immunoblots of phospho-Akt, total Akt, phospho-IR $\beta$  (antiphosphotyrosine antibody), total IR $\beta$ , and tubulin (the loading control) are shown (A–D, upper panels). The fold induction by insulin was quantified in adipocyte-derived-ASCs on day 14 (A and C, lower panels,  $n = 3$ ) or in differentiated adipocytes on day 20 (B and D, lower panels) ( $n = 3$  for B and  $n = 2$  for D). Glucose transport was assessed as described in the Materials and Methods, and fold induction was quantified in adipocyte-derived ASCs on day 14 (E) or in adipocytes treated after differentiation on day 20 (F). The data are quoted as the mean  $\pm$  standard error of the mean. All experiments were performed in triplicate. \* $P < .05$ , \*\* $P < .01$ , \*\*\* $P < .001$  vs dimethyl sulfoxide (DMSO)-treated cells. Abbreviations: Akt, AKT serine/threonine kinase 1 also known as PKB (protein kinase B); IR $\beta$ , beta subunit of the insulin receptor.

[20]. We hypothesized that in the context of HIV infection and stressed adipocytes in a profibrotic milieu (due to the impact of HIV, obesity, or antiretrovirals other than INSTIs), INSTIs could

alleviate adipocyte stress (thereby favoring hypertrophy/expansion) but also could increase oxidative stress and thus probably reduce metabolic flexibility and increase insulin resistance.

In summary, we showed here for the first time that treatment with the INSTIs DTG and RAL promoted adipocyte hypertrophy, adipogenesis, and lipogenesis and also favored the onset of fibrosis, oxidative stress, and insulin resistance. Our data suggest that INSTIs are involved in the fat accumulation and dysfunction observed in people with HIV.

## Supplementary Data

Supplementary materials are available at *Clinical Infectious Diseases* online. Consisting of data provided by the authors to benefit the reader, the posted materials are not copyedited and are the sole responsibility of the authors, so questions or comments should be addressed to the corresponding author.

## Notes

**Author contributions.** Conception and design of the experiments: J. G., C. L., V. B., J. C., O. L., D. D., C. B., and B. F. Acquisition of data: J. G., C. L., M. M., V. B., F. C., C. R., and R. M. Analysis of the data: J. G., C. L., V. B., J. C., F. C., V. P., and R. M. Contributed reagents/biological materials: C. B., O. L., R. L. G., D. D., V. P., G. P., C. K., and M. A. Wrote the manuscript: J. G., C. L., V. B., J. C., and B. F. All authors approved the final manuscript.

**Acknowledgments.** The authors thank the patients for their participation; Dr R. Ho Tsong Fang for veterinary assistance; the Infectious Disease Models and Innovative Therapies core facilities for excellent technical assistance; F. Merabtene and B. Solhonnie (UMS30 L'Unité Mixte de service Imagerie Cytométrie, Sorbonne Université) for preparing the Sirius red-stained adipose tissue sections; and T. Ejjalmanesh and A. Kercoat for their participation in some of the experimental work. Last, the authors thank Y. Dudoit for information concerning the ObeVIH study and Professor G. Peytavin (U1137) for advice on pharmacokinetics and Gilead and ViiV for providing antiretroviral drugs for use in the *in vivo* experiment in macaques.

**Financial support.** This work was supported by Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les hépatites virales (grant numbers N17020DR to C. L. and V. B. and ECTZ103291 to C. B.); Sidaction (grant numbers 10744; 12152 to J. G.); Programme Investissements d'Avenir (grant number Agence Nationale de la Recherche (ANR)-11-INBS-0008 infrastructure, ANR-10-EQPCX-02-01 FlowCyTech facility to Infectious Diseases Models for Innovative Therapies); Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les hépatites virales and Merck Sharp & Dohme Avenir (animal studies as part of the pVISCONTI research program and the SIVART Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les hépatites virales-IDMIT CO1 research program); Fondation pour la Recherche Médicale (grant number EQU201903007868); Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale; and Sorbonne University.

**Potential conflicts of interest.** M. A. is a consultant for workshops and has developed educational presentations for Allergan outside the submitted work. J. C. reports research grants from ViiV Healthcare and Merck Sharp & Dohme Corporation (MSD), and personal fees for lectures and/or consultancy from ViiV Healthcare, Gilead, MSD, and Janssen outside the submitted work. B. F. reports research grants from MSD and personal fees for lectures for MSD, Amgen, Sanofi, NovoNordisk, and Lilly outside the submitted work. C. K. has received travel grants, consultancy fees, and honoraria or study grants from Gilead, Merck, Janssen, and ViiV Healthcare outside the submitted work. O. L. has received grants from Gilead, personal fees from Bristol-Myers Squibb, MSD, AstraZeneca, Incyte, Genzyme, and Janssen, and nonfinancial support from Bristol-Myers Squibb, Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies, and CSL Behring outside the submitted work. J. G. reports grants from Sidaction outside the submitted work. V. P. has received grants from MSD and Janssen and personal fees from MSD, Gilead, Janssen, and ViiV, outside the submitted work. All other authors report no potential conflicts. All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

## References

- World Health Organization. Update of recommendations on first- and second-line antiretroviral regimens. HIV treatment. Geneva, Switzerland: World Health Organization, WHO/CDS/HIV/19.15, 2019. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325892/WHO-CDS-HIV-19.15-eng.pdf>
- European AIDS Clinical Society. EACS guidelines version 10.0. partII, 15: EACS, 2019.
- Wood BR. Do integrase inhibitors cause weight gain? *Clin Infect Dis* 2020; 70:1275–77.
- NAMSAL ANRS 12313 Study Group. Dolutegravir-based or low-dose efavirenz-based regimen for the treatment of HIV-1. *N Engl J Med* 2019; 38:816–26.
- Venter WDF, Moorhouse M, Sokhela S, et al. Dolutegravir plus two different prodrugs of tenofovir to treat HIV. *N Engl J Med* 2019; 381:803–15.
- Koethe JR, Jenkins CA, Lau B, et al. Higher time-updated body mass index: association with improved CD4+ cell recovery on HIV treatment. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2016; 73:197–204.
- Debroy P, Sim M, Erlandson KM, et al. Progressive increases in fat mass occur in adults living with HIV on antiretroviral therapy, but patterns differ by sex and anatomic depot. *J Antimicrob Chemother* 2019; 74:1028–34.
- McComsey GA, Moser C, Currier J, et al. Body composition changes after initiation of raltegravir or protease inhibitors: ACTG A5260s. *Clin Infect Dis* 2016; 62:853–62.
- Bourgi K, Rebeiro PF, Turner M, et al. Greater weight gain in treatment naïve persons starting dolutegravir-based antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2020; 70:1267–74.
- Hill A, Waters L, Pozniak A. Are new antiretroviral treatments increasing the risks of clinical obesity?. *J Virus Erad*, 2019; 5(1):41–43.
- Norwood J, Turner M, Bofill C, et al. Brief report: weight gain in persons with HIV switched from efavirenz-based to integrase strand transfer inhibitor-based regimens. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2017; 76:527–31.
- Sun K, Tordjman J, Clément K, Scherer PE. Fibrosis and adipose tissue dysfunction. *Cell Metab* 2013; 18:470–7.
- Moure R, Domingo P, Gallego-Escuredo JM, et al. Impact of elvitegravir on human adipocytes: alterations in differentiation, gene expression and release of adipokines and cytokines. *Antiviral Res* 2016; 132:59–65.
- Minami R, Yamamoto M, Takahama S, Ando H, Miyamura T, Suematsu E. Comparison of the influence of four classes of HIV antiretrovirals on adipogenic differentiation: the minimal effect of raltegravir and atazanavir. *J Infect Chemother* 2011; 17:183–8.
- Dirajlal-Fargo S, Moser C, Brown TT, et al. Changes in insulin resistance after initiation of raltegravir or protease inhibitors with tenofovir-emtricitabine: AIDS Clinical Trials Group A5260s. Open Forum Infect Dis 2016; 3:ofw174.
- Herrin M, Tate JP, Akgun KM, et al. Weight gain and incident diabetes among HIV-infected veterans initiating antiretroviral therapy compared with uninfected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2016; 73:228–36.
- Achhra AC, Macroft A, Reiss P, et al. Short-term weight gain after antiretroviral therapy initiation and subsequent risk of cardiovascular disease and diabetes: the D:A:D study. *HIV Med* 2016; 17:255–68.
- Del Prete GQ, Smedley J, Macallister R, et al. Short communication: comparative evaluation of coformulated injectable combination antiretroviral therapy regimens in simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaques. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2016; 32:163–8.
- Patterson KB, Prince HA, Stevens T, et al. Differential penetration of raltegravir throughout gastrointestinal tissue: implications for eradication and cure. *AIDS* 2013; 27:1413–9.
- Gorwood J, Bourgeois C, Mantecon M, et al. Impact of HIV/simian immunodeficiency virus infection and viral proteins on adipose tissue fibrosis and adipogenesis. *AIDS* 2019; 33:953–64.
- Bel Lassen P, Charlotte F, Liu Y, et al. The FAT score, a fibrosis score of adipose tissue: predicting weight-loss outcome after gastric bypass. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; 102:2443–53.
- Afonso P, Auclair M, Caron-Debarle M, Capeau J. Impact of CCR5, integrase and protease inhibitors on human endothelial cell function, stress, inflammation and senescence. *Antivir Ther* 2017; 22:6453–57.
- Béréziat V, Cervera P, Le Dour C, et al. LMNA mutations induce a non-inflammatory fibrosis and a brown fat-like dystrophy of enlarged cervical adipose tissue. *Am J Pathol* 2011; 179:2443–53.
- Damouche A, Lazure T, Avettand-Fenoël V, et al. Adipose tissue is a neglected viral reservoir and an inflammatory site during chronic HIV and SIV infection. *PLoS Pathog* 2015; 11:e1005153.
- Capel E, Auclair M, Caron-Debarle M, Capeau J. Effects of ritonavir-boosted darunavir, atazanavir and lopinavir on adipose functions and insulin sensitivity in murine and human adipocytes. *Antivir Ther* 2012; 17:549–56.

26. Pourcher YD V, Soulié C, Assoumou L, et al. Bariatric surgery in HIV obese patients: first results of a French ObéVIH ongoing study. In: 17th European AIDS Conference, Basel, Switzerland, 2019.
27. Couturier J, Winchester LC, Suliburk JW, et al. Adipocytes impair efficacy of antiretroviral therapy. *Antiviral Res* 2018; 154:140–8.
28. Pérez-Matute P, Pérez-Martínez L, Blanco JR, Oteo JA. Neutral actions of raltegravir on adipogenesis, glucose metabolism and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *Curr HIV Res* 2011; 9:174–9.
29. Caron-Debarle M, Lagathu C, Boccardo F, Vigouroux C, Capeau J. HIV-associated lipodystrophy: from fat injury to premature aging. *Trends Mol Med* 2010; 16:218–29.
30. Korenack M, Byrne M, Richter E, et al. Effect of HIV infection and antiretroviral therapy on immune cellular functions. *JCI Insight* 2019; 4. doi:10.1172/jci.insight.126675.
31. Gomez M, Seybold U, Roider J, Harter G, Bogner JR. A retrospective analysis of weight changes in HIV-positive patients switching from a tenofovir disoproxil fumarate (TDF)- to a tenofovir alafenamide fumarate (TAF)-containing treatment regimen in one German university hospital in 2015–2017. *Infection* 2019; 47:95–102.
32. Young L, Wohl DA, Hyslop WB, Lee YZ, Napravnik S, Wilkin A. Effects of raltegravir combined with tenofovir/emtricitabine on body shape, bone density, and lipids in African-Americans initiating HIV therapy. *HIV Clin Trials* 2015; 16:163–9.
33. Bagella P, Squillace N, Ricci E, et al. Lipid profile improvement in virologically suppressed HIV-1-infected patients switched to dolutegravir/abacavir/lamivudine: data from the SCOLTA project. *Infect Drug Resist* 2019; 12: 1385–91.
34. Offor O, Utay N, Reynoso D, Somasunderam A, Currier J, Lake J. Adiponectin and the steatosis marker Chi3L1 decrease following switch to raltegravir compared to continued PI/NNRTI-based antiretroviral therapy. *PLoS One* 2018; 13:e0196395.
35. McLaughlin M, Walsh S, Galvin S. Dolutegravir-induced hyperglycaemia in a patient living with HIV. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73:258–60.
36. Katlama C, Assoumou L, Valantin MA, et al. Dual therapy combining raltegravir with etravirine maintains a high level of viral suppression over 96 weeks in long-term experienced HIV-infected individuals over 45 years on a PI-based regimen: results from the phase II ANRS 163 ETRAL study. *J Antimicrob Chemother* 2019; 74:2742–51.
37. Okuno Y, Fukuhara A, Hashimoto E, et al. Oxidative stress inhibits healthy adipose expansion through suppression of SREBF1-mediated lipogenic pathway. *Diabetes* 2018; 67:1113–27.
38. Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obes Res Clin Pract* 2013; 7:e330–41.
39. Hulgarn T, Ramsey BS, Koethe JR, et al. Relationships between adipose mitochondrial function, serum adiponectin, and insulin resistance in persons with HIV after 96 weeks of antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2019; 80:358–66.
40. Lagathu C, Bereziat V, Gorwood J, et al. Metabolic complications affecting adipose tissue, lipid and glucose metabolism associated with HIV antiretroviral treatment. *Expert Opin Drug Saf* 2019; 18:829–40.

## b) Discussion et perspectives

Plusieurs hypothèses pourraient être à l'origine des mécanismes associés à la prise de poids/prise de TA sous INI.

Tout d'abord, lors de la mise sous ARV, il existe le phénomène de « *return to health* » ou retour à la santé. Le patient reprend du poids car il améliore sa santé : la charge virale diminue, le nombre de CD4+ augmente et il mange plus. Parallèlement, les patients qui changent d'ARV pour un INI pour cause d'effet secondaire peuvent manger mieux car ils se sentent mieux. De plus, la charge virale est associée à une augmentation de la dépense énergétique (Sharpstone et al. 1996). Une diminution rapide de la quantité d'ARN du VIH sous INI pourrait diminuer la dépense énergétique et donc favoriser la prise de poids (Bakal et al. 2018). Cependant, ces hypothèses n'expliquent pas l'effet plus marqué du DTG par rapport à l'EVG car il existe le même effet sur la charge virale et le nombre de CD4+ quel que soit l'INI utilisé (Venter et al. 2019). Une autre hypothèse concerne l'effet des INI sur la prise alimentaire. Une augmentation des apports énergétiques expliquerait la prise de poids sous INI. En effet, le DTG serait capable d'inhiber la liaison de  $\alpha$ MSH et MC4R au niveau de l'hypothalamus et favoriser une hyperphagie (Hill et al. 2019). Cependant, aucune étude n'a évalué la prise alimentaire chez ces patients.

Outre l'influence d'autres ARV (voir Discussion générale et perspectives, partie C-2 Prise de poids : rôle du tenofovir alafémide et du bictégravir), la prise de poids semble être sous la dépendance de plusieurs facteurs génétiques et hormonaux. En effet, l'âge, le genre féminin et l'ethnie africaine sont des facteurs favorisant la prise de poids (Wood 2019). Un travail récent montre que certains polymorphismes de CYP2B6 sont associés une métabolisation ultra-rapide de EFV favoriseraient la prise de poids sous DTG chez les femmes africaines (Griesel 2020). Avec l'âge, l'environnement hormonal, modifié avec la ménopause, perdrat son effet protecteur ce qui contribuerait à la prise de poids sous INI des femmes de plus de 60 ans (Assoumou et al. 2020).

En somme, la prise de poids sous INI est due à des facteurs métaboliques, systémiques et une susceptibilité génétique qui restent à explorer.

Une expansion du TA est le résultat d'une hypertrophie et/ou d'une hyperplasie. Le volume de l'adipocyte résulte de l'équilibre entre la lipogenèse et le catabolisme des lipides (lipolyse,  $\beta$ -oxydation des AG) tandis que le nombre varie selon la prolifération/différenciation des précurseurs et l'apoptose des adipocytes. Notre étude montre que le DTG et de façon moindre le RAL ont un effet pro-adipogénique avec une augmentation de l'expression des acteurs de

l’adipogenèse et de la lipogenèse, et de l’accumulation de lipides qui pourrait participer à l’hypertrophie des adipocytes observés chez les macaques traités non infectés. En accord, le RAL a été montré comme augmentant l’expression de PPAR $\gamma$  dans le TASC abdominal de patients lipodystrophiques (Domingo et al. 2014). L’EVG semble avoir un effet moins marqué (Moure et al. 2016). De façon étonnante, les INI sont également responsables de la mise en place d’une résistance à l’insuline des adipocytes *in vitro*. Nous avons observé une diminution du transport du glucose et de l’activation de la voie Akt. Il serait pertinent de regarder plus en détails la voie de signalisation insulinique afin de déterminer si cela est lié à une diminution de la localisation de GLUT4 à la membrane et/ou à la phosphorylation des sérines au niveau de IRS-1. Ces données sont en faveur d’une toxicité métabolique des INI.

Dans notre modèle *in vivo* de TA de macaques sous ARV, et en accord, dans les adipocytes *in vitro*, les INI augmentent l’expression de PPAR $\gamma$  et diminuent l’expression de l’adiponectine dans le TASC et dans les adipocytes. PPAR $\gamma$  étant un activateur transcriptionnel du gène *ADIPOQ*, ces résultats semblent contre-intuitifs. Une hypothèse mécanistique serait une augmentation de SMRT (*silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptors*) en réponse aux INI. En effet, SMRT est un corépresseur nucléaire de PPAR $\gamma$  induisant la diminution de l’expression d’adiponectine. Par ailleurs, SMRT est augmenté dans des situations de fibrose (Liu and Liu 2012) et pourrait donc être induit au cours de l’infection par le VIH sous INI dans le TA fibrotique des patients.

Les INI sont des chélateurs de cations divalents (Sechi et al. 2006). Or un défaut de Cu<sup>2+</sup> ou de Ca<sup>2+</sup> peut induire une hypertrophie des adipocytes et un stress oxydant (Gaetke and Chow 2003, Yang et al. 2018, Zhang et al. 2019). Ainsi, la diminution de la biodisponibilité intracellulaire de Mg<sup>2+</sup> pourrait altérer la phosphorylation du RI et donc inhiber la voie de signalisation insulinique (Fong et al. 2017). Une accumulation de LEDGF, un facteur de transcription cellulaire de la famille des HDGF, favorise la lipogenèse (Min et al. 2018) et l’accumulation du TAV (Sutherland et al. 2006). De façon intéressante, les INI empêchent la fixation de LEDGF à l’intégrase du VIH, pouvant ainsi entraîner une augmentation de sa concentration intracellulaire (Vandekerckhove et al. 2006, Shun et al. 2007), et contribuer à l’expansion du TAV.

Au cours de ma thèse, j’ai pu mettre en évidence un rôle du virus lui-même sur les atteintes du TA et des adipocytes. L’hypothèse que je propose est que chez les patients infectés et traités, les INI allègent le stress des adipocytes induit par le virus (et d’autres ARV) en favorisant l’hypertrophie des adipocytes et donc l’expansion du TA. Cependant, de façon similaire aux

patients obèses, cette hypertrophie s'accompagne de dysfonctions du TA comme la fibrose, le stress oxydant ou encore la résistance à l'insuline. Le rôle du stress oxydant dans l'hypertrophie adipocytaire et la fibrose reste encore à confirmer. Par ailleurs, il serait pertinent de mesurer l'inflammation dans nos différents modèles et d'étudier le lien éventuel entre inflammation et fibrose. En effet, un lien étroit a été observé entre inflammation, IMC et stockage ectopique des graisses (Reilly and Saltiel 2017, Chen et al. 2019, Zatterale et al. 2019).

Dans la cohorte ObeVIH, nous avons observé une fibrose péricellulaire augmentée dans le TAV des patients infectés sous INI. Cependant, les patients sont tous obèses, ce qui ajoute un facteur supplémentaire en faveur du développement de la fibrose. Afin de compléter ces études et de confirmer la part respective du virus et des INI, il serait pertinent d'ajouter deux groupes contrôles de personnes obèses infectés par le VIH sans ARV et obèses non infectés. Chez les patients obèses, en fonction de l'IMC et des complications métaboliques, la chirurgie bariatrique va constituer un traitement thérapeutique de choix. L'obésité altère la concentration plasmatique des ARV mais aucune conséquence virologique ou immune n'a été constatée (Madelain et al. 2017). En revanche, la chirurgie modifie l'absorption des ARV et conduit à des ajustements de dosages nécessaires voire des changements de molécules avec un suivi de la charge virale et le dosage des ARV en post-opératoire (Amouyal et al. 2018). En plus de cette adaptation personnalisée du traitement suite à la chirurgie, la réversibilité des atteintes du TA sous INI est un point important à évaluer. C'est ce que nous souhaitons faire avec la cohorte ObeVIH, des prélèvements de TASC abdominal seront réalisés 3 mois et 12 mois après la chirurgie. Ce protocole nous permettra d'étudier l'impact de la chirurgie bariatrique chez des patients infectés par le VIH mais aussi l'influence des INI sur la perte de poids et sur les atteintes du TA.

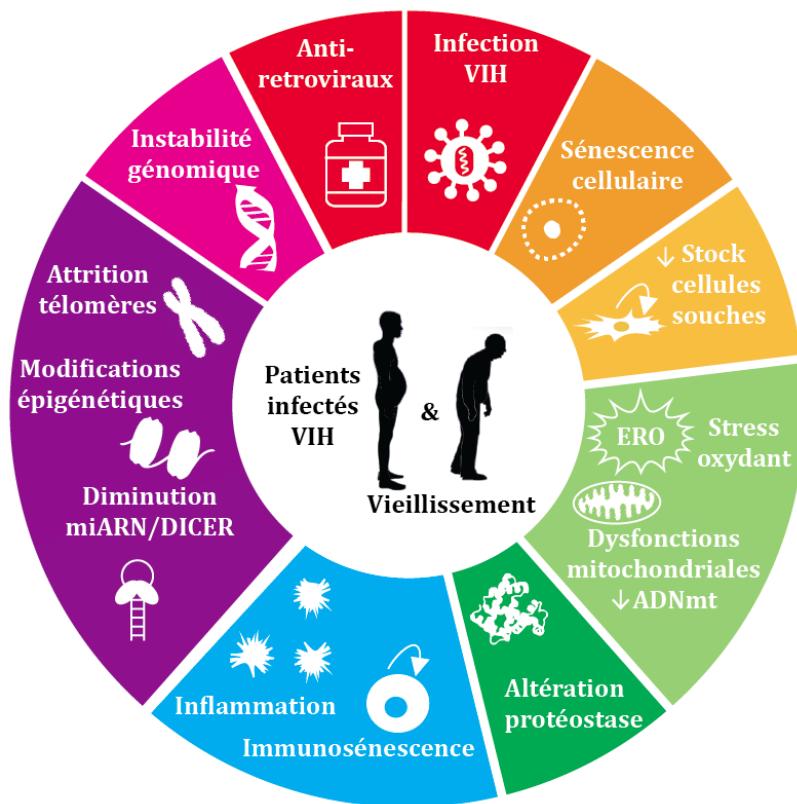
### **III. Vieillissement du tissu adipeux des patients infectés par le VIH sous antirétroviraux**

Le vieillissement est le déclin des fonctions des êtres vivants avec le temps caractérisé par la diminution des capacités de l'organisme à répondre à des stress et à revenir à l'homéostasie (Stout et al. 2017). Il est associé au développement de nombreuses pathologies cardiométaboliques et liées au concept de *frailty*. La *frailty* ou « fragilité » est un syndrome gériatrique avec une augmentation de la vulnérabilité suite à un stress pouvant conduire à des délires ou des invalidités.

Des études ont émis l'hypothèse selon laquelle l'infection VIH pouvait conduire à l'apparition précoce de signes de *frailty* (Appay and Sauce 2008, Effros et al. 2008, Onen et al. 2009, Rasmussen et al. 2015). En effet, avec l'allongement de la durée des traitements et de vie des patients infectés par le VIH, on observe une augmentation de la prévalence des comorbidités classiquement liées à l'âge telles que des maladies cardiométaboliques (maladies cardiovasculaires, diabète, prise de poids), des pathologies neurodégénératives et de l'ostéoporose suggérant un vieillissement accentué de cette population (Dickens et al. 2017, Kaplan-Lewis et al. 2017, Lagathu et al. 2017, Gelpi et al. 2018, Lagathu et al. 2019).

#### **A. Marqueurs et mécanismes du vieillissement chez les personnes infectées par le VIH**

Il existe différents marqueurs du vieillissement chez les patients infectés par le VIH. Parmi ces marqueurs on retrouve : les altérations génétiques et la dysmorphie nucléaire, le raccourcissement des télomères et les modifications épigénétiques, le stress oxydant et les dysfonctions mitochondrielles, l'altération de la protéostase, l'inflammation et l'immunosénescence, la sénescence et la diminution du stock de cellules souches. La sénescence est définie comme le vieillissement cellulaire (Figure 23). Ces marqueurs du vieillissement sont basés sur la revue de Lopez-Otin *et al* (Lopez-Otin et al. 2013) et peuvent être induits chez les patients par le virus, les protéines virales et/ou les ARV et indirectement *via* l'inflammation (Lagathu et al. 2017).



**Figure 23 : Les marqueurs du vieillissement chez les patients infectés par le VIH sous antirétroviraux adapté de (Lopez-Otin et al. 2013) et de (Lagathu et al. 2017).**

*miARN : microARN, ERO : espèces réactives de l'oxygène, ADNmt : ADN mitochondrial.*

## 1) Instabilité génomique et altération de l'architecture du noyau

Au cours du vieillissement, la cellule accumule des dommages liés à l'ADN et la structure du noyau se détériore (Park and Larsson 2011, Moskalev et al. 2013). En effet, l'intégrité de l'ADN est perturbée par différents stimuli comme les infections virales, les ERO ou les rayons UV. Le vieillissement est associé à une altération de la machinerie de réparation cellulaire dont le rôle est de limiter les dommages liés à l'ADN nucléaire (Lord and Ashworth 2012, Gorbunova and Seluanov 2016). Dans un contexte d'infection par le VIH, l'intégration de l'ADN viral dans l'ADN génomique de façon aléatoire favoriserait des instabilités génomiques (Craigie and Bushman 2012).

L'architecture du noyau repose sur le réseau de lamines qui sont des filaments intermédiaires jouant également un rôle dans la régulation de l'expression et de la stabilité du génome (Gonzalez-Suarez et al. 2009). La lamine A est codée par le gène *LMNA*. Elle est, entre autres, maturée par ZMPSTE24 (métalloprotéinase STE24) à partir de la prélamine A farnésylée. Des variants pathogènes du gène *LMNA* entraînent, outre des lipodystrophies partielles (Vigouroux et al. 2000), des syndromes de vieillissement accéléré dont la progéria. L'accumulation de la

prélamine A farnésylée induit une déformation nucléaire et favorise la sénescence (Cau et al. 2014).

Dans le contexte du VIH, il a été montré que certains PI inhibent la ZMPSTE24 favorisant l'accumulation de prélamine A responsable d'une sénescence cellulaire. L'impact des PI peut être contrecarré par l'ajout d'un inhibiteur de la farnésylation conduisant à l'accumulation de prélamine A non farnésylée moins toxique pour la cellule (Caron et al. 2007, Coffinier et al. 2007, Guenantin et al. 2014, Afonso et al. 2016).

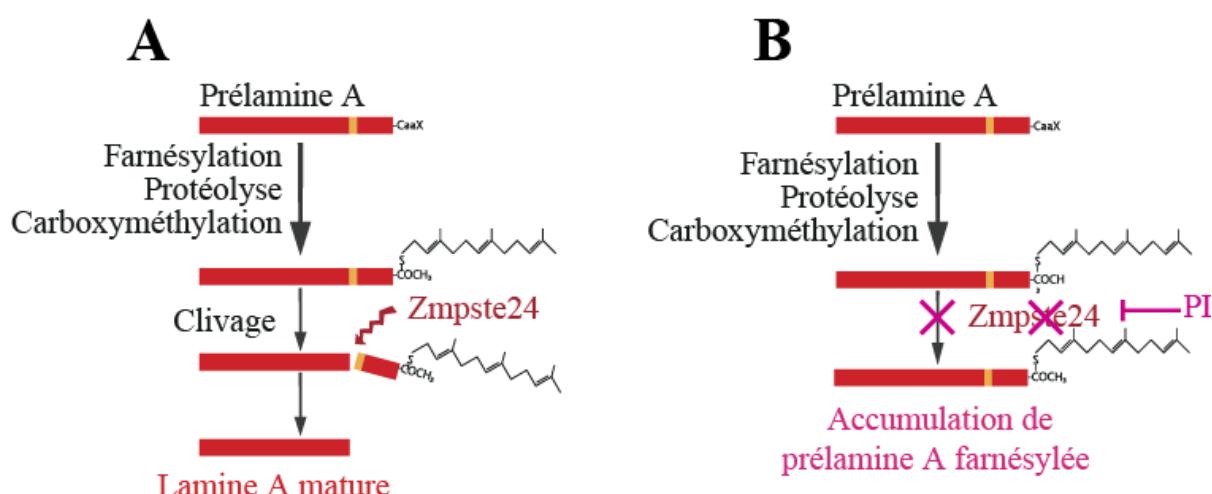


Figure 24 : Schéma de la formation de la lamine A mature à partir de prélamine A en physiologie (A) ou accumulation excessive de prélamine A lors de l'inhibition de l'activité Zmpste24 par les PI.

*Zmpste24 : zinc métalloprotéinase STE24, PI : inhibiteurs de la protéase du VIH.*

## 2) Attrition des télomères, altérations épigénétiques

L'attrition des télomères, définie comme un raccourcissement de leur taille au cours du temps, a été démontrée en premier dans les fibroblastes humains. Elle est associée à une diminution de la capacité proliférative (Hayflick and Moorhead 1961). Les effets du vieillissement peuvent être prévenus par l'activation des télomérases (Jaskelioff et al. 2011), enzyme responsable du maintien de la taille des télomères.

Il a été montré une diminution de la taille des télomères dans les PBMC (*peripheral blood mononuclear cells*) des patients infectés par le VIH naïfs de traitement (Effros 2011, Pathai et al. 2014). Certaines protéines du VIH comme Gp120, Tat et Vpr altèrent l'activité de la télomérase dans les lymphocytes T CD4+ *in vitro* (Reynoso et al. 2012, Comandini et al. 2013, Wang et al. 2013). De plus, certains NRTI inhibent directement la télomérase dans des cellules immunitaires (Strahl and Blackburn 1996, Leeansyah et al. 2013).

Le vieillissement est associé à **des altérations épigénétiques** (méthylation de l'ADN, modifications des histones, remodelage de la chromatine) conduisant à une instabilité génomique (Lopez-Otin et al. 2013). Des études ont montré qu'il existait des profils spécifiques de méthylation de l'ADN caractéristiques du vieillissement définissant un âge épigénétique (Horvath 2013, Weidner et al. 2014, Boulias et al. 2016).

L'infection par le VIH conduit à une augmentation de « l'âge épigénétique » dans les tissus et les PBMC qui est associée à un risque accru de mortalité (Horvath and Levine 2015, Gross et al. 2016).

Les **modifications des histones** impliquent différentes enzymes : des histones déméthylases, des ADP ribosyltransférases ou des enzymes deacétlysases comme les sirtuines. Certains membres de la famille des sirtuines (SIRT) sont diminués au cours du vieillissement : SIRT1, SIRT3 et SIRT6. Ces dernières sont impliquées dans la longévité, la stabilité génomique et dans le métabolisme énergétique (Watroba and Szukiewicz 2016).

Au cours de l'infection par le VIH, la protéine Tat en bloquant SIRT1, conduit à une suractivation des lymphocytes T qui pourrait participer à la mise en place de la sénescence (Kwon et al. 2008, Thakur et al. 2012, Pinzone et al. 2013).

Les **microARN (miR)** sont des acteurs majeurs de l'épigénétique. Ce sont des petits ARN non codants qui régulent l'expression génique. La quantité de miR circulants diminue avec l'âge et est associée à plusieurs comorbidités comme la résistance à l'insuline ou des maladies cardiovasculaires (Pincus et al. 2011, Noren Hooten et al. 2013, Thomou et al. 2017).

De façon intéressante, les protéines du VIH Tat et Gp120 modulent la production de certains miR tel que miR-34a, miR impliqué dans le vieillissement, qui est augmenté par les protéines virales dans les cellules endothéliales (Hijmans et al. 2018). De plus, l'expression de DICER, l'endoribonuclease de type III qui contrôle la maturation des microARN, diminue avec l'âge et également au cours de l'infection par le VIH dans le TA (Coley et al. 2010, Mori et al. 2012, Reis et al. 2016, Torriani et al. 2016).

### 3) Stress oxydant et dysfonctions mitochondrielles

Comme suggéré par Harman *et al* il y a 64 ans, le vieillissement peut être le résultat de l'accumulation des effets délétères induits par les radicaux libres (Harman 1956). **Les ERO** sont des radicaux libres, des ions oxygénés et des peroxydes comme l'anion superoxyde O<sub>2</sub>·-, le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et le radical hydroxyle HO. L'anion superoxyde O<sub>2</sub>·- est produit

majoritairement au niveau des complexes I et III de la chaîne respiratoire mitochondriale. Il est obtenu suite à une perte d'électron lors de la réduction de l'O<sub>2</sub>. Une autre source de l'anion superoxyde est la NADPH-oxydase cytoplasmique (Pizzino et al. 2017). L' O<sub>2</sub>.- est toxique, très instable, et est donc rapidement dismuté en peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les enzymes antioxydantes superoxyde dismutases (SOD) : la MnSOD (manganèse SOD) pour la mitochondrie, les Cu et ZnSOD pour les formes cytosoliques et extracellulaires (Labunskyy and Gladyshev 2013). Le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diffuse facilement à travers les membranes. Il peut être dégradé en H<sub>2</sub>O par les catalases, ou les peroxydases (dont la glutathione peroxydase GPx) ou converti en radical OH- très réactif qui induit des dommages aux protéines, aux lipides, à l'ADN et à l'ARN (Labunskyy and Gladyshev 2013). L'augmentation des ERO jusqu'à un certain seuil est bénéfique notamment lors de la réponse adaptative à un stress environnemental (Mesquita et al. 2010). Au-delà d'un certain seuil, les ERO génèrent un stress oxydant contribuant au déclin des fonctions cellulaires (Hekimi et al. 2011). Avec l'âge, l'incapacité de la cellule à répondre aux dommages cellulaires va conduire à une diminution des défenses anti-oxydantes et à l'accumulation de facteurs pro-sénescents, comme des altérations de l'ADN, l'accumulation de protéines oxydées et l'altération de l'intégrité mitochondriale (Squier 2001, Jung et al. 2009, Pinto et al. 2017, Zhang et al. 2017).

La théorie mitochondriale du vieillissement suggère que les ERO mitochondrielles seraient les plus impliquées dans le vieillissement (Gianni et al. 2004). Il peut en résulter un phénomène compensatoire d'augmentation de la masse des mitochondries (Nacarelli et al. 2016). Par ailleurs, les **dysfonctions mitochondrielles** peuvent perturber le métabolisme cellulaire, induire l'apoptose et l'inflammation (Hock and Kralli 2009, Kim et al. 2016). Au cours du vieillissement, l'ADNmt situé à proximité d'une source de production d'ERO est l'un des premiers touchés. Les mutations et délétions de l'ADNmt conduisent à la formation de protéines dysfonctionnelles (Linnane et al. 1989, Singh et al. 2015). En particulier, certains composants de la chaîne respiratoire sont altérés, diminuant le potentiel membranaire et amplifiant la production d'ERO, créant ainsi un cercle vicieux (Dai et al. 2014). La dysfonction mitochondriale au cours du vieillissement pourrait également résulter de dommages liés à l'ADNmt suite à des erreurs de réPLICATION de l'ADN polymérase  $\gamma$  (Vermulst et al. 2008, Hiona et al. 2010, Park and Larsson 2011, Mikhed et al. 2015).

La plupart des NRTI, en tant que terminateurs de chaîne, inhibent l'ADN polymérase  $\gamma$  et donc la réPLICATION de l'ADNmt (Caron et al. 2008, Ameur et al. 2011, Payne et al. 2011). Il en résulte

une diminution de l'ADNmt, des dysfonctions mitochondrielles et un stress oxydant qui pourraient favoriser l'apparition d'un vieillissement accentué (Lagathu et al. 2007, Nacarelli et al. 2016). Certains PI peuvent également induire un stress oxydant et des dysfonctions mitochondrielles dans les CMLV (Afonso et al. 2016, Chen and Dugas 2019).

Il a été montré que l'infection VIH diminue la quantité d'ADNmt et augmente la production d'ERO par la mitochondrie (Gil et al. 2003, Ladha et al. 2005, Maagaard et al. 2006). En accord, des dysfonctions mitochondrielles ont été observées dans différents tissus chez la souris Tg26 (Bryant et al. 2018, Cheung et al. 2019). Plusieurs études révèlent que les protéines du VIH sécrétées par les cellules infectées peuvent induire une dysfonction mitochondriale, associée ou non à un stress oxydant, dans les cellules non infectées. En effet, la protéine Tat induit des dysfonctions mitochondrielles et un stress oxydant dans différents modèles cellulaires (Perry et al. 2005, Price et al. 2005, Buccigrossi et al. 2011, Lecoeur et al. 2012, Zhang et al. 2012, Dalvi et al. 2016, Tahrir et al. 2018, Thangaraj et al. 2018) notamment *via* l'inhibition de la SOD (Flores et al. 1993). Gp120, Nef et Vpr altèrent le potentiel membranaire des mitochondries conduisant à un stress oxydant (Acheampong et al. 2005, Herbein et al. 2010, Lenassi et al. 2010, Masanetz and Lehmann 2011, Beaupere et al. 2015, Cho et al. 2017, Rozzi et al. 2017, Sami Saribas et al. 2017). Ainsi ces études suggèrent que le VIH et ses protéines virales, en agissant sur la mitochondrie et le stress oxydant, pourraient participer à la mise en place d'un vieillissement accentué.

#### 4) Défaut de la protéostase

Le vieillissement s'accompagne d'un défaut de la protéostase c'est-à-dire de l'homéostasie protéique qui résulte de la balance entre la synthèse et la dégradation protéique par des systèmes ubiquitine-protéasome ou autophagie-lysosome (Chondrogianni et al. 2003).

L'autophagie est définie comme une réponse adaptative non spécifique à un stress, responsable de l'élimination et du recyclage des composants cellulaires, des macromolécules ou des organites dysfonctionnels *via* le lysosome (Dinkins et al. 2010). L'autophagie, associée à une modulation de la voie mTOR, est essentielle pour le développement, la différenciation, la survie et l'homéostasie cellulaire (Mizushima et al. 2008, Kroemer et al. 2010). Une altération du processus d'autophagie conduit à l'accumulation de composants endommagés et une augmentation de la masse lysosomale dans les cellules au cours du vieillissement (Kaushik and Cuervo 2015, Carmona-Gutierrez et al. 2016).

Dans un contexte d'infection VIH, d'une part, le virus est associé à une diminution de l'autophagie dans les cellules neuronales (Alirezai et al. 2008). Des travaux ont montré que la protéine Nef affecte les étapes tardives du processus d'autophagie (Beupere et al. 2015, Campbell et al. 2015, Gupta et al. 2017). De même, Tat et Env altèrent l'autophagie en modulant la voie mTOR (Nardacci et al. 2017, Liao et al. 2020). D'autre part, une étude a dévoilé que la combinaison TDF/FTC/DTG altère l'autophagie dans les microglies *in vitro* participant à la neuroinflammation et aux perturbations cognitives observées chez les patients (Tripathi et al. 2019).

## 5) *Inflammaging et immunosénescence*

Le vieillissement est associé à une inflammation chronique à bas bruit caractérisée par des concentrations élevées de facteurs inflammatoires et une augmentation de l'activation immune. Le concept plus spécifique d'***inflammaging*** est apparu au début des années 2000's. Parmi les facteurs de risques qui favorisent l'*inflammaging* se trouvent : l'obésité, le stress oxydant, la translocation microbienne et les infections chroniques telles que l'infection par le VIH.

L'infection par le VIH est associée à une inflammation systémique de bas grade malgré la suppression virale par les ARV (Appay and Sauce 2008, Hileman and Funderburg 2017, Hunt 2017, Nasi et al. 2017). Une concentration élevée d'IL-6 circulante constitue un marqueur du vieillissement retrouvé chez le sujet infecté par le VIH. Un niveau important d'IL-6 exerce un effet délétère sur l'organisme au cours du vieillissement et de l'infection par le VIH (Hamlyn et al. 2014, Fabbri et al. 2015). Plusieurs protéines virales comme Tat, Nef et Gp120 participeraient directement à la mise en place de l'*inflammaging* notamment *via* l'augmentation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, TNF $\alpha$ ) mais également des chimiokines (MCP1, IL-8) (Rychert et al. 2010, Del Corno et al. 2014, Mahajan et al. 2017, Mukhamedova et al. 2019) (Figure 25). La production des médiateurs inflammatoires impliquerait l'activation de la voie NF $\kappa$ B (Fiume et al. 2012, Beupere et al. 2015) ou de l'inflammasome NLRP3 (Chivero et al. 2017). De façon surprenante, il a été également montré que certains ARV, en particulier de première génération, induisaient directement l'inflammation systémique et locale participant au vieillissement accentué observé chez les patients (Lagathu et al. 2017).

En parallèle de l'*inflammaging*, on observe la mise en place d'une **immunosénescence**, définie comme une perte de fonction du système immunitaire adaptatif (Deeks 2011). Le déclin du stock de cellules souches hématopoïétiques avec l'âge contribue à l'immunosénescence (Janzen et al.

2006, Rossi et al. 2007). Chez les patients infectés et contrôlés sous ARV, l'inflammation, l'activation immunitaire et l'immunosénescence contribuent à l'augmentation de la prévalence de la mortalité, de la fragilité et des comorbidités (Deeks 2011, Kaplan et al. 2011, Nordell et al. 2014, Hunt et al. 2016).

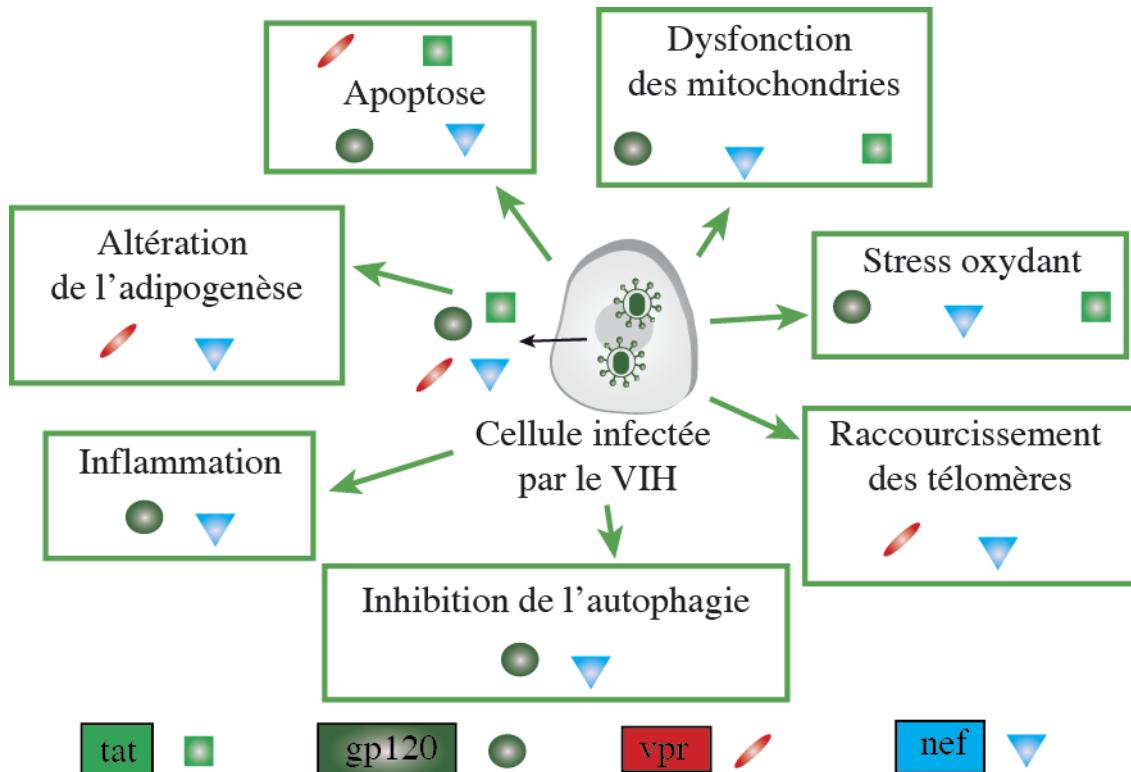


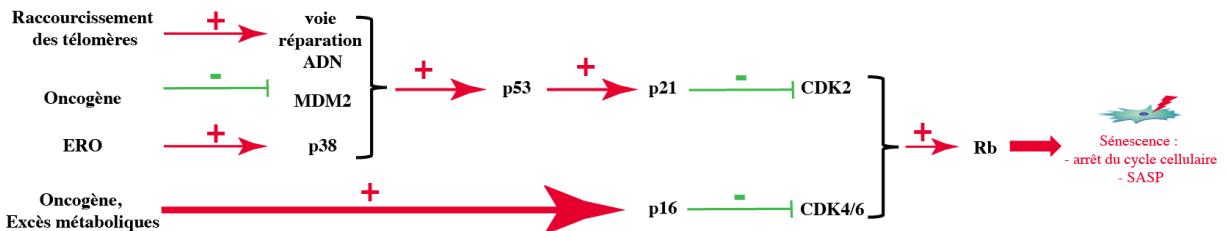
Figure 25 : Les effets *bystander* des protéines du VIH : Tat, Nef, Vpr et Gp120.

## 6) La sénescence cellulaire

La sénescence ou vieillissement cellulaire est un état métaboliquement actif d'une cellule caractérisée par un arrêt irréversible de la prolifération cellulaire. On distingue la sénescence : réplicative, induite par un raccourcissement des télomères (Bodnar et al. 1998), de la sénescence induite par un stress, tels qu'un stress oxydant ou métabolique (concentration élevée de glucose ou de lipides), des dommages de l'ADN ou des dysfonctions mitochondrielles.

La cellule sénescente présente un phénotype en forme « d'œuf-au-plat » : un cytoplasme et un noyau élargis avec des *foci* d'hétérochromatine (Tchkonia et al. 2010, Biran et al. 2017). Elle est définie par une **sortie du cycle cellulaire** en G0 qui conduit à une baisse de la capacité proliférative. Deux voies de signalisation essentielles sont impliquées dans l'induction de la sénescence : la voie p53-p21<sup>WAF</sup>-pRb (retinoblastome) et la voie p16<sup>INK4</sup>-pRb. L'érosion des télomères et les dommages liés à l'ADN induisent la voie de p53-p21 et plus tardivement p16

conduisant à la sénescence (Rodier and Campisi 2011, Papismadov et al. 2017, Liu et al. 2020). p16 et p21 sont des protéines inhibitrices des complexes cycline-CDK (cdk2 pour p21 et cdk4/6 pour p16) induisant une séquestration d'E2F et donc un arrêt du cycle cellulaire (Liu et al. 2020) (Figure 26). Les voies p16 et p53-p21 induisent une hypophosphorylation de pRb responsable de la séquestration du facteur E2F qui intervient dans la transition G1/S.



**Figure 26 : Schéma de l'activation des voies de signalisation de l'arrêt du cycle cellulaire : p16 et p53/p21 adapté de (Liu et al. 2020).**

ERO : espèces réactives de l'oxygène, cdk : cyclin-dependant kinase, Rb : retinoblastoma protein, MDM2 : Mouse double minute 2 homolog ou E3 ubiquitin-protein ligase, SASP : profil sécrétoire associé à la sénescence.

La détection de **l'activité SA- $\beta$ -galactosidase** à pH6 (*Senescence Associated- $\beta$ -galactosidase*) est très utilisée comme marqueur de la sénescence cellulaire. La  $\beta$ -galactosidase est une hydrolase, active strictement dans les lysosomes à pH4. La détection dans les cellules sénescentes de l'activité  $\beta$ -galactosidase à un pH plus élevé résulterait de l'augmentation au cours du vieillissement du volume lysosomale (Kurz et al. 2000).

La cellule sénescante présente des altérations de l'autophagie, une accumulation d'organites dysfonctionnels (lysosomes, mitochondries) et un stress oxydant (Figure 27). Elle présente un profil sécrétoire spécifique nommé **SASP** (*Senescence-Associated Secretory Phenotype*) (Tchkonia et al. 2010). Le SASP inclus une myriade de médiateurs de l'inflammation (cytokines et chimiokines comme IL-6, IL 1- $\beta$ , IL-8, IL-33, MCP1, TNF $\alpha$ ), de facteurs de croissance (VEGF, TGF- $\beta$ , HIF-1 $\alpha$ ), d'acteurs du remodelage de la MEC (MMP, CCN1). (Coppe et al. 2008, Jun and Lau 2010, Nacarelli et al. 2016). Le SASP affecte la croissance, la migration et la différenciation des cellules mais également l'architecture d'un tissu (Rodier and Campisi 2011, Mosteiro et al. 2018).

Il a été montré que le VIH et les protéines virales Tat, Nef et Gp120 induisent la sénescence dans différents types cellulaires (Beaupere et al. 2015, Zhan et al. 2016, Yu et al. 2017, Hijmans et al. 2018). Chez les personnes infectées et naïves de traitement, l'expression de p16 est augmentée dans les lymphocytes T (Nelson et al. 2012, Ribeiro et al. 2016).

Les PBMC des patients infectés par le VIH sous PI présentent une augmentation de l'expression de la prélamine A, de p16 et p21 (Appay and Sauce 2008, Lefevre et al. 2010,

Deeks 2011, Kaplan et al. 2011). *In vitro*, certains PI, en particulier le LPV/r, et certains NRTI de première génération induisent la sénescence des CMLV, des cellules endothéliales, des fibroblastes et des CSM (Caron et al. 2007, Caron et al. 2008 , Lefevre et al. 2010, Hernandez-Vallejo et al. 2013, Auclair et al. 2014, Afonso et al. 2016, Afonso et al. 2017). A l'inverse, les INI semblent avoir peu d'impact sur la sénescence des cellules endothéliales et diminuent l'inflammation (Afonso et al. 2017, Auclair et al. 2020).

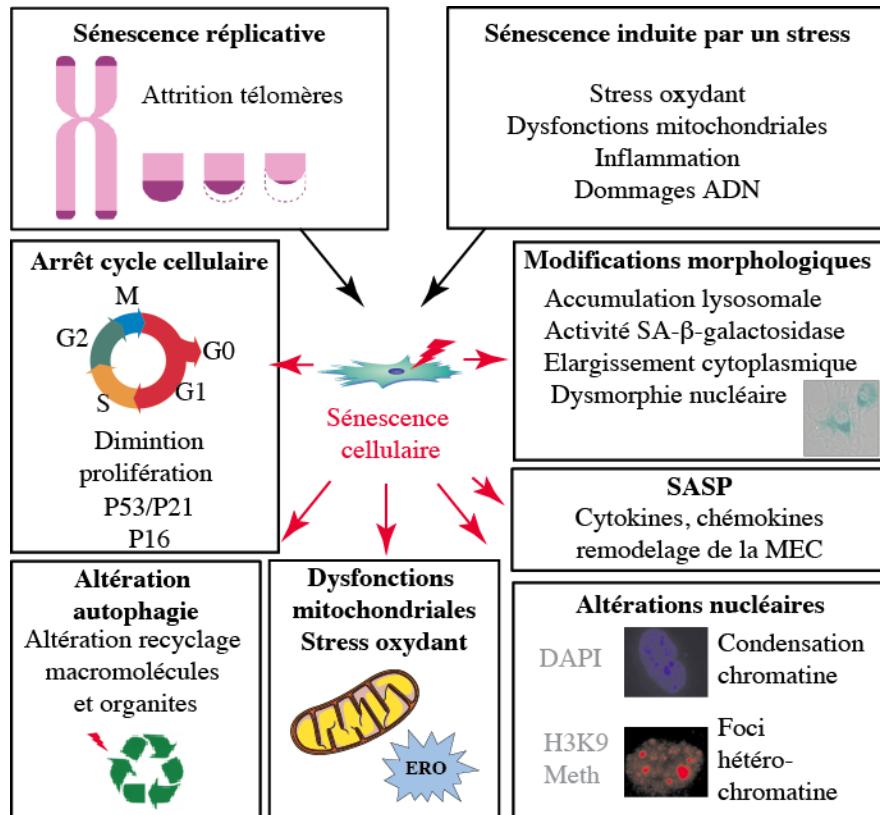


Figure 27 : Caractéristiques d'une cellule sénescante d'après C. Lagathu.

