

Avances en Medicina Osteoarticular

AMO

**CONFIRMACIÓN EN EL
LABORATORIO DE PROTEÓMICA
DE LA SINERGIA ENTRE
GLUCOSAMINA Y CONDROITÍN**

editorial
SELENE

Confirmación en el laboratorio de Proteómica de la sinergia entre Glucosamina y Condroitín

La osteoartritis es la patología reumática más prevalente asociada a la edad. Es una enfermedad crónica degenerativa causante de una importante discapacidad en el paciente. Se trata fundamentalmente de una alteración del tejido condral, caracterizada por la destrucción del cartílago articular.

El cartílago articular está constituido por el condrocito, el cual es responsable de la biosíntesis de los componentes de la matriz extracelular. Esta matriz extracelular es responsable de las características mecánicas del cartílago. Cuando hay alguna alteración mecánica o biológica, se produce una destrucción acelerada de la matriz mediada por enzimas procedentes del propio condrocito.

El tratamiento farmacológico en la osteoartritis tiene como objetivo reducir el dolor y la incapacidad funcional del paciente. El fracaso de los tratamientos convencionales, basados en el uso de AINE, para regenerar o ralentizar la degeneración del daño en el cartílago, combinado con sus frecuentes efectos secundarios, ha supuesto un incremento en el uso de agentes condroprotectores, llamados SYSADOA, que han demostrado un cierto beneficio de acción lenta en el control sintomático de la artrosis. A este grupo pertenecen el sulfato de glucosamina y el condroitín sulfato, entre otros, siendo estos los más comúnmente utilizados, por lo que nos hemos centrado en ellos.

GLUCOSAMINA:

La glucosamina es un aminoazúcar, precursor importante de la síntesis de glucosaminoglicanos, los cuales se unen para formar proteoglicanos, un componente principal del cartílago. Normalmente se comercializa como clorhidrato o sulfato de glucosamina, pero en el uso de la forma sulfato, existe la posibilidad de un efecto adverso del sulfato aislado. Entre los mecanismos de acción que se le atribuyen se incluye el descenso de la actividad inflamatoria, el aumento de la síntesis de proteoglicanos y la alteración de la actividad de los condrocitos.

CONDROITÍN SULFATO:

Es un glucosaminoglicano que participa en la síntesis de proteoglicanos y es un componente estructural del cartílago articular. Dentro de sus mecanismos de acción se incluyen el efecto antiinflamatorio, el aumento de la

síntesis de proteoglicanos, la alteración en la función de los condrocitos y propiedades antioxidantes.

COMBINACIÓN DE GLUCOSAMINA Y CONDROITÍN:

Muchos de los ensayos que se han publicado hasta ahora basados en la práctica clínica muestran una mejoría significativa del trascurso de la enfermedad al comparar el uso de la combinación frente a placebo y el perfil de seguridad de ambos es excelente, con una tasa de acontecimientos adversos similar a placebo.

FARMACOPROTEÓMICA:

Recientemente, en junio de 2014, se ha publicado un estudio realizado por Valentina Calamia *et al*, llevado a cabo sobre condrocitos articulares humanos en osteoartrosis con el objetivo de evaluar el efecto combinado del condroitín sulfato y de la glucosamina sobre la matriz extracelular del cartílago y de describir mejor el mecanismo de acción de ambos. El estudio se basó en los diferentes patrones de modificación proteica cuando se emplean solos o en combinación.

El estudio se realizó sobre muestras del secretoma de los condrocitos articulares tratadas con condroitín sulfato, glucosamina o la combinación de ambos. Para analizar las muestras se emplearon técnicas analíticas de proteómica más sensibles a las empleadas en estudios anteriores que permitieron demostrar la sinergia existente entre estos dos compuestos.

Resultados:

Se identificaron un total de 186 proteínas secretadas por los condrocitos, entre las que se encontraban componentes de la matriz extracelular del cartílago maduro, factores reguladores de la matriz y 9 péptidos de colágeno tipo 2 (colágeno mayoritario en el cartílago). De esas 186 proteínas detectadas se comprobó que 36 de ellas estaban moduladas significativamente por el tratamiento: 32 aumentaron su expresión y 4 la disminuyeron. Entre ellas, el condroitín sulfato alteraba la expresión de 28 proteínas mientras que la glucosamina modulaba únicamente 12.