La sénescence est répliquative ou induite par un stress. La sénescence possède un certain nombre de caractéristiques. SASP : profil sécrétoire associé à la sénescence. ERO : espèce réactive de l'oxygène.

## 7) Épuisement des cellules souches mésenchymateuses

L'épuisement des cellules souches, notamment lié à leur sénescence, a des conséquences sur la régénération, la réparation et le renouvellement tissulaire (Rossi et al. 2007, Jones and Rando 2011). Les niches de CSM adultes de nombreux tissus (os, muscle, moelle osseuse) subissent un épuisement (Gruber et al. 2006, Rossi et al. 2007, Mansilla et al. 2011, Conboy and Rando 2012). L'inflammation jouerait un rôle prépondérant dans l'épuisement prématûrée du stock de CSM (Franceschi and Campisi 2014).

Dans un contexte d'infection VIH, il a été montré que les PI, mais aussi les protéines virales Tat et Nef induisent une sénescence des CSM et une diminution de leur capacité proliférative

pouvant aboutir à la perte du stock de cellules souches dans la moelle osseuse (Hernandez-Vallejo et al. 2013, Beaupere et al. 2015). Chez les patients infectés et traités, l'augmentation de la prévalence de certaines pathologies, classiquement liées à l'âge, telles que l'ostéoporose, la sarcopénie et les lipoatrophies seraient liées à une déplétion des cellules souches (Lagathu et al. 2017).

## B. Le tissu adipeux : un nouvel acteur du vieillissement

Comme nous l'avons vu précédemment, les perturbations des fonctions métaboliques et sécrétoires du TA ont des répercussions sur l'ensemble de l'organisme. Plusieurs éléments de la littérature vont dans le sens d'une association entre vieillissement et dysfonction du TA. En effet, le vieillissement chronologique/physiologique est associé à une redistribution, une inflammation, une résistance à l'insuline et une fibrose du TA (Kuk et al. 2009, Caron-Debarle et al. 2010, Lagathu et al. 2017, Stout et al. 2017).

### 1) Redistribution du tissu adipeux au cours du vieillissement

Le vieillissement est associé à une redistribution du TA caractérisée par une perte du TASC périphérique au profit d'une accumulation tronculaire de TA (Kuk et al. 2009, Sepe et al. 2011, Caso et al. 2013, Stout et al. 2017). Le déclin des capacités de stockage du TASC entraîne une inflammation du TAV et favorise le stockage ectopique des lipides. Le défaut de plasticité dépôt-spécifique du TA associé à des changements de profil sécrétoire, de la composition cellulaire, de la réponse à l'insuline et de l'état inflammatoire du TA participe à la mise en place de comorbidités liées à l'âge (Stout et al. 2017).

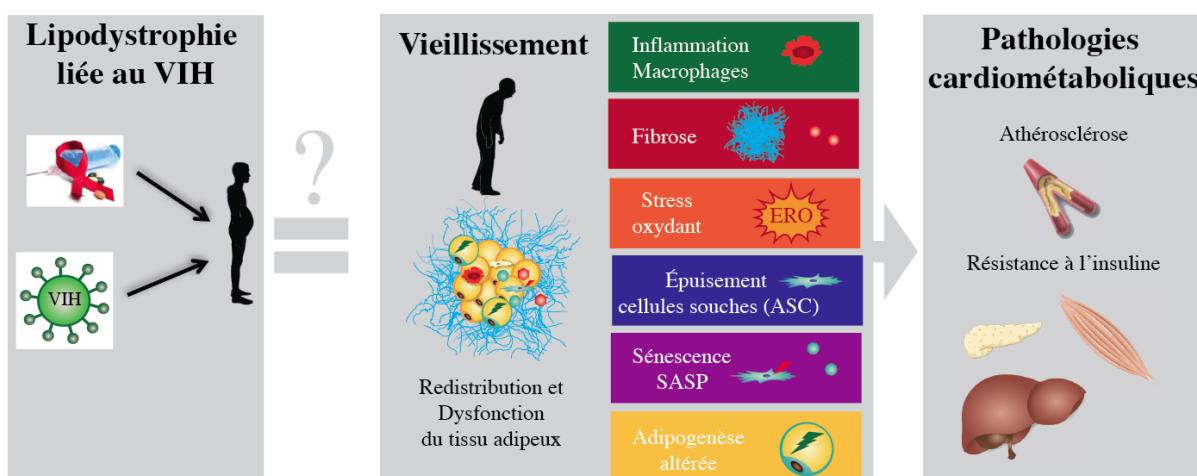
L'existence d'atteintes vasculaires précoces chez les patients lipodystrophiques infectés par le VIH (Maggi et al. 2017, Kumar et al. 2018) ou présentant une lipodystrophie génétique (Bidault et al. 2013) suggèrent un rôle physiopathologique majeur du vieillissement du TA dans la mise en place des comorbidités. De même, la prise poids chez les patients infectés par le VIH sous ARV favoriserait le développement du diabète de façon plus précoce que dans la population générale (Achhra et al. 2016, Herrin et al. 2016, Kumar and Samaras 2018).

### 2) Le vieillissement du tissu adipeux

Avec l'âge et l'avènement de l'*inflammaging*, un cercle vicieux s'installe au sein du TA. L'inflammation de bas grade mais aussi les AGL favorisent la sécrétion de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires par les préadipocytes et adipocytes en activant la voie de

l'inflammation NF $\kappa$ B et de l'inflamasome NLRP3 (Newsholme and de Bittencourt 2014). Cette inflammation du TA est caractérisée par le recrutement de nombreuses cellules de l'immunité qui, via la sécrétion de facteurs inflammatoires, vont favoriser la mise en place de la résistance à l'insuline du TA (Sepe et al. 2011). En parallèle, l'immunosénescence au sein du TA exacerberait la dysfonction métabolique du TA (Newsholme and de Bittencourt 2014).

Des études menées *in vitro* et *in vivo* sur du TASC de patients infectés, ont montré le rôle des PI dans le vieillissement du TA, caractérisé par une accumulation de prélamine A et de p16 (Caron et al. 2007, Bereziat et al. 2011). Par ailleurs, dans le TASC cervical hypertrophié des patients VIH+ sous PI, il a également été observé un défaut d'expression de PPAR $\gamma$  et une fibrose adipocytaire, suggérant un lien entre vieillissement du TA et fibrose (Bereziat et al. 2011). D'autres marqueurs associés à la sénescence comme les toxicités mitochondrielles ou le stress oxydant sont observés dans le TA des patients infectés et dans les adipocytes *in vitro* sous ARV (Giralt et al. 2006, Lagathu et al. 2007, Viengchareun et al. 2007, Capel et al. 2012) (Figure 28).



**Figure 28 : Caractéristiques du vieillissement du tissu adipeux et influence sur les comorbidités adaptés de (Stout et al. 2017) et de C. Lagathu.**

*Sous l'effet du VIH et de la première génération d'antirétroviraux, les patients lipodystrophiques présentent des atteintes du TA avec une fibrose, une inflammation, un stress oxydant et une diminution de l'expression des marqueurs adipogéniques. De façon intéressante, au cours du vieillissement, le TA présente une inflammation, un stress oxydant, une fibrose, un épuisement des cellules souches, une accumulation de cellules sénescentes qui sécrètent le SASP et une altération de l'adipogenèse. Ces atteintes du TA participent à la résistance à l'insuline et à l'athérosclérose et à la mise en place de pathologies cardiométraboliques.*

### 3) Rôle majeur des ASC dans le vieillissement du tissu adipeux

L'épuisement des ASC est observé dans le TA avec l'âge (Stout et al. 2017) mais serait également en cause dans les lipodystrophies ou les pathologies métaboliques (Gruber et al. 2006, Mansilla et al. 2011, Conboy and Rando 2012). Au cours du vieillissement, l'induction des voies

de sénescence impliquant p16 et p21 inhibent la prolifération et la différenciation des précurseurs adipocytaires (Naaz et al. 2004, Wouters et al. 2017). Cependant, l'impact de la sénescence des ASC sur leur potentiel adipogénique est débattu dans la communauté scientifique. En effet, des travaux révèlent l'impact positif de l'âge sur l'adipogenèse des ASC (de Girolamo et al. 2009, Choudhery et al. 2014, Maredziak et al. 2016). Cependant, d'autres études soulignent un effet délétère sur la différenciation (Karagiannides et al. 2001, Sepe et al. 2011, Caso et al. 2013, Beane et al. 2014). Il a été rapporté une diminution de la capacité adipogénique (liée à une diminution de *CEBPA* et *PPARG*), un stress oxydant et des dysfonctions mitochondrielles dans les précurseurs adipocytaires du TASC avec l'âge (Tchkonia et al. 2010 , Sepe et al. 2011, Camell et al. 2017, Stout et al. 2017, Ryden et al. 2020 ). Un défaut de différenciation des ASC en adipocytes conduirait à une hypertrophie délétère des adipocytes déjà existants, à des dysfonctions métaboliques et une résistance à l'insuline (Karagiannides et al. 2001, Mansilla et al. 2011). Le vieillissement du TA favorise la mise en place de comorbidités et pourrait être accentué chez les patients infectés par le VIH.

## **C. Article 3: SIV infection and the HIV proteins Tat and Nef induce senescence in adipose tissue and human adipose stem cells, resulting in adipocyte dysfunction**

### **1) Contexte de l'étude et résumé des résultats**

La lipodystrophie liée au VIH ressemble beaucoup aux redistributions du TA observées au cours du vieillissement, avec une perte du TASC des membres et du visage et une accumulation tronculaire de TASC et TAV, suggérant la survenue d'un vieillissement accentué du TA chez certains patients infectés. Des études cellulaires ont permis de montrer que le virus ou ses protéines virales (Tat, Nef ou Gp120) pouvaient induire une sénescence mais à ce jour, aucune étude n'a pu démontrer leur rôle spécifiquement dans le TA (voir chapitre III. Partie A- marqueurs et mécanismes du vieillissement chez les personnes infectées par le VIH). Nous émettons donc l'hypothèse que le virus et les protéines du VIH peuvent induire un vieillissement du TA qui aurait des répercussions sur la fonction adipocytaire.

Dans cette étude, nous avons montré que l'infection chronique par le VIS chez des macaques induisait l'expression de la protéine p16 et l'activation de p53, suggérant une sénescence du TA. Parallèlement, les ASC traitées par Tat et Nef présentaient une sénescence accentuée, une augmentation des dysfonctions mitochondrielles et un stress oxydant. L'utilisation d'un antioxydant, le N-Acetyl cystéine (NAC), nous a permis de montrer que la sénescence induite

par Tat et Nef était liée, au moins en partie, à l'induction d'un stress oxydant. Enfin, nous avons mis en évidence que la sénescence induite par Nef uniquement, conduisait à une diminution de l'adipogenèse et une résistance à l'insuline des adipocytes différenciés à partir des ASC traitées.

Article

# SIV Infection and the HIV Proteins Tat and Nef Induce Senescence in Adipose Tissue and Human Adipose Stem Cells, Resulting in Adipocyte Dysfunction

Jennifer Gorwood <sup>1</sup>, Tina Ejlalmanesh <sup>1</sup>, Christine Bourgeois <sup>2</sup>, Matthieu Mantecon <sup>1</sup>, Cindy Rose <sup>1</sup>, Michael Atlan <sup>1,3</sup>, Delphine Desjardins <sup>4</sup>, Roger Le Grand <sup>4</sup>, Bruno Fève <sup>1,5</sup>, Olivier Lambotte <sup>2,6</sup>, Jacqueline Capeau <sup>1</sup> and Véronique Béréziat <sup>1,\*†</sup> and Claire Lagathu <sup>1,\*†</sup>

<sup>1</sup> Lipodystrophies, Metabolic and Hormonal Adaptation, and Aging, UMR\_S 938, Centre de Recherche Saint-Antoine-Institut Hospitalo-Universitaire de Cardiométabolisme et Nutrition (ICAN), INSERM, Sorbonne Université, F-75012 Paris, France; jennifer.gorwood@inserm.fr (J.G.); tina.ejlalmanesh@inserm.fr (T.E.); matthieu.mantecon@inserm.fr (M.M.); cindy.rose@inserm.fr (C.R.); drmichaelatlan@gmail.com (M.A.); bruno.feve@inserm.fr (B.F.); jacqueline.capeau@inserm.fr (J.C.)

<sup>2</sup> Immunology of Viral infections and Autoimmune Diseases, IDMIT Department, IBFJ, U1184, INSERM - CEA-Université Paris Sud 11, F-92260 Fontenay-Aux-Roses and F-94270 Le Kremlin-Bicêtre, France; christine.bourgeois@universite-paris-saclay.fr (C.B.); olivier.lambotte@aphp.fr (O.L.)

<sup>3</sup> Plastic Surgery Department, Tenon Hospital, AP-HP, F-75020 Paris, France; drmichaelatlan@gmail.com

<sup>4</sup> IDMIT Department, Center for Immunology of Viral Infections and Autoimmune Diseases, Inserm, CEA, Université Paris Saclay, F-92260 Fontenay-aux-Roses, France; delphine.desjardins@cea.fr (D.D.); roger.le-grand@cea.fr (R.L.G.)

<sup>5</sup> Diabétologie et Reproduction, PRYSIS, Service d'Endocrinologie, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, F-75012 Paris, France

<sup>6</sup> Service de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Groupe Hospitalier Universitaire Paris Sud, Hôpital Bicêtre, AP-HP, F-94270 Le Kremlin-Bicêtre, France

\* Correspondence: claire.lagathu@inserm.fr (C.L.); veronique.bereziat@inserm.fr (V.B.); Tel.: +33140011321

† These two authors contributed equally to this work.

Received: 3 February 2020; Accepted: 30 March 2020; Published: 1 April 2020

**Abstract:** Background: Aging is characterized by adipose tissue senescence, inflammation, and fibrosis, with trunk fat accumulation. Aging HIV-infected patients have a higher risk of trunk fat accumulation than uninfected individuals—suggesting that viral infection has a role in adipose tissue aging. We previously demonstrated that HIV/SIV infection and the Tat and Nef viral proteins were responsible for adipose tissue fibrosis and impaired adipogenesis. We hypothesized that SIV/HIV infection and viral proteins could induce adipose tissue senescence and thus lead to adipocyte dysfunctions. Methods: Features of tissue senescence were evaluated in subcutaneous and visceral adipose tissues of SIV-infected macaques and in human adipose stem cells (ASCs) exposed to Tat or Nef for up to 30 days. Results: p16 expression and p53 activation were higher in adipose tissue of SIV-infected macaques than in control macaques, indicating adipose tissue senescence. Tat and Nef induced higher senescence in ASCs, characterized by higher levels of senescence-associated beta-galactosidase activity, p16 expression, and p53 activation vs. control cells. Treatment with Tat and Nef also induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction. Prevention of oxidative stress (using N-acetyl-cysteine) reduced senescence in ASCs. Adipocytes having differentiated from Nef-treated ASCs displayed alterations in adipogenesis with lower levels of triglyceride accumulation and adipocyte marker expression and secretion, and insulin resistance. Conclusion: HIV/SIV promotes adipose tissue senescence, which in turn may alter adipocyte function and contribute to insulin resistance.

**Keywords:** adipose stem cells; HIV; senescence; oxidative stress; adipogenesis

## 1. Introduction

Aging is a major issue in the general population; it is associated with adipose tissue senescence, inflammation, and fibrosis, leading to trunk fat redistribution [1–3]. It has been suggested that aging contributes to the overall metabolic and functional decline of adipose tissue.

Given that highly effective antiretroviral therapy (ART) can control but not cure HIV infections, HIV-infected patients are aging with the virus. Moreover, the prevalence of comorbidities typically associated with aging (e.g., cardiometabolic diseases) is higher in people living with HIV than in the general population. In particular, the risk of trunk fat accumulation (associated with pro-atherogenic metabolic factors) is greater in aging HIV-infected people than in uninfected controls, and this risk increases with age [2,4,5]. The pathophysiological mechanisms underlying adipose tissue redistribution in aging HIV-infected people are poorly understood but are almost certainly multifactorial. Earlier research has suggested that both the HIV infection itself and some ARTs have roles in adipose tissue inflammation and extracellular matrix remodeling [6–9]. Adipose tissue aging has not been investigated previously in the context of SIV/HIV infection. Therefore, we sought to determine whether or not SIV/HIV-infected adipose tissue displayed features of accentuated aging that could contribute to cardiometabolic disorders.

Cellular aging (also referred to as cellular senescence) is defined as an irreversible growth arrest [10] and an increase in levels of cell cycle arrest proteins (including p16, p21, and phosphorylated-p53) [11]. Senescent cells are characterized by elevated levels of senescence-associated (SA)- $\beta$ -galactosidase activity, and foci of DNA damage [12]. Furthermore, these cells display a specific, pro-inflammatory, senescence-associated secretory phenotype (SASP) [13]. Senescence can result not only from excessive oxidative stress, mitochondrial dysfunction, inflammation, and DNA damage but also from environmental stimuli, such as viral infections [11,14].

In the context of HIV infection, the results of previous in vitro studies have shown that some ARTs (such as protease inhibitors and nucleoside reverse transcriptase inhibitors) can induce senescence in human and murine mesenchymal stem cells (MSCs) [15–17]. Elevated levels of p16 and prelamin A (indicating senescence) have been observed in the adipose tissue of ART-treated HIV-infected people, and may be related to the effect of protease inhibitors (PIs) [3]. However, few studies have looked at the impact of SIV/HIV on cellular senescence. We have reported that the viral proteins trans-activator of transcription (Tat) and negative-regulating factor (Nef) induce cellular senescence in bone marrow MSCs via the NF- $\kappa$ B [18] and autophagy [19] pathways, respectively.

Subcutaneous adipose tissue (SCAT) and visceral adipose tissue (VAT) are known to be viral reservoirs that notably contain HIV-infected CD4 $^{+}$  T cells and macrophages [20,21]. Thus, within adipose tissue, viral proteins released by infected cells might act on nearby adipocytes and stromavascular cells, including adipose precursor cells and adipose stem cells (ASCs). In adipose tissue, ASCs are involved in renewal of the pool of adipocytes through their recruitment for adipogenesis. It has been suggested that the senescence-induced exhaustion of ASCs can disrupt adipose tissue homeostasis [1,22]. Taken as a whole, these findings suggest that HIV infection is involved in ASC senescence, which in turn might contribute to the adipose tissue redistribution and alterations observed in HIV-infected people.

Therefore, the objective of the present study of two complementary in vivo and in vitro models was to evaluate the impact of HIV/SIV on adipose tissue aging, inflammation, and oxidative stress. First, we revealed the impact of the virus per se on adipose tissue aging in vivo in a novel nonhuman primate model of chronic SIV infection. Then, we showed that the HIV proteins Tat and Nef released by infected cells can induce senescence in human ASCs in vitro—probably through the induction of oxidative stress. Nef-induced senescence impacted the adipogenic capacity of ASCs and resulted in insulin resistance—suggesting that adipose tissue senescence contributes to the fat alterations and cardiometabolic complications observed in HIV-infected people.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Macaque Infection and Sample Collection

Adult cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) were imported from Mauritius, handled, and housed in the animal facilities at the *Commissariat à l’Energie Atomique et aux Energies Alternatives* (CEA, Fontenay-aux-Roses, France; CEA Permit Number A 92-032-02). The CEA animal facilities comply with the Standards for Human Care and Use of Laboratory of the Office for Laboratory Animal Welfare (OLAW, USA, assurance number #A5826-01) and with the European Directive (2010/63, recommendation No. 9). The study was authorized by the local animal care and use committee (*Comité d’éthique en expérimentation animale* no. 44: Reference: 2015102713323361.02, APAFIS#2453) and the French Ministry of Research (*Ministère de l’Enseignement Supérieur et de la Recherche*). Macaques were intravenously infected (or not, for controls) with SIVmac251, as described previously [9,20]. The mean  $\pm$  SEM duration of SIV infection was  $1.3 \pm 0.3$  years (Supplemental Table S1). At sacrifice, animals were sedated with ketamine chlorhydrate, and then euthanized by intravenous injection of sodium pentobarbital (Vetoquinol, Paris, France). The dates of euthanasia and necropsy of control and SIV-infected animals were programmed in the context of specific studies using these animals. Samples of abdominal subcutaneous adipose tissue (SCAT) and visceral adipose tissue (VAT) were collected at necropsy. Non-adipose-associated tissues (including lymph nodes and blood vessels) were removed to prevent blood contamination. At sacrifice, the mean  $\pm$  SEM plasma viral load in the SIV-infected macaques was  $5.0 \times 10^4 \pm 3.2 \times 10^4$  RNA copies/mL. SIV-infected macaques (mean  $\pm$  SEM age:  $5.1 \pm 0.2$  years; mean  $\pm$  SEM weight:  $5.5 \pm 1.0$  kg) were compared with noninfected controls (mean  $\pm$  SEM age:  $9.5 \pm 1.8$  years; mean  $\pm$  SEM weight:  $12.1 \pm 2.0$  kg) housed under similar conditions.

### 2.2. Isolation of ASCs, Cell Culture, and Cell Treatments

The experimental procedures involving human ASCs were approved by the local Ethical Committees for human research and were performed in accordance with the European Union’s guidelines and the Declaration of Helsinki. ASCs were isolated from human abdominal subcutaneous adipose tissue (SCAT) from nine healthy women (mean  $\pm$  SEM age:  $42.9 \pm 3.9$  years; mean  $\pm$  SEM BMI:  $24.2 \pm 0.8$  kg/m<sup>2</sup>) by liposuction during plastic surgery. Donors were nonobese and nondiabetic and had no history of HIV, HCV, or HBV infection. Briefly, SCAT samples were digested with collagenase, filtered to remove large debris, and cultured at an initial density of  $5 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> in alpha-minimum essential medium ( $\alpha$ MEM) supplemented with 10% fetal bovine serum (Gibco, Invitrogen Corporation, San Diego, CA, USA), 2 mmol/L glutamine, 2.5 ng/mL basic fibroblast growth factor (PeproTech, Rocky Hill, NJ, USA), and penicillin/streptomycin (Gibco, Invitrogen Corporation, San Diego, CA, USA), as described previously [9]. After 24 h, nonadherent cells were removed and the medium was changed. Cultures were fed every two to three days and trypsinized and passaged every five days. Cells were exposed (or not) to 40 nmol/L recombinant HIV proteins Tat or Nef (Jenabioscience, Jena, Germany) at clinically relevant concentrations (i.e., those observed in treatment-naïve, HIV-infected patients [9,23–25]) for up to 30 days, between passages three and nine. In some experiments, ASCs were exposed to HIV proteins to 250  $\mu$ mol/L *N*-acetyl-cysteine (NAC) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA): After 15 days of treatment with HIV proteins, we started a concomitant NAC treatment for 10 days. Thus, the impact of NAC was analyzed at day 25.

### 2.3. Evaluation of Cell Proliferation

ASC proliferation was evaluated in terms of the cell population doubling level (PDL, calculated as described previously [19]), where D0 and D5 are the cell counts at seeding and harvesting, respectively:

$$\text{PDL} = \log_2 (\text{D5}/\text{D0}) \quad (1)$$

#### 2.4. Adipocyte Differentiation

After 30 days of treatment with Tat or Nef, differentiation of the ASCs into adipocytes was triggered for 14 days in the absence of HIV proteins. ASCs were cultured for six days in adipogenic induction medium (1  $\mu$ mol/L dexamethasone, 500  $\mu$ mol/L 3-isobutyl-1-methylxanthine, 1  $\mu$ mol/L insulin, and 1  $\mu$ mol/L rosiglitazone) and then cultured in adipogenic maintenance medium (1  $\mu$ M insulin). On day 14, cells were stained with Oil-Red-O (Sigma-Aldrich), as described previously [26]. The Oil-Red-O staining level was quantified as the absorbance at 520 nm and normalized against the protein content.

#### 2.5. Cellular Senescence Assay

The blue staining produced by SA- $\beta$ -galactosidase's hydrolysis of 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (X-Gal, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) was used as a biomarker of cellular senescence. To quantify SA- $\beta$ -galactosidase activity, cells were incubated with appropriate buffer solution containing X-Gal at pH 6, as described previously [19]. The proportion of positive (blue) cells was determined. We used the acidotropic dye Lysotracker (Invitrogen Corporation) to evaluate lysosomal mass. Briefly, cells were cultured in 96-well plates and incubated with Lysotracker (50 nmol/L) in  $\alpha$ MEM for 2 h at 37 °C in the dark. The results were quantified on a plate fluorescence reader (Spectrafluor Plus, Tecan France, Trappes, France) at 504–570 nm, and normalized against total nuclear DNA (stained with 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) at 345–458 nm).

#### 2.6. Protein Secretion Assay

The levels of human IL-6 and IL-8 secreted by ASCs after 15 days of incubation with Tat or Nef were determined in the culture medium from the last 24 h, using Quantikine sandwich ELISAs (R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN, USA). The assay sensitivity was 0.7 pg/mL for IL-6 and 3.5 pg/mL for IL-8. Total levels of human adiponectin/Acrp30 and leptin secreted by differentiated ASCs after 14 days of differentiation were determined in the culture medium from the last 24 h, using Quantikine sandwich ELISAs (R&D Systems). The assay sensitivity was 0.246 ng/mL for total adiponectin/Acrp30 and 7.8 pg/mL for leptin.

#### 2.7. Assays of Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction

The production of reactive oxygen species (ROS) was assayed by quantifying the oxidation of 5-6-chloromethyl-2,7-dichlorodihydro-fluorescein diacetate (CM-H<sub>2</sub>DCFDA, Invitrogen Corporation) on a plate fluorescence reader at 520–595 nm. Results were normalized against DAPI fluorescence, as described previously [19]. ROS production was also assessed by the oxidation of nitro blue tetrazolium (NBT, Sigma-Aldrich), as quantified by the absorbance at 560 nm and normalized against the protein content. To evaluate mitochondrial dysfunction, we used the cationic dye tetrachloro-tetra-ethyl-benzimidazolyl-carbocyanine iodide (JC-1) to evaluate mitochondrial membrane potential, and the MitoTracker Red probe (both from Invitrogen Corporation) to measure mitochondrial mass, as described previously [19]. Briefly, cells were cultured in 96-well plates and incubated with JC-1 (4  $\mu$ g/mL) or MitoTracker (50 nmol/L) for 2 h at 37 °C in the dark. The results were quantified on a plate fluorescence reader at 520–595 and 485–535 nm for JC-1 aggregates and monomers, respectively, and at 575–620 nm for MitoTracker.

#### 2.8. RNA Isolation and Quantitative RT-PCR

Total RNA was isolated from cultured cells using a RNeasy kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) and mRNA expression was analyzed using RT-PCR, as described previously [9]. The sequences of the oligonucleotide primers are given in Supplemental Table S2.

#### 2.9. Protein Extraction and Western Blotting

Proteins were extracted from the VAT and SCAT of macaques and ASC monolayers, as described previously [9], and then electroblotted on a nitrocellulose membrane (Biorad Laboratories, Richmond, CA, USA). Specific proteins were detected by incubation with specific primary antibodies for p16 (BD Pharmingen, Franklin Lakes, NJ, USA, 51-1325GR, dilution 1/500), phosphorylated-p53 (Abcam, Cambridge, UK, ab3897, dilution 1/1200), total p53 (Abcam, ab1101 dilution 1/1200), phospho-Akt (Ser473, Cell Signaling, Danvers, MA, USA, cs9271, dilution 1/1000), Akt (Cell signaling, cs9272, dilution 1/1000) and tubulin (Sigma, T5168, dilution 1/10,000), and then with horseradish-peroxidase-conjugated secondary antibodies at 1/5000 of dilution except for tubulin, the secondary antibody was diluted at 1/10,000. Immune complexes were detected by enhanced chemiluminescence (Amersham, GE Healthcare Europe, Velizy-Villacoublay, France).

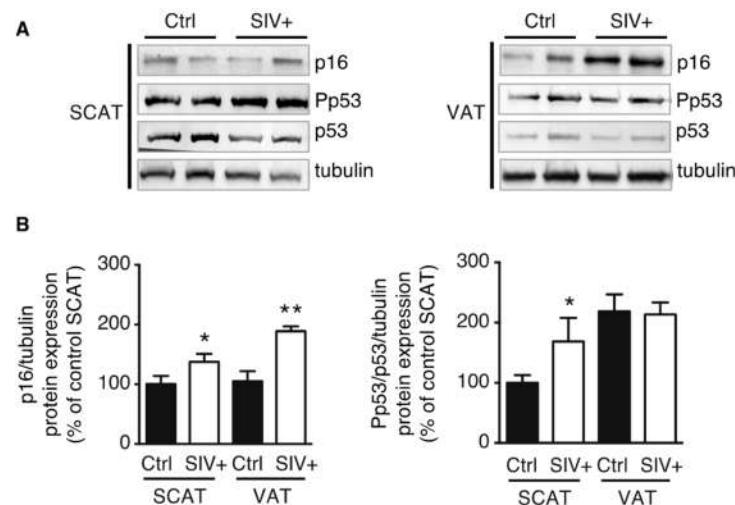
#### 2.10. Statistical Analysis

Experiments were performed at least three times on triplicate samples. Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM. Statistical significance for HIV-protein-treated cells vs. control cells with or without NAC, and for SIV-infected vs. control macaques were determined with a parametric test (Student's t-test) or a nonparametric test (the Mann–Whitney U-test), as appropriate. We also performed a two-way ANOVA to study the impact of adipose tissue localization on senescence markers in our in vivo model.

### 3. Results

#### 3.1. Adipose Tissue in SIV-Infected Macaques Displays Features of Senescence

We observed that VAT and SCAT p16 expression was higher in infected macaques than in control macaques (Figure 1A). Furthermore, the expression of phosphorylated-p53 (normalized against total p53 and tubulin) was higher in SCAT and similar in VAT of SIV-infected macaques, when compared with uninfected macaques (Figure 1B). We found a significant effect of SIV infection ( $p = 0.0009$ ) and of adipose tissue localization ( $p = 0.05$ ) for p16 expression. Thus, according to our results, the greater expression of p16 in VAT, suggests that VAT displays a higher aging phenotype. Moreover, p16 level and p53 activation in SCAT or VAT did not correlate with viral load, suggesting that the level of senescence was not linked to the severity of SIV infection. These results indicate that adipose tissue was more senescent in infected macaques and strongly suggest that SIV per se accentuates the aging of adipose tissue.



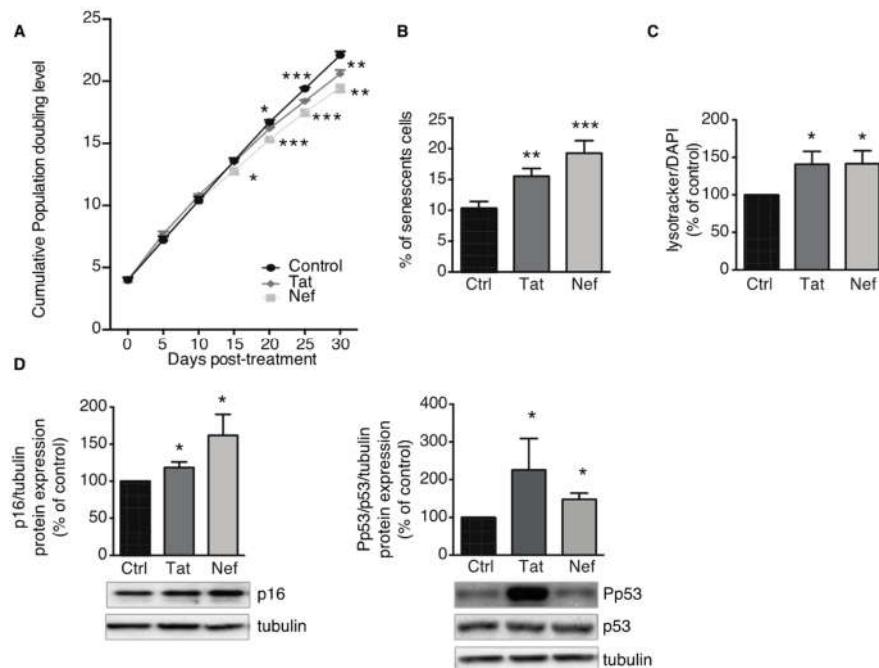
**Figure 1.** SIV infection of macaques was associated with higher expression of p16 and greater activation of p53 in the adipose tissue. Whole-tissue proteins were extracted from subcutaneous adipose tissue (SCAT) and visceral adipose tissue (VAT) from chronically infected macaques and controls and then analyzed by immunoblotting. (A) Representative immunoblots of p16,

phosphorylated-p53, p53, and tubulin (loading control) are shown. (B) Densitometry analyses against tubulin as loading control were performed for p16 and p53 activation, and expressed as a mean  $\pm$  SEM. Experiments were performed using SCAT and VAT from macaques from three control uninfected macaques (Ctrl) and four SIV-infected macaques (SIV+). \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs. noninfected macaques.

### 3.2. Tat- and Nef-Induced Cell Senescence in ASCs

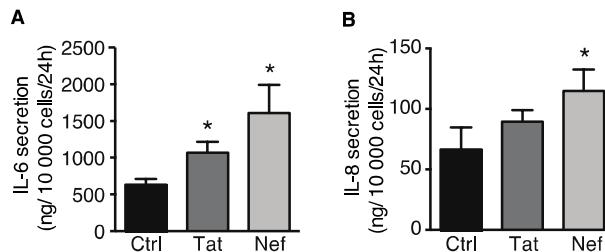
#### 3.2.1. Treatment of ASCs with Tat and Nef Resulted in a Lower Proliferative Capacity and Higher Levels of Senescence Markers

Next, we looked at whether the HIV proteins Tat and Nef could induce senescence in ASCs. To this end, we first determined the impact of up to 30 days of exposure to Tat or Nef on cell proliferation in vitro. We found that Tat and Nef lowered the ASCs proliferation rate. This effect was seen after 15 days, and the low proliferation rate fell further with each cell passage (Figure 2A), when compared with nontreated cells. After 20 days of treatment, the cumulative PDL was significantly lower in ASCs treated with Tat or Nef than in nontreated cells. On day 15, the two HIV proteins enhanced senescence in ASCs, as characterized by a higher senescent cell count (based on the SA- $\beta$ -galactosidase activity). The percentage of senescent cells was  $15.6 \pm 1.3\%$  and  $19.3 \pm 2.1\%$  for Tat- and Nef-treated cells respectively, vs.  $10.4 \pm 1.1\%$  for control cells (Figure 2B). Furthermore, treatment with the HIV proteins was associated with greater lysosome accumulation (Figure 2C). Lastly, the expression of the cell cycle arrest proteins p16 and the level of p53 activation were higher after 15 days of Tat and Nef treatment, relative to controls (Figure 2D). Tat- or Nef-treated ASCs displayed signs of SASP, with greater secretion of the pro-inflammatory cytokines IL-6 and IL-8 (Figure 3A,B). Taken as a whole, these data indicated that treatment with the HIV protein Tat or Nef induced the cellular senescence in ASCs. In general, Nef had a greater effect than Tat on the induction of senescence and the secretion of inflammatory proteins.



**Figure 2.** Trans-activator of transcription (Tat) and negative-regulating factor (Nef) proteins induce cell senescence in adipose stem cells (ASCs). ASCs, isolated from different abdominal SCAT healthy donors, were cultured with the HIV proteins Tat or Nef for 30 days. (A) Calculation of the cumulative population doubling level (PDL) is described in the Material and Methods Section. Mean  $\pm$  SEM PDL values were determined on the indicated days of treatment with the HIV proteins ( $n = 9$ , in duplicate). (B) After 15 days of treatment with Tat or Nef, senescence was evaluated in terms of SA- $\beta$ -

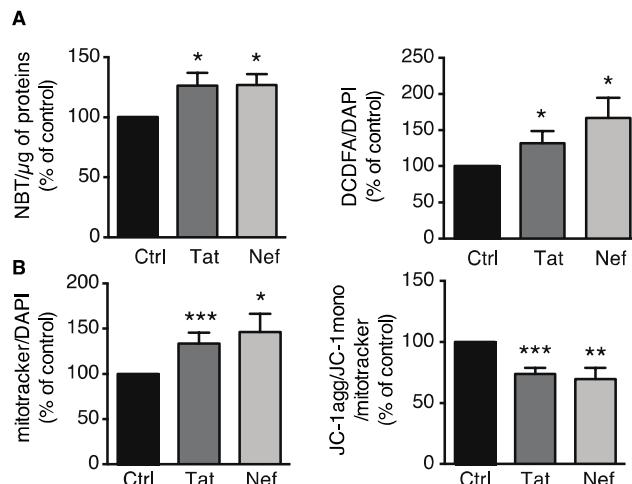
galactosidase activity at pH 6 and expressed as the number of SA- $\beta$ -galactosidase-positive cells as a percentage of total cells ( $n = 9$ ). (C) Lysosomal accumulation was assessed as Lysotracker fluorescence, normalized against DAPI ( $n = 9$ , in duplicate). (D) Whole-cell lysates were extracted from ASCs after 15 days of treatment with Tat or Nef, and analyzed by immunoblotting. Representative immunoblots of cell cycle arrest markers p16, phosphorylated-p53, and p53 and tubulin (loading control) are shown ( $n = 4$ ). Densitometry analyses against tubulin as loading control were performed for p16 and p53 activation, and expressed as a mean % of the value for control cells  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  vs. control cells.



**Figure 3.** Elevated levels of interleukin (IL)-6 and IL-8 secreted into the culture medium of Tat- or Nef-treated ASCs. After 15 days of treatment with Tat or Nef, the levels of (A) IL-6 and (B) IL-8 in the culture medium from the last 24 h were determined with ELISAs ( $n = 3$ , in duplicate). The results are expressed as the mean  $\pm$  SEM. Experiments were performed in duplicate on ASCs isolated from different abdominal SCAT donors. \*  $P < 0.05$  vs. control cells.

### 3.2.2. Tat- or Nef-Induced Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in ASCs

ROS production (measured through NBT or CM-H2-DCFDA oxidation) was elevated in Tat- or Nef-treated ASCs (Figure 4A). Using MitoTracker, we observed that the mitochondrial mass was 1.3- and 1.5-fold higher than in control cells after 15 days of treatment with the HIV proteins Tat or Nef, respectively (Figure 4B left panel). We also observed a concomitant destabilization of the mitochondrial membrane potential, as shown by the relative decrease in JC1 aggregation (Figure 4B right panel). Despite the higher mitochondrial mass, Tat- or Nef-treated cells had a mitochondrial membrane potential that was 30% lower than in controls; this was suggestive of mitochondrial dysfunction. Overall, these results indicate that the cellular senescence induced by 15 days of treatment with the HIV proteins Tat or Nef was associated with higher ROS production, which might have been due to mitochondrial dysfunction. Again, Nef tended to have a greater effect than Tat.

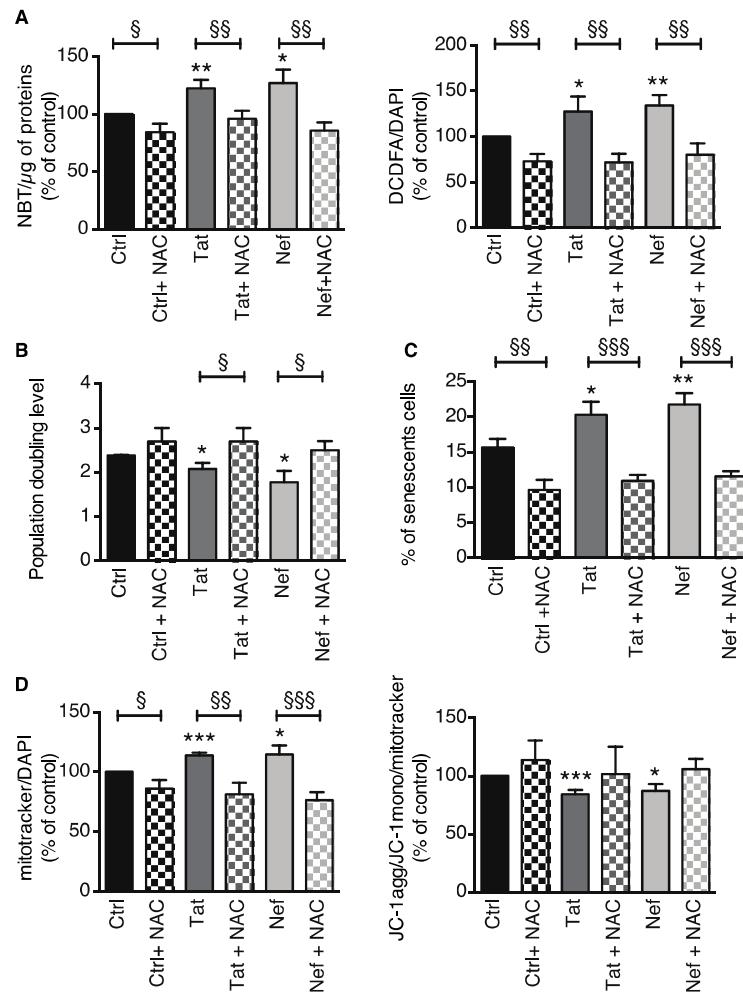


**Figure 4.** Treatment of ASCs with Tat or Nef resulted in higher oxidative stress and mitochondrial dysfunction. (A) After 15 days of treatment with Tat or Nef in ASCs, isolated from different abdominal SCAT healthy donors, reactive oxygen species (ROS) production was assessed spectroscopically by

measuring the nitro blue tetrazolium (NBT) absorbance (normalized against protein content) and the CM-H<sub>2</sub>DCFDA fluorescence (normalized against DAPI) ( $n = 9$ , in duplicate). (B) Mitochondrial mass was evaluated using MitoTracker Red dye. The cationic dye JC-1 was used to evaluate the mitochondrial membrane potential. The fluorescence results are expressed as the mean  $\pm$  SEM % JC-1 aggregate/monomer ratio, relative to control cells ( $n = 9$ , in duplicate). \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  vs. control cells.

### 3.2.3. Inhibition of Oxidative Stress Prevented Tat- and Nef-Induced Senescence in ASCs

To assess the involvement of oxidative stress in Tat- and Nef-induced senescence, ASCs were treated with Tat or Nef for 15 days and then the antioxidant NAC was added (or not) for further 10 days. Experiments were performed on day 25. NAC suppressed the elevation in ROS production induced by Tat or Nef, as shown by NBT and CM-H<sub>2</sub>-DCFDA oxidation (Figure 5A). NAC also prevented the relative decrease in cell proliferation induced by Tat or Nef (Figure 5B). Accordingly, NAC decreased the percentage of senescent cells (Figure 5C) and the mitochondrial mass in Tat- or Nef-treated cells (Figure 5D). The same trend was observed for the mitochondrial membrane potential. These results indicate that oxidative stress was probably involved in the senescence induced by Tat and Nef.



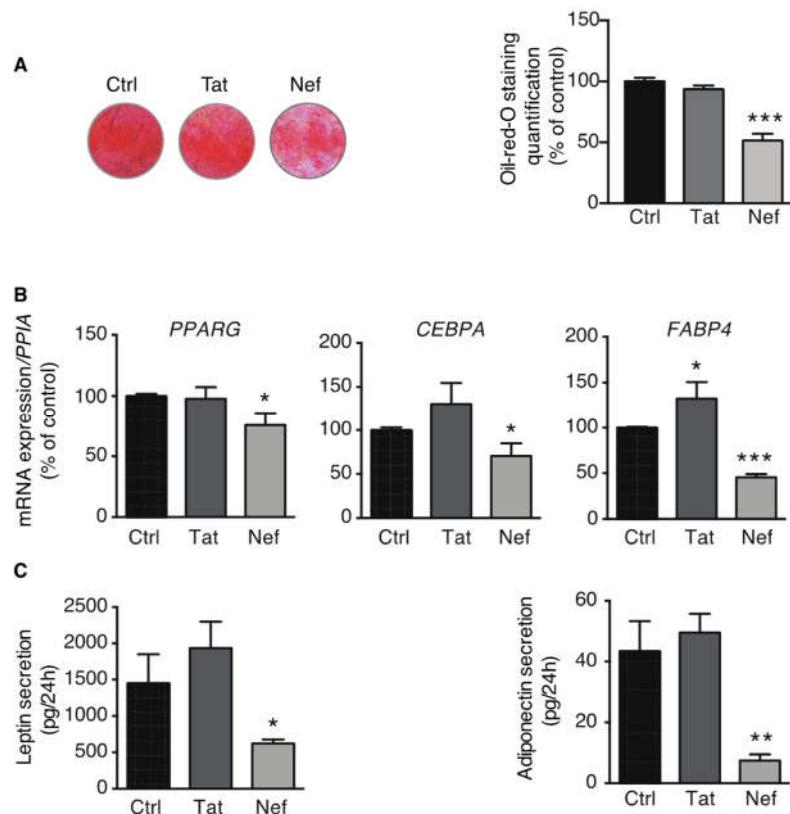
**Figure 5.** The suppression of oxidative stress using NAC prevented Tat- or Nef-induced senescence in ASCs. ASCs were treated with the HIV proteins Tat or Nef for 15 days. After these 15 days of treatment, we started a concomitant NAC treatment for 10 days. Experiments were performed on day 25 in ASCs, isolated from different abdominal SCAT healthy donors. (A) ROS production was assessed spectroscopically by measuring the NBT absorbance (normalized against protein content)

and the CM-H<sub>2</sub>DCFDA fluorescence (normalized against DAPI) ( $n = 5$ , in duplicate). (B) The population doubling level (PDL) was calculated as described previously ( $n = 5$ , in duplicate). (C) Senescence was evaluated in terms of SA- $\beta$ -galactosidase activity at pH 6 and expressed as the proportion (in %) of SA- $\beta$ -galactosidase-positive cells ( $n = 5$ , in duplicate). (D) Mitochondrial mass was evaluated using MitoTracker dye. The cationic dye JC-1 was used to evaluate the mitochondrial membrane potential. The fluorescence results are expressed as the mean  $\pm$  SEM % JC-1 aggregate/monomer ratio. The results were normalized against DAPI fluorescence, and expressed as the mean  $\pm$  SEM % of control cells ( $n = 5$ , in duplicate). \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , and \*\*\*  $P < 0.001$  vs. control cells.  $\ddagger P < 0.05$ ,  $\ddagger\ddagger P < 0.01$ , and  $\ddagger\ddagger\ddagger P < 0.001$  NAC-treated vs. nontreated cells.

### 3.3. Adipogenesis is Impaired in ASCs Displaying Nef-Induced Senescence

To assess the adipogenic potential of senescence ASCs, cells were induced to differentiate into adipocytes after 30 days of treatment with Tat or Nef. After 14 days of differentiation, treatment with Nef (but not Tat) resulted in a lower level of lipid accumulation (Figure 6A) and lower expression levels for the adipogenic marker genes *PPARG*, *CEBPA*, and *FABP4* (Figure 6B). Furthermore, we observed that Nef-induced senescence was associated with lower secreted levels of the adipokines leptin and adiponectin in the culture medium (Figure 6C).

Taken as a whole, adipogenic fate was affected in ASCs presenting Nef-induced senescence. The absence of an effect on Tat-treated ASCs in this setting might have been due to the protein's weaker ability to induce senescence, inflammation, and oxidative stress.

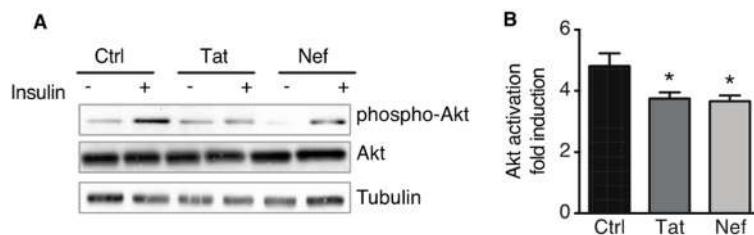


**Figure 6.** Nef-induced senescence was associated with impaired adipogenesis. After 30 days of treatment with Tat or Nef, ASCs, isolated from different abdominal SCAT healthy donors, were induced to differentiate into adipocytes for 14 days. The Tat or Nef treatment was stopped during differentiation. (A) Adipogenic potential of ASCs was determined using Oil-Red-O staining 14 days after the start of differentiation induction. Representative pictures of cultured cells are shown (left panel), and the intensity of Oil-Red-O staining was normalized against protein content and expressed as the mean  $\pm$  SEM % of control cells ( $n = 4$ , in duplicate). (B) The relative mRNA expression levels of

*PPARG*, *CEBPA*, and *FABP4* were normalized against that of *PPIA*. The results are expressed as the mean  $\pm$  SEM % of control cells ( $n = 4$ , in duplicate). (C) Secreted leptin and adiponectin levels in the culture medium from the last 24 h of incubation were determined using ELISAs ( $n = 3$ , in duplicate). The results are expressed as mean  $\pm$  SEM. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$  vs. control cells.

### 3.4. Treatment of ASCs with Nef or Tat is Associated with Insulin Resistance in ASC-Derived Adipocytes

In order to assess the functional status of adipocytes derived from Tat- or Nef-treated ASCs, we evaluated the cells' insulin sensitivity. A Western blot analysis showed that Tat- and Nef-treated cells expressed similar, normal levels of total Akt the key enzyme in the insulin signaling pathway, and mainly involved in short-term metabolic responses (Figure 7A). Despite these normal total Akt levels, the activation of Akt in response to acute stimulation by insulin was 24% and 22% below control values in adipocytes derived from Nef- or Tat-treated ASCs (Figure 7B), indicating a lower level of insulin sensitivity.



**Figure 7.** Nef- and Tat-induced senescence in ASCs was associated with insulin resistance in ASC-derived adipocytes. After 30 days of treatment with Tat or Nef, ASCs, isolated from different abdominal SCAT healthy donors, were differentiated into adipocytes for 14 days. The treatment was stopped during the differentiation. (A) On day 14 of differentiation, the cells were stimulated (or not) with 100 nmol/L insulin for 7 min. Representative immunoblots of phosphorylated-Akt, Akt, and tubulin (loading control) are shown ( $n = 3$ ). (B) The fold induction of Akt activation by insulin was quantified, and results are shown as the mean  $\pm$  SEM ( $n = 3$ ). \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs. control cells.

## 4. Discussion

Our present results showed that SIV/HIV infection was associated with certain features of adipose tissue aging. Firstly, fat from SIV-infected macaques displayed markers of senescence. Since adipose tissue has been identified as an HIV reservoir that contains infected cells (even in ART-controlled patients [20,21,27]), we hypothesized that HIV proteins released by infected cells might exert a bystander effect on neighboring, noninfected cells (mainly adipocytes and their precursors, such as ASCs). Our study is the first to have shown that the HIV proteins Tat and Nef can enhance senescence in ASCs, and that this effect could be partially reversed by treatment with an antioxidant. Furthermore, we found that Nef-induced senescence was associated with an abnormally low adipogenic capacity, and impaired adipocyte function.

To the best of our knowledge, the level of senescence in the adipose tissue of SIV-infected macaques or in ART-naïve, HIV-infected people has not previously been evaluated. Here, we showed that SIV infection is associated with higher adipose tissue levels of p16 in VAT and SCAT and activated p53 in SCAT (both hallmarks of aging [22]), which suggests that senescent cells are present in adipose tissue. The discrepancy between p16 expression and p53 activation in VAT may be due to the fact that senescence can involve either the p53–p21 or the canonical p16–retinoblastoma protein tumor suppressor pathways [28]. We propose that in VAT the p16 pathway of senescence [29] is activated in priority by SIV and its proteins rather than that using p53. Accordingly, recent data show that aging is not associated with p53 activation in VAT [30]. We found a significant effect both of SIV infection and of adipose tissue localization on p16 expression. Thus, according to our results, the greater expression of p16 in VAT, suggests that VAT displays a higher aging phenotype than SCAT.

Adipose tissue is an HIV/SIV reservoir even in the presence of suppressive ART [20,21,27]. Furthermore, the level of HIV proteins, such as Tat or Nef, is measurable in the plasma and in tissues

of HIV-infected ART-treated patients [24,31,32]. Thus, Tat was detected in intestinal epithelium from ART-treated patients [31]. As well, Nef was detected in cardiomyocytes of SIV-infected ART-treated macaques [32]. These studies support the hypothesis that HIV proteins could be present in AT and could have a deleterious effect on nearby noninfected ASC and adipocytes by a “bystander effect”. Previous studies have reported that Tat and Nef can induce cellular senescence and dysfunction in endothelial cells [33] and in bone marrow MSCs [19]. Accordingly, we found that in vitro incubation with the HIV proteins Tat and Nef lowered ASCs’ proliferative capacity and resulted in higher levels of several senescence biomarkers, including SA-beta-galactosidase activity, cell cycle arrest proteins (p16 and phosphorylated p53), and SASP proteins (secreted IL-6 and IL-8). These are the first results showing a link between the virus itself and aging in adipose tissue. There was no evidence for a link between senescence and the severity of SIV infection. Otherwise, we cannot assess the presence of a direct link between Tat or Nef and higher senescence in our in vivo model. Nevertheless, our in vitro results indicated that Tat and Nef induced senescence in ASCs that could in turn participate to the aging of adipose tissue.

With regard to the mechanisms that might promote senescence in ASCs, greater mitochondrial dysfunction and ROS production have previously been linked to the occurrence of age-dependent senescence in ASCs from individuals not infected with HIV [34]. However, it has been shown that adipose tissue from ART-naïve, HIV-infected patients displayed signs of mitochondrial toxicity and higher levels of oxidative stress—indicating a probable ART-independent mechanism of action for HIV and/or HIV proteins in the occurrence of mitochondrial dysfunction [35,36]. It has also been reported that Tat induces oxidative stress in T-cells and other cell types [37,38], and that Tat and Nef alter mitochondrial function in neurons [38]. Accordingly, we showed that the onset of senescence in ASCs correlated with low mitochondrial activity and high ROS production. Importantly, treatment with the antioxidant NAC partially countered the negative impact of HIV proteins; this finding highlighted the role of oxidative stress in Tat- and Nef-induced senescence. The ROS induced by Tat or Nef treatment of ASCs might be produced in the mitochondria or by NADPH oxidase activity [14]. NAC is a powerful antioxidant that directly scavenges oxygen radicals from all sources. Given that Tat and Nef treatments were associated with a low mitochondrial membrane potential in our experiments, the ROS were probably generated in dysfunctional mitochondria [14]. To the best of our knowledge, the present study is the first to have shown that the HIV proteins Tat and Nef induced senescence in ASCs and that the latter might result (at least in part) from the induction of ROS production.

We observed that Tat and Nef induced a pro-inflammatory profile in ASCs. The profile might contribute to inflammaging, i.e., a low-grade, chronic, systemic inflammatory state that can be induced by oxidative stress or by pathogens. In turn, inflammaging might enhance the aging of adipose tissue. Moreover, inflammation can trigger senescence and promote fibrosis (collagen production) [39,40]. We have previously reported that (i) HIV/SIV infection induced collagen deposition in adipose tissue and (ii) HIV proteins induced a pro-fibrotic phenotype in ASCs in vitro [9]; this fits with the ASCs pro-inflammatory profile observed in the present study. Oxidative stress was shown to induce adipose tissue senescence and fibrosis in a mouse model [41]. We hypothesize that HIV proteins induced oxidative stress, which in turn led to cellular senescence and fibrosis. However, the putative causal link between fibrosis and senescence requires further investigation.

One of the main characteristics of aging is a decline in the tissues’ regenerative potential. Adipose tissue is a source of multipotent stem cells, namely ASCs [1,42]. Therefore, a decline in ASC proliferation and/or function (reflected by cell senescence) might contribute to a loss of adipose tissue homeostasis—especially through increased SASP factor secretion. Senescence induced by Tat and Nef might contribute to ASC exhaustion in the adipose tissue of HIV-infected people.

It is known that senescence of adipose tissue precursor cells is associated with low adipogenic marker expression and alterations in adipogenesis [1,11,43,44]. Nef can interact with the adipocyte master regulatory protein PPAR $\gamma$  and suppress its activity, leading to low expression of genes involved in lipid accumulation [45,46]. Tat’s impact is less clear; depending on the cellular model studied, it can either inhibit or promote adipogenesis [9,47,48]. In the present study, only Nef-induced

senescence was associated with impairments in adipogenesis: lipid accumulation, the mRNA expression of pro-adipogenic markers (such as *PPARG*, *CEBPA*, and *FABP4*), adipokine secretion, and insulin sensitivity. By removing Tat or Nef during ASC differentiation, we ruled out a direct effect of these HIV proteins on adipogenesis. Thus, our data suggest that the senescence and dysfunction induced by HIV proteins during ASC proliferation partially suppressed adipogenesis. The present results are in line with our previous work, in which we showed that HIV/SIV infection was associated with the presence of smaller adipocytes in both SIV-infected macaques and HIV-infected people [9]. Our results are also in line with the observation that the adipose tissue of ART-naïve HIV-infected individuals contains low levels of PPAR $\gamma$  and adipose-specific markers and high levels of markers of mitochondrial dysfunction [36].

Low adipogenic potential in ASCs might be involved in metabolic impairments, such as insulin resistance [1,42]. Given that ASC acquire insulin sensitivity during differentiation, a decline in their adipogenic potential might drive insulin resistance by limiting adipose tissue expansion [44]. We showed here that Nef- and Tat-induced senescence is associated with low insulin sensitivity. Thus, in the HIV-infected population, aging of the adipose tissue might be involved in the onset of insulin resistance and greater susceptibility to diabetes [4,49–52]. Several studies have shown that HIV infection is associated with atherosclerosis [53]; the fact that this is also observed in the absence of treatment (i.e., HIV controllers) [54] emphasizes virus's role in the onset of cardiometabolic complications. Further studies are required to define the role of HIV-induced adipose tissue senescence in the impairment of fat distribution and function and in the cardiometabolic complications observed in aging HIV-infected individuals.

The main objective of our study was to evaluate, at first, the impact of SIV/HIV infection per se, on adipose tissue in the absence of ART. In addition to HIV infection, the role of different ART molecules on adipose tissue/adipocytes has been widely evaluated both in vivo and in vitro. First generation thymidine nucleotide reverse transcriptase inhibitors (NRTIs: Stavudine, zidovudine) were associated with the development of clinical lipoatrophy. They were also shown to induce cellular senescence, mitochondrial toxicity and oxidative stress in vitro [26], and mitochondrial dysfunction in the adipose tissue from HIV-infected lipodystrophic patients [55]. First generation PIs induced cellular senescence in fibroblasts [17], endothelial cells [56–58], and in smooth muscle cells [15]. Furthermore, PI-treated patients presented accumulation of the senescent marker p16INK4a and increased fibrosis in cervical SCAT suggesting a link between fibrosis and aging [8]. Several studies reported a higher level of fibrosis in adipose tissue of ART-treated HIV-infected patients compared to noninfected subjects [6,7,9]. Finally, integrase inhibitors (INSTIs), a recent widely used class of ART, have less impact on senescence of endothelial cells together with anti-inflammatory properties [58,59] but their use is associated with fat gain and higher AT fibrosis [60–63]. Taken as a whole, ART can also have a role in adipose tissue aging in HIV-infected patients.

The present study had several limitations. As described above, we found high levels of senescence markers in whole adipose tissue from SIV-infected macaques. Although we showed that ASCs entered senescence in response to HIV proteins in vitro, it is still possible that the senescence observed in adipose tissue in vivo is related to the expression of markers by other adipose tissue cells. Our macaque study has some limitations including the range of duration of chronic infection and the older age of the control group. However, we observed higher features of aging in the adipose tissue of SIV-infected macaques which were younger. We could only show association between Tat and Nef proteins and senescence in vitro. In our in vitro study, we used HIV protein concentration measured in the plasma of naïve HIV-infected subjects which could be higher than the concentration in ART-treated patients. Nevertheless, these are the first results showing that there is a link between the virus itself and aging adipose tissue. Given that our in vitro results indicated that Tat and Nef induced senescence in ASCs, we suggest that there could be a causal link between the virus, HIV proteins, and aging of adipose tissue.

Although the senescence in ASCs induced by Nef was associated with impaired adipogenesis, this was not the case for Tat. We hypothesize that Nef's greater effect on the level of senescence, oxidative stress, and inflammation suggests that there is a threshold for the harmful impact of these

changes; however, we did not prove this hypothesis. Furthermore, we did not analyze the impact of NAC on the ASCs' ability to differentiate into adipocytes. Lastly, it would be interesting to further evaluate the probable relationships between senescence, inflammation, and fibrosis. Since we wanted to study the effect of SIV/HIV on fat in the absence of treatment, we evaluated SIV infection in macaques and the effect of HIV proteins in vitro; however, we did not study adipose tissue obtained from ART-naïve HIV infected patients.

## 5. Conclusions

SIV/HIV infection induces senescence and associated disorders (including oxidative stress, inflammation, and metabolic alterations) in adipose tissue. These changes might be involved in the alterations in fat redistribution and the cardiometabolic diseases observed in aging HIV-infected individuals.

**Supplementary Materials:** The following are available online at [www.mdpi.com/2073-4409/9/4/854/s1](http://www.mdpi.com/2073-4409/9/4/854/s1), Table S1: macaques characteristics, Table S2: Sequences of the RT-PCR primers for human ASCs and adipocytes, and Figure S1: The suppression of oxidative stress using NAC prevented Tat- or Nef-induced senescence-associated beta-galactosidase activity in ASCs.

**Author Contributions:** Conceptualization, J.G., C.B., D.D., O.L., J.C., V.B., and C.L.; data curation, J.G., V.B., and C.L.; formal analysis, J.G., T.E., M.M., and C.R.; funding acquisition, J.G., C.B., R.L.G., B.F., O.L., V.B., and C.L.; investigation, J.G., T.E., M.M., C.R., and D.D.; methodology, J.G., V.B., and C.L.; project administration, V.B. and C.L.; resources, C.B., M.A., D.D., R.L.G., and O.L.; supervision, V.B. and C.L.; writing—original draft, J.G., B.F., J.C., V.B., and C.L.; writing—review and editing, J.G., T.E., C.B., C.R., R.L.G., B.F., O.L., J.C., V.B., and C.L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by Sidaction (grant numbers 10744 and 12152 to J.G.), Agence Nationale de Recherches sur le Sida et les hépatites virales (ANRS, grant numbers N17020DR to C.L. and V.B., and ECTZ103291 to C.B.), and the French government's "Programme Investissements d'Avenir" program (grant numbers ANR-11-INBS-0008 infrastructure and ANR-10-EQPX-02-01 FlowCyTech facility (IDMIT) to R.L.G.), RHU CARMMA (grant number RHU-ANR-15-RHUS-0003), Fondation pour la Recherche Médicale (FRM, grant number EQU201903007868 to B.F., Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Sorbonne Université, and Paris Saclay Université).

**Acknowledgments:** We thank the patients for their cooperation, Dr. R. Ho Tsong Fang for veterinary assistance, and the staff at the IDMIT core facility for excellent technical assistance. We also thank A. Kergoat for her assistance with some of the experimental work.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Stout, M.B.; Justice, J.N.; Nicklas, B.J.; Kirkland, J.L. Physiological Aging: Links Among Adipose Tissue Dysfunction, Diabetes, and Frailty. *Physiology (Bethesda)* **2017**, *32*, 9–19, doi:10.1152/physiol.00012.2016.
2. Lagathu, C.; Cossarizza, A.; Bereziat, V.; Nasi, M.; Capeau, J.; Pinti, M. Basic science and pathogenesis of ageing with HIV: Potential mechanisms and biomarkers. *AIDS (London, UK)* **2017**, *31* (Suppl. 2), S105–S119, doi:10.1097/qad.0000000000001441.
3. Caron-Debarle, M.; Lagathu, C.; Boccarda, F.; Vigouroux, C.; Capeau, J. HIV-associated lipodystrophy: From fat injury to premature aging. *Trends Mol. Med.* **2010**, *16*, 218–229, doi:10.1016/j.molmed.2010.03.002.
4. Lagathu, C.; Bereziat, V.; Gorwood, J.; Fellahi, S.; Bastard, J.P.; Vigouroux, C.; Boccarda, F.; Capeau, J. Metabolic complications affecting adipose tissue, lipid and glucose metabolism associated with HIV antiretroviral treatment. *Expert Opin. Drug Saf.* **2019**, *18*, 829–840, doi:10.1080/14740338.2019.1644317.
5. Gelpi, M.; Afzal, S.; Lundgren, J.; Ronit, A.; Roen, A.; Mocroft, A.; Gerstoft, J.; Lebech, A.M.; Lindegaard, B.; Kofoed, K.F.; et al. Higher Risk of Abdominal Obesity, Elevated Low-Density Lipoprotein Cholesterol, and Hypertriglyceridemia, but not of Hypertension, in People Living with Human Immunodeficiency Virus (HIV): Results from the Copenhagen Comorbidity in HIV Infection Study. *Clin. Infect. Dis.* **2018**, *67*, 579–586, doi:10.1093/cid/ciy146.
6. Utay, N.S.; Kitch, D.W.; Yeh, E.; Fichtenbaum, C.J.; Lederman, M.M.; Estes, J.D.; Deleage, C.; Magyar, C.; Nelson, S.D.; Klingman, K.L.; et al. Telmisartan Therapy Does Not Improve Lymph Node or Adipose

- Tissue Fibrosis More Than Continued Antiretroviral Therapy Alone. *J. Infect. Dis.* **2018**, *217*, 1770–1781, doi:10.1093/infdis/jiy064.
- 7. Bastard, J.P.; Caron, M.; Vidal, H.; Jan, V.; Auclair, M.; Vigouroux, C.; Luboinski, J.; Laville, M.; Maachi, M.; Girard, P.M.; et al. Association between altered expression of adipogenic factor SREBP1 in lipoatrophic adipose tissue from HIV-1-infected patients and abnormal adipocyte differentiation and insulin resistance. *Lancet* **2002**, *359*, 1026–1031, doi:10.1016/S0140-6736(02)08094-7.
  - 8. Bereziat, V.; Cervera, P.; Le Dour, C.; Verpont, M.C.; Dumont, S.; Vantyghem, M.C.; Capeau, J.; Vigouroux, C.; Lipodystrophy Study, G. LMNA mutations induce a non-inflammatory fibrosis and a brown fat-like dystrophy of enlarged cervical adipose tissue. *Am. J. Pathol.* **2011**, *179*, 2443–2453, doi:10.1016/j.ajpath.2011.07.049.
  - 9. Gorwood, J.; Bourgeois, C.; Mantecon, M.; Atlan, M.; Pourcher, V.; Pourcher, G.; Le Grand, R.; Desjardins, D.; Feve, B.; Lambotte, O.; et al. Impact of HIV/simian immunodeficiency virus infection and viral proteins on adipose tissue fibrosis and adipogenesis. *AIDS (London, UK)* **2019**, *33*, 953–964, doi:10.1097/qad.0000000000002168.
  - 10. Hayflick, L.; Moorhead, P.S. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* **1961**, *25*, 585–621, doi:10.1016/0014-4827(61)90192-6.
  - 11. Tchkonia, T.; Morbeck, D.E.; Von Zglinicki, T.; Van Deursen, J.; Lustgarten, J.; Scrable, H.; Khosla, S.; Jensen, M.D.; Kirkland, J.L. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging Cell* **2010**, *9*, 667–684, doi:10.1111/j.1474-9726.2010.00608.x.
  - 12. Rodier, F.; Campisi, J. Four faces of cellular senescence. *J. Cell Biol.* **2011**, *192*, 547–556, doi:10.1083/jcb.201009094.
  - 13. Coppe, J.P.; Patil, C.K.; Rodier, F.; Sun, Y.; Munoz, D.P.; Goldstein, J.; Nelson, P.S.; Desprez, P.Y.; Campisi, J. Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol.* **2008**, *6*, 2853–2868, doi:10.1371/journal.pbio.0060301.
  - 14. Lee, H.C.; Yin, P.H.; Chi, C.W.; Wei, Y.H. Increase in mitochondrial mass in human fibroblasts under oxidative stress and during replicative cell senescence. *J. Biomed. Sci.* **2002**, *9*, 517–526, doi:10.1007/bf02254978.
  - 15. Afonso, P.; Auclair, M.; Boccaro, F.; Vantyghem, M.C.; Katlama, C.; Capeau, J.; Vigouroux, C.; Caron-Debarle, M. LMNA mutations resulting in lipodystrophy and HIV protease inhibitors trigger vascular smooth muscle cell senescence and calcification: Role of ZMPSTE24 downregulation. *Atherosclerosis* **2016**, *245*, 200–211, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.12.012.
  - 16. Hernandez-Vallejo, S.J.; Beaupere, C.; Larghero, J.; Capeau, J.; Lagathu, C. HIV protease inhibitors induce senescence and alter osteoblastic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells: Beneficial effect of pravastatin. *Aging Cell* **2013**, *12*, 955–965, doi:10.1111/acel.12119.
  - 17. Caron, M.; Auclair, M.; Donadille, B.; Bereziat, V.; Guerci, B.; Laville, M.; Narbonne, H.; Bodemer, C.; Lascols, O.; Capeau, J.; et al. Human lipodystrophies linked to mutations in A-type lamins and to HIV protease inhibitor therapy are both associated with prelamin A accumulation, oxidative stress and premature cellular senescence. *Cell Death Differ.* **2007**, *14*, 1759–1767, doi:10.1038/sj.cdd.4402197.
  - 18. Fiume, G.; Vecchio, E.; De Laurentiis, A.; Trimboli, F.; Palmieri, C.; Pisano, A.; Falcone, C.; Pontoriero, M.; Rossi, A.; Scialdone, A.; et al. Human immunodeficiency virus-1 That activates NF-kappaB via physical interaction with IkappaB-alpha and p65. *Nucleic Acids Res.* **2012**, *40*, 3548–3562, doi:10.1093/nar/gkr1224.
  - 19. Beaupere, C.; Garcia, M.; Larghero, J.; Feve, B.; Capeau, J.; Lagathu, C. The HIV proteins Tat and Nef promote human bone marrow mesenchymal stem cell senescence and alter osteoblastic differentiation. *Aging Cell* **2015**, *14*, 534–546, doi:10.1111/acel.12308.
  - 20. Damouche, A.; Lasure, T.; Avettand-Fenoel, V.; Huot, N.; Dejucq-Rainsford, N.; Satie, A.P.; Melard, A.; David, L.; Gommé, C.; Ghosn, J.; et al. Adipose Tissue Is a Neglected Viral Reservoir and an Inflammatory Site during Chronic HIV and SIV Infection. *PLoS Pathog.* **2015**, *11*, e1005153, doi:10.1371/journal.ppat.1005153.
  - 21. Couturier, J.; Suliburk, J.W.; Brown, J.M.; Luke, D.J.; Agarwal, N.; Yu, X.; Nguyen, C.; Iyer, D.; Kozinetz, C.A.; Overbeek, P.A.; et al. Human adipose tissue as a reservoir for memory CD4+ T cells and HIV. *AIDS (London, UK)* **2015**, *29*, 667–674, doi:10.1097/QAD.0000000000000599.
  - 22. Lopez-Otin, C.; Blasco, M.A.; Partridge, L.; Serrano, M.; Kroemer, G. The hallmarks of aging. *Cell* **2013**, *153*, 1194–1217, doi:10.1016/j.cell.2013.05.039.

23. Boya, P.; Pauleau, A.L.; Poncet, D.; Gonzalez-Polo, R.A.; Zamzami, N.; Kroemer, G. Viral proteins targeting mitochondria: Controlling cell death. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1659*, 178–189, doi:10.1016/j.bbabi.2004.08.007.
24. Raymond, A.D.; Campbell-Sims, T.C.; Khan, M.; Lang, M.; Huang, M.B.; Bond, V.C.; Powell, M.D. HIV Type 1 Nef is released from infected cells in CD45(+) microvesicles and is present in the plasma of HIV-infected individuals. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2011**, *27*, 167–178, doi:10.1089/aid.2009.0170.
25. Gougeon, M.L. Apoptosis as an HIV strategy to escape immune attack. *Nat. Rev. Immunol.* **2003**, *3*, 392–404, doi:10.1038/nri1087.
26. Lagathu, C.; Eustace, B.; Prot, M.; Frantz, D.; Gu, Y.; Bastard, J.P.; Maachi, M.; Azoulay, S.; Briggs, M.; Caron, M.; et al. Some HIV antiretrovirals increase oxidative stress and alter chemokine, cytokine or adiponectin production in human adipocytes and macrophages. *Antivir. Ther.* **2007**, *12*, 489–500.
27. Couturier, J.; Agarwal, N.; Nehete, P.N.; Baze, W.B.; Barry, M.A.; Jagannadha Sastry, K.; Balasubramanyam, A.; Lewis, D.E. Infectious SIV resides in adipose tissue and induces metabolic defects in chronically infected rhesus macaques. *Retrovirology* **2016**, *13*, 30, doi:10.1186/s12977-016-0260-2.
28. Campisi, J. Parsing p53 Transactivation. *Dev. Cell* **2011**, *20*, 573–574, doi:10.1016/j.devcel.2011.04.015.
29. Ghosh, A.K.; O’Brien, M.; Mau, T.; Qi, N.; Yung, R. Adipose Tissue Senescence and Inflammation in Aging is Reversed by the Young Milieu. *J. Gerontol. Ser. A* **2019**, *74*, 1709–1715, doi:10.1093/gerona/gly290.
30. Schutz, E.; Gogiraju, R.; Pavlaki, M.; Drosos, I.; Georgiadis, G.S.; Argyriou, C.; Rim Ben Hallou, A.; Konstantinou, F.; Mikroulis, D.; Schuler, R.; et al. Age-Dependent and -Independent Effects of Perivascular Adipose Tissue and Its Paracrine Activities during Neointima Formation. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *21*, doi:10.3390/ijms21010282.
31. Tugizov, S.M.; Herrera, R.; Chin-Hong, P.; Veluppillai, P.; Greenspan, D.; Michael Berry, J.; Pilcher, C.D.; Shibuski, C.H.; Jay, N.; Rubin, M.; et al. HIV-associated disruption of mucosal epithelium facilitates paracellular penetration by human papillomavirus. *Virology* **2013**, *446*, 378–388, doi:10.1016/j.virol.2013.08.018.
32. Gupta, M.K.; Kaminski, R.; Mullen, B.; Gordon, J.; Burdo, T.H.; Cheung, J.Y.; Feldman, A.M.; Madesh, M.; Khalili, K. HIV-1 Nef-induced cardiotoxicity through dysregulation of autophagy. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 8572, doi:10.1038/s41598-017-08736-x.
33. Hijmans, J.G.; Stockleman, K.; Reiakvam, W.; Levy, M.V.; Brewster, L.M.; Bammert, T.D.; Greiner, J.J.; Connick, E.; DeSouza, C.A. Effects of HIV-1 gp120 and tat on endothelial cell senescence and senescence-associated microRNAs. *Physiol. Rep.* **2018**, *6*, e13647, doi:10.14814/phy2.13647.
34. Maredziak, M.; Marycz, K.; Tomaszewski, K.A.; Kornicka, K.; Henry, B.M. The Influence of Aging on the Regenerative Potential of Human Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells Int.* **2016**, *2016*, 2152435, doi:10.1155/2016/2152435.
35. Garrabou, G.; Lopez, S.; Moren, C.; Martinez, E.; Fontdevila, J.; Cardellach, F.; Gatell, J.M.; Miro, O. Mitochondrial damage in adipose tissue of untreated HIV-infected patients. *AIDS (London, UK)* **2011**, *25*, 165–170, doi:10.1097/QAD.0b013e3283423219.
36. Giralt, M.; Domingo, P.; Guallar, J.P.; Rodriguez de la Concepcion, M.L.; Alegre, M.; Domingo, J.C.; Villarroya, F. HIV-1 infection alters gene expression in adipose tissue, which contributes to HIV-1/HAART-associated lipodystrophy. *Antivir. Ther.* **2006**, *11*, 729–740.
37. Westendorp, M.O.; Shatrov, V.A.; Schulze-Osthoff, K.; Frank, R.; Kraft, M.; Los, M.; Krammer, P.H.; Droege, W.; Lehmann, V. HIV-1 Tat potentiates TNF-induced NF-kappa B activation and cytotoxicity by altering the cellular redox state. *EMBO J.* **1995**, *14*, 546–554.
38. Rozzi, S.J.; Avdoshina, V.; Fields, J.A.; Trejo, M.; Ton, H.T.; Ahern, G.P.; Mocchetti, I. Human Immunodeficiency Virus Promotes Mitochondrial Toxicity. *Neurotox. Res.* **2017**, *32*, 723–733, doi:10.1007/s12640-017-9776-z.
39. Lacasa, D.; Taleb, S.; Keophiphath, M.; Miranville, A.; Clement, K. Macrophage-secreted factors impair human adipogenesis: Involvement of proinflammatory state in preadipocytes. *Endocrinology* **2007**, *148*, 868–877, doi:10.1210/en.2006-0687.
40. Vila, I.K.; Badin, P.M.; Marques, M.A.; Monbrun, L.; Lefort, C.; Mir, L.; Louche, K.; Bourlier, V.; Roussel, B.; Gui, P.; et al. Immune cell Toll-like receptor 4 mediates the development of obesity- and endotoxemia-associated adipose tissue fibrosis. *Cell Rep.* **2014**, *7*, 1116–1129, doi:10.1016/j.celrep.2014.03.062.

41. Okuno, Y.; Fukuhara, A.; Hashimoto, E.; Kobayashi, H.; Kobayashi, S.; Otsuki, M.; Shimomura, I. Oxidative Stress Inhibits Healthy Adipose Expansion Through Suppression of SREBF1-Mediated Lipogenic Pathway. *Diabetes* **2018**, *67*, 1113–1127, doi:10.2337/db17-1032.
42. Mansilla, E.; Diaz Aquino, V.; Zambon, D.; Marin, G.H.; Martire, K.; Roque, G.; Ichim, T.; Riordan, N.H.; Patel, A.; Sturla, F.; et al. Could metabolic syndrome, lipodystrophy, and aging be mesenchymal stem cell exhaustion syndromes? *Stem Cells Int.* **2011**, *2011*, 943216, doi:10.4061/2011/943216.
43. Caso, G.; McNurlan, M.A.; Mileva, I.; Zemlyak, A.; Mynarcik, D.C.; Gelato, M.C. Peripheral fat loss and decline in adipogenesis in older humans. *Metab. Clin. Exp.* **2013**, *62*, 337–340, doi:10.1016/j.metabol.2012.08.007.
44. Karagiannides, I.; Tchkonia, T.; Dobson, D.E.; Steppan, C.M.; Cummins, P.; Chan, G.; Salvatori, K.; Hadzopoulou-Cladaras, M.; Kirkland, J.L. Altered expression of C/EBP family members results in decreased adipogenesis with aging. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2001**, *280*, R1772–R1780, doi:10.1152/ajpregu.2001.280.6.R1772.
45. Prost, S.; Le Dantec, M.; Auge, S.; Le Grand, R.; Derdouch, S.; Auregan, G.; Deglon, N.; Relouzat, F.; Aubertin, A.M.; Maillere, B.; et al. Human and simian immunodeficiency viruses deregulate early hematopoiesis through a Nef/PPARGamma/STAT5 signaling pathway in macaques. *J. Clin. Investig.* **2008**, *118*, 1765–1775, doi:10.1172/jci33037.
46. Otake, K.; Omoto, S.; Yamamoto, T.; Okuyama, H.; Okada, H.; Okada, N.; Kawai, M.; Saksena, N.K.; Fujii, Y.R. HIV-1 Nef protein in the nucleus influences adipogenesis as well as viral transcription through the peroxisome proliferator-activated receptors. *AIDS (London, UK)* **2004**, *18*, 189–198.
47. Cotter, E.J.; Chew, N.; Powderly, W.G.; Doran, P.P. HIV type 1 alters mesenchymal stem cell differentiation potential and cell phenotype ex vivo. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2011**, *27*, 187–199, doi:10.1089/aid.2010.0114.
48. Diaz-Delfin, J.; Domingo, P.; Wabitsch, M.; Giralt, M.; Villarroya, F. HIV-1 Tat protein impairs adipogenesis and induces the expression and secretion of proinflammatory cytokines in human SGBS adipocytes. *Antivir. Ther.* **2012**, *17*, 529–540, doi:10.3851/IMP2021.
49. Hulgan, T.; Ramsey, B.S.; Koethe, J.R.; Samuels, D.C.; Gerschenson, M.; Libutti, D.E.; Sax, P.E.; Daar, E.S.; McComsey, G.A.; Brown, T.T. Relationships Between Adipose Mitochondrial Function, Serum Adiponectin, and Insulin Resistance in Persons with HIV After 96 Weeks of Antiretroviral Therapy. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2019**, *80*, 358–366, doi:10.1097/qai.0000000000001926.
50. Kuller, L.H.; Tracy, R.; Beloso, W.; De Wit, S.; Drummond, F.; Lane, H.C.; Ledergerber, B.; Lundgren, J.; Neuhaus, J.; Nixon, D.; et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.* **2008**, *5*, e203, doi:10.1371/journal.pmed.0050203.
51. Hulgan, T. Factors Associated with Insulin Resistance in Adults with HIV Receiving Contemporary Antiretroviral Therapy: A Brief Update. *Curr. HIV/AIDS Rep.* **2018**, *15*, 223–232, doi:10.1007/s11904-018-0399-7.
52. Herrin, M.; Tate, J.P.; Akgun, K.M.; Butt, A.A.; Crothers, K.; Freiberg, M.S.; Gibert, C.L.; Leaf, D.A.; Rimland, D.; Rodriguez-Barradas, M.C.; et al. Weight Gain and Incident Diabetes Among HIV-Infected Veterans Initiating Antiretroviral Therapy Compared with Uninfected Individuals. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2016**, *73*, 228–236, doi:10.1097/qai.0000000000001071.
53. Hanna, D.B.; Post, W.S.; Deal, J.A.; Hodis, H.N.; Jacobson, L.P.; Mack, W.J.; Anastos, K.; Gange, S.J.; Landay, A.L.; Lazar, J.M.; et al. HIV Infection Is Associated with Progression of Subclinical Carotid Atherosclerosis. *Clin. Infect. Dis.* **2015**, *61*, 640–650, doi:10.1093/cid/civ325.
54. Hsue, P.Y.; Hunt, P.W.; Schnell, A.; Kalapus, S.C.; Hoh, R.; Ganz, P.; Martin, J.N.; Deeks, S.G. Role of viral replication, antiretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. *AIDS (London, UK)* **2009**, *23*, 1059–1067, doi:10.1097/QAD.0b013e32832b514b.
55. Caron, M.; Auclair, M.; Vissian, A.; Vigouroux, C.; Capeau, J. Contribution of mitochondrial dysfunction and oxidative stress to cellular premature senescence induced by antiretroviral thymidine analogues. *Antivir. Ther.* **2008**, *13*, 27–38.
56. Lefevre, C.; Auclair, M.; Boccara, F.; Bastard, J.P.; Capeau, J.; Vigouroux, C.; Caron-Debarle, M. Premature senescence of vascular cells is induced by HIV protease inhibitors: Implication of prelamin A and reversion by statin. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2010**, *30*, 2611–2620, doi:10.1161/atvaha.110.213603.
57. Auclair, M.; Afonso, P.; Capel, E.; Caron-Debarle, M.; Capeau, J. Impact of darunavir, atazanavir and lopinavir boosted with ritonavir on cultured human endothelial cells: Beneficial effect of pravastatin. *Antivir. Ther.* **2014**, *19*, 773–782, doi:10.3851/imp2752.

58. Afonso, P.; Auclair, M.; Caron-Debarle, M.; Capeau, J. Impact of CCR5, integrase and protease inhibitors on human endothelial cell function, stress, inflammation and senescence. *Antivir. Ther.* **2017**, *10*.3851/IMP3160, doi:10.3851/IMP3160.
59. Auclair, M.; Guenantin, A.C.; Fellahi, S.; Garcia, M.; Capeau, J. HIV antiretroviral drugs, dolutegravir, maraviroc and ritonavir-boosted atazanavir use different pathways to affect inflammation, senescence and insulin sensitivity in human coronary endothelial cells. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0226924, doi:10.1371/journal.pone.0226924.
60. Gorwood, J.; Bourgeois, C.; Pourcher, V.; Pourcher, G.; Charlotte, F.; Mantecon, M.; Rose, C.; Morichon, R.; Atlant, M.; Le Grand, R.; et al. The integrase inhibitors dolutegravir and raltegravir exert pro-adipogenic and profibrotic effects and induce insulin resistance in human/simian adipose tissue and human adipocytes. *Clin. Infect. Dis.* **2020**, doi:10.1093/cid/ciaa259.
61. Venter, W.D.F.; Moorhouse, M.; Sokhela, S.; Fairlie, L.; Mashabane, N.; Masenya, M.; Serenata, C.; Akpomiemie, G.; Qavi, A.; Chandiwana, N.; et al. Dolutegravir plus Two Different Prodrugs of Tenofovir to Treat HIV. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 803–815, doi:10.1056/NEJMoa1902824.
62. Debroy, P.; Sim, M.; Erlandson, K.M.; Falutz, J.; Prado, C.M.; Brown, T.T.; Guaraldi, G.; Lake, J.E. Progressive increases in fat mass occur in adults living with HIV on antiretroviral therapy, but patterns differ by sex and anatomic depot. *J. Antimicrob. Chemother.* **2019**, *74*, 1028–1034, doi:10.1093/jac/dky551.
63. Norwood, J.; Turner, M.; Bofill, C.; Rebeiro, P.; Shepherd, B.; Bebawy, S.; Hulgan, T.; Raffanti, S.; Haas, D.W.; Sterling, T.R.; et al. Brief Report: Weight Gain in Persons with HIV Switched from Efavirenz-Based to Integrase Strand Transfer Inhibitor-Based Regimens. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2017**, *76*, 527–531, doi:10.1097/qai.0000000000001525.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



## 2) Discussion et perspectives

Notre étude est l'une des premières à montrer un effet propre du VIH/VIS dans le vieillissement du TA. Ainsi, les marqueurs de sénescence détectés au sein du TA sont liés à un effet direct de l'infection et non secondaire au stade SIDA. En effet, dans notre étude, 75% des macaques n'ont pas de charge virale élevée (Mannioui et al. 2009) et ne présentent pas de « *wasting syndrome* » associé à un stade SIDA.

Nous avons émis l'hypothèse que l'expression des marqueurs de vieillissement du TA provenait de l'accumulation de précurseurs adipocytaires sénescents. En accord, une accumulation des ASC sénescentes a été observée au cours du vieillissement du TA (Minamino et al. 2009, Palmer et al. 2019).

Nous avons mis en évidence que Tat et Nef induisaient une sénescence des ASC en partie *via* l'induction d'un stress oxydant. L'origine des ERO reste néanmoins à déterminer. Dans les ASC, les ERO proviennent principalement de la mitochondrie ou de la NADPH oxydase cytoplasmique. Il serait donc intéressant d'étudier l'expression et la fonction des complexes respiratoires mitochondriaux par une étude de *Seahorse* dans les ASC et/ou de mesurer la quantité d'ADNmt.

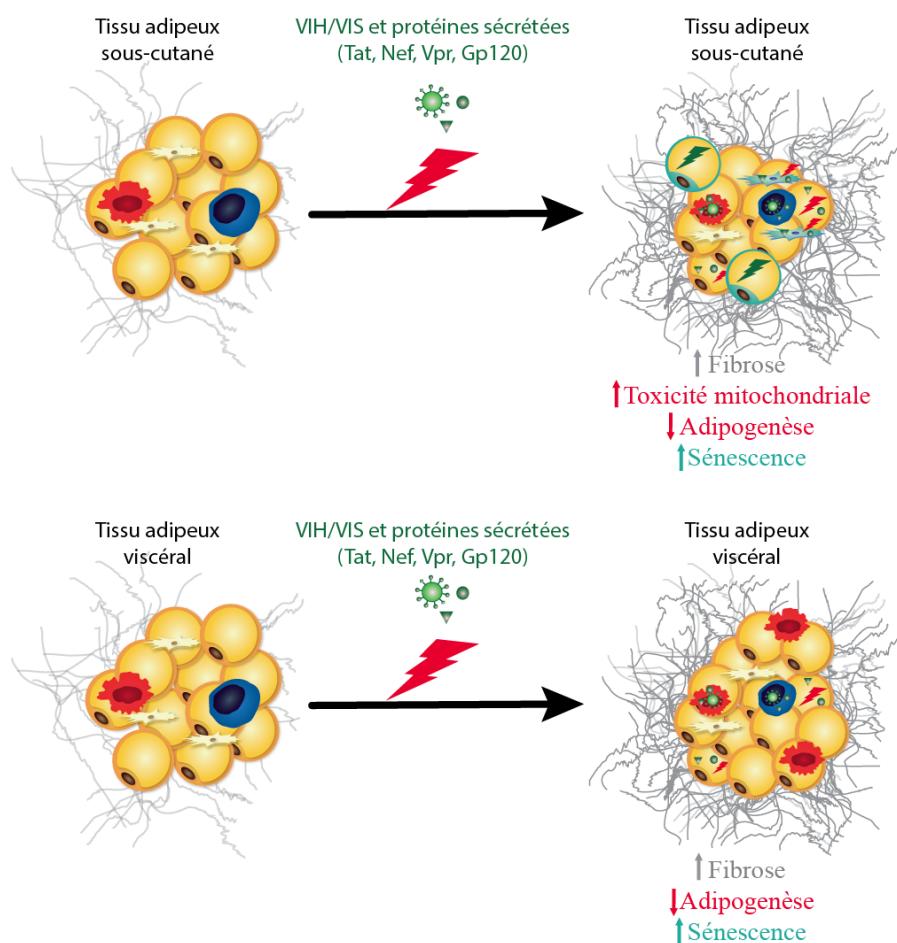
Nous avons montré que Tat et Nef induisent une augmentation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires IL-6 et IL-8 par les ASC. Ce résultat est en accord avec l'augmentation des marqueurs de l'inflammation dans le TASC de patients naïfs de traitements (Giralt et al. 2006, Vidal et al. 2012). Il serait intéressant d'établir si l'induction des voies de l'inflammation pourrait être à l'origine de la sénescence observée dans le TA et les ASC. Une des pistes pourrait être la voie NFκB déjà impliquée dans des effets de la protéine Tat (Fiume et al. 2012, Beaupere et al. 2015) ou la voie de l'inflamasome NLRP3 qui a été impliquée dans la sénescence et l'*inflammaging* (Mukhamedova et al. 2019).

La sénescence est souvent associée à une altération de différentiation des précurseurs adipocytaires (Stout et al. 2017). En accord avec les dysfonctions adipocytaires observées dans le TA de patients naïfs de traitement (Giralt et al. 2006), nous avons observé que la sénescence induite par Nef était associée à une baisse de l'adipogenèse des ASC. En revanche, les ASC traitées par Tat ne présentaient pas de défaut d'adipogenèse, suggérant que les mécanismes impliqués dans les effets délétères de Tat et Nef seraient différents. Néanmoins, les adipocytes différenciés à partir des ASC exposées à Tat et Nef, présentaient une résistance à l'insuline, en faveur d'un impact délétère de la sénescence sur la fonctionnalité des adipocytes. L'évaluation

de la lipolyse basale ou activée par les catécholamines permettrait de mieux caractériser les dysfonctions adipocytaires liées aux protéines sécrétées du VIH.

Dans notre étude menée sur le TA de macaques infectés, nous avons démontré l'expression de marqueurs de sénescence mais nous n'avons pas été en mesure d'en déterminer l'origine cellulaire. En effet, outre les ASC, les adipocytes, les cellules endothéliales mais également des macrophages peuvent exprimer des marqueurs de sénescence (Despres and Lemieux 2006, Minamino et al. 2009, Rodier and Campisi 2011, Monickaraj et al. 2013, Camell et al. 2017, Briot et al. 2018). Néanmoins, nous avons établi que les ASC pouvaient être la cible du virus.

L'infection par le VIH pourrait donc être à l'origine d'un épuisement du stock de cellules souches du TA qui compromettrait l'homéostasie et l'expansion du TA. En somme, cette étude (Article 3), couplée à celle publiée dans le journal AIDS (Article 1) ont montré un rôle du virus et des protéines du VIH Tat et Nef sur le vieillissement et la fibrose du TA ayant des conséquences sur les fonctions du TA et la mise en place des comorbidités observés chez les patients naïfs de traitement (Figure 29).



**Figure 29 : Schéma bilan des altérations du tissu adipeux induites par le VIH/VIS et les protéines virales.**

Le TASC présente une fibrose plus importante suite à l'infection par le VIH, une toxicité des mitochondries, une diminution de l'adipogenèse, un vieillissement accentué avec une sénescence cellulaire des ASC induites par Tat et Nef (ASC vertes). Les ASC sénescents ont une différenciation altérée menant à des adipocytes dysfonctionnels (verts). Le TAV présente un vieillissement accentué, une fibrose et une diminution de l'expression de marqueurs adipogénique dans un contexte d'infection VIH/VIS.

## IV. DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Chez les patients infectés par le VIH et sous ARV, les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les atteintes du TA ont été initialement attribués à la toxicité des ARV. Au cours de mon projet de thèse, j'ai étudié l'impact délétère de la nouvelle classe d'ARV, les INI, sur la fibrose du TA, l'hypertrophie et la résistance à l'insuline adipocytaire (**Article 2**) mais j'ai pu également montrer que le virus lui-même était un facteur de perturbation qui participait à la mise en place de dysfonctions adipocytaires, d'une sénescence et d'une fibrose du TA (**Articles 1 et 3**).

Dans cette discussion générale, je souhaite aborder les avantages et limites des modèles choisis (partie A), aborder les mécanismes qui pourraient être impliqués dans les effets délétères du VIH et des INI sur la fibrose et le vieillissement accentué du TA (partie B). Je discuterai ensuite des conséquences métaboliques et fonctionnelles de ces atteintes, ainsi que la question de l'effet combiné et/ou synergique du virus et des nouveaux ARV (partie C). Puis, j'aborderai l'hypothèse nouvelle selon laquelle le déclin du brunissement du TA participe aux dérégulations métaboliques et à la prise de poids (partie D). Ensuite, je discuterai de la réversibilité des INI ainsi que des stratégies thérapeutiques pouvant être mises en place afin de prévenir l'effet des ARV (partie E). Enfin, j'évoquerai le dialogue entre les composantes métaboliques (adipocytes et précurseurs) et immunitaires. En effet, il est important d'intégrer un volet immunitaire lors de l'étude des dérégulations métaboliques et du vieillissement, notamment dans le contexte de l'infection par le VIH (partie F).

### A. Avantages et limites des modèles utilisés

Les biopsies de patients nous ont permis de comparer deux localisations : TASC et TAV. En effet, l'étude phénotypique du TAV de patients infectés sous ARV a été réalisée dans peu d'études (Hadigan et al. 2006, Gallego-Escuredo et al. 2013, Walker et al. 2014). Cela a été réalisable grâce à la chirurgie bariatrique de sujets obèses. Cependant, l'obésité peut induire un biais car elle est associée à des atteintes spécifiques du TA (Sun et al. 2011, Sun et al. 2013). Dans l'article 1 (AIDS), les patients infectés sont sous ARV. En effet, les recommandations actuelles indiquent une prise d'ARV incluant un INI suite au diagnostic de séropositivité (WHO 2018). Il est donc aujourd'hui plus difficile d'avoir accès à du TA de patients infectés non traités. Une autre limite est l'hétérogénéité des patients concernant la durée d'infection et l'historique des traitements ARV.

En complément des études sur les patients, nous avons eu l'opportunité de récupérer des prélèvements de TASC et de TAV dans des protocoles déjà établis chez le macaque. Il est important de noter que les biopsies de TA de macaques auxquelles nous avons eu accès font parties de différents protocoles de recherche sur l'infection VIH et les ARV (cohorte SIVART) et pour un même macaque plusieurs projets de recherche y ont été associés afin de limiter l'expérimentation animale. Ces protocoles représentent des modèles uniques d'infection chronique *in vivo* de macaque cynomolgus infecté par le VIS ou non infecté traité sous ARV. Ces animaux nous ont permis d'évaluer les effets respectifs du virus et des INI. Une étude similaire aurait été difficilement réalisable chez l'homme éthiquement car elle impliquerait de prélever une biopsie de TA chez des volontaires sains sous ARV. Contrairement aux patients, les macaques n'étaient pas obèses. L'autre avantage du macaque est d'obtenir des groupes homogènes avec des durées d'infection et de traitements similaires. Le macaque est un modèle préclinique pertinent pour l'étude de l'infection VIH/VIS et des ARV avec une physiologie et sa physiopathologie du TA proches de l'homme (Hotta et al. 2001, Chen et al. 2002). Il permet l'étude : des réservoirs viraux, de la cinétique de l'infection et de la réponse immunitaire, de caractériser les cellules immunitaires et d'évaluer leurs activations et leurs capacités fonctionnelles, de tester de nouvelles thérapeutiques afin de contrôler la réPLICATION du virus, de limiter la contamination ou de diminuer la taille des réservoirs et potentiellement guérir de la pathologie virale comme l'élaboration d'un vaccin ou d'autres traitements en compléments des ARV classiques (Reimann et al. 2005, Bernard-Stoecklin et al. 2013, Echebli et al. 2018, Hovanessian et al. 2018, Parsons et al. 2018). Ce modèle a par ailleurs été utilisé récemment pour réaliser une étude d'un traitement thérapeutique contre l'infection au SARS-CoV-2 (*Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) (Maisonnasse et al. 2020). La quantité de TA prélevé, les différentes localisations et les études *in vivo* et *ex vivo* sont d'autres arguments en faveur de l'utilisation de ce modèle. Les limites du modèle macaque résident entre autres dans le virus utilisé, le VIS très similaire au VIH mais qui diffère par la protéine Vpx, et le temps de progression au stade SIDA, plus rapide que chez l'homme (2 ans en moyenne chez le macaque cynomolgus).

Pour aller plus loin dans les études mécanistiques, nous avons utilisé des modèles *in vitro* d'ASC et d'adipocytes. Les ASC sont isolées à partir de TASC abdominal de femmes ne présentant pas de pathologie. Ce modèle permet également d'évaluer l'impact individuel des protéines du VIH et des ARV testés sur les cellules. Les concentrations des INI et des protéines du VIH utilisées est une des limites de l'utilisation du modèle *in vitro*.

Nous avons choisi d'utiliser la Cmax pour les INI qui est la concentration plasmatique maximale entre 2 prises. Cependant, la concentration peut différer entre le plasma et *in situ* dans le TA du fait de leurs propriétés pharmacocinétiques. D'une part, les INI sont des ARV qui se lient fortement aux protéines dans le sang ce qui pourraient diminuer leur biodistribution mais aussi leur concentration intra-tissulaire. Nous utilisons 10% de sérum de veau foetal dans le milieu de culture cellulaire avec une concentration protéique entre 40-50 g/L suggèrent une concentration de drogue active supérieure à celle dans le plasma des patients. Cependant, les ARV utilisés *in vitro* ont un temps de demi-vie plus court qu'*in vivo*. De plus, nous avons réalisé des expériences dose-réponse des INI et nous observé un effet augmenté entre  $\frac{1}{2}$  Cmax et 1 Cmax mais pas de différence significative entre 1 Cmax et 2 Cmax suggérant l'atteinte d'un plateau (Article 2, Clin. Infect. Dis.).

D'autre part, les INI sont lipophiles et peuvent s'accumuler dans les adipocytes et les cellules de la FSV (Couturier et al. 2018). Cette observation conforte la pertinence de notre modèle mais peut également introduire un biais dans la concentration des INI car notre modèle de culture primaire ne récapitule pas la complexité du tissu et du dialogue entre les différents types cellulaires. En effet, la culture primaire ne permet pas de prendre en compte tous les paramètres intrinsèques au tissu : la biodistribution des ARV liées à leurs caractéristiques physico-chimiques et leur biodistribution selon la vascularisation du tissu, le nombre de cellules infectées qui sécrètent des protéines du VIH ce qui peut être modulé par l'action des ARV.

Concernant les protéines du VIH, nous avons choisi la concentration plasmatique de Tat et Nef de patients infectés par le VIH (Gougeon 2003, Boya et al. 2004, Raymond et al. 2011) et nous avons aussi émis l'hypothèse que les cellules infectées au sein du TA sécrètent Tat et Nef, et ont des impacts sur les cellules avoisinantes du TA (ASC et adipocytes) car aucune étude n'a mesuré leurs concentrations dans le TA. Néanmoins, Tat et Nef ont été mesurées dans différents tissus et dans le sang de patients infectés et contrôlés (Raymond et al. 2011, Tugizov et al. 2013, Gupta et al. 2017, Ferdin et al. 2018). Tat a été détecté dans l'épithélium intestinal (Tugizov et al. 2013), mais aussi dans les microglies et les astrocytes au niveau du système nerveux central tandis que Nef a été mesuré dans les PBMC (Wang et al. 2015), le tissu rectal (Telwatte et al. 2018) et les poumons de patients avirémiques (Chelvanambi et al. 2019). De façon intéressante, une étude récente démontre que la production de provirus défectueux est aussi associée au relargage de protéines virales (Imamichi et al. 2020). Nef a été quantifié également dans les cardiomyocytes des patients infectés sous ARV mais aussi dans un modèle de macaque cynomolgus infectés par le VIS et traités ou non par tenofovir/entricitabine (Gupta et al. 2017). Par ailleurs, le TA étant un réservoir du virus y compris sous ARV suppressifs suggérant que la concentration locale des

protéines du VIH pourrait être supérieure à celle mesurée dans le plasma avec une distribution perturbée des ARV dans les réservoirs qui favorise la persistance virale et la production de virions et de protéines virales (Dupin et al. 2002, Damouche et al. 2015, Couturier et al. 2018). Dans les différentes protocoles (cohorte SIVART et cohorte de patients), des équipes de pharmacologies vont mesurer la concentration des INI dans le TA.

## B. Quels sont les mécanismes à l'origine de la fibrose et du vieillissement accentué du tissu adipeux dans un contexte d'infection par le VIH

Au cours de ma thèse, j'ai démontré les rôles respectifs du VIH/VIS et des INI dans la fibrose du TASC et du TAV. Cette fibrose permet d'expliquer un certain nombre de dérégulations métaboliques observées au sein du TA. Chez les patients obèses, l'excès de MEC est souvent associé à une résistance à l'insuline, au vieillissement du TA et à des atteintes adipocytaires (Khan et al. 2009, Divoux and Clement 2011, Sun et al. 2013). Il apparaît important de déterminer les mécanismes responsables de la fibrose et du vieillissement du TA dans le contexte de l'infection par le VIH.

### 1) Mécanismes impliqués dans la fibrose

L'expression des collagènes est augmentée dans le TASC et le TAV des macaques infectés ou traités par les INI et dans les ASC et les adipocytes humains *in vitro*. Les ASC pro-fibrosants sont caractérisés par l'expression des marqueurs de surface CD9<sup>high</sup> et PDGFR $\alpha$ + (Marcelin et al. 2017). Afin de confirmer l'implication des ASC dans la fibrose du TA, il serait intéressant d'étudier la proportion de ces précurseurs adipocytaires dans le TA des macaques infectés et/ou traités et de mieux caractériser les mécanismes impliqués.