En la siguiente figura se pueden ver las proteínas moduladas por condroitín, glucosamina o la asociación.

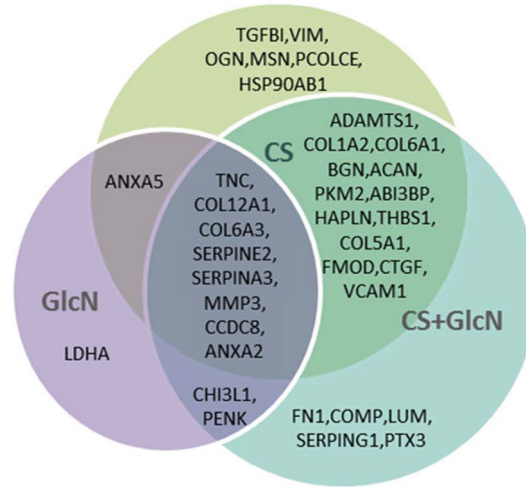


Table 1 | Secreted proteins identified by iTRAQ and LC-MS analysis as modulated by different treatments in OA HACs

Score	% Cov ²⁵	Accession ²⁶	Name	Symbol	Peptides	CS ²⁷	GlcN ²⁸	CS + GlcN ²⁹
7,33	5,8	Q9UHI8	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 1	ADAMTS1	5	7,87	1,44*	7,18
31,18	6,8	P16112	Aggrecan core protein	ACAN	18	7,31	2,88*	9,29
27,8	45,6	P01011	Alpha-1-antichymotrypsin	SERPINA3	18	1,50	1,47	1,54
17,67	30,4	P07355	Annexin A2	ANXA2	10	2,31	2,38	2,13
10,17	22,8	P08758	Annexin A5	ANXA5	6	2,33	2,70	2,15*
31,74	47,3	P21810	Biglycan	BGN	38	2,11	1,26*	2,25
54,29	40,6	P49747	Cartilage oligomeric matrix protein	COMP	60	2,51*	1,89*	3,25
96,46	73,1	P36222	Chitinase-3-like protein 1	CHI3L1	236	3,38*	3,19	4,33
18,32	10,2	Q76M96	Coiled-coil domain-containing protein 80	CCDC80	9	2,63	1,61	2,40
19,37	9,9	P20908	Collagen alpha-1(V) chain	COL5A1	17	1,72	1,17*	1,96
45,04	28,6	P12109	Collagen alpha-1(VI) chain	COL6A1	55	2,68	1,53*	1,96
158,4	35,9	Q99715	Collagen alpha-1(XII) chain	COL12A1	108	5,50	4,17	6,55
129,14	68,2	P08123	Collagen alpha-2(II) chain	COL1A2	180	2,15	1,14*	2,01
80,88	16,9	P12111	Collagen alpha-3(VI) chain	COL6A3	49	5,15	2,70	3,91
7,59	12,6	P29279	Connective tissue growth factor	CTGF	4	2,54	1,16*	2,40
13,63	21,8	Q06828	Fibromodulin	FMOD	11	2,19	1,47*	1,71
150,04	40,6	P02751	Fibronectin	FN1	147	0,86*	2,07*	2,58
55,85	64,3	P07093	Glia-derived nexin	SERPINE2	79	6,98	2,44	7,87
5,12	4,1	P08238	Heat shock protein HSP 90-beta	HSP90B	3	0,28	0,54*	0,50*
19,69	35,6	P10915	Hyaluronan and proteoglycan link protein 1	HAPLN1	14	4,70	1,44*	4,88
18,38	25,6	P00338	Lactate dehydrogenase A chain	LDHA	13	1,54*	1,89	1,67*
43,27	43,5	P51884	Lumican	LUM	100	2,29*	1,56*	1,91
16,35	30,9	P20774	Mimectin	OGN	15	1,92	1,05*	1,47*
15,89	13	P26038	Moesin	MSN	10	0,52	1,14*	0,95*
7,86	13,4	P26022	Pentraxin-related protein PTX3	PTX3	7	3,77	2,65*	4,06
19,36	20	P05155	Plasma protease C1 inhibitor	SERPING1	12	1,63	1,39*	1,64
15,15	25,2	Q15113	Procollagen C-endopeptidase enhancer 1	PCOLCE	10	1,82	1,29*	1,82*
13,57	35,2	P01210	Proenkephalin-A	PENK	8	1,39*	1,49	1,54
23,69	26,4	P14618	Pyruvate kinase isozymes M1/M2	PKM2	12	0,53	0,89*	0,63
26,09	33,5	P08254	Stromelysin-1	MMP3	19	1,82	1,41	1,54
22,05	11,3	Q7Z7G0	Target of Nesh-SH3	ABI3BP	11	2,03	1,19*	2,56
88,43	28	P24821	Tenascin	TNC	61	3,60	2,44	3,66
19,55	12	P07996	Thrombospondin-1	THBS1	15	4,09	1,03*	3,37
59,59	57,4	Q15582	Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3	TGFBI	63	2,58	1,82*	1,20*
15,2	17,5	P19320	Vascular cell adhesion protein 1	VCAM1	11	3,10	1,14*	2,83
51,29	53,7	P08670	Vimentin	VIM	40	0,68	1,57*	1,02*

²⁶Protein accession number according to SwissProt and TrEMBL databases.

²⁷Average iTRAQ ratios that represent the relative protein abundance in treated (CS, chondroitin sulfate; GlcN, glucosamine hydrochloride) vs untreated cells, calculated by Protein Pilot 3.0 software. A p-value ≤ 0.05 was accepted.

*Not statistically significant change.

Entre las proteínas moduladas por el tratamiento se encuentran THBS-1, VIM, FN-1, TGFBI Y HSP90B. Estas proteínas están involucradas en 3 procesos principales característicos del tejido conectivo como son: la adhesión celular, el desarrollo del cartilago y la organización de la matriz extracelular.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la relación existente entre la expresión de TBSP-1 y TGFBI y el tratamiento empleado, ya que se observó que en células sin tratar TBSP-1 se encuentra disminuida y la de TGFBI aumentada. Mientras que en células tratadas con condroitín sulfato ambas moléculas aumentan su expresión y al ser tratadas con la combinación se produce una inversión de los valores, aumentando TBSP-1 y disminuyendo TGFBI.

Además, con este estudio se ha visto que dos proteínas de las proteínas identificadas, TBSP-1 y TGFBI, podrían ser utilizadas en un futuro como posibles biomarcadores en el estudio de la progresión de la enfermedad y en la monitorización de la respuesta de los pacientes a los diferentes tratamientos, ya que modifican su expresión en presencia de tratamiento.

Por otro lado, experimentos *in vivo* e *in vitro* han puesto de manifiesto el diferente mecanismo de acción del condroitín sulfato y de la glucosamina.

El condroitín sulfato alcanza la articulación y se distribuye en el cartilago, en las capas subcondrales. Mantiene la integridad de la matriz extracelular del cartilago por dos vías: reduciendo la expresión de moléculas proinflamatorias y por lo tanto, previniendo la degradación de colágeno y proteoglicanos; y atrayendo integrinas e incrementando la expresión de TGFβ1 que fomenta la síntesis de ácido hialurónico y colágeno.

La glucosamina, por su parte, entra en la vía de síntesis de hexosaminas para generar UDP-N-acetilglucosamina, la cual es sustrato para la síntesis de proteoglicanos, glucolípidos y glucoproteínas.