Nous avons montré que le phénotype pro-fibrosant des ASC était associé à un stress oxydant. Plusieurs études suggèrent un lien entre stress oxydant et fibrose du TA (Lancha et al. 2014, Okuno et al. 2018). Afin d'établir le lien de causalité, il serait intéressant d'étudier l'impact de différentes molécules antioxydantes sur la mise en place de la fibrose. Par ailleurs, parmi les voies potentiellement impliquées, la voie du TGF- $\beta$ , facteur pro-fibrotique majeur dans le TA (Wynn 2008) et sécrété par les ASC, les adipocytes et les macrophages (Desai et al. 2014, Vila et al. 2014) semble particulièrement pertinent à étudier. Nous avons observé une augmentation de l'expression du TGF- $\beta$  dans le TA de macaques infectés et dans les ASC traitées par Tat ou Nef. Cependant, l'effet des INI sur cette expression n'est pas connu dans nos modèles. Dans notre

étude, nous avons montré une diminution de l'expression d'adiponectine en parallèle d'une augmentation de la fibrose dans le TASC des macaques sous INI, ce qui semble en accord avec le fait que l'adiponectine inhibe la production de collagènes en inhibant la voie TGF- $\beta$ /Smad (Fang et al. 2012, Fang et al. 2015).

L'excès de MEC peut aussi résulter de modifications de l'activité des MMP. En effet, les MMP jouent un rôle dans l'expansion du TA en particulier au niveau des processus d'angiogenèse et d'adipogenèse (Berg et al. 2019). Très peu d'études se sont intéressées à l'impact du virus ou des ARV sur la voie des MMP (Bourlier et al. 2005). Les MMP sont en majorité exprimées par les précurseurs adipocytaires et les macrophages (Bourlier et al. 2008, Pincu et al. 2016), et pourraient donc constituer des acteurs non négligeables de la fibrose dans le contexte du VIH (Maurice et al. 2019).

Au niveau tissulaire, la fibrose pourrait résulter d'un défaut d'angiogenèse conduisant à une hypoxie locale qui se traduit par l'activation du facteur HIF1 $\alpha$  dans les ASC et les adipocytes. En accord avec cette hypothèse, la fibrose du TASC cervical hypertrophique de patients infectés par le VIH sous ARV, est associée une diminution du nombre de vaisseaux (Bereziat et al. 2011). Afin de confirmer ce lien, nous pourrions mesurer l'expression d'une part, des acteurs de l'hypoxie, d'autre part de marqueurs de l'angiogenèse dans le TASC et le TAV de macaques et de patients.

## 2) A la croisée des chemins : mécanismes impliqués à la fois dans la fibrose et le vieillissement

De façon intéressante, nous avons montré que le virus était également associé à une augmentation des marqueurs du vieillissement dans le TA et que les protéines Tat et Nef induisaient une sénescence des ASC *in vitro*. Il existe plusieurs voies de signalisation pouvant expliquer le lien entre fibrose et vieillissement.

Outre son rôle pro-fibrotique, le facteur TGF- $\beta$  induit la sénescence cellulaire *via* l'activation de la voie p21 (Acosta et al. 2013). A l'inverse, l'absence de p21 prévient la mise en place de fibrose hépatique (Yosef et al. 2017). Nous souhaiterions vérifier la présence de p21 dans nos modèles *in vivo* et déterminer son implication dans l'induction de la fibrose en ajoutant un anticorps neutralisant ou un siRNA dirigé contre p21 dans notre modèle d'ASC *in vitro*. D'autres voies de signalisation induisent à la fois une fibrose et un vieillissement. En effet, la voie Wnt induite dans les cellules souches favorise la fibrose et inhibe l'adipogenèse (Brack et al. 2007, Sarjeant and Stephens 2012). Cette voie pourrait donc être activée dans les ASC par les protéines virales Tat et Nef. Par ailleurs, l'activation de la voie AMPK dans les ASC est connue pour ses bienfaits anti-fibrotique et antivieillissement (Jiang et al. 2017). Au laboratoire, nous avons mis

en évidence un défaut d'activation de l'AMPK, associé à la sénescence des ASC. Une restauration de son activité par la metformine prévient la sénescence et restaure les propriétés adipogéniques des ASC (données non publiées). Cependant, nous n'avons pas étudié cette voie dans le contexte du VIH ni vérifier le lien avec la dérégulation des composants de la MEC.

Le lien entre **altération de l'autophagie** et fibrose a déjà été démontré dans certains tissus tel que le rein (Kim et al. 2012) mais reste à établir dans le TA, notamment au cours de l'infection. Sachant qu'il a été démontré que Nef pouvait induire une sénescence des CSM *via* l'inhibition de l'autophagie (Beaupere et al. 2015), il serait intéressant de vérifier si ce mécanisme est à l'œuvre dans les ASC. Enfin, une étude a dévoilé que la combinaison TDF/FTC/DTG altère l'autophagie *in vitro* dans les microglies indiquant un rôle potentiel du DTG dans la régulation de l'autophagie (Tripathi et al. 2019). Une altération de l'autophagie induite par le VIH et/ou les INI permettrait donc d'expliquer la mise en place de la sénescence et de la fibrose.

Enfin, le VIH participe à **l'attrition des télomères** dans les PBMC (Bestilny et al. 2000, Leeansyah et al. 2013, Gonzalez-Serna et al. 2017). Les ASC exprimant peu la télomérase, la taille des télomères diminue au cours du vieillissement (Farahzadi et al. 2018, Ullah and Sun 2019). De façon intéressante, la modification des télomères entraîne la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes, producteurs de collagènes (Razdan et al. 2018). Il serait donc intéressant d'établir si l'attrition des télomères dans le contexte du VIH participe à la sénescence et à l'augmentation de collagènes dans les ASC.

## C. Quelles sont les conséquences du vieillissement et de la fibrose du tissu adipeux sur la dérégulation métabolique dans un contexte d'infection par le VIH

Comme évoqué dans la partie I sur le tissu adipeux, l'accumulation de MEC constitue une limite physique à l'expansion du TA. En effet, la fibrose péri-cellulaire induit des contraintes mécaniques sur les adipocytes déjà différenciés limitant leur capacité d'expansion (Khan et al. 2009, Pasarica et al. 2009). Les précurseurs adipocytaires produisent des niveaux élevés de collagènes qui s'accumulent dans le TA qui devient ainsi fibrotique, et perd sa capacité d'expansion par hyperplasie adipocytaire.

### 1) Hypertrophie adipocytaire

La diminution du stock de cellules souches est un marqueur de vieillissement du TA. Nous avons montré que les protéines du VIH diminuent la capacité proliférative des ASC *in vitro* ce

qui pourrait participer à **l'épuisement du stock de cellules souches** du TA. Il serait utile d'évaluer si le DTG et le RAL ont des effets similaires voire synergiques lorsqu'ils sont combinés avec les protéines virales. Sous INI, le pool des ASC pourrait alors être diminué conduisant alors à un stockage augmenté au sein des adipocytes préexistants de l'excédent d'AGL avant qu'il ne soit stocké dans d'autres tissus métaboliques. L'épuisement du stock d'ASC favoriserait donc indirectement l'hypertrophie adipocytaire.

Des études sur le TA ont montré que les ARV favorisaient l'adipogenèse avec une augmentation de PPAR $\gamma$  en comparaison à du TA de personnes infectées naïves de traitement, mais ces adipocytes restent dysfonctionnels (Giralt et al. 2006, Boothby et al. 2009). On peut poser l'hypothèse que les INI vont contrecarrer l'effet délétère de l'infection sur les adipocytes et les ASC en favorisant l'accumulation des lipides et l'expression des acteurs adipogéniques mais que cette hypertrophie conduit à des dysfonctions. Aucune étude ne s'est intéressée à l'impact de l'effet combiné des protéines virales et des INI sur l'adipogenèse. Nous projetons de mesurer l'expression de PPAR $\gamma$ , C/EBP $\alpha$ , FABP4 et de l'adiponectine, d'évaluer la taille des adipocytes et de quantifier la fibrose dans le TA de macaques qui sont à la fois infectés et traités en comparaison avec des macaques infectés mais naïfs de traitement, traités mais non infectés et un groupe contrôle.

L'hypertrophie des adipocytes du TAV est observée au cours du vieillissement du TA, ce qui en accord avec notre hypothèse selon laquelle les INI induisent un vieillissement du TA (Bonzon-Kulichenko et al. 2018). On peut poser l'hypothèse que la fibrose est secondaire à l'hypertrophie adipocytaire observée chez les macaques traités sous INI. Un premier élément de réponse pourrait être une étude cinétique sur l'effet des INI sur la production de collagène et l'accumulation de TG au cours de l'adipogenèse des ASC *in vitro*. En accord, il a été montré que l'hypertrophie des adipocytes favorisait le développement de **zones hypoxiques** qui activent le processus de fibrose (Sun et al. 2011, Trayhurn 2013).

L'effet combiné du VIH et des INI pourrait être à l'origine à la fois de l'hypertrophie adipocytaire, de la fibrose et du vieillissement accentué du TA des patients (Figure 30).

## 2) Prise de poids : rôle du tenofovir alafémide et du bictégravir

De nos jours, une préoccupation des cliniciens est l'observation d'une prise de poids sous INI en particulier avec le DTG chez les patients infectés et traités. Cependant, les INI sont donnés en combinaison avec des NNRTI et des NRTI et le rôle propre de ces autres ARV ne peut être exclu. En effet, les combinaisons de NRTI qui favorisent le plus la prise de poids avec le DTG,

sont l'abacavir/lamivudine (Menard et al. 2017) et le TAF/FTC (Sax et al. 2019, Venter et al. 2019, Lake et al. 2020).

Le **TDF** est prescrit en première ligne en combinaison avec beaucoup d'ARV : NNRTI, PI ou INI (WHO 2018). Il a cependant des effets secondaires : altération de la fonction rénale (Venter et al. 2018), diminution de la densité minérale osseuse (Brown et al. 2011, McComsey et al. 2011) et diminution de certains paramètres lipidiques (Santos et al. 2015). Le **TAF** est un dérivé du tenofovir mis sur le marché récemment dans la palette des ARV. Il semble présenter une toxicité moindre sur la fonction rénale et les atteintes osseuses (DeJesus et al. 2018). Cependant, une étude a montré que le TAF augmente la prise de poids et l'IMC de façon plus importante que le TDF chez des personnes non infectées dans le cadre de la PreP (Ogbuagu 2020). De plus, des études récentes ont montré que la prise de poids sous INI est plus importante chez les individus recevant du TAF que du TDF (Gomez et al. 2019, Sax et al. 2019, Venter et al. 2019, Lake et al. 2020). Les études NAMSAL et ADVANCE montrent que la prise de poids et de masse grasse sous DTG est plus importante quand ce dernier est associé TAF plutôt qu'au TDF (Venter et al. 2019, Calmy et al. 2020, Venter et al. 2020). Ces travaux mettent en lumière que l'impact que le DTG peut avoir sur la prise de poids est sous l'influence du TAF ou du TDF. L'impact différentiel de ces deux molécules pourrait s'expliquer par le fait que la concentration intracellulaire du tenofovir (principe actif) est plus importante avec le TAF qu'avec le TDF (Ruane et al. 2013). Afin de déterminer si le TAF peut promouvoir ou à l'inverse si le TDF peut freiner la prise de poids, il serait intéressant de comparer l'impact de ces deux molécules seuls ou en combinaison avec un INI, sur l'adipogenèse et la fonction des adipocytes *in vitro* et *in vivo* au sein du TA provenant d'autres cohortes de patients que de la cohorte ObeVIH.

Deux nouveaux INI sont apparus récemment et nécessitent d'être évaluer dans nos modèles : le **cabotégravir** et le **bictégravir**. Le cabotégravir n'est pas autorisé dans le panel des ARV en dehors des études cliniques. En revanche, le bictégravir a été approuvé en France et semble avoir des effets similaires sur la prise de poids que le DTG chez les patients naïfs (Sax et al. 2019, Wohl et al. 2019).

### **3) Résistance à l'insuline et comorbidités associées au défaut de TA**

L'impact simultané des INI et du virus sur les cellules adipeuses et immunitaires pourrait être délétère à l'activité métabolique du TA. Cependant, la question reste entière, à savoir si la prise de poids et de TA liés aux INI est délétère pour l'organisme et si elle favorise l'émergence de complications cardiométraboliques. En effet, l'impact des INI sur la sensibilité à l'insuline fait

débat dans la communauté scientifique. Des études observent un effet neutre (Domingo et al. 2014, Young et al. 2015, Bagella et al. 2019), défavorable (Dirajlal-Fargo et al. 2016, McComsey et al. 2016, Katlama et al. 2019) ou favorable (Calza et al. 2019) des INI sur la sensibilité à l'insuline. Quelques cas isolés ont développé spontanément une hyperglycémie voire un diabète (Kamei et al. 2015, Fong et al. 2017, Horikawa et al. 2018, McLaughlin et al. 2018). Fong *et al* observent une réversion du diabète lorsque le patient reprend de l'EFV à la place du RAL. D'autres études sont nécessaires pour confirmer que le simple changement des INI vers une autre classe d'ARV permet de résoudre le diabète sous INI. Le risque de développer un diabète et une résistance à l'insuline serait associé à la prise de poids au cours de la première année sous ARV (Erlandson et al. 2016, Herrin et al. 2016, Hulgan 2018).

Dans notre modèle expérimental, pour la première fois, nous avons montré que les protéines virales Tat et Nef d'une part et les INI d'autre part induisaient une **résistance à l'insuline** des adipocytes *in vitro*. Plusieurs mécanismes à l'origine de la résistance à l'insuline sont possibles. Au cours de l'obésité ou du vieillissement, l'hypertrophie et la toxicité mitochondriale dans le TASC et le TAV contribuent à la résistance à l'insuline (Petersen and Shulman 2018, Woo et al. 2019, Zatterale et al. 2019). Dans le contexte d'infection par le VIH, une étude récente a mis en évidence une corrélation entre résistance à l'insuline et toxicité mitochondriale au sein du TA (Hulgan 2018). Par ailleurs, une diminution d'adiponectine circulante induite par les INI pourrait également être à l'origine d'une résistance à l'insuline périphérique (Offor et al. 2018). Il serait intéressant d'évaluer l'effet combiné des protéines virales et des INI *in vitro*, et *in vivo* au niveau du TA et au niveau systémique (calcul de l'HOMA-IR) sur la sensibilité à l'insuline.

Un défaut d'adipogenèse, l'accumulation du TAV, une fibrose accrue et une inflammation favorisent l'apparition de la résistance à l'insuline au niveau local dans l'adipocyte mais aussi à distance au niveau des muscles et du foie. L'ensemble des organes touchés participerait à un état dysmétabolique pouvant conduire à un diabète, une stéatose hépatique et des maladies cardiovasculaires chez les patients infectés par le VIH (Balasubramanyam et al. 2004, Achhra et al. 2016, Carobbio et al. 2017, Beraldo et al. 2018, Sawaki et al. 2018 , Srinivasa et al. , Lagathu et al. 2019). De façon intéressante, la plupart des études montrent que les INI améliorent les paramètres lipidiques et diminuent le risque cardiovasculaire (Martinez et al. 2012, Brenner and Baril 2017, Gatell et al. 2017, Gatell et al. 2019). Quelques études montrent que la dyslipidémie est augmentée sous INI (Young et al. 2015) et que le risque de maladies cardiovasculaires est le même que sous les autres ARV (Hill et al. 2018). Il existe quelques cas isolés de maladies cardiovasculaires observées suite à la prise des INI mais la causalité des INI reste à prouver (Mahlab-Guri et al. 2016, Eyer-Silva et al. 2019). Associé aux INI, le TAF augmente les lipides

dans le sang comparé au TDF, ce qui s'expliquerait davantage par le fait que le TDF diminue la quantité de lipides plutôt que par un risque cardiovasculaire du TAF (Huhn et al. 2020, Petrakis et al. 2020, Schwarze-Zander et al. 2020). Cependant certaines études de *switch* sous TAF révèlent qu'il favorise la dyslipidémie et alertent sur le potentiel risque cardiométabolique (Kauppinen et al. 2019, Schafer et al. 2019, Lacey et al. 2020). Des études complémentaires seraient nécessaires afin d'évaluer le risque cardiovasculaire des patients sous INI et sous TAF et de comprendre les mécanismes en cause.

## D. Le déclin du tissu adipeux beige : une nouvelle hypothèse de la dérégulation du métabolisme chez les patients infectés par le VIH

L'induction de l'activité du **TA brun et beige** pourrait donc être une stratégie thérapeutique pour contrer les maladies métaboliques. En effet, chez l'homme, une exposition répétée au froid favorise la dépense énergétique *via* l'induction du brunissement du TA, ce qui a pour conséquence une amélioration de l'homéostasie glucidique et une meilleure sensibilité à l'insuline (Chondronikola et al. 2014, Hanssen et al. 2015). Chez les patients infectés sous ARV, le TASC cervical hypertrophique possèdent de petits adipocytes avec un phénotype proche des adipocytes bruns (Guallar et al. 2008, Bereziat et al. 2011, Cereijo et al. 2015). De façon intéressante, la durée de traitement sous ARV et l'utilisation des PI, sont corrélées à la présence d'une bosse de bison mais aussi à la **diminution de l'expression de marqueurs beiges et bruns dans le TASC** abdominal chez les personnes infectées par le VIH (Torriani et al. 2016, Srinivasa et al. 2019). Torriani *et al* ont émis l'hypothèse que la bosse de bison permet de contrebalancer la perte des adipocytes beiges dans le TASC au cours de l'infection VIH (Torriani et al. 2012, Torriani et al. 2016).

Les **adipocytes beiges** sont multiloculaires avec de nombreuses mitochondries et expriment des marqueurs spécifiques comme CITED1, CD137 et TMEM26 (Wu et al. 2012). Suite à l'induction par le froid, les catécholamines ou les TZD, ils expriment des gènes du TAB comme *PRDM16*, *UCP1* et *PPARGC1A* (Cousin et al. 1992, Guerra et al. 1998, Petrovic et al. 2010, Harms and Seale 2013, Rosenwald et al. 2013, Kim et al. 2018). PGC1 $\alpha$  est un co-activateur de PPAR $\gamma$  et un facteur de transcription clé dans l'adipogenèse beige et brune et induit l'expression de UCP1 et des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale (Harms and Seale 2013). PRDM16 induit également le brunissement du TAV suite à l'activation de la voie  $\beta$ -

adrénergique (Seale et al. 2007). D'autres facteurs tels que le FGF21, l'irisine, la myostatine, ou le microbiote intestinal influencent l'activation du beige (Moreno-Aliaga and Villarroya 2020). L'origine des adipocytes beiges est discutée et deux hypothèses se distinguent. Ces adipocytes beiges pourraient émaner soit de la transdifférenciation des adipocytes blancs (Himms-Hagen et al. 2000, Granneman et al. 2005, Lehr et al. 2009) soit de la différenciation d'un précurseur spécifique Myf5- et PDGFR $\alpha$ + (Seale et al. 2008, Lee et al. 2012, Wang and Seale 2016, Rui 2017, Gao et al. 2018). Ces deux hypothèses ne sont pas incompatibles et pourraient coexister.

Les adipocytes beiges ont une forte activité oxydative et participent à une augmentation de la dépense énergétique limitant ainsi l'hypertrophie (Wu et al. 2013). Chez les patients infectés par le VIH, l'hypertrophie adipocytaire dans le TASC abdominal des patients sous INI pourrait être un mécanisme compensatoire de la diminution du TA beige et de la dépense énergétique, mais ce lien de cause à effet reste à être confirmer. Au sein du laboratoire, une différenciation beige des ASC humaines a été mise au point par E. Capel suite à des travaux menés dans un modèle d'iPS (Guenantin et al. 2017). Nous souhaitons profiter de l'expertise de certains membres du laboratoire afin d'évaluer l'impact des INI dans notre modèle *in vitro* suite à une adipogenèse beige et dans le TA de macaques infectés traités et de patients de la cohorte ObeVIH.

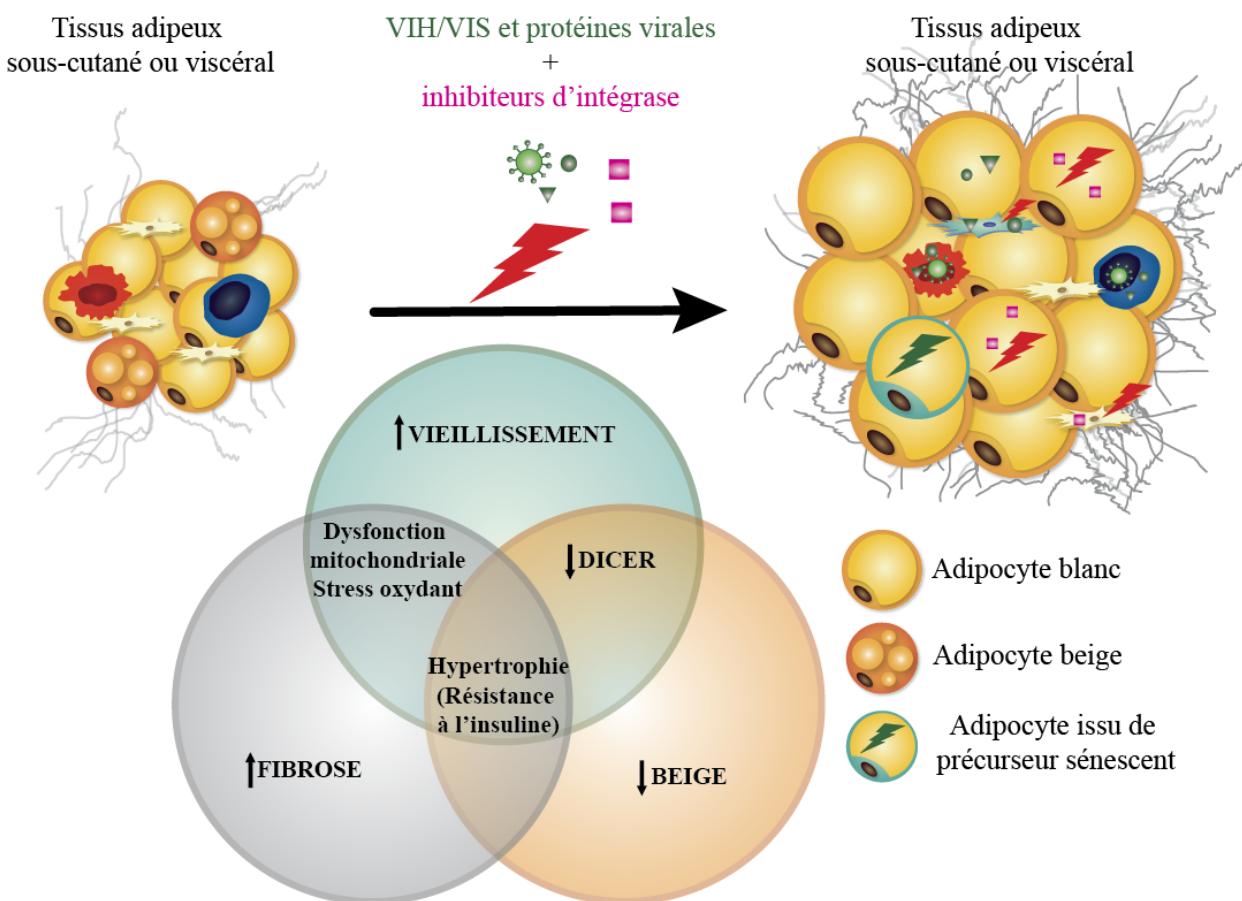
**DICER** est une enzyme impliquée dans la maturation des prémiR en miR, des petits ARN simple brin non codants qui régulent l'expression génique (Xu and Sun 2015, Thomou et al. 2017). Au cours du vieillissement, au sein du TA, il a été observé une baisse de l'expression de DICER (Coley et al. 2010, Mori et al. 2012, Reis et al. 2016, Torriani et al. 2016). De plus, la souris déficiente pour DICER spécifiquement dans les adipocytes présente des caractéristiques du vieillissement du TA avec une lipotrophie, une toxicité mitochondriale, une résistance à l'insuline, une inflammation et un TAB avec des caractéristiques du TA blanc (Mori et al. 2014, Thomou et al. 2017).

Enfin, le déclin de DICER perturbe l'expression de miR impliqués dans le maintien de l'identité des adipocytes et dans la régulation de l'adipogenèse blanche et beige (Xu and Sun 2015). Au cours de l'infection par le VIH, certains miR peuvent réprimer la réPLICATION du virus (Balasubramaniam et al. 2018). Le virus a donc mis en place un mécanisme permettant d'augmenter son infectivité en utilisant ses protéines Vpr, Rev et Tat qui inhibent l'expression et l'activité de DICER (Bennasser et al. 2005, Casey Klockow et al. 2013, Ponia et al. 2013). De plus, chez les patients infectés par le VIH sous ARV, la diminution de DICER est corrélée à une diminution de l'expression des gènes du beige et brun dans le TASC (Mori et al. 2014, Torriani

et al. 2016, Zoico et al. 2019). Il serait donc intéressant d'évaluer l'effet des INI et du VIH sur l'expression de DICER dans le TA.

Outre son rôle dans le vieillissement, le déclin de brunissement du TA dans le contexte du VIH pourrait, également jouer un rôle dans la mise en place de la fibrose. En effet, une étude a montré que le facteur de transcription du TA **PRDM16** jouait un rôle protecteur contre le développement de la **fibrose** dans le TA blanc (Hasegawa et al. 2018). De plus, le TGF- $\beta$  inhibe la différenciation beige des précurseurs adipocytaires (Babaei et al. 2018). Un déclin du beige pourrait donc participer à la fibrose du TA des patients sous INI au cours de l'infection par le VIH et ce phénomène serait amplifié par la voie du TGF- $\beta$ .

En conclusion, le déclin du TA beige sous INI pourrait expliquer à la fois la prise de poids et l'hypertrophie adipocytaire, la fibrose, la résistance à l'insuline et le vieillissement du TA. Nous souhaitons privilégier cette piste dans nos futures recherches (Figure 30).



**Figure 30 :** Schéma bilan des altérations du tissu adipeux induites par le VIH/VIS et les inhibiteurs d'intégrase : liens entre vieillissement, fibrose et déclin du tissu adipeux beige. Réversibilité des effets des antirétroviraux et thérapeutiques.

## **E. Réversibilité des effets antirétroviraux et thérapeutiques**

### **1) Les atteintes du tissu adipeux liées aux inhibiteurs d'intégrase sont-elles réversibles ?**

A ce jour, l'impact de l'interruption des traitements INI (DTG ou RAL) sur la réversibilité de la prise de poids et des atteintes métaboliques du TA n'est pas connue. En revanche un étude récente suggère un effet réversible du TAF sur les paramètres lipidiques des patients « switchés » sur TDF (Milinkovic et al. 2019).

Afin de tester l'hypothèse de la réversibilité des effets des INI sur les altérations du TASC une demande de financement d'étude clinique auprès de l'ANRS a été déposée au laboratoire. Il s'agit d'inclure des patients infectés par le VIH qui, après au moins 6 mois de traitement sous INI, présentent une prise de poids significative (5% sur un an). Ces patients sont ensuite mis sous un traitement incluant le plus souvent un NRTI tel que le TAF ou le TDF ou un NNRTI tel que la DOR. A l'inclusion et 48 semaines après le *switch*, une mesure des paramètres métaboliques et une biopsie de TASC seront réalisées. En complément de cette étude clinique, nous souhaitons tester dans nos modèles *in vitro* d'ASC et d'adipocytes la réversion des effets des INI.

### **2) Stratégies thérapeutiques de prévention ou traitement de la fibrose et/ou du vieillissement du tissu adipeux**

L'utilisation d'autres médicaments nécessite la vérification des interactions médicamenteuses avec les ARV car la population vieillissante infectée par le VIH est plus susceptible à la polymédication (Halloran et al. 2019). Deux molécules « magiques » de par leurs propriétés antivieillissement et leur action anti-fibrotique ont retenu notre attention : la metformine et la pravastatine.

La **metformine** est une molécule classiquement prescrite dans le traitement du diabète de type 2, qui jouerait un rôle important en tant que molécule sénolytique (Barzilai et al. 2016). De façon intéressante, la metformine diminue le risque de pathologies liées à l'âge comme les maladies cardiovasculaires, neurologiques et certains cancers (Campisi et al. 2019). La metformine est un inhibiteur du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale, ce qui conduit à une baisse du ratio AMP/ATP menant à une activation de l'AMPK et à une diminution de la production d'ERO (Onken and Driscoll 2010, Wheaton et al. 2014). L'activation de la voie AMPK est impliquée dans les effets métaboliques bénéfiques de la metformine, notamment l'augmentation de la sensibilité à l'insuline, l'inhibition la synthèse hépatique de TG, l'augmentation de captation de glucose et la diminution de la fibrose du TA (Hawley et al. 2010, Luo et al. 2016,

Steinberg 2018, Malekpour-Dehkordi et al. 2019). Dans des modèles murins d'obésité, la metformine diminue la prise de poids en inhibant l'hypertrophie adipocyttaire, favorise la sensibilité à l'insuline et améliore le métabolisme des AGL du TA blanc et TA brun (Breining et al. 2018, Yuan et al. 2019, Su et al. 2020). Il a été suggéré qu'une partie des effets bénéfiques de la metformine sur le métabolisme et l'inflammation passaient par les ASC (Shree and Bhonde 2016). En accord avec ces données, au laboratoire, nous avons démontré que la metformine exerce un effet bénéfique sur des ASC humaines issues de donneurs âgés en particulier sur la sénescence, la capacité adipogénique et la résistance à l'insuline(Mantecon Submitted).

Dans le contexte de l'infection par le VIH, la metformine améliore les paramètres métaboliques et cardiovasculaires des personnes infectées sous ARV (Hadigan et al. 2001, Benavides and Nahata 2004, Driscoll et al. 2004) même si elle ne semble pas avoir un effet bénéfique sur la lipotrophie liée au VIH (Benavides and Nahata 2004, Martin and Mallon 2005, van Wijk et al. 2005). Cependant, une étude récente a révélé que la metformine augmente l'expression de marqueurs adipocytaires bruns dans le TA blanc (Srinivasa et al. 2015). Si nous arrivons à démontrer que les INI affectent le brunissement du TA (voir discussion partie C), cette molécule pourrait être un bon candidat pour contrer leurs effets.

Afin de cibler le vieillissement du TA, les statines sont des molécules intéressantes car elles diminuent l'expression de p16, p21 et de la prélamine A dans les PBMC de patients sous PI (Lefevre et al. 2010). Les **statines** dont la pravastatine exercent des effets antioxydants et anti-inflammatoires participant ainsi à la diminution du risque cardiovasculaire (Foody et al. 2006). Une étude montre que la pravastatine augmente l'expression de l'adiponectine dans le TA et améliore la résistance à l'insuline (Chen et al. 2007). Cependant, l'effet bénéfique de la pravastatine sur le TA des patients présentant des syndromes lipodystrophiques liés à l'infection par le VIH est discuté (Mallon et al. 2006, Calmy et al. 2010). En plus de son rôle anti-fibrotique (Li et al. 2004, Kim et al. 2010, Otani et al. 2010, Crespo and Quidley 2015), la pravastatine exerce aussi un effet sénolytique dans des CSM, des cellules endothéliales et des CMLV en réponse aux PI (Lefevre et al. 2010, Hernandez-Vallejo et al. 2013, Auclair et al. 2014). Il serait donc intéressant de tester son potentiel anti-fibrotique et antivieillissement sur le TA dans nos différents modèles.

## **F. Dialogue entre composantes immunitaire et métabolique dans les atteintes du tissu adipeux**

Dans l'obésité, le développement de la fibrose et de l'augmentation de la quantité de TGF- $\beta$  est parallèle à la mise en place de l'inflammation avec l'accumulation des macrophages M1 et M2

(Spencer et al. 2010). Les macrophages, outre leur rôle dans l'inflammation, l'inhibition de l'adipogenèse et la résistance à l'insuline, induisent un phénotype pro-fibrosant des précurseurs adipocytaires (Bourlier et al. 2012, Vila et al. 2014) et des adipocytes (O'Hara et al. 2009, Catalan et al. 2012). Dans ce contexte, un projet en cours au laboratoire vise à étudier le **dialogue réciproque** entre cellules adipocytaires (ASC, adipocytes) et immunitaires (macrophages, lymphocytes T) dans la mise en place des dysfonctions et la fibrose du TA dans le cadre de l'infection par le VIH. Grâce à nos différents modèles d'études nous souhaitons déterminer le phénotype de ces macrophages et connaître leur implication dans la mise en place de la fibrose du TA en réponse au VIH et aux INI.

Dans un contexte d'infection par le VIH, les patients contrôlés sous ARV présentent une **inflammation** de bas grade, une **activation immune et une immunosénescence** en systémique et localement dans le TA (Deeks 2011, Couturier et al. 2015, Damouche et al. 2015, Lagathu et al. 2017). L'inflammation pourrait être orchestrée par des macrophages et des lymphocytes infiltrés, réservoirs du virus, mais aussi par les ASC et les adipocytes. Chez les patients contrôlés sous ARV, l'inflammation du TA persiste suggérant un rôle des ARV. Cependant, des études cliniques montrent que les INI diminuent la concentration circulante de médiateurs inflammatoires comme le facteur soluble sCD14 (Lake et al. 2014, Hileman et al. 2015, Asundi et al. 2019, Lombardi et al. 2019) mais aucune donnée de la littérature n'a étudié l'impact des INI sur l'inflammation et l'activation immune au sein du TA, d'une part, et sur, la sécrétion de molécules inflammatoires par les ASC et les adipocytes, d'autre part. Il serait donc intéressant d'étudier l'impact des INI sur la sécrétion d'IL-6 et d'IL-8 notamment des ASC et des adipocytes, puis en combinaison avec les protéines virales Tat et Nef mais aussi au sein du TASC et du TAV de macaques infectés ou non et traités par des INI.

Le **TA est un acteur immunitaire** important du fait de la présence de nombreuses cellules immunitaires résidentes. Par ailleurs, le TA est un site d'accumulation de lymphocytes T mémoires, cibles préférentielles du VIH. Le TA est donc un organe de choix pour l'étude de la réponse immune et de la persistance du réservoir dans le contexte d'infection par le VIH. Les cellules immunitaires résidentes du TA favorisent un environnement immunosuppresseur et jouent un rôle protecteur lors de réponses anti-infectieuses (Han et al. 2017). Cependant, la capacité fonctionnelle des cellules immunitaires reste à être mieux caractérisée (Feuerer et al. 2009, Laparra et al. 2019). Le TA est en étroite communication avec les structures lymphoïdes secondaires dont l'exemple le plus révélateur est la proximité anatomique et la communication entre le TAV omental et les clusters de leucocytes (*milky spots*) (Kaminski and Randall 2010,

Meza-Perez and Randall 2017). De façon plus générale, les lymphocytes T résidents des tissus non lymphoïdes comme le TA, contribuerait à la réponse anti-infectieuse en migrant vers les organes lymphoïdes secondaires tels que les ganglions lymphatiques où le virus se réplique (Beura et al. 2018). Les perturbations de la réponse immune liées à l'infection par le VIH pourraient donc avoir un impact *in situ* dans le TA mais également systémique en agissant sur les organes lymphoïdes secondaires. Au cours de l'infection par le VIH, on observe non seulement une fibrose du TA, mais également une fibrose des ganglions lymphatiques qui contribuerait à une déplétion des lymphocytes T CD4+ (Diaz et al. 2010, Lake et al. 2017, Utay et al. 2018). La **fibrose** du TA qui perturbe l'homéostasie métabolique et sécrétoire, mais qui pourrait également perturber les capacités de migration, le recrutement et la remobilisation des lymphocytes T. L'équipe développe actuellement un projet en collaboration avec l'équipe du Pr O. Lambotte dont le but est d'identifier les nœuds d'interaction entre métabolisme et immunité locale dans le TA et au niveau des ganglions de proximité dans le contexte de l'infection par le VIH.

Au sein du TA, de multiples interactions entre cellules adipocytaires et de l'immunité existent (Duffaut et al. 2009, Meijer et al. 2010, Brestoff and Artis 2015). En effet, les ASC possèdent des propriétés **immunomodulatrices** en induisant la différenciation des lymphocytes Treg et la polarisation M2 des macrophages (Saillan-Barreau et al. 2003, Puissant et al. 2005, Yanez et al. 2006, Engela et al. 2013, Luz-Crawford et al. 2013, Frazier et al. 2014). Les ASC exprimant CD73, une ecto-nucléotidase, qui dégrade l'AMP en adénosine, nucléoside qui pourrait avoir une forte activité immunosuppressive (Bourin et al. 2013). Dans le contexte d'infection par le VIH, il serait intéressant d'établir le lien entre le niveau d'expression de CD73 et les capacités immunosuppressives et de différenciation adipocytaire des ASC.

La dysfonction, la sénescence, et l'épuisement du stock des ASC pourrait contribuer aux perturbations immunitaires des patients infectés par le VIH sous ARV ou bien à l'inverse le virus et les ARV altèrent la fonction du système immunitaire qui troublerait l'homéostasie des cellules adipeuses (ASC et adipocytes).

Afin d'ouvrir le champ des possibles et au regard de l'actualité 2020 et de la pandémie du SARS-CoV-2, il est important de noter que le TA est un réservoir de nombreux virus autres que le VIH comme le virus de la grippe Influenza A ou le cytomégalovirus (Bouwman et al. 2008, Contreras et al. 2019) Le vieillissement et la surcharge pondérale (surpoids et obésité) sont des facteurs majeurs de la sévérité de la maladie COVID-19. En effet, avec l'âge, le phénomène

*d'inflammaging* pourrait exacerber l'orage cytokinique observé chez ces patients qui accentue la sévérité de la maladie (Meftahi et al. 2020). Plusieurs hypothèses adipocentrées sont envisageables et pourraient expliquer cette sévérité. Premièrement, le récepteur d'entrée du virus dans les cellules est l'ACE2 (*angiotensin-converting enzyme 2*) qui est exprimé dans le TA et augmenté au cours de l'obésité (Gupte et al. 2008, Ryan and Caplice 2020). Des études ont montré une corrélation entre la sévérité de la pathologie et une expression élevée de ACE2 dans le TA (Gheblawi et al. 2020). La question en suspens est donc de savoir si le TA est un réservoir du SARS-CoV-2 qui continue à produire et relarguer du virus même après son élimination dans les poumons. Concernant l'orage cytokinique, deux hypothèses sont possibles. 1/Le TA, de par sa fonction endocrine, pourrait contribuer à la production de facteurs inflammatoires participant à cet orage (Malavazos et al. 2020, Ritter et al. 2020, Ryan and Caplice 2020). 2/Parmi les cytokines sécrétées spécifiquement par l'adipocyte, la leptine pourrait également jouer un rôle clé dans la sévérité de l'infection SARS-CoV-2. En effet, la leptine module l'immunité au niveau local et systémique avec une action pro-inflammatoire. La sécrétion de leptine étant proportionnelle à la masse grasse et les patients obèses sont susceptibles d'avoir un taux plasmatique élevé de leptine qui pourrait contribuer et aggraver l'orage cytokinique (Rebello et al. 2020).

Ces hypothèses adipocentrées mettent en lumière l'importance récurrente du tissu adipeux au-delà des pathologies cardiométaboliques.

## **V. Conclusion générale : pourquoi le tissu adipeux est une cible privilégiée du VIH et des antirétroviraux ?**

De façon surprenante, depuis les débuts de cette pandémie, les études cliniques ont révélé que le TA est quasi systématiquement affecté chez les patients infectés recevant ou non des ARV. La toxicité des ARV (en particulier celle des PI et des NRTI) a pendant longtemps été considérée comme l'unique responsable des lipodystrophies et des atteintes du TA. Cependant, les altérations du TA observées chez des patients naïfs de traitement suggéraient un rôle propre du virus et des protéines virales sécrétées. Cette hypothèse a été confortée, lorsqu'en 2015 des travaux ont confirmé que le TA est un réservoir du VIH même chez les personnes sous ARV avec une charge virale indétectable. Actuellement, un regain d'intérêt concerne sur la toxicité des ARV sur le TA lorsque la prise d'INI, molécules très efficaces sur la réPLICATION du VIH, a

été associée à une prise de poids et de TA. La redistribution et/ou de la prise de poids ont des répercussions psycho-sociales qui peuvent influencer l'observance thérapeutique. C'est pourquoi, comprendre les impacts du virus et des ARV dans les atteintes du TA et les mécanismes en cause représente un enjeu majeur afin de personnaliser la thérapeutique, traiter et prévenir ces effets secondaires.

Au niveau du TA, différents éléments pourraient expliquer la persistance du virus, des protéines du VIH et des ARV. Premièrement, certains ARV sont lipophiles, passent les membranes biologiques et sont séquestrés dans les cellules adipocytaires (Dupin et al. 2002, Couturier et al. 2018). Cela peut avoir deux conséquences simultanées : d'un côté, les ARV s'accumulent dans les adipocytes et les ASC, et altèrent leurs fonctions, de l'autre côté, ils ne sont pas disponibles au sein du TA pour cibler et éliminer les cellules infectées produisant du virus et sécrétant des protéines virales. Deuxièmement, les lymphocytes T CD4+ et les macrophages potentiellement infectés se trouveraient dans les profondeurs du TA entre les adipocytes, tandis que les lymphocytes T CD8+ seraient localisés proches des vaisseaux sanguins. Cet éloignement physique empêcherait l'action anti-infectieuse des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques sur les cellules infectées, en faveur d'une persistance du VIH participant aux altérations induites par le virus. Troisièmement, la surexpression de p21, marqueur de sénescence, inhibe la réplication du VIH dans les macrophages et les cellules souches hématopoïétiques (Zhang et al. 2007, Bergamaschi et al. 2009) et rend les lymphocytes T CD4+ moins susceptibles à l'infection (Yu and Lichterfeld 2011), suggérant que le vieillissement accentué du TA chez les patients infectés sous ARV pourrait être un mécanisme de défense afin de lutter contre la réplication du virus.

De par sa présence dans tout l'organisme, le TA ou les TA ont une place centrale dans le métabolisme énergétique *via* leur communication étroite avec les autres organes comme le foie, le muscle ou le cœur mais aussi avec le cerveau. La dysfonction du TA est au cœur des comorbidités liées au vieillissement. Actuellement les pathologies cardiométaboliques associées aux altérations du TA font parties des enjeux de recherche chez les personnes infectées par le VIH et contrôlées sous ARV. L'ultime étape serait la mise au point d'une thérapeutique qui réduirait la taille du réservoir et aurait pour but de guérir l'infection par le VIH.

## BIBLIOGRAPHIE

- (ANSM), A. N. d. S. d. M. e. d. p. d. s. from <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/index.php>.
- Abdenour, M., S. Reggio, G. Le Naour, Y. Liu, C. Poitou, J. Aron-Wisnewsky, et al. (2014). "Association of adipose tissue and liver fibrosis with tissue stiffness in morbid obesity: links with diabetes and BMI loss after gastric bypass." *J Clin Endocrinol Metab* **99**(3): 898-907.
- Acheampong, E. A., Z. Parveen, L. W. Muthoga, M. Kalayeh, M. Mukhtar and R. J. Pomerantz (2005). "Human Immunodeficiency virus type 1 Nef potently induces apoptosis in primary human brain microvascular endothelial cells via the activation of caspases." *J Virol* **79**(7): 4257-4269.
- Achhra, A. C., A. Mocroft, P. Reiss, C. Sabin, L. Ryom, S. de Wit, et al. (2016). "Short-term weight gain after antiretroviral therapy initiation and subsequent risk of cardiovascular disease and diabetes: the D:A:D study." *HIV Med* **17**(4): 255-268.
- Acosta, J. C., A. Banito, T. Wuestefeld, A. Georgilis, P. Janich, J. P. Morton, et al. (2013). "A complex secretory program orchestrated by the inflamasome controls paracrine senescence." *Nat Cell Biol* **15**(8): 978-990.
- Afonso, P., M. Auclair, F. Boccara, M. C. Vantyghem, C. Katlama, J. Capeau, et al. (2016). "LMNA mutations resulting in lipodystrophy and HIV protease inhibitors trigger vascular smooth muscle cell senescence and calcification: Role of ZMPSTE24 downregulation." *Atherosclerosis* **245**: 200-211.
- Afonso, P., M. Auclair, M. Caron-Debarle and J. Capeau (2017). "Impact of CCR5, integrase and protease inhibitors on human endothelial cell function, stress, inflammation and senescence." *Antivir Ther*.
- Agarwal, N. and A. Balasubramanyam (2015). "Viral mechanisms of adipose dysfunction: lessons from HIV-1 Vpr." *Adipocyte* **4**(1): 55-59.
- Agarwal, N., D. Iyer, S. G. Patel, R. V. Sekhar, T. M. Phillips, U. Schubert, et al. (2013). "HIV-1 Vpr induces adipose dysfunction in vivo through reciprocal effects on PPAR/GR co-regulation." *Sci Transl Med* **5**(213): 213ra164.
- Agarwal, S., H. Sharma, L. Chen and N. K. Dhillon (2020). "NADPH oxidase-mediated endothelial injury in HIV- and opioid-induced pulmonary arterial hypertension." *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **318**(5): L1097-L1108.
- Aguilar-Salinas, C. A., E. G. Garcia, L. Robles, D. Riano, D. G. Ruiz-Gomez, A. C. Garcia-Ulloa, et al. (2008). "High adiponectin concentrations are associated with the metabolically healthy obese phenotype." *J Clin Endocrinol Metab* **93**(10): 4075-4079.
- Ahima, R. S. and M. A. Lazar (2013). "Physiology. The health risk of obesity--better metrics imperative." *Science* **341**(6148): 856-858.
- Alba, D. L., J. A. Farooq, M. Y. C. Lin, A. L. Schafer, J. Shepherd and S. K. Koliwad (2018). "Subcutaneous Fat Fibrosis Links Obesity to Insulin Resistance in Chinese-Americans." *J Clin Endocrinol Metab*.
- Aleffi, S., I. Petrai, C. Bertolani, M. Parola, S. Colombatto, E. Novo, et al. (2005). "Upregulation of proinflammatory and proangiogenic cytokines by leptin in human hepatic stellate cells." *Hepatology* **42**(6): 1339-1348.
- Alexander, C. M., I. Kasza, C. L. Yen, S. B. Reeder, D. Hernando, R. L. Gallo, et al. (2015). "Dermal white adipose tissue: a new component of the thermogenic response." *J Lipid Res* **56**(11): 2061-2069.
- Alirezaei, M., W. B. Kiosses and H. S. Fox (2008). "Decreased neuronal autophagy in HIV dementia: a mechanism of indirect neurotoxicity." *Autophagy* **4**(7): 963-966.
- Alligier, M., L. Gabert, E. Meugnier, S. Lambert-Porcheron, E. Chanseaume, F. Pilleul, et al. (2013). "Visceral fat accumulation during lipid overfeeding is related to subcutaneous adipose tissue characteristics in healthy men." *J Clin Endocrinol Metab* **98**(2): 802-810.
- Ameur, A., J. B. Stewart, C. Freyer, E. Hagstrom, M. Ingman, N. G. Larsson, et al. (2011). "Ultra-deep sequencing of mouse mitochondrial DNA: mutational patterns and their origins." *PLoS Genet* **7**(3): e1002028.
- Amouyal, C., M. Buyse, L. Lucas-Martini, D. Hirt, L. Genser, A. Torcivia, et al. (2018). "Sleeve Gastrectomy in Morbidly Obese HIV Patients: Focus on Anti-retroviral Treatment Absorption After Surgery." *Obes Surg* **28**(9): 2886-2893.
- Anderson, K. S. (2001). "The molecular basis of inhibition and toxicity of modified cytosine analogues targeting HIV-1 reverse transcriptase." *Antivir Chem Chemother* **12 Suppl 1**: 13-17.
- Apetrei, C., D. L. Robertson and P. A. Marx (2004). "The history of SIVS and AIDS: epidemiology, phylogeny and biology of isolates from naturally SIV infected non-human primates (NHP) in Africa." *Front Biosci* **9**: 225-254.
- Appay, V. and D. Sauce (2008). "Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences." *J Pathol* **214**(2): 231-241.
- Araujo, L. A. and S. E. Almeida (2013). "HIV-1 diversity in the envelope glycoproteins: implications for viral entry inhibition." *Viruses* **5**(2): 595-604.
- Arkan, M. C., A. L. Hevener, F. R. Greten, S. Maeda, Z. W. Li, J. M. Long, et al. (2005). "IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance." *Nat Med* **11**(2): 191-198.
- Arner, P., D. P. Andersson, A. Thorne, M. Wiren, J. Hoffstedt, E. Naslund, et al. (2013). "Variations in the size of the major omentum are primarily determined by fat cell number." *J Clin Endocrinol Metab* **98**(5): E897-901.
- Assoumou, L., C. Racine, S. Fellahi, A. Lamaziere, D. Farabos, L. Beniguel, et al. (2020). "Fat gain differs by sex and hormonal status in persons living with suppressed HIV switched to raltegravir/etravirine." *AIDS* **34**(12): 1859-1862.
- Asundi, A., Y. Robles, T. Starr, A. Landay, J. Kinslow, J. Ladner, et al. (2019). "Immunological and Neurometabolite Changes Associated With Switch From Efavirenz to an Integrase Inhibitor." *J Acquir Immune Defic Syndr* **81**(5): 585-593.
- Atorrasagasti, C., A. Onorato, M. L. Gimeno, L. Andreone, M. Garcia, M. Malvicini, et al. (2019). "SPARC is required for the maintenance of glucose homeostasis and insulin secretion in mice." *Clin Sci (Lond)* **133**(2): 351-365.
- Auclair, M., P. Afonso, E. Capel, M. Caron-Debarle and J. Capeau (2014). "Impact of darunavir, atazanavir and lopinavir boosted with ritonavir on cultured human endothelial cells: beneficial effect of pravastatin." *Antivir Ther* **19**(8): 773-782.

- Auclair, M., A. C. Guenantin, S. Fellahi, M. Garcia and J. Capeau (2020). "HIV antiretroviral drugs, dolutegravir, maraviroc and ritonavir-boosted atazanavir use different pathways to affect inflammation, senescence and insulin sensitivity in human coronary endothelial cells." *PLoS One* **15**(1): e0226924.
- Baba, T. W., V. Liska, A. H. Khimani, N. B. Ray, P. J. Dailey, D. Penninck, et al. (1999). "Live attenuated, multiply deleted simian immunodeficiency virus causes AIDS in infant and adult macaques." *Nat Med* **5**(2): 194-203.
- Babaei, R., M. Schuster, I. Meln, S. Lerch, R. A. Ghandour, D. F. Pisani, et al. (2018). "Jak-TGFbeta cross-talk links transient adipose tissue inflammation to beige adipogenesis." *Sci Signal* **11**(527).
- Bacchetti, P., B. Gripshover, C. Grunfeld, S. Heymsfield, H. McCreathe, D. Osmond, et al. (2005). "Fat distribution in men with HIV infection." *J Acquir Immune Defic Syndr* **40**(2): 121-131.
- Baer, P. C., S. Kuci, M. Krause, Z. Kuci, S. Zielen, H. Geiger, et al. (2013). "Comprehensive phenotypic characterization of human adipose-derived stromal/stem cells and their subsets by a high throughput technology." *Stem Cells Dev* **22**(2): 330-339.
- Bagella, P., N. Squillace, E. Ricci, R. Gulminetti, G. V. De Socio, L. Taramasso, et al. (2019). "Lipid profile improvement in virologically suppressed HIV-1-infected patients switched to dolutegravir/abacavir/lamivudine: data from the SCOLTA project." *Infect Drug Resist* **12**: 1385-1391.
- Baglioli, S., G. Cantini, G. Poli, M. Francalanci, R. Squecco, A. Di Franco, et al. (2012). "Functional differences in visceral and subcutaneous fat pads originate from differences in the adipose stem cell." *PLoS One* **7**(5): e36569.
- Bakal, D. R., L. E. Coelho, P. M. Luz, J. L. Clark, R. B. De Boni, S. W. Cardoso, et al. (2018). "Obesity following ART initiation is common and influenced by both traditional and HIV-/ART-specific risk factors." *J Antimicrob Chemother*.
- Balasubramaniam, M., J. Pandhare and C. Dash (2018). "Are microRNAs Important Players in HIV-1 Infection? An Update." *Viruses* **10**(3).
- Balasubramanyam, A., H. Mersmann, F. Jahoor, T. M. Phillips, R. V. Sekhar, U. Schubert, et al. (2007). "Effects of transgenic expression of HIV-1 Vpr on lipid and energy metabolism in mice." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **292**(1): E40-48.
- Balasubramanyam, A., R. V. Sekhar, F. Jahoor, P. H. Jones and H. J. Pownall (2004). "Pathophysiology of dyslipidemia and increased cardiovascular risk in HIV lipodystrophy: a model of 'systemic steatosis'." *Curr Opin Lipidol* **15**(1): 59-67.
- Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, et al. (1983). "Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)." *Science* **220**(4599): 868-871.
- Bartelt, A. and J. Heeren (2014). "Adipose tissue browning and metabolic health." *Nat Rev Endocrinol* **10**(1): 24-36.
- Bartness, T. J. and C. K. Song (2007). "Thematic review series: adipocyte biology. Sympathetic and sensory innervation of white adipose tissue." *J Lipid Res* **48**(8): 1655-1672.
- Barzilai, N., J. P. Crandall, S. B. Kritchevsky and M. A. Espeland (2016). "Metformin as a Tool to Target Aging." *Cell Metab* **23**(6): 1060-1065.
- Bastard, J. P., M. Caron, H. Vidal, V. Jan, M. Auclair, C. Vigouroux, et al. (2002). "Association between altered expression of adipogenic factor SREBP1 in lipoatrophic adipose tissue from HIV-1-infected patients and abnormal adipocyte differentiation and insulin resistance." *Lancet* **359**(9311): 1026-1031.
- Bastard, J. P., C. Couffignal, S. Fellahi, J. M. Bard, F. Mentre, D. Salmon, et al. (2019). "Diabetes and dyslipidaemia are associated with oxidative stress independently of inflammation in long-term antiretroviral-treated HIV-infected patients." *Diabetes Metab* **45**(6): 573-581.
- Bastard, J. P., M. Maachi, J. T. Van Nhieu, C. Jardel, E. Bruckert, A. Grimaldi, et al. (2002). "Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro." *J Clin Endocrinol Metab* **87**(5): 2084-2089.
- Bazzoli, C., V. Jullien, C. Le Tiec, E. Rey, F. Mentre and A. M. Taburet (2010). "Intracellular Pharmacokinetics of Antiretroviral Drugs in HIV-Infected Patients, and their Correlation with Drug Action." *Clin Pharmacokinet* **49**(1): 17-45.
- Beane, O. S., V. C. Fonseca, L. L. Cooper, G. Koren and E. M. Darling (2014). "Impact of aging on the regenerative properties of bone marrow-, muscle-, and adipose-derived mesenchymal stem/stromal cells." *PLoS One* **9**(12): e115963.
- Beaupere, C., M. Garcia, J. Larghero, B. Feve, J. Capeau and C. Lagathu (2015). "The HIV proteins Tat and Nef promote human bone marrow mesenchymal stem cell senescence and alter osteoblastic differentiation." *Aging Cell* **14**(4): 534-546.
- Bell, N. M. and A. M. Lever (2013). "HIV Gag polyprotein: processing and early viral particle assembly." *Trends Microbiol* **21**(3): 136-144.
- Benavides, S. and M. C. Nahata (2004). "Pharmacologic therapy for HIV-associated lipodystrophy." *Ann Pharmacother* **38**(3): 448-457.
- Bennasser, Y., S. Y. Le, M. Benkirane and K. T. Jeang (2005). "Evidence that HIV-1 encodes an siRNA and a suppressor of RNA silencing." *Immunity* **22**(5): 607-619.
- Beraldo, R. A., G. C. Meliscki, B. R. Silva, A. M. Navarro, V. R. Bollela, A. Schmidt, et al. (2018). "Anthropometric measures of central adiposity are highly concordant with predictors of cardiovascular disease risk in HIV patients." *Am J Clin Nutr* **107**(6): 883-893.
- Bereziat, V., P. Cervera, C. Le Dour, M. C. Verpont, S. Dumont, M. C. Vantyghem, et al. (2011). "LMNA mutations induce a non-inflammatory fibrosis and a brown fat-like dystrophy of enlarged cervical adipose tissue." *Am J Pathol* **179**(5): 2443-2453.
- Berg, G., M. Barchuk and V. Miksztowicz (2019). "Behavior of Metalloproteinases in Adipose Tissue, Liver and Arterial Wall: An Update of Extracellular Matrix Remodeling." *Cells* **8**(2).
- Bergamaschi, A., A. David, E. Le Rouzic, S. Nisole, F. Barre-Sinoussi and G. Pancino (2009). "The CDK inhibitor p21Cip1/WAF1 is induced by Fc gamma R activation and restricts the replication of human immunodeficiency virus type 1 and related primate lentiviruses in human macrophages." *J Virol* **83**(23): 12253-12265.
- Bernard-Stoecklin, S., C. Gommet, A. B. Corneau, S. Guenounou, C. Torres, N. Dejucq-Rainsford, et al. (2013). "Semen CD4+ T cells and macrophages are productively infected at all stages of SIV infection in macaques." *PLoS Pathog* **9**(12): e1003810.
- Bestilny, L. J., M. J. Gill, C. H. Mody and K. T. Riabowol (2000). "Accelerated replicative senescence of the peripheral immune system induced by HIV infection." *AIDS* **14**(7): 771-780.
- Beura, L. K., S. Wijeyesinghe, E. A. Thompson, M. G. Macchietto, P. C. Rosato, M. J. Pierson, et al. (2018). "T Cells in Nonlymphoid Tissues Give Rise to Lymph-Node-Resident Memory T Cells." *Immunity* **48**(2): 327-338 e325.

- Bhagwat, P., I. Ofotokun, G. A. McComsey, T. T. Brown, C. Moser, C. A. Sugar, et al. (2017). "Changes in abdominal fat following antiretroviral therapy initiation in HIV-infected individuals correlate with waist circumference and self-reported changes." *Antivir Ther* **22**(7): 577-586.
- Bhagwat, P., I. Ofotokun, G. A. McComsey, T. T. Brown, C. Moser, C. A. Sugar, et al. (2018). "Changes in Waist Circumference in HIV-Infected Individuals Initiating a Raltegravir or Protease Inhibitor Regimen: Effects of Sex and Race." *Open Forum Infect Dis* **5**(11): ofy201.
- Bidault, G., M. Garcia, M. C. Vantyghem, P. H. Ducluzeau, R. Morichon, K. Thiagarajah, et al. (2013). "Lipodystrophy-linked LMNA p.R482W mutation induces clinical early atherosclerosis and in vitro endothelial dysfunction." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **33**(9): 2162-2171.
- Biran, A., L. Zada, P. Abou Karam, E. Vadai, L. Roitman, Y. Ovadya, et al. (2017). "Quantitative identification of senescent cells in aging and disease." *Aging Cell* **16**(4): 661-671.
- Blondot, M. L., L. Dragin, H. Lahouassa and F. Margottin-Goguet (2014). "How SLX4 cuts through the mystery of HIV-1 Vpr-mediated cell cycle arrest." *Retrovirology* **11**: 117.
- Boden, G. (2011). "Obesity, insulin resistance and free fatty acids." *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* **18**(2): 139-143.
- Bodis, K. and M. Roden (2018). "Energy metabolism of white adipose tissue and insulin resistance in humans." *Eur J Clin Invest* **48**(11): e13017.
- Bodnar, A. G., M. Ouellette, M. Frolkis, S. E. Holt, C. P. Chiu, G. B. Morin, et al. (1998). "Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells." *Science* **279**(5349): 349-352.
- Bonzon-Kulichenko, E., E. Molto, C. Pintado, A. Fernandez, C. Arribas, D. Schwudke, et al. (2018). "Changes in Visceral Adipose Tissue Plasma Membrane Lipid Composition in Old Rats Are Associated With Adipocyte Hypertrophy With Aging." *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **73**(9): 1139-1146.
- Boothby, M., K. C. McGee, J. W. Tomlinson, L. L. Gathercole, P. G. McTernan, F. Shojaee-Moradie, et al. (2009). "Adipocyte differentiation, mitochondrial gene expression and fat distribution: differences between zidovudine and tenofovir after 6 months." *Antivir Ther* **14**(8): 1089-1100.
- Bose, A., A. Guilherme, S. I. Robida, S. M. Nicoloro, Q. L. Zhou, Z. Y. Jiang, et al. (2002). "Glucose transporter recycling in response to insulin is facilitated by myosin Myo1c." *Nature* **420**(6917): 821-824.
- Bouhlel, M. A., B. Derudas, E. Rigamonti, R. Dievart, J. Brozek, S. Haulon, et al. (2007). "PPARgamma activation primes human monocytes into alternative M2 macrophages with anti-inflammatory properties." *Cell Metab* **6**(2): 137-143.
- Boulias, K., J. Lieberman and E. L. Greer (2016). "An Epigenetic Clock Measures Accelerated Aging in Treated HIV Infection." *Mol Cell* **62**(2): 153-155.
- Bouloumié, A., C. Sengenes, G. Portolan, J. Galitzky and M. Lafontan (2001). "Adipocyte produces matrix metalloproteinases 2 and 9: involvement in adipose differentiation." *Diabetes* **50**(9): 2080-2086.
- Bourgeois, C., J. Gorwood, A. Barraill-Tran, C. Lagathu, J. Capeau, D. Desjardins, et al. (2019). "Specific Biological Features of Adipose Tissue, and Their Impact on HIV Persistence." *Front Microbiol* **10**: 2837.
- Bourgi, K., C. A. Jenkins, P. F. Rebeiro, F. Palella, R. D. Moore, K. N. Altonoff, et al. (2020). "Weight gain among treatment-naïve persons with HIV starting integrase inhibitors compared to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors or protease inhibitors in a large observational cohort in the United States and Canada." *J Int AIDS Soc* **23**(4): e25484.
- Bourgi, K., P. F. Rebeiro, M. Turner, J. L. Castilho, T. Hulgan, S. P. Raffanti, et al. (2019). "Greater Weight Gain in Treatment Naïve Persons Starting Dolutegravir-Based Antiretroviral Therapy." *Clin Infect Dis*.
- Bourrin, P., B. A. Bunnell, L. Casteilla, M. Dominici, A. J. Katz, K. L. March, et al. (2013). "Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT)." *Cyotherapy* **15**(6): 641-648.
- Bourlier, V., C. Sengenes, A. Zakaroff-Girard, P. Decaunes, B. Wdziekonski, J. Galitzky, et al. (2012). "TGFbeta family members are key mediators in the induction of myofibroblast phenotype of human adipose tissue progenitor cells by macrophages." *PLoS One* **7**(2): e31274.
- Bourlier, V., A. Zakaroff-Girard, S. De Barros, C. Pizzacalla, V. D. de Saint Front, M. Lafontan, et al. (2005). "Protease inhibitor treatments reveal specific involvement of matrix metalloproteinase-9 in human adipocyte differentiation." *J Pharmacol Exp Ther* **312**(3): 1272-1279.
- Bourlier, V., A. Zakaroff-Girard, A. Miranville, S. De Barros, M. Maumus, C. Sengenes, et al. (2008). "Remodeling phenotype of human subcutaneous adipose tissue macrophages." *Circulation* **117**(6): 806-815.
- Bouvin-Pley, M., M. Morgand, A. Moreau, P. Jestin, C. Simonnet, L. Tran, et al. (2013). "Evidence for a continuous drift of the HIV-1 species towards higher resistance to neutralizing antibodies over the course of the epidemic." *PLoS Pathog* **9**(7): e1003477.
- Bouwman, J. J., F. L. Visseren, K. P. Bouter and R. J. Diepersloot (2008). "Infection-induced inflammatory response of adipocytes in vitro." *Int J Obes (Lond)* **32**(6): 892-901.
- Boya, P., A. L. Pauleau, D. Poncet, R. A. Gonzalez-Polo, N. Zamzami and G. Kroemer (2004). "Viral proteins targeting mitochondria: controlling cell death." *Biochim Biophys Acta* **1659**(2-3): 178-189.
- Bozzelli, P. L., T. Yin, V. Avdoshina, I. Moccetti, K. E. Conant and K. A. Maguire-Zeiss (2019). "HIV-1 Tat promotes astrocytic release of CCL2 through MMP/PAR-1 signaling." *Glia* **67**(9): 1719-1729.
- Brack, A. S., M. J. Conboy, S. Roy, M. Lee, C. J. Kuo, C. Keller, et al. (2007). "Increased Wnt signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis." *Science* **317**(5839): 807-810.
- Breining, P., J. B. Jensen, E. I. Sundelin, L. C. Gormsen, S. Jakobsen, M. Busk, et al. (2018). "Metformin targets brown adipose tissue in vivo and reduces oxygen consumption in vitro." *Diabetes Obes Metab* **20**(9): 2264-2273.
- Brenner, B. G. and J. G. Baril (2017). "Limiting cardiovascular events associated with HIV and antiretroviral therapy." *Aids* **31**(18): 2551-2553.
- Brestoff, J. R. and D. Artis (2015). "Immune regulation of metabolic homeostasis in health and disease." *Cell* **161**(1): 146-160.

- Brey, C. W., M. P. Nelder, T. Hailemariam, R. Gaugler and S. Hashmi (2009). "Kruppel-like family of transcription factors: an emerging new frontier in fat biology." *Int J Biol Sci* **5**(6): 622-636.
- Briggs, J. A., T. Wilk, R. Welker, H. G. Krausslich and S. D. Fuller (2003). "Structural organization of authentic, mature HIV-1 virions and cores." *EMBO J* **22**(7): 1707-1715.
- Briot, A., P. Decaunes, F. Volat, C. Belles, M. Coupage, S. Ledoux, et al. (2018). "Senescence Alters PPARgamma (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma)-Dependent Fatty Acid Handling in Human Adipose Tissue Microvascular Endothelial Cells and Favors Inflammation." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **38**(5): 1134-1146.
- Brown, T. T., S. R. Cole, X. Li, L. A. Kingsley, F. J. Palella, S. A. Riddler, et al. (2005). "Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study." *Arch Intern Med* **165**(10): 1179-1184.
- Brown, T. T., A. C. Ross, N. Storer, D. Labbato and G. A. McComsey (2011). "Bone turnover, osteoprotegerin/RANKL and inflammation with antiretroviral initiation: tenofovir versus non-tenofovir regimens." *Antivir Ther* **16**(7): 1063-1072.
- Bruun, J. M., A. S. Lihn, A. K. Madan, S. B. Pedersen, K. M. Schiott, J. N. Fain, et al. (2004). "Higher production of IL-8 in visceral vs. subcutaneous adipose tissue. Implication of nonadipose cells in adipose tissue." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **286**(1): E8-13.
- Bruun, J. M., A. S. Lihn, S. B. Pedersen and B. Richelsen (2005). "Monocyte chemoattractant protein-1 release is higher in visceral than subcutaneous human adipose tissue (AT): implication of macrophages resident in the AT." *J Clin Endocrinol Metab* **90**(4): 2282-2289.
- Bruun, J. M., S. B. Pedersen and B. Richelsen (2001). "Regulation of interleukin 8 production and gene expression in human adipose tissue in vitro." *J Clin Endocrinol Metab* **86**(3): 1267-1273.
- Bruun, J. M., C. Verdich, S. Toubro, A. Astrup and B. Richelsen (2003). "Association between measures of insulin sensitivity and circulating levels of interleukin-8, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha. Effect of weight loss in obese men." *Eur J Endocrinol* **148**(5): 535-542.
- Bryant, J. L., P. R. Guda, G. Asemu, R. Subedi, S. Ray, O. S. Khalid, et al. (2018). "Glomerular mitochondrial changes in HIV associated renal injury." *Exp Mol Pathol* **104**(3): 175-189.
- Buccigrossi, V., G. Laudiero, E. Nicastro, E. Miele, F. Esposito and A. Guarino (2011). "The HIV-1 transactivator factor (Tat) induces enterocyte apoptosis through a redox-mediated mechanism." *PLoS One* **6**(12): e29436.
- Calmy, A., M. Bloch, H. Wand, C. Delhumeau, R. Finlayson, M. Rafferty, et al. (2010). "No significant effect of uridine or pravastatin treatment for HIV lipoatrophy in men who have ceased thymidine analogue nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy: a randomized trial." *HIV Med* **11**(8): 493-501.
- Calmy, A., T. Tovar Sanchez, C. Kouanfack, M. Mpoudi-Etame, S. Leroy, S. Perrineau, et al. (2020). "Dolutegravir-based and low-dose efavirenz-based regimen for the initial treatment of HIV-1 infection (NAMSAL): week 96 results from a two-group, multicentre, randomised, open label, phase 3 non-inferiority trial in Cameroon." *Lancet HIV* **7**(10): e677-e687.
- Calza, L., V. Colangeli, M. Borderi, S. Coladonato, B. Tazza, I. Bon, et al. (2019). "Improvement in insulin sensitivity and serum leptin concentration after the switch from a ritonavir-boosted PI to raltegravir or dolutegravir in non-diabetic HIV-infected patients." *J Antimicrob Chemother* **74**(3): 731-738.
- Camell, C. D., J. Sander, O. Spadaro, A. Lee, K. Y. Nguyen, A. Wing, et al. (2017). "Inflammasome-driven catecholamine catabolism in macrophages blunts lipolysis during ageing." *Nature* **550**(7674): 119-123.
- Cammalleri, C. and R. J. Germinario (2003). "The effects of protease inhibitors on basal and insulin-stimulated lipid metabolism, insulin binding, and signaling." *J Lipid Res* **44**(1): 103-108.
- Campbell, G. R., P. Rawat, R. S. Bruckman and S. A. Spector (2015). "Human Immunodeficiency Virus Type 1 Nef Inhibits Autophagy through Transcription Factor EB Sequestration." *PLoS Pathog* **11**(6): e1005018.
- Campestrini, J., D. B. Silveira and A. R. Pinto (2018). "HIV-1 Tat-induced bystander apoptosis in Jurkat cells involves unfolded protein responses." *Cell Biochem Funct* **36**(7): 377-386.
- Campisi, J., P. Kapahi, G. J. Lithgow, S. Melov, J. C. Newman and E. Verdin (2019). "From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing." *Nature* **571**(7764): 183-192.
- Cancello, R., J. Tordjman, C. Poitou, G. Guilhem, J. L. Bouillot, D. Hugol, et al. (2006). "Increased infiltration of macrophages in omental adipose tissue is associated with marked hepatic lesions in morbid human obesity." *Diabetes* **55**(6): 1554-1561.
- Cao, Y. (2007). "Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity." *J Clin Invest* **117**(9): 2362-2368.
- Capeau, J. (2003). "[Insulin signaling: mechanisms altered in insulin resistance]." *Med Sci (Paris)* **19**(8-9): 834-839.
- Capel, E., M. Auclair, M. Caron-Debarle and J. Capeau (2012). "Effects of ritonavir-boosted darunavir, atazanavir and lopinavir on adipose functions and insulin sensitivity in murine and human adipocytes." *Antivir Ther* **17**(3): 549-556.
- Capel, E., C. Vatier, P. Cervera, T. Stojkovic, E. Disse, A. S. Cottereau, et al. (2018). "MFN2-associated lipomatosis: Clinical spectrum and impact on adipose tissue." *J Clin Lipidol* **12**(6): 1420-1435.
- Carmona-Gutierrez, D., A. L. Hughes, F. Madeo and C. Ruckenstein (2016). "The crucial impact of lysosomes in aging and longevity." *Ageing Res Rev* **32**: 2-12.
- Carrobbio, S., V. Pellegrinelli and A. Vidal-Puig (2017). "Adipose Tissue Function and Expandability as Determinants of Lipotoxicity and the Metabolic Syndrome." *Adv Exp Med Biol* **960**: 161-196.
- Caron, M., M. Auclair, B. Donadille, V. Bereziat, B. Guerci, M. Laville, et al. (2007). "Human lipodystrophies linked to mutations in A-type lamins and to HIV protease inhibitor therapy are both associated with prelamin A accumulation, oxidative stress and premature cellular senescence." *Cell Death Differ* **14**(10): 1759-1767.
- Caron, M., M. Auclair, A. Vissian, C. Vigouroux and J. Capeau (2008). "Contribution of mitochondrial dysfunction and oxidative stress to cellular premature senescence induced by antiretroviral thymidine analogues." *Antivir Ther* **13**(1): 27-38.
- Caron, M., C. Vigouroux, J. P. Bastard and J. Capeau (2007). "Adipocyte dysfunction in response to antiretroviral therapy: clinical, tissue and in-vitro studies." *Curr Opin HIV AIDS* **2**(4): 268-273.
- Caron-Debarle, M., C. Lagathu, F. Boccara, C. Vigouroux and J. Capeau (2010). "HIV-associated lipodystrophy: from fat injury to premature aging." *Trends Mol Med* **16**(5): 218-229.
- Carr, A., M. Law and H. I. V. L. C. D. S. Group (2003). "An objective lipodystrophy severity grading scale derived from the lipodystrophy case definition score." *J Acquir Immune Defic Syndr* **33**(5): 571-576.

- Caserta, F., T. Tchkonia, V. N. Civelek, M. Prentki, N. F. Brown, J. D. McGarry, et al. (2001). "Fat depot origin affects fatty acid handling in cultured rat and human preadipocytes." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **280**(2): E238-247.
- Casey Klockow, L., H. J. Sharifi, X. Wen, M. Flagg, A. K. Furuya, M. Nekorchuk, et al. (2013). "The HIV-1 protein Vpr targets the endoribonuclease Dicer for proteasomal degradation to boost macrophage infection." *Virology* **444**(1-2): 191-202.
- Caslin, H. L., M. Bhanot, W. R. Bolus and A. H. Hasty (2020). "Adipose tissue macrophages: Unique polarization and bioenergetics in obesity." *Immunol Rev* **295**(1): 101-113.
- Caso, G., M. A. McNurlan, I. Mileva, A. Zemlyak, D. C. Mynarcik and M. C. Gelato (2013). "Peripheral fat loss and decline in adipogenesis in older humans." *Metabolism* **62**(3): 337-340.
- Caso, G., I. Mileva, M. A. McNurlan, D. C. Mynarcik, F. Darras and M. C. Gelato (2010). "Effect of ritonavir and atazanavir on human subcutaneous preadipocyte proliferation and differentiation." *Antiviral Res* **86**(2): 137-143.
- Catalan, V., J. Gomez-Ambrosi, A. Rodriguez and G. Fruhbeck (2012). "Role of extracellular matrix remodelling in adipose tissue pathophysiology: relevance in the development of obesity." *Histol Histopathol* **27**(12): 1515-1528.
- Cau, P., C. Navarro, K. Harhouri, P. Roll, S. Sigaudy, E. Kaspi, et al. (2014). "Nuclear matrix, nuclear envelope and premature aging syndromes in a translational research perspective." *Semin Cell Dev Biol* **29**: 125-147.
- Cawthorn, W. P., E. L. Scheller and O. A. MacDougald (2012). "Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: going back to the future." *J Lipid Res* **53**(2): 227-246.
- Cerboni, C., F. Neri, N. Casartelli, A. Zingoni, D. Cosman, P. Rossi, et al. (2007). "Human immunodeficiency virus 1 Nef protein downmodulates the ligands of the activating receptor NKG2D and inhibits natural killer cell-mediated cytotoxicity." *J Gen Virol* **88**(Pt 1): 242-250.
- Cereijo, R., J. M. Gallego-Escuredo, R. Moure, J. Villarroya, J. C. Domingo, J. Fontdevila, et al. (2015). "The Molecular Signature of HIV-1-Associated Lipomatosis Reveals Differential Involvement of Brown and Beige/Brite Adipocyte Cell Lineages." *PLoS One* **10**(8): e0136571.
- Chang, Y., W. L. Lau, H. Jo, K. Tsujino, L. Gewin, N. I. Reed, et al. (2017). "Pharmacologic Blockade of alphavbeta1 Integrin Ameliorates Renal Failure and Fibrosis In Vivo." *J Am Soc Nephrol* **28**(7): 1998-2005.
- Chaurasia, B. and S. A. Summers (2015). "Ceramides - Lipotoxic Inducers of Metabolic Disorders." *Trends Endocrinol Metab* **26**(10): 538-550.
- Chawla, A., K. D. Nguyen and Y. P. Goh (2011). "Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease." *Nat Rev Immunol* **11**(11): 738-749.
- Chelvanambi, S., N. V. Bogatcheva, M. Bednorz, S. Agarwal, B. Maier, N. J. Alves, et al. (2019). "HIV-Nef Protein Persists in the Lungs of Aviremic Patients with HIV and Induces Endothelial Cell Death." *Am J Respir Cell Mol Biol* **60**(3): 357-366.
- Chen, H., O. Charlat, L. A. Tartaglia, E. A. Woolf, X. Weng, S. J. Ellis, et al. (1996). "Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice." *Cell* **84**(3): 491-495.
- Chen, M., C. L. Hung, C. H. Yun, A. R. Webel and C. T. Longenecker (2019). "Sex Differences in the Association of Fat and Inflammation Among People with Treated HIV Infection." *Pathog Immun* **4**(1): 163-179.
- Chen, Y., K. Ohmori, M. Mizukawa, J. Yoshida, Y. Zeng, L. Zhang, et al. (2007). "Differential impact of atorvastatin vs pravastatin on progressive insulin resistance and left ventricular diastolic dysfunction in a rat model of type II diabetes." *Circ J* **71**(1): 144-152.
- Chen, Y., F. Ono, T. Yoshida and Y. Yoshikawa (2002). "Relationship between body weight and hematological and serum biochemical parameters in female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*)."*Exp Anim* **51**(2): 125-131.
- Chen, Y. F. and T. R. Dugas (2019). "Endothelial mitochondrial senescence accelerates cardiovascular disease in antiretroviral-receiving HIV patients." *Toxicol Lett* **317**: 13-23.
- Cheung, J. Y., J. Gordon, J. Wang, J. Song, X. Q. Zhang, F. J. Prado, et al. (2019). "Mitochondrial dysfunction in human immunodeficiency virus-1 transgenic mouse cardiac myocytes." *J Cell Physiol* **234**(4): 4432-4444.
- Chivero, E. T., M. L. Guo, P. Periyasamy, K. Liao, S. E. Callen and S. Buch (2017). "HIV-1 Tat Primes and Activates Microglial NLRP3 Inflammasome-Mediated Neuroinflammation." *J Neurosci* **37**(13): 3599-3609.
- Cho, K. W., B. F. Zamarron, L. A. Muir, K. Singer, C. E. Porsche, J. B. DelProposto, et al. (2016). "Adipose Tissue Dendritic Cells Are Independent Contributors to Obesity-Induced Inflammation and Insulin Resistance." *J Immunol* **197**(9): 3650-3661.
- Cho, Y. E., M. H. Lee and B. J. Song (2017). "Neuronal Cell Death and Degeneration through Increased Nitroxidative Stress and Tau Phosphorylation in HIV-1 Transgenic Rats." *PLoS One* **12**(1): e0169945.
- Choi, I., Y. Park, H. Choi and E. H. Lee (2006). "Anti-adipogenic activity of rutin in 3T3-L1 cells and mice fed with high-fat diet." *Biofactors* **26**(4): 273-281.
- Chomont, N., M. El-Far, P. Ancuta, L. Trautmann, F. A. Procopio, B. Yassine-Diab, et al. (2009). "HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation." *Nat Med* **15**(8): 893-900.
- Chompre, G., N. Martinez-Orengo, M. Cruz, J. T. Porter and R. J. Noel, Jr. (2019). "TGFbetaRI antagonist inhibits HIV-1 Nef-induced CC chemokine family ligand 2 (CCL2) in the brain and prevents spatial learning impairment." *J Neuroinflammation* **16**(1): 262.
- Chondrogianni, N., F. L. Stratford, I. P. Trougakos, B. Friguet, A. J. Rivett and E. S. Gonos (2003). "Central role of the proteasome in senescence and survival of human fibroblasts: induction of a senescence-like phenotype upon its inhibition and resistance to stress upon its activation." *J Biol Chem* **278**(30): 28026-28037.
- Chondronikola, M., E. Volpi, E. Borsheim, C. Porter, P. Annamalai, S. Enerback, et al. (2014). "Brown adipose tissue improves whole-body glucose homeostasis and insulin sensitivity in humans." *Diabetes* **63**(12): 4089-4099.
- Choudhery, M. S., M. Badowski, A. Muise, J. Pierce and D. T. Harris (2014). "Donor age negatively impacts adipose tissue-derived mesenchymal stem cell expansion and differentiation." *J Transl Med* **12**: 8.
- Christen, T., Y. Sheikine, V. Z. Rocha, S. Hurwitz, A. B. Goldfine, M. Di Carli, et al. (2010). "Increased glucose uptake in visceral versus subcutaneous adipose tissue revealed by PET imaging." *JACC Cardiovasc Imaging* **3**(8): 843-851.
- Christiaens, V. and H. R. Lijnen (2006). "Role of the fibrinolytic and matrix metalloproteinase systems in development of adipose tissue." *Arch Physiol Biochem* **112**(4-5): 254-259.

- Christiaens, V. and H. R. Lijnen (2010). "Angiogenesis and development of adipose tissue." *Mol Cell Endocrinol* **318**(1-2): 2-9.
- Christodoulides, C., C. Lagathu, J. K. Sethi and A. Vidal-Puig (2009). "Adipogenesis and WNT signalling." *Trends Endocrinol Metab* **20**(1): 16-24.
- Chun, T. H., K. B. Hotary, F. Sabeh, A. R. Saltiel, E. D. Allen and S. J. Weiss (2006). "A pericellular collagenase directs the 3-dimensional development of white adipose tissue." *Cell* **125**(3): 577-591.
- Cihlar, T. and A. S. Ray (2010). "Nucleoside and nucleotide HIV reverse transcriptase inhibitors: 25 years after zidovudine." *Antiviral Res* **85**(1): 39-58.
- Cildir, G., S. C. Akincilar and V. Tergaonkar (2013). "Chronic adipose tissue inflammation: all immune cells on the stage." *Trends Mol Med* **19**(8): 487-500.
- Cinti, S., M. Cigolini, O. Bosello and P. Bjorntorp (1984). "A morphological study of the adipocyte precursor." *J Submicrosc Cytol* **16**(2): 243-251.
- Cinti, S., G. Mitchell, G. Barbatelli, I. Murano, E. Ceresi, E. Faloria, et al. (2005). "Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans." *J Lipid Res* **46**(11): 2347-2355.
- Cipolletta, D., M. Feuerer, A. Li, N. Kamei, J. Lee, S. E. Shoelson, et al. (2012). "PPAR-gamma is a major driver of the accumulation and phenotype of adipose tissue Treg cells." *Nature* **486**(7404): 549-553.
- Clark, E., B. Nava and M. Caputi (2017). "Tat is a multifunctional viral protein that modulates cellular gene expression and functions." *Oncotarget* **8**(16): 27569-27581.
- Cleary, M. P., J. A. Brasel and M. R. Greenwood (1979). "Developmental changes in thymidine kinase, DNA, and fat cellularity in Zucker rats." *Am J Physiol* **236**(5): E508-513.
- Coffinier, C., S. E. Hudon, E. A. Farber, S. Y. Chang, C. A. Hrycyna, S. G. Young, et al. (2007). "HIV protease inhibitors block the zinc metalloproteinase ZMPSTE24 and lead to an accumulation of prelamin A in cells." *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**(33): 13432-13437.
- Coley, W., R. Van Duyne, L. Carpio, I. Guendel, K. Kehn-Hall, S. Chevalier, et al. (2010). "Absence of DICER in monocytes and its regulation by HIV-1." *J Biol Chem* **285**(42): 31930-31943.
- Colige, A., F. Ruggiero, I. Vandenberghe, J. Dubail, F. Kesteloot, J. Van Beeumen, et al. (2005). "Domains and maturation processes that regulate the activity of ADAMTS-2, a metalloproteinase cleaving the aminopeptidase of fibrillar procollagens types I-III and V." *J Biol Chem* **280**(41): 34397-34408.
- Comandini, A., C. Naro, R. Adamo, A. N. Akbar, A. Lanna, E. Bonmassar, et al. (2013). "Molecular mechanisms involved in HIV-1-Tat mediated inhibition of telomerase activity in human CD4(+) T lymphocytes." *Mol Immunol* **54**(2): 181-192.
- Conboy, I. M. and T. A. Rando (2012). "Heterochronic parabiosis for the study of the effects of aging on stem cells and their niches." *Cell Cycle* **11**(12): 2260-2267.
- Contreras, N. A., K. M. Sitnik, I. Jeftic, C. P. Coplen, L. Cicin-Sain and J. Nikolich-Zugich (2019). "Life-long control of cytomegalovirus (CMV) by T resident memory cells in the adipose tissue results in inflammation and hyperglycemia." *PLoS Pathog* **15**(6): e1007890.
- Coppe, J. P., C. K. Patil, F. Rodier, Y. Sun, D. P. Munoz, J. Goldstein, et al. (2008). "Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor." *PLoS Biol* **6**(12): 2853-2868.
- Cotter, E. J., N. Chew, W. G. Powderly and P. P. Doran (2011). "HIV type 1 alters mesenchymal stem cell differentiation potential and cell phenotype ex vivo." *AIDS Res Hum Retroviruses* **27**(2): 187-199.
- Cousin, B., S. Cinti, M. Morroni, S. Raimbault, D. Ricquier, L. Penicaud, et al. (1992). "Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization." *J Cell Sci* **103** (Pt 4): 931-942.
- Couturier, J., N. Agarwal, P. N. Nehete, W. B. Baze, M. A. Barry, K. Jagannadha Sastry, et al. (2016). "Infectious SIV resides in adipose tissue and induces metabolic defects in chronically infected rhesus macaques." *Retrovirology* **13**: 30.
- Couturier, J. and D. E. Lewis (2018). "HIV Persistence in Adipose Tissue Reservoirs." *Curr HIV/AIDS Rep* **15**(1): 60-71.
- Couturier, J., J. W. Suliburk, J. M. Brown, D. J. Luke, N. Agarwal, X. Yu, et al. (2015). "Human adipose tissue as a reservoir for memory CD4+ T cells and HIV." *AIDS* **29**(6): 667-674.
- Couturier, J., L. C. Winchester, J. W. Suliburk, G. K. Wilkerson, A. T. Podany, N. Agarwal, et al. (2018). "Adipocytes impair efficacy of antiretroviral therapy." *Antiviral Res* **154**: 140-148.
- Craigie, R. and F. D. Bushman (2012). "HIV DNA integration." *Cold Spring Harb Perspect Med* **2**(7): a006890.
- Crespo, M. J. and J. Quidgle (2015). "Simvastatin, atorvastatin, and pravastatin equally improve the hemodynamic status of diabetic rats." *World J Diabetes* **6**(10): 1168-1178.
- Cruciani, M. and S. G. Parisi (2019). "Dolutegravir based antiretroviral therapy compared to other combined antiretroviral regimens for the treatment of HIV-infected naive patients: A systematic review and meta-analysis." *PLoS One* **14**(9): e0222229.
- Cui, H. L., M. Ditiatkovski, R. Kesani, Y. V. Bobryshev, Y. Liu, M. Geyer, et al. (2014). "HIV protein Nef causes dyslipidemia and formation of foam cells in mouse models of atherosclerosis." *FASEB J* **28**(7): 2828-2839.
- Cunningham, A. L., D. E. Dwyer and D. N. Dowton (1993). "Viral markers in HIV infection and AIDS." *J Acquir Immune Defic Syndr* (1988) **6 Suppl 1**: S32-35.
- Cypess, A. M., A. P. White, C. Vernoche, T. J. Schulz, R. Xue, C. A. Sass, et al. (2013). "Anatomical localization, gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat." *Nat Med* **19**(5): 635-639.
- da Silva Meirelles, L., P. C. Chagastelles and N. B. Nardi (2006). "Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues." *J Cell Sci* **119**(Pt 11): 2204-2213.
- Dai, D. F., Y. A. Chiao, D. J. Marcinek, H. H. Szeto and P. S. Rabinovitch (2014). "Mitochondrial oxidative stress in aging and healthspan." *Longev Healthspan* **3**: 6.
- Dalen, K. T., K. Schoonjans, S. M. Ulven, M. S. Weedon-Fekjaer, T. G. Bentzen, H. Koutnikova, et al. (2004). "Adipose tissue expression of the lipid droplet-associating proteins S3-12 and perilipin is controlled by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma." *Diabetes* **53**(5): 1243-1252.

- Dalvi, P., H. Sharma, M. Chinnappan, M. Sanderson, J. Allen, R. Zeng, et al. (2016). "Enhanced autophagy in pulmonary endothelial cells on exposure to HIV-Tat and morphine: Role in HIV-related pulmonary arterial hypertension." *Autophagy* **12**(12): 2420-2438.
- Dam, V., T. Sikder and S. Santosa (2016). "From neutrophils to macrophages: differences in regional adipose tissue depots." *Obes Rev* **17**(1): 1-17.
- Damouche, A., T. Lazure, V. Avettand-Fenoel, N. Huot, N. Dejucq-Rainsford, A. P. Satie, et al. (2015). "Adipose Tissue Is a Neglected Viral Reservoir and an Inflammatory Site during Chronic HIV and SIV Infection." *PLoS Pathog* **11**(9): e1005153.
- Damouche, A., G. Pourcher, V. Pourcher, S. Benoist, E. Busson, J. J. Lataillade, et al. (2017). "High proportion of PD-1-expressing CD4(+) T cells in adipose tissue constitutes an immunomodulatory microenvironment that may support HIV persistence." *Eur J Immunol* **47**(12): 2113-2123.
- Das, S., M. Shahmanesh, M. Stolinski, F. Shojaee-Moradie, W. Jefferson, N. C. Jackson, et al. (2006). "In treatment-naive and antiretroviral-treated subjects with HIV, reduced plasma adiponectin is associated with a reduced fractional clearance rate of VLDL, IDL and LDL apolipoprotein B-100." *Diabetologia* **49**(3): 538-542.
- De Clercq, E. (2016). "Tenofovir alafenamide (TAF) as the successor of tenofovir disoproxil fumarate (TDF)." *Biochem Pharmacol* **119**: 1-7.
- de Girolamo, L., S. Lopa, E. Arrigoni, M. F. Sartori, F. W. Baruffaldi Preis and A. T. Brini (2009). "Human adipose-derived stem cells isolated from young and elderly women: their differentiation potential and scaffold interaction during in vitro osteoblastic differentiation." *Cytotherapy* **11**(6): 793-803.
- De Pauw, A., S. Tejerina, M. Raes, J. Keijer and T. Arnould (2009). "Mitochondrial (dys)function in adipocyte (de)differentiation and systemic metabolic alterations." *Am J Pathol* **175**(3): 927-939.
- de Waal, R., K. Cohen and G. Maartens (2013). "Systematic review of antiretroviral-associated lipodystrophy: lipoatrophy, but not central fat gain, is an antiretroviral adverse drug reaction." *PLoS One* **8**(5): e63623.
- De Wit, S., C. A. Sabin, R. Weber, S. W. Worm, P. Reiss, C. Cazanave, et al. (2008). "Incidence and risk factors for new-onset diabetes in HIV-infected patients: the Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (D:A:D) study." *Diabetes Care* **31**(6): 1224-1229.
- Debaisieux, S., S. Lachambre, A. Gross, C. Mettling, S. Besteiro, H. Yezid, et al. (2015). "HIV-1 Tat inhibits phagocytosis by preventing the recruitment of Cdc42 to the phagocytic cup." *Nat Commun* **6**: 6211.
- Debaisieux, S., F. Rayne, H. Yezid and B. Beaumelle (2012). "The ins and outs of HIV-1 Tat." *Traffic* **13**(3): 355-363.
- Debroy, P., M. Sim, K. M. Erlanson, J. Falutz, C. M. Prado, T. T. Brown, et al. (2019). "Progressive increases in fat mass occur in adults living with HIV on antiretroviral therapy, but patterns differ by sex and anatomic depot." *J Antimicrob Chemother* **74**(4): 1028-1034.
- Decaudain, A., M. C. Vantyghem, B. Guerci, A. C. Hecart, M. Auclair, Y. Reznik, et al. (2007). "New metabolic phenotypes in laminopathies: LMNA mutations in patients with severe metabolic syndrome." *J Clin Endocrinol Metab* **92**(12): 4835-4844.
- Deeks, S. G. (2011). "HIV infection, inflammation, immunosenescence, and aging." *Annu Rev Med* **62**: 141-155.
- DeJesus, E., B. Haas, S. Segal-Maurer, M. N. Ramgopal, A. Mills, N. Margot, et al. (2018). "Superior Efficacy and Improved Renal and Bone Safety After Switching from a Tenofovir Disoproxil Fumarate- to a Tenofovir Alafenamide-Based Regimen Through 96 Weeks of Treatment." *AIDS Res Hum Retroviruses* **34**(4): 337-342.
- Del Corno, M., G. Donnelli, B. Varano, L. Da Sacco, A. Masotti and S. Gessani (2014). "HIV-1 gp120 activates the STAT3/interleukin-6 axis in primary human monocyte-derived dendritic cells." *J Virol* **88**(19): 11045-11055.
- Denton, P. W. and J. V. Garcia (2011). "Humanized mouse models of HIV infection." *AIDS Rev* **13**(3): 135-148.
- Desai, V. D., H. C. Hsia and J. E. Schwarzbauer (2014). "Reversible modulation of myofibroblast differentiation in adipose-derived mesenchymal stem cells." *PLoS One* **9**(1): e86865.
- Despres, J. P. and I. Lemieux (2006). "Abdominal obesity and metabolic syndrome." *Nature* **444**(7121): 881-887.
- Diamond, T. L., M. Roshal, V. K. Jamburuthugoda, H. M. Reynolds, A. R. Merriam, K. Y. Lee, et al. (2004). "Macrophage tropism of HIV-1 depends on efficient cellular dNTP utilization by reverse transcriptase." *J Biol Chem* **279**(49): 51545-51553.
- Diaz, A., L. Alos, A. Leon, A. Mozos, M. Caballero, A. Martinez, et al. (2010). "Factors associated with collagen deposition in lymphoid tissue in long-term treated HIV-infected patients." *AIDS* **24**(13): 2029-2039.
- Diaz-Delfin, J., M. del Mar Gutierrez, J. M. Gallego-Escuredo, J. C. Domingo, M. Gracia Mateo, F. Villarroya, et al. (2011). "Effects of nevirapine and efavirenz on human adipocyte differentiation, gene expression, and release of adipokines and cytokines." *Antiviral Res* **91**(2): 112-119.
- Diaz-Delfin, J., P. Domingo, M. Wabitsch, M. Giralt and F. Villarroya (2012). "HIV-1 Tat protein impairs adipogenesis and induces the expression and secretion of proinflammatory cytokines in human SGBS adipocytes." *Antivir Ther* **17**(3): 529-540.
- Dickens, A. M., S. W. Yoo, A. C. Chin, J. Xu, T. P. Johnson, A. L. Trout, et al. (2017). "Chronic low-level expression of HIV-1 Tat promotes a neurodegenerative phenotype with aging." *Sci Rep* **7**(1): 7748.
- Dickie, P. (2000). "Nef modulation of HIV type 1 gene expression and cytopathicity in tissues of HIV transgenic mice." *AIDS Res Hum Retroviruses* **16**(8): 777-790.
- Dickie, P., F. Ramsdell, A. L. Notkins and S. Venkatesan (1993). "Spontaneous and inducible epidermal hyperplasia in transgenic mice expressing HIV-1 Nef." *Virology* **197**(1): 431-438.
- Dif, N., V. Euthine, E. Gonnet, M. Laville, H. Vidal and E. Lefai (2006). "Insulin activates human sterol-regulatory-element-binding protein-1c (SREBP-1c) promoter through SRE motifs." *Biochem J* **400**(1): 179-188.
- Ding, Q., T. Mracek, P. Gonzalez-Muniesa, K. Kos, J. Wilding, P. Trayhurn, et al. (2009). "Identification of macrophage inhibitory cytokine-1 in adipose tissue and its secretion as an adipokine by human adipocytes." *Endocrinology* **150**(4): 1688-1696.
- Dinkins, C., J. Arko-Mensah and V. Deretic (2010). "Autophagy and HIV." *Semin Cell Dev Biol* **21**(7): 712-718.
- Dirajlal-Fargo, S., C. Moser, T. T. Brown, T. Kelesidis, M. P. Dube, J. H. Stein, et al. (2016). "Changes in Insulin Resistance After Initiation of Raltegravir or Protease Inhibitors With Tenofovir-Emtricitabine: AIDS Clinical Trials Group A5260s." *Open Forum Infect Dis* **3**(3): ofw174.
- Divoux, A. and K. Clement (2011). "Architecture and the extracellular matrix: the still unappreciated components of the adipose tissue." *Obes Rev* **12**(5): e494-503.

- Divoux, A., S. Moutel, C. Poitou, D. Lacasa, N. Veyrie, A. Aissat, et al. (2012). "Mast cells in human adipose tissue: link with morbid obesity, inflammatory status, and diabetes." *J Clin Endocrinol Metab* **97**(9): E1677-1685.
- Divoux, A., J. Tordjman, D. Lacasa, N. Veyrie, D. Hugol, A. Aissat, et al. (2010). "Fibrosis in human adipose tissue: composition, distribution, and link with lipid metabolism and fat mass loss." *Diabetes* **59**(11): 2817-2825.
- Divoux, A. M., H. Tordjman, H. Andreelli, F. Clément, K. (2012). "Adipose tissue fibrosis: The moving matrix." *Médecine des Maladies Métaboliques* **6**(3): 203-207.
- Domingo, P., V. Estrada, J. Lopez-Aldeguer, F. Villaroya and E. Martinez (2012). "Fat redistribution syndromes associated with HIV-1 infection and combination antiretroviral therapy." *AIDS Rev* **14**(2): 112-123.
- Domingo, P., M. Gutierrez Mdel, J. M. Gallego-Escuredo, F. Torres, G. M. Mateo, J. Villaroya, et al. (2014). "Effects of switching from stavudine to raltegravir on subcutaneous adipose tissue in HIV-infected patients with HIV/HAART-associated lipodystrophy syndrome (HALS). A clinical and molecular study." *PLoS One* **9**(2): e89088.
- Donnenberg, A. D., E. M. Meyer, J. P. Rubin and V. S. Donnenberg (2015). "The cell-surface proteome of cultured adipose stromal cells." *Cytometry A* **87**(7): 665-674.
- Donnini, G., M. Del Corno, M. Pierdominici, B. Scazzocchio, R. Vari, B. Varano, et al. (2017). "Distinct Blood and Visceral Adipose Tissue Regulatory T Cell and Innate Lymphocyte Profiles Characterize Obesity and Colorectal Cancer." *Front Immunol* **8**: 643.
- Dowell, P., C. Flexner, P. O. Kwiterovich and M. D. Lane (2000). "Suppression of preadipocyte differentiation and promotion of adipocyte death by HIV protease inhibitors." *J Biol Chem* **275**(52): 41325-41332.
- Driscoll, S. D., G. E. Meininger, M. T. Lareau, S. E. Dolan, K. M. Killilea, C. M. Hadigan, et al. (2004). "Effects of exercise training and metformin on body composition and cardiovascular indices in HIV-infected patients." *AIDS* **18**(3): 465-473.
- Drolet, R., C. Richard, A. D. Sniderman, J. Mailloux, M. Fortier, C. Huot, et al. (2008). "Hypertrophy and hyperplasia of abdominal adipose tissues in women." *Int J Obes (Lond)* **32**(2): 283-291.
- Dube, M. P., L. Komarow, K. Mulligan, S. K. Grinspoon, R. A. Parker, G. K. Robbins, et al. (2007). "Long-term body fat outcomes in antiretroviral-naïve participants randomized to nelfinavir or efavirenz or both plus dual nucleosides. Dual X-ray absorptiometry results from A5005s, a substudy of Adult Clinical Trials Group 384." *J Acquir Immune Defic Syndr* **45**(5): 508-514.
- Duffaut, C., A. Zakaroff-Girard, V. Bourlier, P. Decaunes, M. Maumus, P. Chiotasso, et al. (2009). "Interplay between human adipocytes and T lymphocytes in obesity: CCL20 as an adipochemokine and T lymphocytes as lipogenic modulators." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **29**(10): 1608-1614.
- Dupin, N., M. Buffet, A. G. Marcellin, C. Lamotte, I. Gorin, Z. Ait-Arkoub, et al. (2002). "HIV and antiretroviral drug distribution in plasma and fat tissue of HIV-infected patients with lipodystrophy." *AIDS* **16**(18): 2419-2424.
- Echebli, N., N. Tchitchek, S. Dupuy, T. Bruel, C. Peireira Bittencourt Passaes, N. Bosquet, et al. (2018). "Stage-specific IFN-induced and IFN gene expression reveal convergence of type I and type II IFN and highlight their role in both acute and chronic stage of pathogenic SIV infection." *PLoS One* **13**(1): e0190334.
- Effros, R. B. (2011). "Telomere/telomerase dynamics within the human immune system: effect of chronic infection and stress." *Exp Gerontol* **46**(2-3): 135-140.
- Effros, R. B., C. V. Fletcher, K. Gebo, J. B. Halter, W. R. Hazzard, F. M. Horne, et al. (2008). "Aging and infectious diseases: workshop on HIV infection and aging: what is known and future research directions." *Clin Infect Dis* **47**(4): 542-553.
- El Hadri, K., M. Glorian, C. Monsempes, M. N. Dieudonne, R. Pecquery, Y. Giudicelli, et al. (2004). "In vitro suppression of the lipogenic pathway by the nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz in 3T3 and human preadipocytes or adipocytes." *J Biol Chem* **279**(15): 15130-15141.
- Elgazar-Carmon, V., A. Rudich, N. Hadad and R. Levy (2008). "Neutrophils transiently infiltrate intra-abdominal fat early in the course of high-fat feeding." *J Lipid Res* **49**(9): 1894-1903.
- Engela, A. U., M. J. Hoogduijn, K. Boer, N. H. Litjens, M. G. Betjes, W. Weimar, et al. (2013). "Human adipose-tissue derived mesenchymal stem cells induce functional de-novo regulatory T cells with methylated FOXP3 gene DNA." *Clin Exp Immunol* **173**(2): 343-354.
- Erickson, G. R., J. M. Gimble, D. M. Franklin, H. E. Rice, H. Awad and F. Guilak (2002). "Chondrogenic potential of adipose tissue-derived stromal cells in vitro and in vivo." *Biochem Biophys Res Commun* **290**(2): 763-769.
- Erlandson, K. M., S. Fiorillo, F. Masawi, A. Scherzinger, G. A. McComsey, J. E. Lake, et al. (2017). "Antiretroviral initiation is associated with increased skeletal muscle area and fat content." *Aids* **31**(13): 1831-1838.
- Erlandson, K. M., L. Zhang, J. E. Lake, J. Schrack, K. Althoff, A. Sharma, et al. (2016). "Changes in weight and weight distribution across the lifespan among HIV-infected and -uninfected men and women." *Medicine (Baltimore)* **95**(46): e5399.
- Eyer-Silva, W. A., G. A. Rosa da Silva and J. F. da Cunha Pinto (2019). "Acute myocarditis after switch to dolutegravir: a reminder of potential toxicity of integrase inhibitor-including HAART." *AIDS* **33**(13): 2105-2107.
- Fabbri, E., M. Zoli, M. Gonzalez-Freire, M. E. Salive, S. A. Studenski and L. Ferrucci (2015). "Aging and Multimorbidity: New Tasks, Priorities, and Frontiers for Integrated Gerontological and Clinical Research." *J Am Med Dir Assoc* **16**(8): 640-647.
- Fain, J. N., D. S. Tichansky and A. K. Madan (2005). "Transforming growth factor beta1 release by human adipose tissue is enhanced in obesity." *Metabolism* **54**(11): 1546-1551.
- Fan, X., F. H. Zhang, R. I. Al-Safi, L. F. Zeng, Y. Shabaik, B. Debnath, et al. (2011). "Design of HIV-1 integrase inhibitors targeting the catalytic domain as well as its interaction with LEDGF/p75: a scaffold hopping approach using salicylate and catechol groups." *Bioorg Med Chem* **19**(16): 4935-4952.
- Fang, F., E. H. Bae, A. Hu, G. C. Liu, X. Zhou, V. Williams, et al. (2015). "Deletion of the gene for adiponectin accelerates diabetic nephropathy in the Ins2 (+/C96Y) mouse." *Diabetologia* **58**(7): 1668-1678.
- Fang, F., L. Liu, Y. Yang, Z. Tamaki, J. Wei, R. G. Marangoni, et al. (2012). "The adipokine adiponectin has potent anti-fibrotic effects mediated via adenosine monophosphate-activated protein kinase: novel target for fibrosis therapy." *Arthritis Res Ther* **14**(5): R229.
- Farahzadi, R., E. Fathi, S. A. Mesbah-Namin and N. Zarghami (2018). "Anti-aging protective effect of L-carnitine as clinical agent in regenerative medicine through increasing telomerase activity and change in the hTERT promoter CpG island methylation status of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells." *Tissue Cell* **54**: 105-113.

- Faria, N. R., A. Rambaut, M. A. Suchard, G. Baele, T. Bedford, M. J. Ward, et al. (2014). "HIV epidemiology. The early spread and epidemic ignition of HIV-1 in human populations." *Science* **346**(6205): 56-61.
- Fauci, A. S. (2003). "HIV and AIDS: 20 years of science." *Nat Med* **9**(7): 839-843.
- Fauci, A. S., G. Pantaleo, S. Stanley and D. Weissman (1996). "Immunopathogenic mechanisms of HIV infection." *Ann Intern Med* **124**(7): 654-663.
- Faust, I. M., P. R. Johnson, J. S. Stern and J. Hirsch (1978). "Diet-induced adipocyte number increase in adult rats: a new model of obesity." *Am J Physiol* **235**(3): E279-286.
- Feng, Y., T. T. Baig, R. P. Love and L. Chelico (2014). "Suppression of APOBEC3-mediated restriction of HIV-1 by Vif." *Front Microbiol* **5**: 450.
- Ferdin, J., K. Goricar, V. Dolzan, A. Plemenitas, J. N. Martin, B. M. Peterlin, et al. (2018). "Viral protein Nef is detected in plasma of half of HIV-infected adults with undetectable plasma HIV RNA." *PLoS One* **13**(1): e0191613.
- Ferrara, D., F. Montecucco, F. Dallegrì and F. Carbone (2019). "Impact of different ectopic fat depots on cardiovascular and metabolic diseases." *J Cell Physiol* **234**(12): 21630-21641.
- Feuerer, M., L. Herrero, D. Cipolletta, A. Naaz, J. Wong, A. Nayer, et al. (2009). "Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters." *Nat Med* **15**(8): 930-939.
- Fiala, M., W. Popik, J. H. Qiao, A. S. Lossinsky, T. Alce, K. Tran, et al. (2004). "HIV-1 induces cardiomyopathy by cardiomyocyte invasion and gp120, Tat, and cytokine apoptotic signaling." *Cardiovasc Toxicol* **4**(2): 97-107.
- Fiume, G., E. Vecchio, A. De Laurentiis, F. Trimboli, C. Palmieri, A. Pisano, et al. (2012). "Human immunodeficiency virus-1 Tat activates NF-kappaB via physical interaction with IkappaB-alpha and p65." *Nucleic Acids Res* **40**(8): 3548-3562.
- Fliers, E., H. P. Sauerwein, J. A. Romijn, P. Reiss, M. van der Valk, A. Kalsbeek, et al. (2003). "HIV-associated adipose redistribution syndrome as a selective autonomic neuropathy." *Lancet* **362**(9397): 1758-1760.
- Flores, S. C., J. C. Marecki, K. P. Harper, S. K. Bose, S. K. Nelson and J. M. McCord (1993). "Tat protein of human immunodeficiency virus type 1 represses expression of manganese superoxide dismutase in HeLa cells." *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**(16): 7632-7636.
- Focosi, D., M. Bestagno, O. Burrone and M. Petrini (2010). "CD57+ T lymphocytes and functional immune deficiency." *J Leukoc Biol* **87**(1): 107-116.
- Fong, P. S., D. M. Flynn, C. D. Evans and P. T. Korthuis (2017). "Integrase strand transfer inhibitor-associated diabetes mellitus: A case report." *Int J STD AIDS* **28**(6): 626-628.
- Foody, J. M., R. Shah, D. Galusha, F. A. Masoudi, E. P. Havranek and H. M. Krumholz (2006). "Statins and mortality among elderly patients hospitalized with heart failure." *Circulation* **113**(8): 1086-1092.
- Fourman, L. T., M. T. Lu, H. Lee, K. V. Fitch, T. R. Hallett, J. Park, et al. (2017). "Differential relationships of hepatic and epicardial fat to body composition in HIV." *Physiol Rep* **5**(19).
- Franceschi, C. and J. Campisi (2014). "Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases." *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **69 Suppl 1**: S4-9.
- Frazier, T. P., A. Bowles, S. Lee, R. Abbott, H. A. Tucker, D. Kaplan, et al. (2016). "Serially Transplanted Nonpericytic CD146(-) Adipose Stromal/Stem Cells in Silk Bioscaffolds Regenerate Adipose Tissue In Vivo." *Stem Cells* **34**(4): 1097-1111.
- Frazier, T. P., J. B. McLachlan, J. M. Gimble, H. A. Tucker and B. G. Rowan (2014). "Human adipose-derived stromal/stem cells induce functional CD4+CD25+FoxP3+CD127- regulatory T cells under low oxygen culture conditions." *Stem Cells Dev* **23**(9): 968-977.
- Freed, E. O. (2015). "HIV-1 assembly, release and maturation." *Nat Rev Microbiol* **13**(8): 484-496.
- Fried, S. K., D. A. Bunkin and A. S. Greenberg (1998). "Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid." *J Clin Endocrinol Metab* **83**(3): 847-850.
- Fried, S. K., C. D. Russell, N. L. Grauso and R. E. Brolin (1993). "Lipoprotein lipase regulation by insulin and glucocorticoid in subcutaneous and omental adipose tissues of obese women and men." *J Clin Invest* **92**(5): 2191-2198.
- Friedman, J. M. and J. L. Halaas (1998). "Leptin and the regulation of body weight in mammals." *Nature* **395**(6704): 763-770.
- Frontini, A., A. Vitali, J. Perugini, I. Murano, C. Romiti, D. Ricquier, et al. (2013). "White-to-brown transdifferentiation of omental adipocytes in patients affected by pheochromocytoma." *Biochim Biophys Acta* **1831**(5): 950-959.
- Fujinaga, K., Q. Zhong, T. Nakaya, M. Kameoka, T. Meguro, K. Yamada, et al. (1995). "Extracellular Nef protein regulates productive HIV-1 infection from latency." *J Immunol* **155**(11): 5289-5298.
- Fujishiro, M., Y. Gotoh, H. Katagiri, H. Sakoda, T. Ogihara, M. Anai, et al. (2003). "Three mitogen-activated protein kinases inhibit insulin signaling by different mechanisms in 3T3-L1 adipocytes." *Mol Endocrinol* **17**(3): 487-497.
- Furukawa, S., T. Fujita, M. Shimabukuro, M. Iwaki, Y. Yamada, Y. Nakajima, et al. (2004). "Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome." *J Clin Invest* **114**(12): 1752-1761.
- Gaetke, L. M. and C. K. Chow (2003). "Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients." *Toxicology* **189**(1-2): 147-163.
- Gallego-Escuredo, J. M., M. Del Mar Gutierrez, J. Diaz-Delfin, J. C. Domingo, M. G. Mateo, P. Domingo, et al. (2010). "Differential effects of efavirenz and lopinavir/ritonavir on human adipocyte differentiation, gene expression and release of adipokines and pro-inflammatory cytokines." *Curr HIV Res* **8**(7): 545-553.
- Gallego-Escuredo, J. M., J. Villarroya, P. Domingo, E. M. Targarona, M. Alegre, J. C. Domingo, et al. (2013). "Differentially altered molecular signature of visceral adipose tissue in HIV-1-associated lipodystrophy." *J Acquir Immune Defic Syndr* **64**(2): 142-148.
- Gao, H., F. Volat, L. Sandhow, J. Galitzky, T. Nguyen, D. Esteve, et al. (2017). "CD36 Is a Marker of Human Adipocyte Progenitors with Pronounced Adipogenic and Triglyceride Accumulation Potential." *Stem Cells* **35**(7): 1799-1814.
- Gao, Z., A. C. Daquinag, F. Su, B. Snyder and M. G. Kolonin (2018). "PDGFRalpha/PDGFRbeta signaling balance modulates progenitor cell differentiation into white and beige adipocytes." *Development* **145**(1).
- Gao, Z., X. Zhang, A. Zuberi, D. Hwang, M. J. Quon, M. Lefevre, et al. (2004). "Inhibition of insulin sensitivity by free fatty acids requires activation of multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes." *Mol Endocrinol* **18**(8): 2024-2034.
- Garcia, J. V. and A. D. Miller (1992). "Downregulation of cell surface CD4 by nef." *Res Virol* **143**(1): 52-55.

- Garg, H. and A. Joshi (2017). "Host and Viral Factors in HIV-Mediated Bystander Apoptosis." *Viruses* **9**(8).
- Garrabou, G., S. Lopez, C. Moren, E. Martinez, J. Fontdevila, F. Cardellach, et al. (2011). "Mitochondrial damage in adipose tissue of untreated HIV-infected patients." *AIDS* **25**(2): 165-170.
- Gatell, J. M., L. Assoumou, G. Moyle, L. Waters, M. Johnson, P. Domingo, et al. (2017). "Switching from a ritonavir-boosted protease inhibitor to a dolutegravir-based regimen for maintenance of HIV viral suppression in patients with high cardiovascular risk." *AIDS* **31**(18): 2503-2514.
- Gatell, J. M., L. Assoumou, G. Moyle, L. Waters, M. Johnson, P. Domingo, et al. (2019). "Immediate Versus Deferred Switching From a Boosted Protease Inhibitor-based Regimen to a Dolutegravir-based Regimen in Virologically Suppressed Patients With High Cardiovascular Risk or Age >=50 Years: Final 96-Week Results of the NEAT022 Study." *Clin Infect Dis* **68**(4): 597-606.
- Geer, E. B. and W. Shen (2009). "Gender differences in insulin resistance, body composition, and energy balance." *Gend Med* **6 Suppl 1**: 60-75.
- Gelpi, M., S. Afzal, A. Fuchs, J. Lundgren, A. D. Knudsen, N. Drivsholm, et al. (2019). "Prior exposure to thymidine analogs and didanosine is associated with long-lasting alterations in adipose tissue distribution and cardiovascular risk factors." *AIDS* **33**(4): 675-683.
- Gelpi, M., S. Afzal, J. Lundgren, A. Ronit, A. Roen, A. Mocroft, et al. (2018). "Higher Risk of Abdominal Obesity, Elevated Low-Density Lipoprotein Cholesterol, and Hypertriglyceridemia, but not of Hypertension, in People Living With Human Immunodeficiency Virus (HIV): Results From the Copenhagen Comorbidity in HIV Infection Study." *Clin Infect Dis* **67**(4): 579-586.
- Gheblawi, M., K. Wang, A. Viveiros, Q. Nguyen, J. C. Zhong, A. J. Turner, et al. (2020). "Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2." *Circ Res* **126**(10): 1456-1474.
- Gianni, P., K. J. Jan, M. J. Douglas, P. M. Stuart and M. A. Tarnopolsky (2004). "Oxidative stress and the mitochondrial theory of aging in human skeletal muscle." *Exp Gerontol* **39**(9): 1391-1400.
- Gibellini, D., F. Alviano, A. Misericocchi, P. L. Tazzari, F. Ricci, A. Clo, et al. (2011). "HIV-1 and recombinant gp120 affect the survival and differentiation of human vessel wall-derived mesenchymal stem cells." *Retrovirology* **8**: 40.
- Gil, L., G. Martinez, I. Gonzalez, A. Tarinas, A. Alvarez, A. Giuliani, et al. (2003). "Contribution to characterization of oxidative stress in HIV/AIDS patients." *Pharmacol Res* **47**(3): 217-224.
- Gimbrone, M. A., Jr. and G. Garcia-Cardena (2016). "Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis." *Circ Res* **118**(4): 620-636.
- Giralt, M., P. Domingo, J. P. Guallar, M. L. Rodriguez de la Concepcion, M. Alegre, J. C. Domingo, et al. (2006). "HIV-1 infection alters gene expression in adipose tissue, which contributes to HIV-1/HAART-associated lipodystrophy." *Antivir Ther* **11**(6): 729-740.
- Giralt, M., P. Domingo and F. Villarroya (2011). "Adipose tissue biology and HIV-infection." *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **25**(3): 487-499.
- Goh, W. C., N. Manel and M. Emerman (2004). "The human immunodeficiency virus Vpr protein binds Cdc25C: implications for G2 arrest." *Virology* **318**(1): 337-349.
- Gomez, M., U. Seybold, J. Roider, G. Harter and J. R. Bogner (2019). "A retrospective analysis of weight changes in HIV-positive patients switching from a tenofovir disoproxil fumarate (TDF)- to a tenofovir alafenamide fumarate (TAF)-containing treatment regimen in one German university hospital in 2015-2017." *Infection* **47**(1): 95-102.
- Gonzalez-Serna, A., A. Ajaykumar, I. Gadawski, M. A. Munoz-Fernandez, K. Hayashi, P. R. Harrigan, et al. (2017). "Rapid Decrease in Peripheral Blood Mononucleated Cell Telomere Length After HIV Seroconversion, but Not HCV Seroconversion." *J Acquir Immune Defic Syndr* **76**(1): e29-e32.
- Gonzalez-Suarez, I., A. B. Redwood and S. Gonzalo (2009). "Loss of A-type lamins and genomic instability." *Cell Cycle* **8**(23): 3860-3865.
- Gorbunova, V. and A. Seluanov (2016). "DNA double strand break repair, aging and the chromatin connection." *Mutat Res* **788**: 2-6.
- Gordon, S. and P. R. Taylor (2005). "Monocyte and macrophage heterogeneity." *Nat Rev Immunol* **5**(12): 953-964.
- Gorry, P. R., M. Churchill, J. Learmont, C. Cherry, W. B. Dyer, S. L. Wesselingh, et al. (2007). "Replication-dependent pathogenicity of attenuated nef-deleted HIV-1 in vivo." *J Acquir Immune Defic Syndr* **46**(4): 390-394.
- Gougeon, M. L. (2003). "Apoptosis as an HIV strategy to escape immune attack." *Nat Rev Immunol* **3**(5): 392-404.
- Goujon, C., L. Riviere, L. Jarrosson-Wuilleme, J. Bernaud, D. Rigal, J. L. Darlix, et al. (2007). "SIVSM/HIV-2 Vpx proteins promote retroviral escape from a proteasome-dependent restriction pathway present in human dendritic cells." *Retrovirology* **4**: 2.
- Granneman, J. G., P. Li, Z. Zhu and Y. Lu (2005). "Metabolic and cellular plasticity in white adipose tissue I: effects of beta3-adrenergic receptor activation." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **289**(4): E608-616.
- Gray, S., M. W. Feinberg, S. Hull, C. T. Kuo, M. Watanabe, S. Sen-Banerjee, et al. (2002). "The Kruppel-like factor KLF15 regulates the insulin-sensitive glucose transporter GLUT4." *J Biol Chem* **277**(37): 34322-34328.
- Grewé, B. and K. Überla (2010). "The human immunodeficiency virus type 1 Rev protein: menage à trois during the early phase of the lentiviral replication cycle." *J Gen Virol* **91**(Pt 8): 1893-1897.
- Griesel, R. M., G. Sokhela, S. Akpomiemie, G. Venter, WD. Moorhouse, MA. Sinxadi, P. (2020). CYP2B6 GENOTYPE AND WEIGHT-GAIN DIFFERENCES BETWEEN DOLUTEGRAVIR AND EFAVIRENZ. *CROI 2020*. Boston USA.
- Grinspoon, S., C. Corcoran, K. Miller, B. M. Biller, H. Askari, E. Wang, et al. (1997). "Body composition and endocrine function in women with acquired immunodeficiency syndrome wasting." *J Clin Endocrinol Metab* **82**(5): 1332-1337.
- Gross, A. M., P. A. Jaeger, J. F. Kreisberg, K. Licon, K. L. Jepsen, M. Khosroheidari, et al. (2016). "Methylation-wide Analysis of Chronic HIV Infection Reveals Five-Year Increase in Biological Age and Epigenetic Targeting of HLA." *Mol Cell* **62**(2): 157-168.
- Group, N. A. S. (2019). "Dolutegravir-Based or Low-Dose Efavirenz-Based Regimen for the Treatment of HIV-1." *N Engl J Med*.

- Gruber, R., H. Koch, B. A. Doll, F. Tegtmeier, T. A. Einhorn and J. O. Hollinger (2006). "Fracture healing in the elderly patient." *Exp Gerontol* **41**(11): 1080-1093.
- Guallar, J. P., J. M. Gallego-Escredo, J. C. Domingo, M. Alegre, J. Fontdevila, E. Martinez, et al. (2008). "Differential gene expression indicates that 'buffalo hump' is a distinct adipose tissue disturbance in HIV-1-associated lipodystrophy." *Aids* **22**(5): 575-584.
- Guenantin, A. C., N. Briand, G. Bidault, P. Afonso, V. Bereziat, C. Vatier, et al. (2014). "Nuclear envelope-related lipodystrophies." *Semin Cell Dev Biol* **29**: 148-157.
- Guenantin, A. C., N. Briand, E. Capel, F. Dumont, R. Morichon, C. Provost, et al. (2017). "Functional Human Beige Adipocytes From Induced Pluripotent Stem Cells." *Diabetes* **66**(6): 1470-1478.
- Guerra, C., R. A. Koza, H. Yamashita, K. Walsh and L. P. Kozak (1998). "Emergence of brown adipocytes in white fat in mice is under genetic control. Effects on body weight and adiposity." *J Clin Invest* **102**(2): 412-420.
- Guilherme, A., F. Henriques, A. H. Bedard and M. P. Czech (2019). "Molecular pathways linking adipose innervation to insulin action in obesity and diabetes mellitus." *Nat Rev Endocrinol* **15**(4): 207-225.
- Guillermier, C., P. K. Fazeli, S. Kim, M. Lun, J. P. Zufalch, J. Milian, et al. (2017). "Imaging mass spectrometry demonstrates age-related decline in human adipose plasticity." *JCI Insight* **2**(5): e90349.
- Gupta, M. K., R. Kaminski, B. Mullen, J. Gordon, T. H. Burdo, J. Y. Cheung, et al. (2017). "HIV-1 Nef-induced cardiotoxicity through dysregulation of autophagy." *Sci Rep* **7**(1): 8572.
- Gupte, M., C. M. Boustany-Kari, K. Bharadwaj, S. Police, S. Thatcher, M. C. Gong, et al. (2008). "ACE2 is expressed in mouse adipocytes and regulated by a high-fat diet." *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **295**(3): R781-788.
- Gustafson, B., A. Nerstedt and U. Smith (2019). "Reduced subcutaneous adipogenesis in human hypertrophic obesity is linked to senescent precursor cells." *Nat Commun* **10**(1): 2757.
- Hadigan, C., D. Kamin, J. Liebau, S. Mazza, S. Barrow, M. Torriani, et al. (2006). "Depot-specific regulation of glucose uptake and insulin sensitivity in HIV-lipodystrophy." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **290**(2): E289-298.
- Hadigan, C., J. B. Meigs, J. Rabe, R. B. D'Agostino, P. W. Wilson, I. Lipinska, et al. (2001). "Increased PAI-1 and tPA antigen levels are reduced with metformin therapy in HIV-infected patients with fat redistribution and insulin resistance." *J Clin Endocrinol Metab* **86**(2): 939-943.
- Halberg, N., T. Khan, M. E. Trujillo, I. Wernstedt-Asterholm, A. D. Attie, S. Sherwani, et al. (2009). "Hypoxia-inducible factor 1alpha induces fibrosis and insulin resistance in white adipose tissue." *Mol Cell Biol* **29**(16): 4467-4483.
- Halloran, M. O., C. Boyle, B. Kehoe, E. Bagkeris, P. Mallon, F. A. Post, et al. (2019). "Polypharmacy and drug-drug interactions in older and younger people living with HIV: the POPPY study." *Antivir Ther* **24**(3): 193-201.
- Hamlyn, E., S. Fidler, W. Stohr, D. A. Cooper, G. Tambussi, M. Schechter, et al. (2014). "Interleukin-6 and D-dimer levels at seroconversion as predictors of HIV-1 disease progression." *AIDS* **28**(6): 869-874.
- Han, S. J., A. Glatman Zaretsky, V. Andrade-Oliveira, N. Collins, A. Dzutsev, J. Shaik, et al. (2017). "White Adipose Tissue Is a Reservoir for Memory T Cells and Promotes Protective Memory Responses to Infection." *Immunity* **47**(6): 1154-1168 e1156.
- Hanssen, M. J., J. Hoeks, B. Brans, A. A. van der Lans, G. Schaart, J. J. van den Driessche, et al. (2015). "Short-term cold acclimation improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus." *Nat Med* **21**(8): 863-865.
- Haque, W. A., I. Shimomura, Y. Matsuzawa and A. Garg (2002). "Serum adiponectin and leptin levels in patients with lipodystrophies." *J Clin Endocrinol Metab* **87**(5): 2395.
- Harman, D. (1956). "Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry." *J Gerontol* **11**(3): 298-300.
- Harms, M. and P. Seale (2013). "Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential." *Nat Med* **19**(10): 1252-1263.
- Hasegawa, Y., K. Ikeda, Y. Chen, D. L. Alba, D. Stifler, K. Shinoda, et al. (2018). "Repression of Adipose Tissue Fibrosis through a PRDM16-GTF2IRD1 Complex Improves Systemic Glucose Homeostasis." *Cell Metab* **27**(1): 180-194 e186.
- Hatzioannou, T. and D. T. Evans (2012). "Animal models for HIV/AIDS research." *Nat Rev Microbiol* **10**(12): 852-867.
- Haubrich, R. H., S. A. Riddler, A. G. DiRienzo, L. Komarow, W. G. Powderly, K. Klingman, et al. (2009). "Metabolic outcomes in a randomized trial of nucleoside, nonnucleoside and protease inhibitor-sparing regimens for initial HIV treatment." *AIDS* **23**(9): 1109-1118.
- Hawley, S. A., F. A. Ross, C. Chevtzoff, K. A. Green, A. Evans, S. Fogarty, et al. (2010). "Use of cells expressing gamma subunit variants to identify diverse mechanisms of AMPK activation." *Cell Metab* **11**(6): 554-565.
- Hayflick, L. and P. S. Moorhead (1961). "The serial cultivation of human diploid cell strains." *Exp Cell Res* **25**: 585-621.
- He, T., C. Xu, N. Krampe, S. M. Dillon, P. Sette, E. Falwell, et al. (2019). "High-fat diet exacerbates SIV pathogenesis and accelerates disease progression." *J Clin Invest* **129**(12): 5474-5488.
- Heilbronn, L., S. R. Smith and E. Ravussin (2004). "Failure of fat cell proliferation, mitochondrial function and fat oxidation results in ectopic fat storage, insulin resistance and type II diabetes mellitus." *Int J Obes Relat Metab Disord* **28 Suppl 4**: S12-21.
- Hekimi, S., J. Lapointe and Y. Wen (2011). "Taking a "good" look at free radicals in the aging process." *Trends Cell Biol* **21**(10): 569-576.
- Henegar, C., J. Tordjman, V. Achard, D. Lacasa, I. Cremer, M. Guerre-Millo, et al. (2008). "Adipose tissue transcriptomic signature highlights the pathological relevance of extracellular matrix in human obesity." *Genome Biol* **9**(1): R14.
- Herbein, G., G. Gras, K. A. Khan and W. Abbas (2010). "Macrophage signaling in HIV-1 infection." *Retrovirology* **7**: 34.
- Hernandez-Vallejo, S. J., C. Beaupere, J. Larghero, J. Capeau and C. Lagathu (2013). "HIV protease inhibitors induce senescence and alter osteoblastic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells: beneficial effect of pravastatin." *Aging Cell* **12**(6): 955-965.
- Herrin, M., J. P. Tate, K. M. Akgun, A. A. Butt, K. Crothers, M. S. Freiberg, et al. (2016). "Weight Gain and Incident Diabetes Among HIV-Infected Veterans Initiating Antiretroviral Therapy Compared With Uninfected Individuals." *J Acquir Immune Defic Syndr* **73**(2): 228-236.
- Hijmans, J. G., K. Stockelman, M. Levy, L. M. Brewster, T. D. Bammert, J. J. Greiner, et al. (2019). "Effects of HIV-1 gp120 and TAT-derived microvesicles on endothelial cell function." *J Appl Physiol* **126**(5): 1242-1249.

- Hijmans, J. G., K. Stockleman, W. Reiakvam, M. V. Levy, L. M. Brewster, T. D. Bammert, et al. (2018). "Effects of HIV-1 gp120 and tat on endothelial cell senescence and senescence-associated microRNAs." *Physiol Rep* **6**(6): e13647.
- Hileman, C. O. and N. T. Funderburg (2017). "Inflammation, Immune Activation, and Antiretroviral Therapy in HIV." *Curr HIV/AIDS Rep* **14**(3): 93-100.
- Hileman, C. O., B. Kinley, V. Scharen-Guivel, K. Melbourne, J. Szwarcberg, J. Robinson, et al. (2015). "Differential Reduction in Monocyte Activation and Vascular Inflammation With Integrase Inhibitor-Based Initial Antiretroviral Therapy Among HIV-Infected Individuals." *J Infect Dis* **212**(3): 345-354.
- Hill, A., L. Waters and A. Pozniak (2019). "Are new antiretroviral treatments increasing the risks of clinical obesity?" *J Virus Erad* **5**(1): 41-43.
- Hill, A. M., N. Mitchell, S. Hughes and A. L. Pozniak (2018). "Risks of cardiovascular or central nervous system adverse events and immune reconstitution inflammatory syndrome, for dolutegravir versus other antiretrovirals: meta-analysis of randomized trials." *Curr Opin HIV AIDS* **13**(2): 102-111.
- Himms-Hagen, J., A. Melnyk, M. C. Zingaretti, E. Ceresi, G. Barbarelli and S. Cinti (2000). "Multilocular fat cells in WAT of CL-316243-treated rats derive directly from white adipocytes." *Am J Physiol Cell Physiol* **279**(3): C670-681.
- Hiona, A., A. Sanz, G. C. Kujoth, R. Pamplona, A. Y. Seo, T. Hofer, et al. (2010). "Mitochondrial DNA mutations induce mitochondrial dysfunction, apoptosis and sarcopenia in skeletal muscle of mitochondrial DNA mutator mice." *PLoS One* **5**(7): e11468.
- Hirai, S., C. Ohyane, Y. I. Kim, S. Lin, T. Goto, N. Takahashi, et al. (2014). "Involvement of mast cells in adipose tissue fibrosis." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **306**(3): E247-255.
- Hock, M. B. and A. Kralli (2009). "Transcriptional control of mitochondrial biogenesis and function." *Annu Rev Physiol* **71**: 177-203.
- Horikawa, M., M. Toyoda, N. Saito, M. Kimura, T. Kobayashi, A. Takagi, et al. (2018). "Raltegravir-associated Diabetic Ketoacidosis in a Patient with HIV Infection: A Case Report." *Tokai J Exp Clin Med* **43**(1): 19-23.
- Horvath, S. (2013). "DNA methylation age of human tissues and cell types." *Genome Biol* **14**(10): R115.
- Horvath, S. and A. J. Levine (2015). "HIV-1 Infection Accelerates Age According to the Epigenetic Clock." *J Infect Dis* **212**(10): 1563-1573.
- Hoshino, S., B. Sun, M. Konishi, M. Shimura, T. Segawa, Y. Hagiwara, et al. (2007). "Vpr in plasma of HIV type 1-positive patients is correlated with the HIV type 1 RNA titers." *AIDS Res Hum Retroviruses* **23**(3): 391-397.
- Hotta, K., T. Funahashi, N. L. Bodkin, H. K. Ortmeyer, Y. Arita, B. C. Hansen, et al. (2001). "Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys." *Diabetes* **50**(5): 1126-1133.
- Hovanessian, A. G., C. Soundaramourty, R. Benferhat, R. Le Grand, N. Dereuddre-Bosquet, B. Krust, et al. (2018). "Vaccination with the Conserved Caveolin-1 Binding Motif in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Glycoprotein gp41 Delays the Onset of Viral Infection and Provides Partial Protection in Simian/Human Immunodeficiency Virus-Challenged Cynomolgus Macaques." *J Virol* **92**(18).
- Huhn, G. D., D. J. Shamblaw, J. G. Baril, P. Y. Hsue, B. L. Mills, T. Nguyen-Cleary, et al. (2020). "Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk Profile of Tenofovir Alafenamide Versus Tenofovir Disoproxil Fumarate." *Open Forum Infect Dis* **7**(1): ofz472.
- Hulgan, T. (2018). "Factors Associated With Insulin Resistance in Adults With HIV Receiving Contemporary Antiretroviral Therapy: a Brief Update." *Curr HIV/AIDS Rep* **15**(3): 223-232.
- Hunt, P. W. (2017). "Very Early ART and Persistent Inflammation in Treated HIV." *Clin Infect Dis* **64**(2): 132-133.
- Hunt, P. W., S. A. Lee and M. J. Siedner (2016). "Immunologic Biomarkers, Morbidity, and Mortality in Treated HIV Infection." *J Infect Dis* **214 Suppl 2**: S44-50.
- Ibrahim, M. M. (2010). "Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences." *Obes Rev* **11**(1): 11-18.
- Ikeda, T., A. M. Molan, M. C. Jarvis, M. A. Carpenter, D. J. Salamango, W. L. Brown, et al. (2019). "HIV-1 restriction by endogenous APOBEC3G in the myeloid cell line THP-1." *J Gen Virol* **100**(7): 1140-1152.
- Imamichi, H., M. Smith, J. W. Adelsberger, T. Izumi, F. Scrimieri, B. T. Sherman, et al. (2020). "Defective HIV-1 proviruses produce viral proteins." *Proc Natl Acad Sci U S A* **117**(7): 3704-3710.
- Jacob, R. A., A. L. Johnson, E. N. Pawlak, B. S. Dirk, L. R. Van Nynatten, S. M. M. Haeryfar, et al. (2017). "The interaction between HIV-1 Nef and adaptor protein-2 reduces Nef-mediated CD4(+) T cell apoptosis." *Virology* **509**: 1-10.
- Jain, P., G. Boso, S. Langer, S. Soonthornvacharin, P. D. De Jesus, Q. Nguyen, et al. (2018). "Large-Scale Arrayed Analysis of Protein Degradation Reveals Cellular Targets for HIV-1 Vpu." *Cell Rep* **22**(9): 2493-2503.
- Jan, V., P. Cervera, M. Maachi, M. Baudrimont, M. Kim, H. Vidal, et al. (2004). "Altered fat differentiation and adipocytokine expression are inter-related and linked to morphological changes and insulin resistance in HIV-1-infected lipodystrophic patients." *Antivir Ther* **9**(4): 555-564.
- Janzen, V., R. Forkert, H. E. Fleming, Y. Saito, M. T. Waring, D. M. Dombkowski, et al. (2006). "Stem-cell ageing modified by the cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4a." *Nature* **443**(7110): 421-426.
- Jaskelioff, M., F. L. Muller, J. H. Paik, E. Thomas, S. Jiang, A. C. Adams, et al. (2011). "Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase-deficient mice." *Nature* **469**(7328): 102-106.
- Jeffery, E., C. D. Church, B. Holtrup, L. Colman and M. S. Rodeheffer (2015). "Rapid depot-specific activation of adipocyte precursor cells at the onset of obesity." *Nat Cell Biol* **17**(4): 376-385.
- Jensen, M. and P. De Meyts (2009). "Molecular mechanisms of differential intracellular signaling from the insulin receptor." *Vitam Horm* **80**: 51-75.
- Jiang, C., A. Qu, T. Matsubara, T. Chanturiya, W. Jou, O. Gavrilova, et al. (2011). "Disruption of hypoxia-inducible factor 1 in adipocytes improves insulin sensitivity and decreases adiposity in high-fat diet-fed mice." *Diabetes* **60**(10): 2484-2495.
- Jiang, S., T. Li, Z. Yang, W. Yi, S. Di, Y. Sun, et al. (2017). "AMPK orchestrates an elaborate cascade protecting tissue from fibrosis and aging." *Ageing Res Rev* **38**: 18-27.

- Joe, A. W., L. Yi, Y. Even, A. W. Vogl and F. M. Rossi (2009). "Depot-specific differences in adipogenic progenitor abundance and proliferative response to high-fat diet." *Stem Cells* **27**(10): 2563-2570.
- Johnson, J. A., J. B. Albu, E. S. Engelson, S. K. Fried, Y. Inada, G. Ionescu, et al. (2004). "Increased systemic and adipose tissue cytokines in patients with HIV-associated lipodystrophy." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **286**(2): E261-271.
- Jones, D. L. and T. A. Rando (2011). "Emerging models and paradigms for stem cell ageing." *Nat Cell Biol* **13**(5): 506-512.
- Jones, K., P. G. Hoggard, S. D. Sales, S. Khoo, R. Davey and D. J. Back (2001). "Differences in the intracellular accumulation of HIV protease inhibitors in vitro and the effect of active transport." *AIDS* **15**(6): 675-681.
- Jones, S. P., C. Waitt, R. Sutton, D. J. Back and M. Pirmohamed (2008). "Effect of atazanavir and ritonavir on the differentiation and adipokine secretion of human subcutaneous and omental preadipocytes." *AIDS* **22**(11): 1293-1298.
- Jun, J. I. and L. F. Lau (2010). "The matricellular protein CCN1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing." *Nat Cell Biol* **12**(7): 676-685.
- Jung, T., A. Hohn, B. Catalgol and T. Grune (2009). "Age-related differences in oxidative protein-damage in young and senescent fibroblasts." *Arch Biochem Biophys* **483**(1): 127-135.
- Kadler, K. E., C. Baldock, J. Bella and R. P. Boot-Handford (2007). "Collagens at a glance." *J Cell Sci* **120**(Pt 12): 1955-1958.
- Kamba, T., B. Y. Tam, H. Hashizume, A. Haskell, B. Sennino, M. R. Mancuso, et al. (2006). "VEGF-dependent plasticity of fenestrated capillaries in the normal adult microvasculature." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **290**(2): H560-576.
- Kamei, S., H. Kaneto, M. Hashiramoto, Y. Hisano, A. Tanabe, M. Shimoda, et al. (2015). "Case of newly onset type 1 diabetes after highly active antiretroviral therapy against HIV infection." *J Diabetes Investig* **6**(3): 367-368.
- Kaminski, D. A. and T. D. Randall (2010). "Adaptive immunity and adipose tissue biology." *Trends Immunol* **31**(10): 384-390.
- Kang, Q., W. X. Song, Q. Luo, N. Tang, J. Luo, X. Luo, et al. (2009). "A comprehensive analysis of the dual roles of BMPs in regulating adipogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells." *Stem Cells Dev* **18**(4): 545-559.
- Kanneganti, T. D. and V. D. Dixit (2012). "Immunological complications of obesity." *Nat Immunol* **13**(8): 707-712.
- Kannisto, K., J. Sutinen, E. Korsheninnikova, R. M. Fisher, E. Ehrenborg, K. Gertow, et al. (2003). "Expression of adipogenic transcription factors, peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1, IL-6 and CD45 in subcutaneous adipose tissue in lipodystrophy associated with highly active antiretroviral therapy." *AIDS* **17**(12): 1753-1762.
- Kaplan, R. C., E. Sinclair, A. L. Landay, N. Lurain, A. R. Sharrett, S. J. Gange, et al. (2011). "T cell activation and senescence predict subclinical carotid artery disease in HIV-infected women." *J Infect Dis* **203**(4): 452-463.
- Kaplan-Lewis, E., J. A. Aberg and M. Lee (2017). "Aging with HIV in the ART era." *Semin Diagn Pathol* **34**(4): 384-397.
- Karagiannides, I., T. Tchekkona, D. E. Dobson, C. M. Steppan, P. Cummins, G. Chan, et al. (2001). "Altered expression of C/EBP family members results in decreased adipogenesis with aging." *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **280**(6): R1772-1780.
- Katlama, C., L. Assoumou, M. A. Valantin, C. Soulie, E. Martinez, L. Beniguel, et al. (2019). "Dual therapy combining raltegravir with etravirine maintains a high level of viral suppression over 96 weeks in long-term experienced HIV-infected individuals over 45 years on a PI-based regimen: results from the Phase II ANRS 163 ETRAL study." *J Antimicrob Chemother*.
- Kauppinen, K. J., P. Kivela and J. Sutinen (2019). "Switching from Tenofovir Disoproxil Fumarate to Tenofovir Alafenamide Significantly Worsens the Lipid Profile in a Real-World Setting." *AIDS Patient Care STDS* **33**(12): 500-506.
- Kaushik, S. and A. M. Cuervo (2015). "Proteostasis and aging." *Nat Med* **21**(12): 1406-1415.
- Keophiphatth, M., V. Achard, C. Henegar, C. Rouault, K. Clement and D. Lacasa (2009). "Macrophage-secreted factors promote a profibrotic phenotype in human preadipocytes." *Mol Endocrinol* **23**(1): 11-24.
- Keophiphatth, M., C. Rouault, A. Divoux, K. Clement and D. Lacasa (2010). "CCL5 promotes macrophage recruitment and survival in human adipose tissue." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **30**(1): 39-45.
- Khan, M. B., M. J. Lang, M. B. Huang, A. Raymond, V. C. Bond, B. Shiramizu, et al. (2016). "Nef exosomes isolated from the plasma of individuals with HIV-associated dementia (HAD) can induce Abeta(1-42) secretion in SH-SY5Y neural cells." *J Neurovirol* **22**(2): 179-190.
- Khan, T., E. S. Muise, P. Iyengar, Z. V. Wang, M. Chandalia, N. Abate, et al. (2009). "Metabolic dysregulation and adipose tissue fibrosis: role of collagen VI." *Mol Cell Biol* **29**(6): 1575-1591.
- Kido, Y., J. Nakae and D. Accili (2001). "Clinical review 125: The insulin receptor and its cellular targets." *J Clin Endocrinol Metab* **86**(3): 972-979.
- Kiefer, F. W., M. Zeyda, J. Todoric, J. Huber, R. Geyeregger, T. Weichhart, et al. (2008). "Osteopontin expression in human and murine obesity: extensive local up-regulation in adipose tissue but minimal systemic alterations." *Endocrinology* **149**(3): 1350-1357.
- Kim, G., Y. H. Lee, M. R. Yun, J. Y. Lee, E. G. Shin, B. W. Lee, et al. (2018). "Effects of lobeglitazone, a novel thiazolidinedione, on adipose tissue remodeling and brown and beige adipose tissue development in db/db mice." *Int J Obes (Lond)* **42**(3): 542-551.
- Kim, J. A., D. C. Yeh, M. Ver, Y. Li, A. Carranza, T. P. Conrads, et al. (2005). "Phosphorylation of Ser24 in the pleckstrin homology domain of insulin receptor substrate-1 by Mouse Pelle-like kinase/interleukin-1 receptor-associated kinase: cross-talk between inflammatory signaling and insulin signaling that may contribute to insulin resistance." *J Biol Chem* **280**(24): 23173-23183.
- Kim, J. B., P. Sarraf, M. Wright, K. M. Yao, E. Mueller, G. Solanes, et al. (1998). "Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1." *J Clin Invest* **101**(1): 1-9.
- Kim, J. B. and B. M. Spiegelman (1996). "ADD1/SREBP1 promotes adipocyte differentiation and gene expression linked to fatty acid metabolism." *Genes Dev* **10**(9): 1096-1107.
- Kim, J. W., C. K. Rhee, T. J. Kim, Y. H. Kim, S. H. Lee, H. K. Yoon, et al. (2010). "Effect of pravastatin on bleomycin-induced acute lung injury and pulmonary fibrosis." *Clin Exp Pharmacol Physiol* **37**(11): 1055-1063.
- Kim, M. J., Y. D. Koo, M. Kim, S. Lim, Y. J. Park, S. S. Chung, et al. (2016). "Rg3 Improves Mitochondrial Function and the Expression of Key Genes Involved in Mitochondrial Biogenesis in C2C12 Myotubes." *Diabetes Metab J* **40**(5): 406-413.

- Kim, R. J., C. G. Wilson, M. Wabitsch, M. A. Lazar and C. M. Steppan (2006). "HIV protease inhibitor-specific alterations in human adipocyte differentiation and metabolism." *Obesity (Silver Spring)* **14**(6): 994-1002.
- Kim, S. I., H. J. Na, Y. Ding, Z. Wang, S. J. Lee and M. E. Choi (2012). "Autophagy promotes intracellular degradation of type I collagen induced by transforming growth factor (TGF)-beta1." *J Biol Chem* **287**(15): 11677-11688.
- Kim, S. M., M. Lun, M. Wang, S. E. Senyo, C. Guillermier, P. Patwari, et al. (2014). "Loss of white adipose hyperplastic potential is associated with enhanced susceptibility to insulin resistance." *Cell Metab* **20**(6): 1049-1058.
- Klos, B., P. Patel, C. Rose, T. Bush, L. Conley, E. M. Kojic, et al. (2019). "Lower serum adiponectin level is associated with lipodystrophy among HIV-infected men in the Study to Understand the Natural History of HIV/AIDS in the Era of Effective Therapy (SUN) study." *HIV Med* **20**(8): 534-541.
- Kobashi, C., S. Asamizu, M. Ishiki, M. Iwata, I. Usui, K. Yamazaki, et al. (2009). "Inhibitory effect of IL-8 on insulin action in human adipocytes via MAP kinase pathway." *J Inflamm (Lond)* **6**: 25.
- Koethe, J. R., C. A. Jenkins, B. Lau, B. E. Shepherd, W. Wester, P. F. Rebeiro, et al. (2016). "Higher Time-Updated Body Mass Index: Association With Improved CD4+ Cell Recovery on HIV Treatment." *J Acquir Immune Defic Syndr* **73**(2): 197-204.
- Koethe, J. R., C. Lagathu, J. E. Lake, P. Domingo, A. Calmy, J. Falutz, et al. (2020). "HIV and antiretroviral therapy-related fat alterations." *Nat Rev Dis Primers* **6**(1): 48.
- Koethe, J. R., W. McDonnell, A. Kennedy, C. O. Abana, M. Pilkinton, I. Setliff, et al. (2018). "Adipose Tissue is Enriched for Activated and Late-Differentiated CD8+ T Cells and Shows Distinct CD8+ Receptor Usage, Compared With Blood in HIV-Infected Persons." *J Acquir Immune Defic Syndr* **77**(2): e14-e21.
- Kos, K., S. Wong, B. Tan, A. Gummesson, M. Jernas, N. Franck, et al. (2009). "Regulation of the fibrosis and angiogenesis promoter SPARC/osteonectin in human adipose tissue by weight change, leptin, insulin, and glucose." *Diabetes* **58**(8): 1780-1788.
- Kotler, D. P. (1998). "Human immunodeficiency virus-related wasting: malabsorption syndromes." *Semin Oncol* **25**(2 Suppl 6): 70-75.
- Krishnan, J., C. Danzer, T. Simka, J. Ukopec, K. M. Walter, S. Kumpf, et al. (2012). "Dietary obesity-associated Hif1alpha activation in adipocytes restricts fatty acid oxidation and energy expenditure via suppression of the Sirt2-NAD+ system." *Genes Dev* **26**(3): 259-270.
- Kroemer, G., G. Marino and B. Levine (2010). "Autophagy and the integrated stress response." *Mol Cell* **40**(2): 280-293.
- Kuk, J. L., T. J. Saunders, L. E. Davidson and R. Ross (2009). "Age-related changes in total and regional fat distribution." *Ageing Res Rev* **8**(4): 339-348.
- Kuller, L. H., R. Tracy, W. Beloso, S. De Wit, F. Drummond, H. C. Lane, et al. (2008). "Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection." *PLoS Med* **5**(10): e203.
- Kumada, M., S. Kihara, N. Ouchi, H. Kobayashi, Y. Okamoto, K. Ohashi, et al. (2004). "Adiponectin specifically increased tissue inhibitor of metalloproteinase-1 through interleukin-10 expression in human macrophages." *Circulation* **109**(17): 2046-2049.
- Kumar, D., G. K. Bohra, M. Agarwal, S. Khichar, S. Choudhary and N. Midha (2018). "Prediction of Cardiovascular Disease Risk Using Framingham and Data on Adverse Effect of Antiretroviral Drugs Risk Equation in Relation to Lipodystrophy in HIV Patients on Highly Active Antiretroviral Therapy." *J Glob Infect Dis* **10**(4): 182-187.
- Kumar, S. and K. Samaras (2018). "The Impact of Weight Gain During HIV Treatment on Risk of Pre-diabetes, Diabetes Mellitus, Cardiovascular Disease, and Mortality." *Front Endocrinol (Lausanne)* **9**: 705.
- Kurz, D. J., S. Decary, Y. Hong and J. D. Erusalimsky (2000). "Senescence-associated (beta)-galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells." *J Cell Sci* **113** ( Pt 20): 3613-3622.
- Kusminski, C. M., P. E. Bickel and P. E. Scherer (2016). "Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes." *Nat Rev Drug Discov* **15**(9): 639-660.
- Kwon, E. Y., S. K. Shin, Y. Y. Cho, U. J. Jung, E. Kim, T. Park, et al. (2012). "Time-course microarrays reveal early activation of the immune transcriptome and adipokine dysregulation leads to fibrosis in visceral adipose depots during diet-induced obesity." *BMC Genomics* **13**: 450.
- Kwon, H. S., M. M. Brent, R. Getachew, P. Jayakumar, L. F. Chen, M. Schnolzer, et al. (2008). "Human immunodeficiency virus type 1 Tat protein inhibits the SIRT1 deacetylase and induces T cell hyperactivation." *Cell Host Microbe* **3**(3): 158-167.
- Labunskyy, V. M. and V. N. Gladyshev (2013). "Role of reactive oxygen species-mediated signaling in aging." *Antioxid Redox Signal* **19**(12): 1362-1372.
- Lacasa, D., S. Taleb, M. Keophiphath, A. Miranville and K. Clement (2007). "Macrophage-secreted factors impair human adipogenesis: involvement of proinflammatory state in preadipocytes." *Endocrinology* **148**(2): 868-877.
- Lacey, A., S. Savinelli, E. A. Barco, A. Macken, A. G. Cotter, G. Sheehan, et al. (2020). "Investigating the effect of antiretroviral switch to tenofovir alafenamide on lipid profiles in people living with HIV." *AIDS* **34**(8): 1161-1170.
- Lackey, D. E., D. H. Burk, M. R. Ali, R. Mostaedi, W. H. Smith, J. Park, et al. (2014). "Contributions of adipose tissue architectural and tensile properties toward defining healthy and unhealthy obesity." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **306**(3): E233-246.
- Ladha, J. S., M. K. Tripathy and D. Mitra (2005). "Mitochondrial complex I activity is impaired during HIV-1-induced T-cell apoptosis." *Cell Death Differ* **12**(11): 1417-1428.
- Lagathu, C., J. P. Bastard, M. Auclair, M. Maachi, J. Capeau and M. Caron (2003). "Chronic interleukin-6 (IL-6) treatment increased IL-6 secretion and induced insulin resistance in adipocyte: prevention by rosiglitazone." *Biochem Biophys Res Commun* **311**(2): 372-379.
- Lagathu, C., V. Bereziat, J. Gorwood, S. Fellahi, J. P. Bastard, C. Vigouroux, et al. (2019). "Metabolic complications affecting adipose tissue, lipid and glucose metabolism associated with HIV antiretroviral treatment." *Expert Opin Drug Saf*: 1-12.
- Lagathu, C., A. Cossarizza, V. Bereziat, M. Nasi, J. Capeau and M. Pinti (2017). "Basic science and pathogenesis of ageing with HIV: potential mechanisms and biomarkers." *Aids* **31** Suppl 2: S105-s119.

- Lagathu, C., B. Eustace, M. Prot, D. Frantz, Y. Gu, J. P. Bastard, et al. (2007). "Some HIV antiretrovirals increase oxidative stress and alter chemokine, cytokine or adiponectin production in human adipocytes and macrophages." *Antivir Ther* **12**(4): 489-500.
- Lake, J. E., G. A. McComsey, T. Hulgan, C. A. Wanke, A. Mangili, S. L. Walmsley, et al. (2014). "Switch to raltegravir decreases soluble CD14 in virologically suppressed overweight women: the Women, Integrase and Fat Accumulation Trial." *HIV Med* **15**(7): 431-441.
- Lake, J. E., T. L. Stanley, C. M. Apovian, S. Bhasin, T. T. Brown, J. Capeau, et al. (2017). "Practical Review of Recognition and Management of Obesity and Lipohypertrophy in Human Immunodeficiency Virus Infection." *Clin Infect Dis* **64**(10): 1422-1429.
- Lake, J. E., D. Wohl, R. Scherzer, C. Grunfeld, P. C. Tien, S. Sidney, et al. (2011). "Regional fat deposition and cardiovascular risk in HIV infection: the FRAM study." *AIDS Care* **23**(8): 929-938.
- Lake, J. E., K. Wu, S. H. Bares, P. Debroy, C. Godfrey, J. R. Koethe, et al. (2020). "Risk Factors for Weight Gain Following Switch to Integrase Inhibitor-Based Antiretroviral Therapy." *Clin Infect Dis*.
- Lake, J. E. W., K. Erlandson, K.M. Bares, S.H. Debroy, P. Godfrey, C. Koethe, J.R. McComsey, G.A. Palella, F.J. Tassopoulos, K. (2019). RISK FACTORS FOR EXCESS WEIGHT GAIN FOLLOWING SWITCH TO INTEGRASE INHIBITOR-BASED ART. *CROI*. Seattle, Washington, United-States.
- Lancha, A., A. Rodriguez, V. Catalan, S. Becerril, N. Sainz, B. Ramirez, et al. (2014). "Osteopontin deletion prevents the development of obesity and hepatic steatosis via impaired adipose tissue matrix remodeling and reduced inflammation and fibrosis in adipose tissue and liver in mice." *PLoS One* **9**(5): e98398.
- Landi, A., V. Iannucci, A. V. Nuffel, P. Meuwissen and B. Verhasselt (2011). "One protein to rule them all: modulation of cell surface receptors and molecules by HIV Nef." *Curr HIV Res* **9**(7): 496-504.
- Langer, S., C. Hammer, K. Hopfensperger, L. Klein, D. Hotter, P. D. De Jesus, et al. (2019). "HIV-1 Vpu is a potent transcriptional suppressor of NF-kappaB-elicited antiviral immune responses." *Elife* **8**.
- Langkilde, A., J. Tavenier, A. V. Danielsen, J. Eugen-Olsen, C. Therkildsen, F. K. Jensen, et al. (2018). "Histological and Molecular Adipose Tissue Changes Are Related to Metabolic Syndrome Rather Than Lipodystrophy in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients: A Cross-Sectional Study." *J Infect Dis* **218**(7): 1090-1098.
- Laparra, A., S. Tricot, M. Le Van, A. Damouche, J. Gorwood, B. Vaslin, et al. (2019). "The Frequencies of Immunosuppressive Cells in Adipose Tissue Differ in Human, Non-human Primate, and Mouse Models." *Front Immunol* **10**: 117.
- Lecoeur, H., A. Borgne-Sanchez, O. Chaloin, R. El-Khoury, M. Brabant, A. Langonne, et al. (2012). "HIV-1 Tat protein directly induces mitochondrial membrane permeabilization and inactivates cytochrome c oxidase." *Cell Death Dis* **3**: e282.
- Lee, E. H., M. Itan, J. Jang, H. J. Gu, P. Rozenberg, M. K. Mingler, et al. (2018). "Eosinophils support adipocyte maturation and promote glucose tolerance in obesity." *Sci Rep* **8**(1): 9894.
- Lee, J. A., B. M. Parrett, J. A. Conejero, J. Laser, J. Chen, A. J. Kogon, et al. (2003). "Biological alchemy: engineering bone and fat from fat-derived stem cells." *Ann Plast Surg* **50**(6): 610-617.
- Lee, M. J., Y. Wu and S. K. Fried (2013). "Adipose tissue heterogeneity: implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications." *Mol Aspects Med* **34**(1): 1-11.
- Lee, S. E., S. G. Kang, M. J. Choi, S. B. Jung, M. J. Ryu, H. K. Chung, et al. (2017). "Growth Differentiation Factor 15 Mediates Systemic Glucose Regulatory Action of T-Helper Type 2 Cytokines." *Diabetes* **66**(11): 2774-2788.
- Lee, Y. H., A. P. Petkova, E. P. Mottillo and J. G. Granneman (2012). "In vivo identification of bipotential adipocyte progenitors recruited by beta3-adrenoceptor activation and high-fat feeding." *Cell Metab* **15**(4): 480-491.
- Lee, Y. S., J. Wollam and J. M. Olefsky (2018). "An Integrated View of Immunometabolism." *Cell* **172**(1-2): 22-40.
- Leeansyah, E., P. U. Cameron, A. Solomon, S. Tennakoon, P. Velayudham, M. Gouillou, et al. (2013). "Inhibition of telomerase activity by human immunodeficiency virus (HIV) nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitors: a potential factor contributing to HIV-associated accelerated aging." *J Infect Dis* **207**(7): 1157-1165.
- Leeansyah, E., D. F. Malone, D. D. Anthony and J. K. Sandberg (2013). "Soluble biomarkers of HIV transmission, disease progression and comorbidities." *Curr Opin HIV AIDS* **8**(2): 117-124.
- Lefevre, C., M. Auclair, F. Boccaro, J. P. Bastard, J. Capeau, C. Vigouroux, et al. (2010). "Premature senescence of vascular cells is induced by HIV protease inhibitors: implication of prelamin A and reversion by statin." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **30**(12): 2611-2620.
- Lehmann, M. H., J. M. Lehmann and V. Erfle (2019). "Nef-induced CCL2 Expression Contributes to HIV/SIV Brain Invasion and Neuronal Dysfunction." *Front Immunol* **10**: 2447.
- Lehr, L., K. Canola, B. Leger and J. P. Giacobino (2009). "Differentiation and characterization in primary culture of white adipose tissue brown adipocyte-like cells." *Int J Obes (Lond)* **33**(6): 680-686.
- Lenassi, M., G. Cagney, M. Liao, T. Vaupotic, K. Bartholomeeusen, Y. Cheng, et al. (2010). "HIV Nef is secreted in exosomes and triggers apoptosis in bystander CD4+ T cells." *Traffic* **11**(1): 110-122.
- Leroyer, S., C. Vatier, S. Kadiri, J. Quette, C. Chapron, J. Capeau, et al. (2011). "Glyceroneogenesis is inhibited through HIV protease inhibitor-induced inflammation in human subcutaneous but not visceral adipose tissue." *J Lipid Res* **52**(2): 207-220.
- Li, C., C. W. Yang, J. H. Park, S. W. Lim, B. K. Sun, J. Y. Jung, et al. (2004). "Pravastatin treatment attenuates interstitial inflammation and fibrosis in a rat model of chronic cyclosporine-induced nephropathy." *Am J Physiol Renal Physiol* **286**(1): F46-57.
- Liang, Z., R. Liu, Y. Lin, C. Liang, J. Tan and W. Qiao (2015). "HIV-1 Vpr protein activates the NF-kappaB pathway to promote G2/M cell cycle arrest." *Virol Sin* **30**(6): 441-448.
- Liao, K., F. Niu, G. Hu, M. L. Guo, S. Sil and S. Buch (2020). "HIV Tat-mediated induction of autophagy regulates the disruption of ZO-1 in brain endothelial cells." *Tissue Barriers*: 1748983.
- Liao, W., M. T. Nguyen, T. Yoshizaki, S. Favelyukis, D. Patsouris, T. Imamura, et al. (2007). "Suppression of PPAR-gamma attenuates insulin-stimulated glucose uptake by affecting both GLUT1 and GLUT4 in 3T3-L1 adipocytes." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **293**(1): E219-227.

- Lidell, M. E., M. J. Betz, O. Dahlqvist Leinhard, M. Heglind, L. Elander, M. Slawik, et al. (2013). "Evidence for two types of brown adipose tissue in humans." *Nat Med* **19**(5): 631-634.
- Lihn, A. S., B. Richelsen, S. B. Pedersen, S. B. Haugaard, G. S. Rathje, S. Madsbad, et al. (2003). "Increased expression of TNF-alpha, IL-6, and IL-8 in HALS: implications for reduced adiponectin expression and plasma levels." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **285**(5): E1072-1080.
- Lilla, J., D. Stickens and Z. Werb (2002). "Metalloproteases and adipogenesis: a weighty subject." *Am J Pathol* **160**(5): 1551-1554.
- Lin, T. H. Chun and L. Kang (2016). "Adipose extracellular matrix remodelling in obesity and insulin resistance." *Biochem Pharmacol* **119**: 8-16.
- Lindqvist, M., J. van Lunzen, D. Z. Soghoian, B. D. Kuhl, S. Ranasinghe, G. Kranias, et al. (2012). "Expansion of HIV-specific T follicular helper cells in chronic HIV infection." *J Clin Invest* **122**(9): 3271-3280.
- Linnane, A. W., S. Marzuki, T. Ozawa and M. Tanaka (1989). "Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to ageing and degenerative diseases." *Lancet* **1**(8639): 642-645.
- Liu, L. F., C. M. Craig, L. L. Tolentino, O. Choi, J. Morton, H. Rivas, et al. (2017). "Adipose tissue macrophages impair preadipocyte differentiation in humans." *PLoS One* **12**(2): e0170728.
- Liu, M. and F. Liu (2012). "Up- and down-regulation of adiponectin expression and multimerization: mechanisms and therapeutic implication." *Biochimie* **94**(10): 2126-2130.
- Liu, Z., K. K. L. Wu, X. Jiang, A. Xu and K. K. Y. Cheng (2020). "The role of adipose tissue senescence in obesity- and ageing-related metabolic disorders." *Clin Sci (Lond)* **134**(2): 315-330.
- Loftreda, S., S. Q. Yang, H. Z. Lin, C. L. Karp, M. L. Brengman, D. J. Wang, et al. (1998). "Leptin regulates proinflammatory immune responses." *FASEB J* **12**(1): 57-65.
- Lombardi, F., S. Belmonti, A. Borghetti, A. Ciccullo, G. Baldin, R. Cauda, et al. (2019). "Reduced soluble CD14 levels after switching from a dual regimen with lamivudine plus boosted protease inhibitors to lamivudine plus dolutegravir in virologically suppressed HIV-infected patients." *HIV Res Clin Pract*: 1-7.
- Longo, M., F. Zatterale, J. Naderi, L. Parrillo, P. Formisano, G. A. Raciti, et al. (2019). "Adipose Tissue Dysfunction as Determinant of Obesity-Associated Metabolic Complications." *Int J Mol Sci* **20**(9).
- Lopez-Otin, C., M. A. Blasco, L. Partridge, M. Serrano and G. Kroemer (2013). "The hallmarks of aging." *Cell* **153**(6): 1194-1217.
- Lord, C. J. and A. Ashworth (2012). "The DNA damage response and cancer therapy." *Nature* **481**(7381): 287-294.
- Lord, G. M., G. Matarese, J. K. Howard, R. J. Baker, S. R. Bloom and R. I. Lechler (1998). "Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression." *Nature* **394**(6696): 897-901.
- Lotta, L. A., P. Gulati, F. R. Day, F. Payne, H. Ongen, M. van de Bunt, et al. (2017). "Integrative genomic analysis implicates limited peripheral adipose storage capacity in the pathogenesis of human insulin resistance." *Nat Genet* **49**(1): 17-26.
- Luo, T., A. Nocon, J. Fry, A. Sherban, X. Rui, B. Jiang, et al. (2016). "AMPK Activation by Metformin Suppresses Abnormal Extracellular Matrix Remodeling in Adipose Tissue and Ameliorates Insulin Resistance in Obesity." *Diabetes* **65**(8): 2295-2310.
- Luz-Crawford, P., M. Kurte, J. Bravo-Alegria, R. Contreras, E. Nova-Lamperti, G. Tejedor, et al. (2013). "Mesenchymal stem cells generate a CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cell population during the differentiation process of Th1 and Th17 cells." *Stem Cell Res Ther* **4**(3): 65.
- Maagaard, A., M. Holberg-Petersen, E. A. Kvittingen, L. Sandvik and J. N. Bruun (2006). "Depletion of mitochondrial DNA copies/cell in peripheral blood mononuclear cells in HIV-1-infected treatment-naive patients." *HIV Med* **7**(1): 53-58.
- Mack, I., R. S. BelAiba, T. Djordjevic, A. Gorlach, H. Hauner and B. L. Bader (2009). "Functional analyses reveal the greater potency of preadipocytes compared with adipocytes as endothelial cell activator under normoxia, hypoxia, and TNFalpha exposure." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **297**(3): E735-748.
- Macotela, Y., B. Emanuelli, M. A. Mori, S. Gesta, T. J. Schulz, Y. H. Tseng, et al. (2012). "Intrinsic differences in adipocyte precursor cells from different white fat depots." *Diabetes* **61**(7): 1691-1699.
- Madelain, V., M. P. Le, K. Champenois, C. Charpentier, R. Landman, V. Joly, et al. (2017). "Impact of obesity on antiretroviral pharmacokinetics and immuno-virological response in HIV-infected patients: a case-control study." *J Antimicrob Chemother* **72**(4): 1137-1146.
- Madge, S., S. Kinloch-de-Loes, D. Mercey, M. A. Johnson and I. V. Weller (1999). "Lipodystrophy in patients naive to HIV protease inhibitors." *AIDS* **13**(6): 735-737.
- Maggi, P., A. Di Biagio, S. Rusconi, S. Ciccalini, M. D'Abbraccio, G. d'Ettorre, et al. (2017). "Cardiovascular risk and dyslipidemia among persons living with HIV: a review." *BMC Infect Dis* **17**(1): 551.
- Mahajan, S. D., R. Aalinkeel, N. U. Parikh, A. Jacob, K. Cwiklinski, P. Sandhu, et al. (2017). "Immunomodulatory Role of Complement Proteins in the Neuropathology Associated with Opiate Abuse and HIV-1 Co-Morbidity." *Immunol Invest* **46**(8): 816-832.
- Mahlab-Guri, K., I. Asher, S. Rosenberg-Bezalel, D. Elbirt, M. Burke and Z. M. Sthoeger (2016). "Two case reports of severe myocarditis associated with the initiation of dolutegravir treatment in HIV patients." *Medicine (Baltimore)* **95**(47): e5465.
- Maisonasse, P., J. Guedj, V. Contreras, S. Behillil, C. Solas, R. Marlin, et al. (2020). "Hydroxychloroquine use against SARS-CoV-2 infection in non-human primates." *Nature* **585**(7826): 584-587.
- Maiuri, T., J. Ho and V. Stambolic (2010). "Regulation of adipocyte differentiation by distinct subcellular pools of protein kinase B (PKB/Akt)." *J Biol Chem* **285**(20): 15038-15047.
- Malavazos, A. E., M. M. Corsi Romanelli, F. Bandera and G. Iacobellis (2020). "Targeting the Adipose Tissue in COVID-19." *Obesity (Silver Spring)* **28**(7): 1178-1179.
- Malekpour-Dehkordi, Z., S. Teimourian, M. Nourbakhsh, Y. Naghiae, R. Sharifi and J. Mohiti-Ardakani (2019). "Metformin reduces fibrosis factors in insulin resistant and hypertrophied adipocyte via integrin/ERK, collagen VI, apoptosis, and necrosis reduction." *Life Sci* **233**: 116682.
- Malim, M. H. and M. Emerman (2008). "HIV-1 accessory proteins--ensuring viral survival in a hostile environment." *Cell Host Microbe* **3**(6): 388-398.

Mallon, P. W., J. Miller, J. C. Kovacic, J. Kent-Hughes, R. Norris, K. Samaras, et al. (2006). "Effect of pravastatin on body composition and markers of cardiovascular disease in HIV-infected men--a randomized, placebo-controlled study." *AIDS* **20**(7): 1003-1010.

Mallon, P. W., H. Wand, M. Law, J. Miller, D. A. Cooper, A. Carr, et al. (2005). "Buffalo hump seen in HIV-associated lipodystrophy is associated with hyperinsulinemia but not dyslipidemia." *J Acquir Immune Defic Syndr* **38**(2): 156-162.

Manente, L., A. Lucariello, C. Costanzo, R. Viglietti, G. Parrella, R. Parrella, et al. (2012). "Suppression of pre adipocyte differentiation and promotion of adipocyte death by anti-HIV drugs." *In Vivo* **26**(2): 287-291.

Mannioui, A., O. Bourry, P. Sellier, B. Delache, P. Brochard, T. Andrieu, et al. (2009). "Dynamics of viral replication in blood and lymphoid tissues during SIVmac251 infection of macaques." *Retrovirology* **6**: 106.

Mansilla, E., V. Diaz Aquino, D. Zambon, G. H. Marin, K. Martire, G. Roque, et al. (2011). "Could metabolic syndrome, lipodystrophy, and aging be mesenchymal stem cell exhaustion syndromes?" *Stem Cells Int* **2011**: 943216.

Mantecon, M. L. P., L. Gorwood, J. Auclair, M.; Atlan, M.; Fève, B.; Capeau, J.; Lagathu, C.; Béreziat, V. (Submitted). "Metformin alleviates aging-associated cellular senescence of human adipose stem cells and derived adipocytes."

Mantzoros, C. S., F. Magkos, M. Brinkoetter, E. Sienkiewicz, T. A. Dardeno, S. Y. Kim, et al. (2011). "Leptin in human physiology and pathophysiology." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **301**(4): E567-584.

Marcelin, G., A. Ferreira, Y. Liu, M. Atlan, J. Aron-Wisniewsky, V. Pelloux, et al. (2017). "A PDGFRalpha-Mediated Switch toward CD9(high) Adipocyte Progenitors Controls Obesity-Induced Adipose Tissue Fibrosis." *Cell Metab* **25**(3): 673-685.

Marcelin, G., A. L. M. Silveira, L. B. Martins, A. V. Ferreira and K. Clement (2019). "Deciphering the cellular interplays underlying obesity-induced adipose tissue fibrosis." *J Clin Invest* **129**(10): 4032-4040.

Maredziak, M., K. Marycz, K. A. Tomaszewski, K. Kornicka and B. M. Henry (2016). "The Influence of Aging on the Regenerative Potential of Human Adipose Derived Mesenchymal Stem Cells." *Stem Cells Int* **2016**: 2152435.

Martin, A. and P. W. Mallon (2005). "Therapeutic approaches to combating lipoatrophy: do they work?" *J Antimicrob Chemother* **55**(5): 612-615.

Martin, A., D. E. Smith, A. Carr, C. Ringland, J. Amin, S. Emery, et al. (2004). "Reversibility of lipoatrophy in HIV-infected patients 2 years after switching from a thymidine analogue to abacavir: the MITOX Extension Study." *AIDS* **18**(7): 1029-1036.

Martinez, E., P. M. D'Albuquerque, J. M. Llibre, F. Gutierrez, D. Podzamczer, A. Antela, et al. (2012). "Changes in cardiovascular biomarkers in HIV-infected patients switching from ritonavir-boosted protease inhibitors to raltegravir." *Aids* **26**(18): 2315-2326.

Masanetz, S. and M. H. Lehmann (2011). "HIV-1 Nef increases astrocyte sensitivity towards exogenous hydrogen peroxide." *Virology* **8**: 35.

Matsubara, T., A. Mita, K. Minami, T. Hosooka, S. Kitazawa, K. Takahashi, et al. (2012). "PGRN is a key adipokine mediating high fat diet-induced insulin resistance and obesity through IL-6 in adipose tissue." *Cell Metab* **15**(1): 38-50.

Matsuzawa, Y. (2006). "Therapy Insight: adipocytokines in metabolic syndrome and related cardiovascular disease." *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* **3**(1): 35-42.

Maumus, M., J. A. Peyrafitte, R. D'Angelo, C. Fournier-Wirth, A. Bouloumié, L. Casteilla, et al. (2011). "Native human adipose stromal cells: localization, morphology and phenotype." *Int J Obes (Lond)* **35**(9): 1141-1153.

Mauney, J. R., T. Nguyen, K. Gillen, C. Kirker-Head, J. M. Gimble and D. L. Kaplan (2007). "Engineering adipose-like tissue in vitro and in vivo utilizing human bone marrow and adipose-derived mesenchymal stem cells with silk fibroin 3D scaffolds." *Biomaterials* **28**(35): 5280-5290.

Maurice, J. B., L. Garvey, E. A. Tsochatzis, M. Wilshire, G. Cooke, N. Guppy, et al. (2019). "Monocyte-macrophage activation is associated with nonalcoholic fatty liver disease and liver fibrosis in HIV monoinfection independently of the gut microbiome and bacterial translocation." *AIDS* **33**(5): 805-814.

McComsey, G. A., D. Kitch, E. S. Daar, C. Tierney, N. C. Jared, P. Tebas, et al. (2011). "Bone mineral density and fractures in antiretroviral-naïve persons randomized to receive abacavir-lamivudine or tenofovir disoproxil fumarate-emtricitabine along with efavirenz or atazanavir-ritonavir: Aids Clinical Trials Group A5224s, a substudy of ACTG A5202." *J Infect Dis* **203**(12): 1791-1801.

McComsey, G. A., C. Moser, J. Currier, H. J. Ribaudo, P. Paczuski, M. P. Dube, et al. (2016). "Body Composition Changes After Initiation of Raltegravir or Protease Inhibitors: ACTG A5260s." *Clin Infect Dis* **62**(7): 853-862.

McLaughlin, M., S. Walsh and S. Galvin (2018). "Dolutegravir-induced hyperglycaemia in a patient living with HIV." *J Antimicrob Chemother* **73**(1): 258-260.

McLaughlin, T., S. E. Ackerman, L. Shen and E. Engleman (2017). "Role of innate and adaptive immunity in obesity-associated metabolic disease." *J Clin Invest* **127**(1): 5-13.

McPherson, T. D., M. E. Sobieszczyk and M. Markowitz (2018). "Cabotegravir in the treatment and prevention of Human Immunodeficiency Virus-1." *Expert Opin Investig Drugs* **27**(4): 413-420.

Meftahi, G. H., Z. Jangravi, H. Sahraei and Z. Bahari (2020). "The possible pathophysiology mechanism of cytokine storm in elderly adults with COVID-19 infection: the contribution of "inflame-aging"." *Inflamm Res* **69**(9): 825-839.

Meijer, K., P. de Vos and M. G. Priebe (2010). "Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: what relevance for health?" *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **13**(6): 715-721.

Meissburger, B., L. Stachorski, E. Roder, G. Rudofsky and C. Wolfrum (2011). "Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 (TIMP1) controls adipogenesis in obesity in mice and in humans." *Diabetologia* **54**(6): 1468-1479.

Melchior, J. C., D. Salmon, D. Rigaud, C. Leport, E. Bouvet, P. Detruchis, et al. (1991). "Resting energy expenditure is increased in stable, malnourished HIV-infected patients." *Am J Clin Nutr* **53**(2): 437-441.

Menard, A., L. Meddeb, H. Tissot-Dupont, I. Ravaux, C. Dhiver, S. Mokhtari, et al. (2017). "Dolutegravir and weight gain: an unexpected bothering side effect?" *Aids* **31**(10): 1499-1500.

Merrick, D., A. Sakers, Z. Irgebay, C. Okada, C. Calvert, M. P. Morley, et al. (2019). "Identification of a mesenchymal progenitor cell hierarchy in adipose tissue." *Science* **364**(6438).

Mesquita, A., M. Weinberger, A. Silva, B. Sampaio-Marques, B. Almeida, C. Leao, et al. (2010). "Caloric restriction or catalase inactivation extends yeast chronological lifespan by inducing H2O2 and superoxide dismutase activity." *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**(34): 15123-15128.

- Meza-Perez, S. and T. D. Randall (2017). "Immunological Functions of the Omentum." *Trends Immunol* **38**(7): 526-536.
- Michaud, A., M. M. Boulet, A. Veilleux, S. Noel, G. Paris and A. Tchernof (2014). "Abdominal subcutaneous and omental adipocyte morphology and its relation to gene expression, lipolysis and adipocytokine levels in women." *Metabolism* **63**(3): 372-381.
- Michaud, V., T. Bar-Magen, J. Turgeon, D. Flockhart, Z. Desta and M. A. Wainberg (2012). "The dual role of pharmacogenetics in HIV treatment: mutations and polymorphisms regulating antiretroviral drug resistance and disposition." *Pharmacol Rev* **64**(3): 803-833.
- Mikhed, Y., A. Daiber and S. Steven (2015). "Mitochondrial Oxidative Stress, Mitochondrial DNA Damage and Their Role in Age-Related Vascular Dysfunction." *Int J Mol Sci* **16**(7): 15918-15953.
- Milinkovic, A., F. Berger, A. Arenas-Pinto and S. Mauss (2019). "Reversible effect on lipids by switching from tenofovir disoproxil fumarate to tenofovir alafenamide and back." *AIDS* **33**(15): 2387-2391.
- Miller, J., A. Carr, S. Emery, M. Law, S. Mallal, D. Baker, et al. (2003). "HIV lipodystrophy: prevalence, severity and correlates of risk in Australia." *HIV Med* **4**(3): 293-301.
- Miller, K. D., E. Jones, J. A. Yanovski, R. Shankar, I. Feuerstein and J. Falloon (1998). "Visceral abdominal-fat accumulation associated with use of indinavir." *Lancet* **351**(9106): 871-875.
- Min, X., J. Wen, L. Zhao, K. Wang, Q. Li, G. Huang, et al. (2018). "Role of hepatoma-derived growth factor in promoting de novo lipogenesis and tumorigenesis in hepatocellular carcinoma." *Mol Oncol* **12**(9): 1480-1497.
- Minami, R., M. Yamamoto, S. Takahama, H. Ando, T. Miyamura and E. Suematsu (2011). "Comparison of the influence of four classes of HIV antiretrovirals on adipogenic differentiation: the minimal effect of raltegravir and atazanavir." *J Infect Chemother* **17**(2): 183-188.
- Minamino, T., M. Orimo, I. Shimizu, T. Kunieda, M. Yokoyama, T. Ito, et al. (2009). "A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance." *Nat Med* **15**(9): 1082-1087.
- Mithieux, S. M. and A. S. Weiss (2005). "Elastin." *Adv Protein Chem* **70**: 437-461.
- Mizushima, N., B. Levine, A. M. Cuervo and D. J. Klionsky (2008). "Autophagy fights disease through cellular self-digestion." *Nature* **451**(7182): 1069-1075.
- Mohseni Ahooyi, T., M. Shekarabi, B. Torkzaban, T. D. Langford, T. H. Burdo, J. Gordon, et al. (2018). "Dysregulation of Neuronal Cholesterol Homeostasis upon Exposure to HIV-1 Tat and Cocaine Revealed by RNA-Sequencing." *Sci Rep* **8**(1): 16300.
- Monickaraj, F., S. Aravind, P. Nandhini, P. Prabu, C. Sathishkumar, V. Mohan, et al. (2013). "Accelerated fat cell aging links oxidative stress and insulin resistance in adipocytes." *J Biosci* **38**(1): 113-122.
- Monini, P., A. Cafaro, I. K. Srivastava, S. Moretti, V. A. Sharma, C. Andreini, et al. (2012). "HIV-1 tat promotes integrin-mediated HIV transmission to dendritic cells by binding Env spikes and competes neutralization by anti-HIV antibodies." *PLoS One* **7**(11): e48781.
- Moon, H. S. and J. S. Yang (2006). "Role of HIV Vpr as a regulator of apoptosis and an effector on bystander cells." *Mol Cells* **21**(1): 7-20.
- Moreno-Aliaga, M. J. and F. Villarroya (2020). "Nutritional and metabolic regulation of brown and beige adipose tissues." *J Physiol Biochem* **76**(2): 181-184.
- Mori, M. A., P. Raghavan, T. Thomou, J. Boucher, S. Robida-Stubbs, Y. Macotela, et al. (2012). "Role of microRNA processing in adipose tissue in stress defense and longevity." *Cell Metab* **16**(3): 336-347.
- Mori, M. A., T. Thomou, J. Boucher, K. Y. Lee, S. Lallukka, J. K. Kim, et al. (2014). "Altered miRNA processing disrupts brown/white adipocyte determination and associates with lipodystrophy." *J Clin Invest* **124**(8): 3339-3351.
- Moroco, J. A., J. J. Alvarado, R. P. Staudt, H. Shi, T. E. Wales, T. E. Smithgall, et al. (2018). "Remodeling of HIV-1 Nef Structure by Src-Family Kinase Binding." *J Mol Biol* **430**(3): 310-321.
- Moskalev, A. A., M. V. Shaposhnikov, E. N. Plyusnina, A. Zhavoronkov, A. Budovsky, H. Yanai, et al. (2013). "The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch-like criteria." *Ageing Res Rev* **12**(2): 661-684.
- Mosteiro, L., C. Pantoja, A. de Martino and M. Serrano (2018). "Senescence promotes in vivo reprogramming through p16(INK)(4a) and IL-6." *Aging Cell* **17**(2).
- Motoshima, H., X. Wu, M. K. Sinha, V. E. Hardy, E. L. Rosato, D. J. Barbot, et al. (2002). "Differential regulation of adiponectin secretion from cultured human omental and subcutaneous adipocytes: effects of insulin and rosiglitazone." *J Clin Endocrinol Metab* **87**(12): 5662-5667.
- Moure, R., P. Domingo, J. M. Gallego-Escuredo, J. Villarroya, M. Gutierrez Mdel, M. G. Mateo, et al. (2016). "Impact of elvitegravir on human adipocytes: Alterations in differentiation, gene expression and release of adipokines and cytokines." *Antiviral Res* **132**: 59-65.
- Moyle, G., M. Moutschen, E. Martinez, P. Domingo, G. Guaraldi, F. Raffi, et al. (2010). "Epidemiology, assessment, and management of excess abdominal fat in persons with HIV infection." *AIDS Rev* **12**(1): 3-14.
- Moyle, G. J. and D. Back (2001). "Principles and practice of HIV-protease inhibitor pharmacoenhancement." *HIV Med* **2**(2): 105-113.
- Muir, L. A., C. K. Neeley, K. A. Meyer, N. A. Baker, A. M. Brosius, A. R. Washabaugh, et al. (2016). "Adipose tissue fibrosis, hypertrophy, and hyperplasia: Correlations with diabetes in human obesity." *Obesity (Silver Spring)* **24**(3): 597-605.
- Mukhamedova, N., A. Hoang, D. Dragoljevic, L. Dubrovsky, T. Pushkarsky, H. Low, et al. (2019). "Exosomes containing HIV protein Nef reorganize lipid rafts potentiating inflammatory response in bystander cells." *PLoS Pathog* **15**(7): e1007907.
- Muratori, C., L. E. Cavallin, K. Kratzel, A. Tinari, A. De Milito, S. Fais, et al. (2009). "Massive secretion by T cells is caused by HIV Nef in infected cells and by Nef transfer to bystander cells." *Cell Host Microbe* **6**(3): 218-230.
- Naaz, A., D. R. Holsberger, G. A. Iwamoto, A. Nelson, H. Kiyokawa and P. S. Cooke (2004). "Loss of cyclin-dependent kinase inhibitors produces adipocyte hyperplasia and obesity." *FASEB J* **18**(15): 1925-1927.
- Nacarelli, T., A. Azar and C. Sell (2016). "Mitochondrial stress induces cellular senescence in an mTORC1-dependent manner." *Free Radic Biol Med* **95**: 133-154.
- Nakano, Y., T. Tobe, N. H. Choi-Miura, T. Mazda and M. Tomita (1996). "Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma." *J Biochem* **120**(4): 803-812.

- Nansseu, J. R., J. J. Bigna, A. D. Kaze and J. J. Noubiap (2018). "Incidence and Risk Factors for Prediabetes and Diabetes Mellitus Among HIV-infected Adults on Antiretroviral Therapy: A Systematic Review and Meta-analysis." *Epidemiology* **29**(3): 431-441.
- Napolitano, L. (1963). "The Differentiation of White Adipose Cells. An Electron Microscope Study." *J Cell Biol* **18**: 663-679.
- Nardacci, R., F. Ciccosanti, C. Marsella, G. Ippolito, M. Piacentini and G. M. Fimia (2017). "Role of autophagy in HIV infection and pathogenesis." *J Intern Med* **281**(5): 422-432.
- Nasi, M., S. De Biasi, L. Gibellini, E. Bianchini, S. Pecorini, V. Bacca, et al. (2017). "Ageing and inflammation in patients with HIV infection." *Clin Exp Immunol* **187**(1): 44-52.
- Ndung'u, T., J. M. McCune and S. G. Deeks (2019). "Why and where an HIV cure is needed and how it might be achieved." *Nature* **576**(7787): 397-405.
- Nelson, J. A., J. Krishnamurthy, P. Menezes, Y. Liu, M. G. Hudgens, N. E. Sharpless, et al. (2012). "Expression of p16(INK4a) as a biomarker of T-cell aging in HIV-infected patients prior to and during antiretroviral therapy." *Aging Cell* **11**(5): 916-918.
- Newsholme, P. and P. I. de Bittencourt, Jr. (2014). "The fat cell senescence hypothesis: a mechanism responsible for abrogating the resolution of inflammation in chronic disease." *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **17**(4): 295-305.
- Nguyen, M. T., H. Satoh, S. Favelyukis, J. L. Babendure, T. Imamura, J. I. Sbodio, et al. (2005). "JNK and tumor necrosis factor-alpha mediate free fatty acid-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes." *J Biol Chem* **280**(42): 35361-35371.
- Nishimura, S., I. Manabe, M. Nagasaki, K. Eto, H. Yamashita, M. Ohsugi, et al. (2009). "CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity." *Nat Med* **15**(8): 914-920.
- Noel, N., A. Saez-Cirion, V. Avettand-Fenoel, F. Boufassa and O. Lambotte (2019). "HIV controllers: to treat or not to treat? Is that the right question?" *Lancet HIV* **6**(12): e878-e884.
- Nordell, A. D., M. McKenna, A. H. Borges, D. Duprez, J. Neuhaus, J. D. Neaton, et al. (2014). "Severity of cardiovascular disease outcomes among patients with HIV is related to markers of inflammation and coagulation." *J Am Heart Assoc* **3**(3): e000844.
- Noren Hooten, N., M. Fitzpatrick, W. H. Wood, 3rd, S. De, N. Ejigu, Y. Zhang, et al. (2013). "Age-related changes in microRNA levels in serum." *Aging (Albany NY)* **5**(10): 725-740.
- Norwood, J., M. Turner, C. Bofill, P. Rebeiro, B. Shepherd, S. Bebawy, et al. (2017). "Brief Report: Weight Gain in Persons With HIV Switched From Efavirenz-Based to Integrase Strand Transfer Inhibitor-Based Regimens." *J Acquir Immune Defic Syndr* **76**(5): 527-531.
- O'Hara, A., F. L. Lim, D. J. Mazzatti and P. Trayhurn (2009). "Microarray analysis identifies matrix metalloproteinases (MMPs) as key genes whose expression is up-regulated in human adipocytes by macrophage-conditioned medium." *Pflugers Arch* **458**(6): 1103-1114.
- Offor, O., N. Utay, D. Reynoso, A. Somasunderam, J. Currier and J. Lake (2018). "Adiponectin and the steatosis marker Chi3L1 decrease following switch to raltegravir compared to continued PI/NNRTI-based antiretroviral therapy." *PLoS One* **13**(5): e0196395.
- Ogbuagu, O. P., D. Salazar, LC. Henry, K. Asmuth, DM. Wohl, D. Gilson, R. Shao, Y. Ebrahimi, R. Carter, C. Das, M. McCallister, S. Brunetta, JM. Kronborg, G. Spinner, CD. (2020). LONGER-TERM SAFETY OF F/TAF AND F/TDF FOR HIV PrEP: DISCOVER TRIAL WEEK-96 RESULTS. *CROI 2020*. Boston, USA.
- Oh, D. Y., S. Talukdar, E. J. Bae, T. Imamura, H. Morinaga, W. Fan, et al. (2010). "GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects." *Cell* **142**(5): 687-698.
- Ohashi, K., J. L. Parker, N. Ouchi, A. Higuchi, J. A. Vita, N. Gokce, et al. (2010). "Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype." *J Biol Chem* **285**(9): 6153-6160.
- Okuno, Y., A. Fukuhara, E. Hashimoto, H. Kobayashi, S. Kobayashi, M. Otsuki, et al. (2018). "Oxidative Stress Inhibits Healthy Adipose Expansion Through Suppression of SREBF1-Mediated Lipogenic Pathway." *Diabetes* **67**(6): 1113-1127.
- Onen, N. F., A. Agbabi, E. Shacham, K. E. Stamm, A. R. Onen and E. T. Overton (2009). "Frailty among HIV-infected persons in an urban outpatient care setting." *J Infect* **59**(5): 346-352.
- Onken, B. and M. Driscoll (2010). "Metformin induces a dietary restriction-like state and the oxidative stress response to extend *C. elegans* Healthspan via AMPK, LKB1, and SKN-1." *PLoS One* **5**(1): e8758.
- Organization, W. H. (2019). "Update of recommendations on first- and second-line antiretroviral regimens. HIV treatment. Geneva, Switzerland: World Health Organization. WHO/CDS/HIV/19.15. 2019." from <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325892/WHO-CDS-HIV-19.15-eng.pdf>.
- Otake, K., S. Omoto, T. Yamamoto, H. Okuyama, H. Okada, N. Okada, et al. (2004). "HIV-1 Nef protein in the nucleus influences adipogenesis as well as viral transcription through the peroxisome proliferator-activated receptors." *AIDS* **18**(2): 189-198.
- Otani, M., M. Yamamoto, M. Harada and M. Otsuki (2010). "Effect of long- and short-term treatments with pravastatin on diabetes mellitus and pancreatic fibrosis in the Otsuka-Long-Evans-Tokushima fatty rat." *Br J Pharmacol* **159**(2): 462-473.
- Ouchi, N., J. L. Parker, J. J. Lugus and K. Walsh (2011). "Adipokines in inflammation and metabolic disease." *Nat Rev Immunol* **11**(2): 85-97.
- Palmer, A. K., M. Xu, Y. Zhu, T. Pirtsikhala, M. M. Weivoda, C. M. Hachfeld, et al. (2019). "Targeting senescent cells alleviates obesity-induced metabolic dysfunction." *Aging Cell* **18**(3): e12950.
- Palmer, B. E., N. Blyveis, A. P. Fontenot and C. C. Wilson (2005). "Functional and phenotypic characterization of CD57+CD4+ T cells and their association with HIV-1-induced T cell dysfunction." *J Immunol* **175**(12): 8415-8423.
- Pan, Z., Z. Zhou, H. Zhang, H. Zhao, P. Song, D. Wang, et al. (2019). "CD90 serves as differential modulator of subcutaneous and visceral adipose-derived stem cells by regulating AKT activation that influences adipose tissue and metabolic homeostasis." *Stem Cell Res Ther* **10**(1): 355.
- Panettiere, P., D. Accorsi, L. Marchetti, A. M. Minicozzi, G. Orsini, P. Bernardi, et al. (2011). "The trochanteric fat pad." *Eur J Histochem* **55**(2): e16.
- Papismadov, N., H. Gal and V. Krizhanovsky (2017). "The anti-aging promise of p21." *Cell Cycle* **16**(21): 1997-1998.

- Park, C. B. and N. G. Larsson (2011). "Mitochondrial DNA mutations in disease and aging." *J Cell Biol* **193**(5): 809-818.
- Parsons, M. S., R. Le Grand and S. J. Kent (2018). "Neutralizing Antibody-Based Prevention of Cell-Associated HIV-1 Infection." *Viruses* **10**(6).
- Pasarica, M., B. Gowronska-Kozak, D. Burk, I. Remedios, D. Hymel, J. Gimble, et al. (2009). "Adipose tissue collagen VI in obesity." *J Clin Endocrinol Metab* **94**(12): 5155-5162.
- Pathai, S., H. Bajillan, A. L. Landay and K. P. High (2014). "Is HIV a model of accelerated or accentuated aging?" *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **69**(7): 833-842.
- Patni, N. and A. Garg (2015). "Congenital generalized lipodystrophies--new insights into metabolic dysfunction." *Nat Rev Endocrinol* **11**(9): 522-534.
- Payne, B. A., I. J. Wilson, C. A. Hateley, R. Horvath, M. Santibanez-Koref, D. C. Samuels, et al. (2011). "Mitochondrial aging is accelerated by anti-retroviral therapy through the clonal expansion of mtDNA mutations." *Nat Genet* **43**(8): 806-810.
- Pedersen, B. K. (2007). "IL-6 signalling in exercise and disease." *Biochem Soc Trans* **35**(Pt 5): 1295-1297.
- Pellegrinelli, V., S. Carobbio and A. Vidal-Puig (2016). "Adipose tissue plasticity: how fat depots respond differently to pathophysiological cues." *Diabetologia* **59**(6): 1075-1088.
- Pellegrinelli, V., J. Heuvingh, O. du Roure, C. Rouault, A. Devulder, C. Klein, et al. (2014). "Human adipocyte function is impacted by mechanical cues." *J Pathol* **233**(2): 183-195.
- Pereira, E. A. and L. L. daSilva (2016). "HIV-1 Nef: Taking Control of Protein Trafficking." *Traffic* **17**(9): 976-996.
- Perez-Matute, P., L. Perez-Martinez, J. R. Blanco and J. A. Oteo (2011). "Neutral actions of Raltegravir on adipogenesis, glucose metabolism and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes." *Curr HIV Res* **9**(3): 174-179.
- Perez-Matute, P., L. Perez-Martinez, J. R. Blanco and J. A. Oteo (2012). "Minimal effects of Darunavir on adipocyte differentiation and metabolism in 3T3-L1 cells." *J Infect Chemother* **18**(4): 485-493.
- Perl, A. and K. Banki (2000). "Genetic and metabolic control of the mitochondrial transmembrane potential and reactive oxygen intermediate production in HIV disease." *Antioxid Redox Signal* **2**(3): 551-573.
- Perry, S. W., J. P. Norman, A. Litzburg, D. Zhang, S. Dewhurst and H. A. Gelbard (2005). "HIV-1 transactivator of transcription protein induces mitochondrial hyperpolarization and synaptic stress leading to apoptosis." *J Immunol* **174**(7): 4333-4344.
- Petersen, M. C. and G. I. Shulman (2018). "Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance." *Physiol Rev* **98**(4): 2133-2223.
- Petrakis, V., P. Panagopoulos, S. Papachristou, N. Papanas, I. Terzi, G. Trypsianis, et al. (2020). "Tenovir Alafenamide Fumarate Therapy for HIV Treatment: Cardiometabolic and Renal Safety." *AIDS Res Hum Retroviruses*.
- Petrovic, N., T. B. Walden, I. G. Shabalina, J. A. Timmons, B. Cannon and J. Nedergaard (2010). "Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes." *J Biol Chem* **285**(10): 7153-7164.
- Pierleoni, C., F. Verdenelli, M. Castellucci and S. Cinti (1998). "Fibronectins and basal lamina molecules expression in human subcutaneous white adipose tissue." *Eur J Histochem* **42**(3): 183-188.
- Pincu, Y., H. D. Huntsman, K. Zou, M. De Lisio, Z. S. Mahmassani, M. R. Munroe, et al. (2016). "Diet-induced obesity regulates adipose-resident stromal cell quantity and extracellular matrix gene expression." *Stem Cell Res* **17**(1): 181-190.
- Pincus, Z., T. Smith-Vikos and F. J. Slack (2011). "MicroRNA predictors of longevity in *Caenorhabditis elegans*." *PLoS Genet* **7**(9): e1002306.
- Pinto, M., A. M. Pickrell, X. Wang, S. R. Bacman, A. Yu, A. Hida, et al. (2017). "Transient mitochondrial DNA double strand breaks in mice cause accelerated aging phenotypes in a ROS-dependent but p53/p21-independent manner." *Cell Death Differ* **24**(2): 288-299.
- Pinzone, M. R., B. Cacopardo, F. Condorelli, M. Di Rosa and G. Nunnari (2013). "Sirtuin-1 and HIV-1: an overview." *Curr Drug Targets* **14**(6): 648-652.
- Pizzino, G., N. Irrera, M. Cucinotta, G. Pallio, F. Mannino, V. Arcoraci, et al. (2017). "Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health." *Oxid Med Cell Longev* **2017**: 8416763.
- Poggi, A. and M. R. Zocchi (2006). "HIV-1 Tat triggers TGF-beta production and NK cell apoptosis that is prevented by pertussis toxin B." *Clin Dev Immunol* **13**(2-4): 369-372.
- Ponia, S. S., S. Arora, B. Kumar and A. C. Banerjea (2013). "Arginine rich short linear motif of HIV-1 regulatory proteins inhibits dicer dependent RNA interference." *Retrovirology* **10**: 97.
- Potente, M., H. Gerhardt and P. Carmeliet (2011). "Basic and therapeutic aspects of angiogenesis." *Cell* **146**(6): 873-887.
- Powell, J. A., Jr. and S. A. Mousa (2007). "Neutrophil-activating protein-2- and interleukin-8-mediated angiogenesis." *J Cell Biochem* **102**(2): 412-420.
- Pradhan, A. D., J. E. Manson, N. Rifai, J. E. Buring and P. M. Ridker (2001). "C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus." *JAMA* **286**(3): 327-334.
- Price, T. O., N. Ercal, R. Nakaoke and W. A. Banks (2005). "HIV-1 viral proteins gp120 and Tat induce oxidative stress in brain endothelial cells." *Brain Res* **1045**(1-2): 57-63.
- Prokofjeva, M. M., S. N. Kochetkov and V. S. Prassolov (2016). "Therapy of HIV Infection: Current Approaches and Prospects." *Acta Naturae* **8**(4): 23-32.
- Prost, S., M. Le Dantec, S. Auge, R. Le Grand, S. Derdouch, G. Auregan, et al. (2008). "Human and simian immunodeficiency viruses deregulate early hematopoiesis through a Nef/PPAR $\gamma$ /STAT5 signaling pathway in macaques." *J Clin Invest* **118**(5): 1765-1775.
- Puissant, B., C. Barreau, P. Bourin, C. Clavel, J. Corre, C. Bousquet, et al. (2005). "Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells." *Br J Haematol* **129**(1): 118-129.
- Raajendiran, A., G. Ooi, J. Bayliss, P. E. O'Brien, R. B. Schittenhelm, A. K. Clark, et al. (2019). "Identification of Metabolically Distinct Adipocyte Progenitor Cells in Human Adipose Tissues." *Cell Rep* **27**(5): 1528-1540 e1527.
- Rasmussen, L. D., E. R. Mathiesen, G. Kronborg, C. Pedersen, J. Gerstoft and N. Obel (2012). "Risk of diabetes mellitus in persons with and without HIV: a Danish nationwide population-based cohort study." *PLoS One* **7**(9): e44575.

Rasmussen, L. D., M. T. May, G. Kronborg, C. S. Larsen, C. Pedersen, J. Gerstoft, et al. (2015). "Time trends for risk of severe age-related diseases in individuals with and without HIV infection in Denmark: a nationwide population-based cohort study." *Lancet HIV* **2**(7): e288-298.

Raymond, A. D., T. C. Campbell-Sims, M. Khan, M. Lang, M. B. Huang, V. C. Bond, et al. (2011). "HIV Type 1 Nef is released from infected cells in CD45(+) microvesicles and is present in the plasma of HIV-infected individuals." *AIDS Res Hum Retroviruses* **27**(2): 167-178.

Rayne, F., S. Debaisieux, A. Bonhoure and B. Beaumelle (2010). "HIV-1 Tat is unconventionally secreted through the plasma membrane." *Cell Biol Int* **34**(4): 409-413.

Rayne, F., S. Debaisieux, H. Yezid, Y. L. Lin, C. Mettling, K. Konate, et al. (2010). "Phosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphate enables efficient secretion of HIV-1 Tat by infected T-cells." *EMBO J* **29**(8): 1348-1362.

Razdan, N., T. Vasilopoulos and U. Herbig (2018). "Telomere dysfunction promotes transdifferentiation of human fibroblasts into myofibroblasts." *Aging Cell* **17**(6): e12838.

Rebelo, C. J., J. P. Kirwan and F. L. Greenway (2020). "Obesity, the most common comorbidity in SARS-CoV-2: is leptin the link?" *Int J Obes (Lond)* **44**(9): 1810-1817.

Regazzetti, C., P. Peraldi, T. Gremiaux, R. Najem-Lendom, I. Ben-Sahra, M. Cormont, et al. (2009). "Hypoxia decreases insulin signaling pathways in adipocytes." *Diabetes* **58**(1): 95-103.

Reilly, S. M. and A. R. Saltiel (2017). "Adapting to obesity with adipose tissue inflammation." *Nat Rev Endocrinol* **13**(11): 633-643.

Reimann, K. A., R. A. Parker, M. S. Seaman, K. Beaudry, M. Beddall, L. Peterson, et al. (2005). "Pathogenicity of simian-human immunodeficiency virus SHIV-89.6P and SIVmac is attenuated in cynomolgus macaques and associated with early T-lymphocyte responses." *J Virol* **79**(14): 8878-8885.

Reis, F. C., J. L. Branquinho, B. B. Brandao, B. A. Guerra, I. D. Silva, A. Frontini, et al. (2016). "Fat-specific Dicer deficiency accelerates aging and mitigates several effects of dietary restriction in mice." *Aging (Albany NY)* **8**(6): 1201-1222.

Reynes, J., R. Trinh, F. Pulido, R. Soto-Malave, J. Gathe, R. Qaqish, et al. (2013). "Lopinavir/ritonavir combined with raltegravir or tenofovir/emtricitabine in antiretroviral-naive subjects: 96-week results of the PROGRESS study." *AIDS Res Hum Retroviruses* **29**(2): 256-265.

Reynoso, R., M. Wieser, D. Ojeda, M. Bonisch, H. Kuhnel, F. Bolcic, et al. (2012). "HIV-1 induces telomerase activity in monocyte-derived macrophages, possibly safeguarding one of its reservoirs." *J Virol* **86**(19): 10327-10337.

Ribeiro, S. P., J. M. Milush, E. Cunha-Neto, E. G. Kallas, J. Kalil, L. F. D. Passero, et al. (2016). "p16INK4a Expression and Immunologic Aging in Chronic HIV Infection." *PLoS One* **11**(11): e0166759.

Ribera, E., M. Larrousse, A. Curran, E. Negredo, B. Clotet, V. Estrada, et al. (2013). "Impact of switching from zidovudine/lamivudine to tenofovir/emtricitabine on lipodystrophy: the RECOMB study." *HIV Med* **14**(6): 327-336.

Richard, J., T. N. Pham, Y. Ishizaka and E. A. Cohen (2013). "Viral protein R upregulates expression of ULBP2 on uninfected bystander cells during HIV-1 infection of primary CD4+ T lymphocytes." *Virology* **443**(2): 248-256.

Richard, J., S. Sindhu, T. N. Pham, J. P. Belzile and E. A. Cohen (2010). "HIV-1 Vpr up-regulates expression of ligands for the activating NKG2D receptor and promotes NK cell-mediated killing." *Blood* **115**(7): 1354-1363.

Ritter, A., N. N. Kreis, F. Louwen and J. Yuan (2020). "Obesity and COVID-19: Molecular Mechanisms Linking Both Pandemics." *Int J Mol Sci* **21**(16).

Rivera, S., W. Briggs, D. Qian and F. R. Sattler (1998). "Levels of HIV RNA are quantitatively related to prior weight loss in HIV-associated wasting." *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* **17**(5): 411-418.

Rocha, N., D. A. Bulger, A. Frontini, H. Titheradge, S. B. Gribsholt, R. Knox, et al. (2017). "Human biallelic MFN2 mutations induce mitochondrial dysfunction, upper body adipose hyperplasia, and suppression of leptin expression." *Elife* **6**.

Rochford, J. J. (2010). "Molecular mechanisms controlling human adipose tissue development: insights from monogenic lipodystrophies." *Expert Rev Mol Med* **12**: e24.

Rodeheffer, M. S., K. Birsoy and J. M. Friedman (2008). "Identification of white adipocyte progenitor cells in vivo." *Cell* **135**(2): 240-249.

Rodier, F. and J. Campisi (2011). "Four faces of cellular senescence." *J Cell Biol* **192**(4): 547-556.

Rolston, K. V. and G. P. Bodey (1986). "Acquired immunodeficiency syndrome." *Semin Surg Oncol* **2**(2): 53-71.

Rose, K. M., M. Marin, S. L. Kozak and D. Kabat (2004). "The viral infectivity factor (Vif) of HIV-1 unveiled." *Trends Mol Med* **10**(6): 291-297.

Rosen, E. D., C. H. Hsu, X. Wang, S. Sakai, M. W. Freeman, F. J. Gonzalez, et al. (2002). "C/EBPalpha induces adipogenesis through PPARgamma: a unified pathway." *Genes Dev* **16**(1): 22-26.

Rosen, E. D. and B. M. Spiegelman (2014). "What we talk about when we talk about fat." *Cell* **156**(1-2): 20-44.

Rosenwald, M., A. Perdikari, T. Rulicke and C. Wolfrum (2013). "Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes." *Nat Cell Biol* **15**(6): 659-667.

Ross, T. M., A. E. Oran and B. R. Cullen (1999). "Inhibition of HIV-1 progeny virion release by cell-surface CD4 is relieved by expression of the viral Nef protein." *Curr Biol* **9**(12): 613-621.

Rossi, D. J., D. Bryder, J. Seita, A. Nussenzweig, J. Hoeijmakers and I. L. Weissman (2007). "Deficiencies in DNA damage repair limit the function of hematopoietic stem cells with age." *Nature* **447**(7145): 725-729.

Rozzi, S. J., V. Avdoshina, J. A. Fields, M. Trejo, H. T. Ton, G. P. Ahern, et al. (2017). "Human Immunodeficiency Virus Promotes Mitochondrial Toxicity." *Neurotox Res* **32**(4): 723-733.

Ruan, H. and H. F. Lodish (2003). "Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor-alpha." *Cytokine Growth Factor Rev* **14**(5): 447-455.

Ruane, P. J., E. DeJesus, D. Berger, M. Markowitz, U. F. Bredeek, C. Callebaut, et al. (2013). "Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of tenofovir alafenamide as 10-day monotherapy in HIV-1-positive adults." *J Acquir Immune Defic Syndr* **63**(4): 449-455.

Rudich, A., D. Konrad, D. Torok, R. Ben-Romano, C. Huang, W. Niu, et al. (2003). "Indinavir uncovers different contributions of GLUT4 and GLUT1 towards glucose uptake in muscle and fat cells and tissues." *Diabetologia* **46**(5): 649-658.

Rui, L. (2017). "Brown and Beige Adipose Tissues in Health and Disease." *Compr Physiol* **7**(4): 1281-1306.

- Russo, V., C. Yu, P. Belliveau, A. Hamilton and L. E. Flynn (2014). "Comparison of human adipose-derived stem cells isolated from subcutaneous, omental, and intrathoracic adipose tissue depots for regenerative applications." *Stem Cells Transl Med* **3**(2): 206-217.
- Ryan, P. M. and N. M. Caplice (2020). "Is Adipose Tissue a Reservoir for Viral Spread, Immune Activation, and Cytokine Amplification in Coronavirus Disease 2019?" *Obesity (Silver Spring)* **28**(7): 1191-1194.
- Rychert, J., D. Strick, S. Bazner, J. Robinson and E. Rosenberg (2010). "Detection of HIV gp120 in plasma during early HIV infection is associated with increased proinflammatory and immunoregulatory cytokines." *AIDS Res Hum Retroviruses* **26**(10): 1139-1145.
- Ryden, M., H. Gao and P. Arner (2020). "Influence of Aging and Menstrual Status on Subcutaneous Fat Cell Lipolysis." *J Clin Endocrinol Metab* **105**(4).
- Ryo, M., T. Nakamura, S. Kihara, M. Kumada, S. Shibasaki, M. Takahashi, et al. (2004). "Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome." *Circ J* **68**(11): 975-981.
- Saillan-Barreau, C., B. Cousin, M. Andre, P. Villena, L. Casteilla and L. Penicaud (2003). "Human adipose cells as candidates in defense and tissue remodeling phenomena." *Biochem Biophys Res Commun* **309**(3): 502-505.
- Saltiel, A. R. and C. R. Kahn (2001). "Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism." *Nature* **414**(6865): 799-806.
- Sami Saribas, A., S. Cicalese, T. M. Ahooyi, K. Khalili, S. Amini and I. K. Sariyer (2017). "HIV-1 Nef is released in extracellular vesicles derived from astrocytes: evidence for Nef-mediated neurotoxicity." *Cell Death Dis* **8**(1): e2542.
- Santos, J. R., M. Saumoy, A. Curran, I. Bravo, J. M. Llibre, J. Navarro, et al. (2015). "The lipid-lowering effect of tenofovir/emtricitabine: a randomized, crossover, double-blind, placebo-controlled trial." *Clin Infect Dis* **61**(3): 403-408.
- Santos-Alvarez, J., R. Goberna and V. Sanchez-Margalef (1999). "Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes." *Cell Immunol* **194**(1): 6-11.
- Sarjeant, K. and J. M. Stephens (2012). "Adipogenesis." *Cold Spring Harb Perspect Biol* **4**(9): a008417.
- Sawaki, D., G. Czibik, M. Pini, J. Ternacle, N. Suffee, R. Mercedes, et al. (2018). "Visceral Adipose Tissue Drives Cardiac Aging Through Modulation of Fibroblast Senescence by Osteopontin Production." *Circulation* **138**(8): 809-822.
- Sax, P. E., K. M. Erlandson, J. E. Lake, G. A. McComsey, C. Orkin, S. Esser, et al. (2019). "Weight Gain Following Initiation of Antiretroviral Therapy: Risk Factors in Randomized Comparative Clinical Trials." *Clin Infect Dis*.
- Sax, P. E., A. Pozniak, M. L. Montes, E. Koenig, E. DeJesus, H. J. Stellbrink, et al. (2017). "Coformulated bictegravir, emtricitabine, and tenofovir alafenamide versus dolutegravir with emtricitabine and tenofovir alafenamide, for initial treatment of HIV-1 infection (GS-US-380-1490): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3, non-inferiority trial." *Lancet* **390**(10107): 2073-2082.
- Schafer, J. J., K. N. Sassa, J. R. O'Connor, A. Shimada, S. W. Keith and J. A. DeSimone (2019). "Changes in Body Mass Index and Atherosclerotic Disease Risk Score After Switching From Tenofovir Disoproxil Fumarate to Tenofovir Alafenamide." *Open Forum Infect Dis* **6**(10): ofz414.
- Scheja, L. and J. Heeren (2019). "The endocrine function of adipose tissues in health and cardiometabolic disease." *Nat Rev Endocrinol* **15**(9): 507-524.
- Scherberich, A., N. D. Di Maggio and K. M. McNagny (2013). "A familiar stranger: CD34 expression and putative functions in SVF cells of adipose tissue." *World J Stem Cells* **5**(1): 1-8.
- Scherer, P. E., P. E. Bickel, M. Kotler and H. F. Lodish (1998). "Cloning of cell-specific secreted and surface proteins by subtractive antibody screening." *Nat Biotechnol* **16**(6): 581-586.
- Scherer, P. E., S. Williams, M. Fogliano, G. Baldini and H. F. Lodish (1995). "A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes." *J Biol Chem* **270**(45): 26746-26749.
- Scherzer, R., S. B. Heymsfield, D. Lee, W. G. Powderly, P. C. Tien, P. Bacchetti, et al. (2011). "Decreased limb muscle and increased central adiposity are associated with 5-year all-cause mortality in HIV infection." *AIDS* **25**(11): 1405-1414.
- Schoettl, T., I. P. Fischer and S. Ussar (2018). "Heterogeneity of adipose tissue in development and metabolic function." *J Exp Biol* **221**(Pt Suppl 1).
- Schwartz, O., V. Marechal, S. Le Gall, F. Lemonnier and J. M. Heard (1996). "Endocytosis of major histocompatibility complex class I molecules is induced by the HIV-1 Nef protein." *Nat Med* **2**(3): 338-342.
- Schwarze-Zander, C., H. Piduhn, C. Boesecke, S. Schlabe, B. Stoffel-Wagner, J. C. Wasmuth, et al. (2020). "Switching tenofovir disoproxil fumarate to tenofovir alafenamide in a real life setting: what are the implications?" *HIV Med* **21**(6): 378-385.
- Seale, P., B. Bjork, W. Yang, S. Kajimura, S. Chin, S. Kuang, et al. (2008). "PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch." *Nature* **454**(7207): 961-967.
- Seale, P., S. Kajimura, W. Yang, S. Chin, L. M. Rohas, M. Uldry, et al. (2007). "Transcriptional control of brown fat determination by PRDM16." *Cell Metab* **6**(1): 38-54.
- Sechi, M., A. Bacchi, M. Carcelli, C. Compari, E. Duce, E. Fisicaro, et al. (2006). "From ligand to complexes: inhibition of human immunodeficiency virus type 1 integrase by beta-diketo acid metal complexes." *J Med Chem* **49**(14): 4248-4260.
- Sekiya, M., N. Yahagi, T. Matsuzaka, Y. Takeuchi, Y. Nakagawa, H. Takahashi, et al. (2007). "SREBP-1-independent regulation of lipogenic gene expression in adipocytes." *J Lipid Res* **48**(7): 1581-1591.
- Sengenes, C., K. Lolmede, A. Zakaroff-Girard, R. Busse and A. Bouloumie (2005). "Preadipocytes in the human subcutaneous adipose tissue display distinct features from the adult mesenchymal and hematopoietic stem cells." *J Cell Physiol* **205**(1): 114-122.
- Sepe, A., T. Tchkonia, T. Thomou, M. Zamboni and J. L. Kirkland (2011). "Aging and regional differences in fat cell progenitors - a mini-review." *Gerontology* **57**(1): 66-75.
- Shan, T., J. Liu, W. Wu, Z. Xu and Y. Wang (2017). "Roles of Notch Signaling in Adipocyte Progenitor Cells and Mature Adipocytes." *J Cell Physiol* **232**(6): 1258-1261.
- Sharp, P. M. and B. H. Hahn (2011). "Origins of HIV and the AIDS pandemic." *Cold Spring Harb Perspect Med* **1**(1): a006841.
- Sharpstone, D. R., C. P. Murray, H. M. Ross, M. R. Hancock, M. S. Phelan, R. C. Crane, et al. (1996). "Energy balance in asymptomatic HIV infection." *Aids* **10**(12): 1377-1384.

- Shen, W., Z. Wang, M. Punyanita, J. Lei, A. Sinav, J. G. Kral, et al. (2003). "Adipose tissue quantification by imaging methods: a proposed classification." *Obes Res* **11**(1): 5-16.
- Shikuma, C. M., L. M. Gangcuango, D. A. Killebrew, D. E. Libutti, D. C. Chow, B. K. Nakamoto, et al. (2014). "The role of HIV and monocytes/macrophages in adipose tissue biology." *J Acquir Immune Defic Syndr* **65**(2): 151-159.
- Shikuma, C. M., N. Hu, C. Milne, F. Yost, C. Waslien, S. Shimizu, et al. (2001). "Mitochondrial DNA decrease in subcutaneous adipose tissue of HIV-infected individuals with peripheral lipodystrophy." *AIDS* **15**(14): 1801-1809.
- Shimojo, N., R. Hashizume, K. Kanayama, M. Hara, Y. Suzuki, T. Nishioka, et al. (2015). "Tenascin-C may accelerate cardiac fibrosis by activating macrophages via the integrin alphaVbeta3/nuclear factor-kappaB/interleukin-6 axis." *Hypertension* **66**(4): 757-766.
- Shree, N. and R. R. Bhonde (2016). "Metformin preconditioned adipose derived mesenchymal stem cells is a better option for the reversal of diabetes upon transplantation." *Biomed Pharmacother* **84**: 1662-1667.
- Shrivastav, S., T. Kino, T. Cunningham, T. Ichijo, U. Schubert, P. Heinklein, et al. (2008). "Human immunodeficiency virus (HIV)-1 viral protein R suppresses transcriptional activity of peroxisome proliferator-activated receptor {gamma} and inhibits adipocyte differentiation: implications for HIV-associated lipodystrophy." *Mol Endocrinol* **22**(2): 234-247.
- Shun, M. C., N. K. Raghavendra, N. Vandegraaff, J. E. Daigle, S. Hughes, P. Kellam, et al. (2007). "LEDGF/p75 functions downstream from preintegration complex formation to effect gene-specific HIV-1 integration." *Genes Dev* **21**(14): 1767-1778.
- Sil, S., G. Hu, K. Liao, F. Niu, S. Callen, P. Periyasamy, et al. (2020). "HIV-1 Tat-mediated astrocytic amyloidosis involves the HIF-1alpha/lncRNA BACE1-AS axis." *PLoS Biol* **18**(5): e3000660.
- Simmons, A., V. Aluvihare and A. McMichael (2001). "Nef triggers a transcriptional program in T cells imitating single-signal T cell activation and inducing HIV virulence mediators." *Immunity* **14**(6): 763-777.
- Simon, V. and D. D. Ho (2003). "HIV-1 dynamics in vivo: implications for therapy." *Nat Rev Microbiol* **1**(3): 181-190.
- Singh, G., U. C. Pachouri, D. C. Khadem, A. Kundu, C. Chopra and P. Singh (2015). "Mitochondrial DNA Damage and Diseases." *F1000Res* **4**: 176.
- Singhal, P. K., P. Rajendra Kumar, M. R. Subba Rao and S. Mahalingam (2006). "Nuclear export of simian immunodeficiency virus Vpx protein." *J Virol* **80**(24): 12271-12282.
- Sjostrom, L., A. K. Lindroos, M. Peltonen, J. Torgerson, C. Bouchard, B. Carlsson, et al. (2004). "Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery." *N Engl J Med* **351**(26): 2683-2693.
- Smas, C. M. and H. S. Sul (1993). "Pref-1, a protein containing EGF-like repeats, inhibits adipocyte differentiation." *Cell* **73**(4): 725-734.
- Smith, P. D., G. Meng, J. F. Salazar-Gonzalez and G. M. Shaw (2003). "Macrophage HIV-1 infection and the gastrointestinal tract reservoir." *J Leukoc Biol* **74**(5): 642-649.
- Sollier, C., C. Vatier, E. Capel, O. Lascols, M. Auclair, S. Janmaat, et al. (2020). "Lipodystrophic syndromes: From diagnosis to treatment." *Ann Endocrinol (Paris)* **81**(1): 51-60.
- Soriano-Sarabia, N., R. E. Bateson, N. P. Dahl, A. M. Crooks, J. D. Kuruc, D. M. Margolis, et al. (2014). "Quantitation of replication-competent HIV-1 in populations of resting CD4+ T cells." *J Virol* **88**(24): 14070-14077.
- Spalding, K. L., E. Arner, P. O. Westermark, S. Bernard, B. A. Buchholz, O. Bergmann, et al. (2008). "Dynamics of fat cell turnover in humans." *Nature* **453**(7196): 783-787.
- Spencer, M., A. Yao-Borengasser, R. Unal, N. Rasouli, C. M. Gurley, B. Zhu, et al. (2010). "Adipose tissue macrophages in insulin-resistant subjects are associated with collagen VI and fibrosis and demonstrate alternative activation." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **299**(6): E1016-1027.
- Spiegelman, B. M. and C. A. Ginty (1983). "Fibronectin modulation of cell shape and lipogenic gene expression in 3T3-adipocytes." *Cell* **35**(3 Pt 2): 657-666.
- Squier, T. C. (2001). "Oxidative stress and protein aggregation during biological aging." *Exp Gerontol* **36**(9): 1539-1550.
- Srinivasa, S., K. V. Fitch, M. Torriani, M. V. Zanni, C. Defilippi, R. Christenson, et al. (2018). "Relationship of visceral and subcutaneous adipose depots to markers of arterial injury and inflammation among individuals with HIV." *Aids*.
- Srinivasa, S., M. Torriani, K. V. Fitch, P. Maehler, S. Iyengar, M. Feldpausch, et al. (2019). "Brief Report: Adipogenic Expression of Brown Fat Genes in HIV and HIV-Related Parameters." *J Acquir Immune Defic Syndr* **82**(5): 491-495.
- Srinivasa, S., K. Wong, K. V. Fitch, J. Wei, E. Petrow, A. M. Cypess, et al. (2015). "Effects of lifestyle modification and metformin on irisin and FGF21 among HIV-infected subjects with the metabolic syndrome." *Clin Endocrinol (Oxf)* **82**(5): 678-685.
- Stanley, T. L., M. V. Zanni, S. Johnsen, S. Rasheed, H. Makimura, H. Lee, et al. (2011). "TNF-alpha antagonism with etanercept decreases glucose and increases the proportion of high molecular weight adiponectin in obese subjects with features of the metabolic syndrome." *J Clin Endocrinol Metab* **96**(1): E146-150.
- Steinberg, G. R. (2018). "Cellular Energy Sensing and Metabolism-Implications for Treating Diabetes: The 2017 Outstanding Scientific Achievement Award Lecture." *Diabetes* **67**(2): 169-179.
- Stout, M. B., J. N. Justice, B. J. Nicklas and J. L. Kirkland (2017). "Physiological Aging: Links Among Adipose Tissue Dysfunction, Diabetes, and Frailty." *Physiology (Bethesda)* **32**(1): 9-19.
- Straczkowski, M., S. Dzienis-Straczkowska, A. Stepien, I. Kowalska, M. Szelachowska and I. Kinalska (2002). "Plasma interleukin-8 concentrations are increased in obese subjects and related to fat mass and tumor necrosis factor-alpha system." *J Clin Endocrinol Metab* **87**(10): 4602-4606.
- Strahl, C. and E. H. Blackburn (1996). "Effects of reverse transcriptase inhibitors on telomere length and telomerase activity in two immortalized human cell lines." *Mol Cell Biol* **16**(1): 53-65.
- Strissel, K. J., Z. Stancheva, H. Miyoshi, J. W. Perfield, 2nd, J. DeFuria, Z. Jick, et al. (2007). "Adipocyte death, adipose tissue remodeling, and obesity complications." *Diabetes* **56**(12): 2910-2918.
- Study of Fat, R. and H. I. V. I. Metabolic Change in (2006). "Fat distribution in women with HIV infection." *J Acquir Immune Defic Syndr* **42**(5): 562-571.
- Su, J., Y. Rui, M. Lou, L. Yin, H. Xiong, Z. Zhou, et al. (2019). "HIV-2/SIV Vpx targets a novel functional domain of STING to selectively inhibit cGAS-STING-mediated NF-kappaB signalling." *Nat Microbiol* **4**(12): 2552-2564.

- Su, M., L. Sun, W. Li, H. Liu, Y. Liu, Y. Wei, et al. (2020). "Metformin alleviates hyperuricaemia-induced serum FFA elevation and insulin resistance by inhibiting adipocyte hypertrophy and reversing suppressed white adipose tissue beigeing." *Clin Sci (Lond)* **134**(12): 1537-1553.
- Suenaga, M., N. Kurosawa, H. Asano, Y. Kanamori, T. Umemoto, H. Yoshida, et al. (2013). "Bmp4 expressed in preadipocytes is required for the onset of adipocyte differentiation." *Cytokine* **64**(1): 138-145.
- Suga, H., D. Matsumoto, H. Eto, K. Inoue, N. Aoi, H. Kato, et al. (2009). "Functional implications of CD34 expression in human adipose-derived stem/progenitor cells." *Stem Cells Dev* **18**(8): 1201-1210.
- Sun, K., N. Halberg, M. Khan, U. J. Magalang and P. E. Scherer (2013). "Selective inhibition of hypoxia-inducible factor 1alpha ameliorates adipose tissue dysfunction." *Mol Cell Biol* **33**(5): 904-917.
- Sun, K., C. M. Kusminski and P. E. Scherer (2011). "Adipose tissue remodeling and obesity." *J Clin Invest* **121**(6): 2094-2101.
- Sun, K., J. Tordjman, K. Clement and P. E. Scherer (2013). "Fibrosis and adipose tissue dysfunction." *Cell Metab* **18**(4): 470-477.
- Sutherland, H. G., K. Newton, D. G. Brownstein, M. C. Holmes, C. Kress, C. A. Semple, et al. (2006). "Disruption of Ledgf/Psip1 results in perinatal mortality and homeotic skeletal transformations." *Mol Cell Biol* **26**(19): 7201-7210.
- Sviridov, D., N. Mukhamedova, A. A. Makarov, A. Adzhubei and M. Bukrinsky (2020). "Comorbidities of HIV infection: role of Nef-induced impairment of cholesterol metabolism and lipid raft functionality." *AIDS* **34**(1): 1-13.
- Swanson, C. M. and M. H. Malim (2008). "SnapShot: HIV-1 proteins." *Cell* **133**(4): 742, 742 e741.
- Swindells, S., J. F. Andrade-Villanueva, G. J. Richmond, G. Rizzardini, A. Baumgarten, M. Masia, et al. (2020). "Long-Acting Cabotegravir and Rilpivirine for Maintenance of HIV-1 Suppression." *N Engl J Med* **382**(12): 1112-1123.
- Tahir, F. G., S. Shanmughapriya, T. M. Ahooyi, T. Knezevic, M. K. Gupta, C. D. Kontos, et al. (2018). "Dysregulation of mitochondrial bioenergetics and quality control by HIV-1 Tat in cardiomyocytes." *J Cell Physiol* **233**(2): 748-758.
- Takahashi, Y., A. Shinoda, N. Furuya, E. Harada, N. Arimura, I. Ichi, et al. (2013). "Perilipin-mediated lipid droplet formation in adipocytes promotes sterol regulatory element-binding protein-1 processing and triacylglyceride accumulation." *PLoS One* **8**(5): e64605.
- Taleb, S., R. Cancello, K. Clement and D. Lacasa (2006). "Cathepsin s promotes human preadipocyte differentiation: possible involvement of fibronectin degradation." *Endocrinology* **147**(10): 4950-4959.
- Talukdar, S., D. Y. Oh, G. Bandyopadhyay, D. Li, J. Xu, J. McNelis, et al. (2012). "Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase." *Nat Med* **18**(9): 1407-1412.
- Tam, C. S., J. Tordjman, A. Divoux, L. A. Baur and K. Clement (2012). "Adipose tissue remodeling in children: the link between collagen deposition and age-related adipocyte growth." *J Clin Endocrinol Metab* **97**(4): 1320-1327.
- Tan, J. T., S. V. McLennan, W. W. Song, L. W. Lo, J. G. Bonner, P. F. Williams, et al. (2008). "Connective tissue growth factor inhibits adipocyte differentiation." *Am J Physiol Cell Physiol* **295**(3): C740-751.
- Tang, Q. Q. and M. D. Lane (2012). "Adipogenesis: from stem cell to adipocyte." *Annu Rev Biochem* **81**: 715-736.
- Tang, W., D. Zeve, J. M. Suh, D. Bosnakowski, M. Kyba, R. E. Hammer, et al. (2008). "White fat progenitor cells reside in the adipose vasculature." *Science* **322**(5901): 583-586.
- Tansey, J. T., C. Sztalryd, E. M. Hlavin, A. R. Kimmel and C. Londos (2004). "The central role of perilipin a in lipid metabolism and adipocyte lipolysis." *IUBMB Life* **56**(7): 379-385.
- Tchkonia, T., N. Giorgadze, T. Pirtskhalava, T. Thomou, M. DePonte, A. Koo, et al. (2006). "Fat depot-specific characteristics are retained in strains derived from single human preadipocytes." *Diabetes* **55**(9): 2571-2578.
- Tchkonia, T., D. E. Morbeck, T. Von Zglinicki, J. Van Deursen, J. Lustgarten, H. Scoble, et al. (2010). "Fat tissue, aging, and cellular senescence." *Aging Cell* **9**(5): 667-684.
- Tchkonia, T., Y. D. Tchoukalova, N. Giorgadze, T. Pirtskhalava, I. Karagiannides, R. A. Forse, et al. (2005). "Abundance of two human preadipocyte subtypes with distinct capacities for replication, adipogenesis, and apoptosis varies among fat depots." *Am J Physiol Endocrinol Metab* **288**(1): E267-277.
- Telwatte, S., S. Lee, M. Somsouk, H. Hatano, C. Baker, P. Kaiser, et al. (2018). "Gut and blood differ in constitutive blocks to HIV transcription, suggesting tissue-specific differences in the mechanisms that govern HIV latency." *PLoS Pathog* **14**(11): e1007357.
- Thakur, B. K., A. Chandra, T. Dittrich, K. Welte and P. Chandra (2012). "Inhibition of SIRT1 by HIV-1 viral protein Tat results in activation of p53 pathway." *Biochem Biophys Res Commun* **424**(2): 245-250.
- Thangaraj, A., P. Periyasamy, K. Liao, V. S. Bendi, S. Callen, G. Pendyala, et al. (2018). "HIV-1 TAT-mediated microglial activation: role of mitochondrial dysfunction and defective mitophagy." *Autophagy* **14**(9): 1596-1619.
- Thomou, T., M. A. Mori, J. M. Dreyfuss, M. Konishi, M. Sakaguchi, C. Wolfrum, et al. (2017). "Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues." *Nature* **542**(7642): 450-455.
- Torriani, M., K. Fitch, E. Stavrou, M. A. Bredella, R. Lim, C. A. Sass, et al. (2012). "Deiodinase 2 expression is increased in dorsocervical fat of patients with HIV-associated lipohypertrophy syndrome." *J Clin Endocrinol Metab* **97**(4): E602-607.
- Torriani, M., S. Srinivasa, K. V. Fitch, T. Thomou, K. Wong, E. Petrow, et al. (2016). "Dysfunctional Subcutaneous Fat With Reduced Dicer and Brown Adipose Tissue Gene Expression in HIV-Infected Patients." *J Clin Endocrinol Metab* **101**(3): 1225-1234.
- Trakhtuev, D. O., S. Merfeld-Clauss, J. Li, M. Kolonin, W. Arap, R. Pasqualini, et al. (2008). "A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks." *Circ Res* **102**(1): 77-85.
- Tran, T. A., M. G. de Goer de Herve, H. Hendel-Chavez, B. Dembele, E. Le Nevot, K. Abbed, et al. (2008). "Resting regulatory CD4 T cells: a site of HIV persistence in patients on long-term effective antiretroviral therapy." *PLoS One* **3**(10): e3305.
- Trayhurn, P. (2013). "Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity." *Physiol Rev* **93**(1): 1-21.
- Tripathi, A., A. Thangaraj, E. T. Chivero, P. Periyasamy, S. Callen, M. E. Burkovetskaia, et al. (2019). "Antiretroviral-Mediated Microglial Activation Involves Dysregulated Autophagy and Lysosomal Dysfunction." *Cells* **8**(10).

- Tugizov, S. M., R. Herrera, P. Chin-Hong, P. Veluppillai, D. Greenspan, J. Michael Berry, et al. (2013). "HIV-associated disruption of mucosal epithelium facilitates paracellular penetration by human papillomavirus." *Virology* **446**(1-2): 378-388.
- Ullah, M. and Z. Sun (2019). "Klotho Deficiency Accelerates Stem Cells Aging by Impairing Telomerase Activity." *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **74**(9): 1396-1407.
- Unamuno, X., J. Gomez-Ambrosi, B. Ramirez, A. Rodriguez, S. Becerril, V. Valenti, et al. (2019). "NLRP3 inflamasome blockade reduces adipose tissue inflammation and extracellular matrix remodeling." *Cell Mol Immunol*.
- Utay, N. S., D. W. Kitch, E. Yeh, C. J. Fichtenbaum, M. M. Lederman, J. D. Estes, et al. (2018). "Telmisartan Therapy Does Not Improve Lymph Node or Adipose Tissue Fibrosis More Than Continued Antiretroviral Therapy Alone." *J Infect Dis* **217**(11): 1770-1781.
- Vague, J. (1956). "The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease." *Am J Clin Nutr* **4**(1): 20-34.
- van Gorp, P. J., C. J. Tack, M. van der Valk, P. Reiss, J. W. Lenders, F. C. Sweep, et al. (2006). "Sympathetic nervous system function in HIV-associated adipose redistribution syndrome." *AIDS* **20**(5): 773-775.
- Van Harmelen, V., K. Rohrig and H. Hauner (2004). "Comparison of proliferation and differentiation capacity of human adipocyte precursor cells from the omental and subcutaneous adipose tissue depot of obese subjects." *Metabolism* **53**(5): 632-637.
- van Wijk, J. P., E. J. de Koning, M. C. Cabezas, J. op't Roodt, J. Joven, T. J. Rabelink, et al. (2005). "Comparison of rosiglitazone and metformin for treating HIV lipodystrophy: a randomized trial." *Ann Intern Med* **143**(5): 337-346.
- Vandekerckhove, L., F. Christ, B. Van Maele, J. De Rijck, R. Gijsbers, C. Van den Haute, et al. (2006). "Transient and stable knockdown of the integrase cofactor LEDGF/p75 reveals its role in the replication cycle of human immunodeficiency virus." *J Virol* **80**(4): 1886-1896.
- Varma, V., A. Yao-Borengasser, A. M. Bodles, N. Rasouli, B. Phanavanh, G. T. Nolen, et al. (2008). "Thrombospondin-1 is an adipokine associated with obesity, adipose inflammation, and insulin resistance." *Diabetes* **57**(2): 432-439.
- Vasan, S. K., C. Osmond, D. Canoy, C. Christodoulides, M. J. Neville, C. Di Gravio, et al. (2018). "Comparison of regional fat measurements by dual-energy X-ray absorptiometry and conventional anthropometry and their association with markers of diabetes and cardiovascular disease risk." *Int J Obes (Lond)* **42**(4): 850-857.
- Veilleux, A., K. Blouin, C. Rheaume, M. Daris, A. Marette and A. Tchernof (2009). "Glucose transporter 4 and insulin receptor substrate-1 messenger RNA expression in omental and subcutaneous adipose tissue in women." *Metabolism* **58**(5): 624-631.
- Veilleux, A., M. Caron-Jobin, S. Noel, P. Y. Laberge and A. Tchernof (2011). "Visceral adipocyte hypertrophy is associated with dyslipidemia independent of body composition and fat distribution in women." *Diabetes* **60**(5): 1504-1511.
- Venter, W. D. F., J. Fabian and C. Feldman (2018). "An overview of tenofovir and renal disease for the HIV-treating clinician." *South Afr J HIV Med* **19**(1): 817.
- Venter, W. D. F., M. Moorhouse, S. Sokhela, L. Fairlie, N. Mashabane, M. Masenya, et al. (2019). "Dolutegravir plus Two Different Prodrugs of Tenofovir to Treat HIV." *N Engl J Med*.
- Venter, W. D. F., S. Sokhela, B. Simmons, M. Moorhouse, L. Fairlie, N. Mashabane, et al. (2020). "Dolutegravir with emtricitabine and tenofovir alafenamide or tenofovir disoproxil fumarate versus efavirenz, emtricitabine, and tenofovir disoproxil fumarate for initial treatment of HIV-1 infection (ADVANCE): week 96 results from a randomised, phase 3, non-inferiority trial." *Lancet HIV* **7**(10): e666-e676.
- Vermulst, M., J. Wanagat, G. C. Kujoth, J. H. Bielas, P. S. Rabinovitch, T. A. Prolla, et al. (2008). "DNA deletions and clonal mutations drive premature aging in mitochondrial mutator mice." *Nat Genet* **40**(4): 392-394.
- Vgontzas, A. N., D. A. Papanicolaou, E. O. Bixler, A. Kales, K. Tyson and G. P. Chrousos (1997). "Elevation of plasma cytokines in disorders of excessive daytime sleepiness: role of sleep disturbance and obesity." *J Clin Endocrinol Metab* **82**(5): 1313-1316.
- Vidal, F., P. Domingo, F. Villarroya, M. Giralt, M. Lopez-Dupla, M. Gutierrez, et al. (2012). "Adipogenic/lipid, inflammatory, and mitochondrial parameters in subcutaneous adipose tissue of untreated HIV-1-infected long-term nonprogressors: significant alterations despite low viral burden." *J Acquir Immune Defic Syndr* **61**(2): 131-137.
- Viengchareun, S., M. Caron, M. Auclair, M. J. Kim, P. Frachon, J. Capeau, et al. (2007). "Mitochondrial toxicity of indinavir, stavudine and zidovudine involves multiple cellular targets in white and brown adipocytes." *Antivir Ther* **12**(6): 919-929.
- Vigouroux, C., M. Caron-Debarle, C. Le Dour, J. Magre and J. Capeau (2011). "Molecular mechanisms of human lipodystrophies: from adipocyte lipid droplet to oxidative stress and lipotoxicity." *Int J Biochem Cell Biol* **43**(6): 862-876.
- Vigouroux, C., J. Magre, M. C. Vantyghem, C. Bourut, O. Lascols, S. Shackleton, et al. (2000). "Lamin A/C gene: sex-determined expression of mutations in Dunnigan-type familial partial lipodystrophy and absence of coding mutations in congenital and acquired generalized lipatrophy." *Diabetes* **49**(11): 1958-1962.
- Vijayakumar, A., P. Aryal, J. Wen, I. Syed, R. P. Vazirani, P. M. Moraes-Vieira, et al. (2017). "Absence of Carbohydrate Response Element Binding Protein in Adipocytes Causes Systemic Insulin Resistance and Impairs Glucose Transport." *Cell Rep* **21**(4): 1021-1035.
- Vila, I. K., P. M. Badin, M. A. Marques, L. Monbrun, C. Lefort, L. Mir, et al. (2014). "Immune cell Toll-like receptor 4 mediates the development of obesity- and endotoxemia-associated adipose tissue fibrosis." *Cell Rep* **7**(4): 1116-1129.
- Villaret, A., J. Galitzky, P. Decaunes, D. Esteve, M. A. Marques, C. Sengenes, et al. (2010). "Adipose tissue endothelial cells from obese human subjects: differences among depots in angiogenic, metabolic, and inflammatory gene expression and cellular senescence." *Diabetes* **59**(11): 2755-2763.
- Villarroya, J., R. Cereijo, A. Gavalda-Navarro, M. Peyrou, M. Giralt and F. Villarroya (2019). "New insights into the secretory functions of brown adipose tissue." *J Endocrinol* **243**(2): R19-R27.
- Villarroya, J., J. Diaz-Delfin, D. Hyink, P. Domingo, M. Giralt, P. E. Klotman, et al. (2010). "HIV type-1 transgene expression in mice alters adipose tissue and adipokine levels: towards a rodent model of HIV type-1 lipodystrophy." *Antivir Ther* **15**(7): 1021-1028.

- Virtanen, K. A., P. Lonnroth, R. Parkkola, P. Peltoniemi, M. Asola, T. Viljanen, et al. (2002). "Glucose uptake and perfusion in subcutaneous and visceral adipose tissue during insulin stimulation in nonobese and obese humans." *J Clin Endocrinol Metab* **87**(8): 3902-3910.
- Vishvanath, L. and R. K. Gupta (2019). "Contribution of adipogenesis to healthy adipose tissue expansion in obesity." *J Clin Invest* **129**(10): 4022-4031.
- Visnegarwala, F., S. S. Raghavan, C. M. Mullin, G. Bartsch, J. Wang, D. Kotler, et al. (2005). "Sex differences in the associations of HIV disease characteristics and body composition in antiretroviral-naive persons." *Am J Clin Nutr* **82**(4): 850-856.
- von Stockenstrom, S., L. Odevall, E. Lee, E. Sinclair, P. Bacchetti, M. Killian, et al. (2015). "Longitudinal Genetic Characterization Reveals That Cell Proliferation Maintains a Persistent HIV Type 1 DNA Pool During Effective HIV Therapy." *J Infect Dis* **212**(4): 596-607.
- Walker, G. E., P. Marzullo, B. Verti, G. Guzzaloni, S. Maestrini, F. Zurleni, et al. (2008). "Subcutaneous abdominal adipose tissue subcompartments: potential role in rosiglitazone effects." *Obesity (Silver Spring)* **16**(9): 1983-1991.
- Walker, U. A., M. Bickel, S. I. Lutke Volksbeck, U. P. Ketelsen, H. Schofer, B. Setzer, et al. (2002). "Evidence of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor-associated genetic and structural defects of mitochondria in adipose tissue of HIV-infected patients." *J Acquir Immune Defic Syndr* **29**(2): 117-121.
- Walker, U. A., D. Lebrecht, W. Reichardt, J. Kirschner, E. Bisse, L. Iversen, et al. (2014). "Zidovudine induces visceral mitochondrial toxicity and intra-abdominal fat gain in a rodent model of lipodystrophy." *Antivir Ther* **19**(8): 783-792.
- Wang, P., K. H. Loh, M. Wu, D. A. Morgan, M. Schnieberger, X. Yu, et al. (2020). "A leptin-BDNF pathway regulating sympathetic innervation of adipose tissue." *Nature* **583**(7818): 839-844.
- Wang, Q. and L. Su (2019). "Vpr Enhances HIV-1 Env Processing and Virion Infectivity in Macrophages by Modulating TET2-Dependent IFITM3 Expression." *mBio* **10**(4).
- Wang, Q. A., C. Tao, R. K. Gupta and P. E. Scherer (2013). "Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration." *Nat Med* **19**(10): 1338-1344.
- Wang, Q. A., C. Tao, L. Jiang, M. Shao, R. Ye, Y. Zhu, et al. (2015). "Distinct regulatory mechanisms governing embryonic versus adult adipocyte maturation." *Nat Cell Biol* **17**(9): 1099-1111.
- Wang, T., L. A. Green, S. K. Gupta, T. Amet, D. J. Byrd, Q. Yu, et al. (2015). "Intracellular Nef detected in peripheral blood mononuclear cells from HIV patients." *AIDS Res Hum Retroviruses* **31**(2): 217-220.
- Wang, W. and P. Seale (2016). "Control of brown and beige fat development." *Nat Rev Mol Cell Biol* **17**(11): 691-702.
- Wang, X., S. Singh, H. Y. Jung, G. Yang, S. Jun, K. J. Sastry, et al. (2013). "HIV-1 Vpr protein inhibits telomerase activity via the EDD-DDB1-VPRBP E3 ligase complex." *J Biol Chem* **288**(22): 15474-15480.
- Wang, Y. and H. Ni (2016). "Fibronectin maintains the balance between hemostasis and thrombosis." *Cell Mol Life Sci* **73**(17): 3265-3277.
- Wang, Y., P. M. Nishina and J. K. Naggert (2009). "Degradation of IRS1 leads to impaired glucose uptake in adipose tissue of the type 2 diabetes mouse model TALLYHO/Jng." *J Endocrinol* **203**(1): 65-74.
- Wanjalla, C. N., W. J. McDonnell, L. Barnett, J. D. Simmons, B. D. Furch, M. C. Lima, et al. (2019). "Adipose Tissue in Persons With HIV Is Enriched for CD4(+) T Effector Memory and T Effector Memory RA(+) Cells, Which Show Higher CD69 Expression and CD57, CX3CR1, GPR56 Co-expression With Increasing Glucose Intolerance." *Front Immunol* **10**: 408.
- Ward, J., Z. Davis, J. DeHart, E. Zimmerman, A. Bosque, E. Brunetta, et al. (2009). "HIV-1 Vpr triggers natural killer cell-mediated lysis of infected cells through activation of the ATR-mediated DNA damage response." *PLoS Pathog* **5**(10): e1000613.
- Waters, L., L. Assoumou, S. Rusconi, P. Domingo, M. Gompels, S. de Wit, et al. (2018). Switch to dolutegravir from a boosted protease inhibitor associated with significant weight gain over 48 weeks in NEAT-022, a randomised 96-week trial. *HIV Glasgow*. Glasgow, Journal of International AIDS Society. **21**.
- Watroba, M. and D. Szukiewicz (2016). "The role of sirtuins in aging and age-related diseases." *Adv Med Sci* **61**(1): 52-62.
- Weidner, C. I., Q. Lin, C. M. Koch, L. Eisele, F. Beier, P. Ziegler, et al. (2014). "Aging of blood can be tracked by DNA methylation changes at just three CpG sites." *Genome Biol* **15**(2): R24.
- Westmoreland, S. V., A. P. Converse, K. Hrecka, M. Hurley, H. Knight, M. Piatak, et al. (2014). "SIV vpx is essential for macrophage infection but not for development of AIDS." *PLoS One* **9**(1): e84463.
- Wheaton, W. W., S. E. Weinberg, R. B. Hamanaka, S. Soberanes, L. B. Sullivan, E. Anso, et al. (2014). "Metformin inhibits mitochondrial complex I of cancer cells to reduce tumorigenesis." *Elife* **3**: e02242.
- WHO. (2018). "Updated recommendations on first-line and second-line antiretroviral regimens and post-exposure prophylaxis and recommendations on early infant diagnosis of HIV."
- Wildum, S., M. Schindler, J. Munch and F. Kirchhoff (2006). "Contribution of Vpu, Env, and Nef to CD4 down-modulation and resistance of human immunodeficiency virus type 1-infected T cells to superinfection." *J Virol* **80**(16): 8047-8059.
- Winer, D. A., S. Winer, L. Shen, P. P. Wadia, J. Yantha, G. Paltser, et al. (2011). "B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies." *Nat Med* **17**(5): 610-617.
- Winer, S., Y. Chan, G. Paltser, D. Truong, H. Tsui, J. Bahrami, et al. (2009). "Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy." *Nat Med* **15**(8): 921-929.
- Witte, V., B. Laffert, P. Gintschel, E. Krautkramer, K. Blume, O. T. Fackler, et al. (2008). "Induction of HIV transcription by Nef involves Lck activation and protein kinase C theta raft recruitment leading to activation of ERK1/2 but not NF kappa B." *J Immunol* **181**(12): 8425-8432.
- Wohl, D. A. and T. T. Brown (2008). "Management of morphologic changes associated with antiretroviral use in HIV-infected patients." *J Acquir Immune Defic Syndr* **49 Suppl 2**: S93-S100.
- Wohl, D. A., Y. Yazdanpanah, A. Baumgarten, A. Clarke, M. A. Thompson, C. Brinson, et al. (2019). "Bictegravir combined with emtricitabine and tenofovir alafenamide versus dolutegravir, abacavir, and lamivudine for initial treatment of HIV-1 infection: week 96 results from a randomised, double-blind, multicentre, phase 3, non-inferiority trial." *Lancet HIV* **6**(6): e355-e363.
- Wolfe, B. M., E. Kvach and R. H. Eckel (2016). "Treatment of Obesity: Weight Loss and Bariatric Surgery." *Circ Res* **118**(11): 1844-1855.

- Woo, C. Y., J. E. Jang, S. E. Lee, E. H. Koh and K. U. Lee (2019). "Mitochondrial Dysfunction in Adipocytes as a Primary Cause of Adipose Tissue Inflammation." *Diabetes Metab J* **43**(3): 247-256.
- Wood, B. R. (2019). "Do Integrase Inhibitors Cause Weight Gain?" *Clin Infect Dis*.
- Woodward, L., I. Akoumianakis and C. Antoniades (2017). "Unravelling the adiponectin paradox: novel roles of adiponectin in the regulation of cardiovascular disease." *Br J Pharmacol* **174**(22): 4007-4020.
- Wouters, K., Y. Deleye, S. A. Hannou, J. Vanhoutte, X. Marechal, A. Coisne, et al. (2017). "The tumour suppressor CDKN2A/p16(INK4a) regulates adipogenesis and bone marrow-dependent development of perivascular adipose tissue." *Diab Vasc Dis Res* **14**(6): 516-524.
- Wu, J., P. Bostrom, L. M. Sparks, L. Ye, J. H. Choi, A. H. Giang, et al. (2012). "Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human." *Cell* **150**(2): 366-376.
- Wu, J., P. Cohen and B. M. Spiegelman (2013). "Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown?" *Genes Dev* **27**(3): 234-250.
- Wynn, T. A. (2008). "Cellular and molecular mechanisms of fibrosis." *J Pathol* **214**(2): 199-210.
- Xu, D. and L. Sun (2015). "Role of microRNA biogenesis in adipocyte and lipodystrophy." *Adipocyte* **4**(3): 222-224.
- Xu, L., G. A. Spinias and M. Niessen (2010). "ER stress in adipocytes inhibits insulin signaling, represses lipolysis, and alters the secretion of adipokines without inhibiting glucose transport." *Horm Metab Res* **42**(9): 643-651.
- Yamauchi, T., M. Iwabu, M. Okada-Iwabu and T. Kadokawa (2014). "Adiponectin receptors: a review of their structure, function and how they work." *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **28**(1): 15-23.
- Yanez, R., M. L. Lamana, J. Garcia-Castro, I. Colmenero, M. Ramirez and J. A. Bueren (2006). "Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have in vivo immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease." *Stem Cells* **24**(11): 2582-2591.
- Yang, H., M. Ralle, M. J. Wolfgang, N. Dhawan, J. L. Burkhead, S. Rodriguez, et al. (2018). "Copper-dependent amino oxidase 3 governs selection of metabolic fuels in adipocytes." *PLoS Biol* **16**(9): e2006519.
- Yang, H., Y. H. Youm, B. Vandamagsar, A. Ravussin, J. M. Gimble, F. Greenway, et al. (2010). "Obesity increases the production of proinflammatory mediators from adipose tissue T cells and compromises TCR repertoire diversity: implications for systemic inflammation and insulin resistance." *J Immunol* **185**(3): 1836-1845.
- Yosef, R., N. Pilpel, N. Papismadov, H. Gal, Y. Ovadya, E. Vadai, et al. (2017). "p21 maintains senescent cell viability under persistent DNA damage response by restraining JNK and caspase signaling." *EMBO J* **36**(15): 2280-2295.
- Young, L., D. A. Wohl, W. B. Hyslop, Y. Z. Lee, S. Napravnik and A. Wilkin (2015). "Effects of raltegravir combined with tenofovir/emtricitabine on body shape, bone density, and lipids in African-Americans initiating HIV therapy." *HIV Clin Trials* **16**(5): 163-169.
- Yu, C., S. D. Narasipura, M. H. Richards, X. T. Hu, B. Yamamoto and L. Al-Harthi (2017). "HIV and drug abuse mediate astrocyte senescence in a beta-catenin-dependent manner leading to neuronal toxicity." *Aging Cell* **16**(5): 956-965.
- Yu, X. G. and M. Lichterfeld (2011). "Elite control of HIV: p21 (waf-1/cip-1) at its best." *Cell Cycle* **10**(19): 3213-3214.
- Yuan, T., J. Li, W. G. Zhao, W. Sun, S. N. Liu, Q. Liu, et al. (2019). "Effects of metformin on metabolism of white and brown adipose tissue in obese C57BL/6J mice." *Diabetol Metab Syndr* **11**: 96.
- Yukl, S. A., E. Boritz, M. Busch, C. Bentsen, T. W. Chun, D. Douek, et al. (2013). "Challenges in detecting HIV persistence during potentially curative interventions: a study of the Berlin patient." *PLoS Pathog* **9**(5): e1003347.
- Zaragozi, L. E., B. Wdziekonski, P. Villageois, M. Keophiphath, M. Maumus, T. Tchkonia, et al. (2010). "Activin a plays a critical role in proliferation and differentiation of human adipose progenitors." *Diabetes* **59**(10): 2513-2521.
- Zarkesh-Esfahani, H., A. G. Pockley, Z. Wu, P. G. Hellewell, A. P. Weetman and R. J. Ross (2004). "Leptin indirectly activates human neutrophils via induction of TNF-alpha." *J Immunol* **172**(3): 1809-1814.
- Zatterale, F., M. Longo, J. Naderi, G. A. Raciti, A. Desiderio, C. Miele, et al. (2019). "Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes." *Front Physiol* **10**: 1607.
- Zauli, G., B. R. Davis, M. C. Re, G. Visani, G. Furlini and M. La Placa (1992). "tat protein stimulates production of transforming growth factor-beta 1 by marrow macrophages: a potential mechanism for human immunodeficiency virus-1-induced hematopoietic suppression." *Blood* **80**(12): 3036-3043.
- Zechner, R. (2015). "FAT FLUX: enzymes, regulators, and pathophysiology of intracellular lipolysis." *EMBO Mol Med* **7**(4): 359-362.
- Zeyda, M., D. Farmer, J. Todoric, O. Aszmann, M. Speiser, G. Gyori, et al. (2007). "Human adipose tissue macrophages are of an anti-inflammatory phenotype but capable of excessive pro-inflammatory mediator production." *Int J Obes (Lond)* **31**(9): 1420-1428.
- Zhan, J., S. Qin, L. Lu, X. Hu, J. Zhou, Y. Sun, et al. (2016). "miR-34a is a common link in both HIV- and antiretroviral therapy-induced vascular aging." *Aging (Albany NY)* **8**(12): 3298-3310.
- Zhang, F., J. Ye, X. Zhu, L. Wang, P. Gao, G. Shu, et al. (2019). "Anti-Obesity Effects of Dietary Calcium: The Evidence and Possible Mechanisms." *Int J Mol Sci* **20**(12).
- Zhang, H. S., X. Y. Chen, T. C. Wu, W. W. Sang and Z. Ruan (2012). "MiR-34a is involved in Tat-induced HIV-1 long terminal repeat (LTR) transactivation through the SIRT1/NFKappaB pathway." *FEBS Lett* **586**(23): 4203-4207.
- Zhang, J., D. T. Scadden and C. S. Crumpacker (2007). "Primitive hematopoietic cells resist HIV-1 infection via p21." *J Clin Invest* **117**(2): 473-481.
- Zhang, L. J., C. F. Guerrero-Juarez, T. Hata, S. P. Bapat, R. Ramos, M. V. Plikus, et al. (2015). "Innate immunity. Dermal adipocytes protect against invasive Staphylococcus aureus skin infection." *Science* **347**(6217): 67-71.
- Zhang, W., E. P. Mottillo, J. Zhao, A. Gartung, G. C. VanHecke, J. F. Lee, et al. (2014). "Adipocyte lipolysis-stimulated interleukin-6 production requires sphingosine kinase 1 activity." *J Biol Chem* **289**(46): 32178-32185.
- Zhang, Y., R. Proenca, M. Maffei, M. Barone, L. Leopold and J. M. Friedman (1994). "Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue." *Nature* **372**(6505): 425-432.
- Zhang, Y., A. Unnikrishnan, S. S. Deepa, Y. Liu, Y. Li, Y. Ikeno, et al. (2017). "A new role for oxidative stress in aging: The accelerated aging phenotype in Sod1(-/-) mice is correlated to increased cellular senescence." *Redox Biol* **11**: 30-37.

- Zheng, B., B. Cao, G. Li and J. Huard (2006). "Mouse adipose-derived stem cells undergo multilineage differentiation in vitro but primarily osteogenic and chondrogenic differentiation in vivo." *Tissue Eng* **12**(7): 1891-1901.
- Zierath, J. R., J. N. Livingston, A. Thorne, J. Bolinder, S. Reynisdottir, F. Lonnqvist, et al. (1998). "Regional difference in insulin inhibition of non-esterified fatty acid release from human adipocytes: relation to insulin receptor phosphorylation and intracellular signalling through the insulin receptor substrate-1 pathway." *Diabetologia* **41**(11): 1343-1354.
- Zoico, E., S. Rubele, A. De Caro, N. Nori, G. Mazzali, F. Fantin, et al. (2019). "Brown and Beige Adipose Tissue and Aging." *Front Endocrinol (Lausanne)* **10**: 368.

# **Impacts de l'infection par le VIH/VIS et des antirétroviraux sur les atteintes du tissu adipeux : rôle de la fibrose et du vieillissement**

## **RÉSUMÉ**

Le tissu adipeux (TA) est affecté lors de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) puisqu'il est ciblé simultanément par le virus et les antirétroviraux (ARV). Les perturbations des fonctions métaboliques et sécrétoires du TA ont des répercussions sur l'ensemble de l'organisme participant aux atteintes cardiométraboliques. Premièrement, j'ai démontré l'impact du virus lui-même sur la dysfonction du TA au travers de modèles *in vivo* (TA issus de macaques ou de patients infectés), et *in vitro* de cellules souches adipocytaires humaines (ASC). J'ai mis en évidence que le TA issu de macaques ou de patients infectés présente une fibrose accrue, de petits adipocytes et une augmentation de marqueurs de vieillissement. En accord, les protéines du VIH Tat et Nef induisent une accumulation de collagènes, une sénescence, un stress oxydant, des dysfonctions mitochondrielles et altèrent l'adipogenèse des ASC. Deuxièmement, je me suis intéressée à l'impact des inhibiteurs d'intégrase (INI) sur le TA. En effet, une prise de poids plus importante, liée à une augmentation du TA, a récemment été observée chez les patients infectés par le VIH recevant une combinaison d'ARV comprenant un INI. *In vivo*, dans le TA de macaques non infectés mais traités par des INI, j'ai mis en évidence une fibrose péri-adipocytaire accrue, associée à une hypertrophie adipocytaire. J'ai démontré *in vitro* que malgré leur effet proadipogénique, le traitement par les INI abouti à la formation d'adipocytes dysfonctionnels résistants à l'insuline. Mon travail a permis d'évaluer les effets respectifs du VIH et des INI dans les atteintes du TA et de mieux comprendre les mécanismes en cause.

*Mots clés : tissu adipeux, VIH, fibrose, inhibiteurs d'intégrase, sénescence, cellules souches du tissu adipeux*

## **Impact of HIV/SIV infection and antiretroviral treatment on adipose tissue alterations: role of fibrosis and aging**

## **ABSTRACT**

Adipose tissue (AT) is a tissue affected during infection with the human immunodeficiency virus (HIV) as it is simultaneously targeted by the virus and antiretroviral therapy (ART). Alteration of AT metabolic and secretory functions have whole body consequences which contribute to cardiometabolic diseases. First, I demonstrated the impact of HIV itself on AT dysfunction using two *in vivo* models (AT from infected macaques or patients), and an *in vitro* model of human adipocyte stem cells (ASCs). I showed that AT from macaques or from infected individuals displayed increased fibrosis, small adipocytes and increased markers of aging. In agreement, the HIV proteins Tat and Nef induced collagen accumulation, senescence, oxidative stress, mitochondrial dysfunctions, and altered adipogenesis of ASCs. Secondly, I evaluated the impact of Integrase Strand Transfer Inhibitors (INSTIs) on AT. Indeed, a greater weight gain; linked to an increase in AT, has recently been demonstrated in patients infected with HIV and receiving an ART regimen containing an INSTI. *In vivo*, AT of uninfected but INSTI treated macaques, presented increased peri-adipocyte fibrosis, associated with adipocyte hypertrophy. I have demonstrated *in vitro* that despite their proadipogenic effect, INSTI-treatment led to the formation of dysfunctional insulin-resistant adipocytes. My PhD allowed to assess the effects of HIV infection and INTIIs on AT alterations and to better understand the mechanisms involved.

*Key words: adipose tissue, HIV, fibrosis, integrase inhibitors, senescence, adipose stem cells*