Este diferente mecanismo de acción confirma el efecto sinérgico condroprotector del condroitín sulfato y la glucosamina sobre los condrocitos articulares humanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Calamia, V., Mateos, J., Fernández-Puente, P., Lourido, L., Rocha, B., Fernández-Costa, C., Montell, E., Vergés, J., Ruiz-Romero, C., Blanco, F. J. A pharmacoproteomic study confirms the synergistic effect of chondroitin sulfate and glucosamine.
2. Kahan, A., Uebelhart, D., De Vathaire, F., Delmas, P. D. & Reginster, J. Y. Long-term effects of chondroitins 4 and 6 sulfate on knee osteoarthritis: the study on osteoarthritis progression prevention, a two-year, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 60, 524-533 (2009).
3. Bruyere, O. & Reginster, J. Y. Glucosamine and chondroitin sulfate as therapeutic agents for knee and hip osteoarthritis. *Drugs Aging* 24, 573-580 (2007).
4. Pavelka, K. et al. Glucosamine sulfate use and delay of progression of knee osteoarthritis: a 3-year, randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Arch Intern Med* 162, 2113-2123 (2002).
5. Reginster, J. Y. et al. Long-term effects of glucosamine sulphate on osteoarthritis progression: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Lancet* 357, 251-256 (2001).
6. Rovati, L. C., Girolami, F & Persiani, S. Crystalline glucosamine sulfate in the management of knee osteoarthritis: efficacy, safety and pharmacokinetic properties. *The Adv Musculoskelet Dis* 4, 167-180 (2012).
7. Michel, B. A. et al Chondroitins 4 and 6 sulfate in osteoarthritis of the knee: a randomized, controlled trial. *Arthritis Rheum* 52, 779-786 (2005).
8. Clegg, D. O. et al. Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *N Engl J Med* 354, 795-808 (2006).
9. Martel-Pelletier, J. et al. First-line analysis of the effects of treatment on progression of structural changes in knee osteoarthritis over 24 months: data from the osteoarthritis initiative progression cohort. *Ann Rheum Dis* 2013-203906, doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203906 (2013).
10. Zhang, W. et al OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis: part III: Changes in evidence following systematic cumulative update of research published through January 2009. *Osteoarthritis Cartilage* 18, 476-499 (2010).
11. Chan, P. S., Caron, J. P. & Orth, M. W. Effect of glucosamine and chondroitin sulfate on regulation of gene expression of proteolytic enzymes and their inhibitors in interleukin-1-challenged bovine articular explants. *Am J Vet Res* 66, 1870-1876 (2005).
12. Chan, P. S., Caron, J. P. & Orth, M. W. Glucosamine and chondroitin sulfate regulate gene expression and synthesis of nitric oxide and prostaglandin E(2) in articular cartilage explants. *Osteoarthritis Cartilage* 13, 387-394 (2005).

13. Chan, P. S., Caron, J. P. & Orth, M. W. Short-term gene expression changes in cartilage explants stimulated with interleukin beta plus glucosamine and chondroitin sulfate. *J Rheumatol* 33, 1329-1340 (2006).
14. Chan, P. S., Caron, J. P. & Orth, M. W. Effect of glucosamine and chondroitin sulfate on bovine cartilage explants under long-term culture conditions. *Am J Vet Res* 68, 709-715 (2007).
15. Tat, S. K. et al. Chondroitin and glucosamine sulfate combination decrease the pro-resorptive properties of human osteoarthritis subcondral bone osteoblasts: a basic science study. *Arthritis Res Ther* 9, R117 (2007).
16. Calamia, V. et al. Pharmacoproteomic study of the effects of chondroitin and glucosamine sulfate on human articular chondrocytes. *Arthritis Res Ther* 12, R138 (2010).
17. Calamia, V. et al. Secretome analysis of chondroitin sulfate-treated chondrocytes reveals anti-angiogenic, anti-inflammatory and anti-catabolic properties. *Arthritis Res Ther* 14, R202 (2012).
18. Calamia, V. et al. Pharmacoproteomic study of three different chondroitin sulfate compounds on intracellular and extracellular human chondrocyte proteomes. *Mol Cell Proteomics* 11, M111.013417 (2012).
19. Gan, C. S., Chong, P. K., Pham, T. K. & Wright, P. C. Technical, experimental, and biological variations in isobaric tags for relative and absolute quantitation (iTRAQ). *J Proteome Res* 6, 821-827 (2007).
20. Polacek, M., Bruun, J. A., Elvenes, J., Figenschau, Y. & Martinez, I. The secretory profiles of cultured human articular chondrocytes and mesenchymal stem cells: implications for autologous cell transplantation strategies. *Cell Transplant* 20, 1381-1393 (2011).
21. Calamia, V. et al. Metabolic labeling of chondrocytes for the quantitative analysis of the interleukin-1-beta-mediated modulation of their intracellular and extracellular proteomes. *J Proteome Res* 10, 3701-3711 (2011).
22. Wilson, R. et al. Comprehensive profiling of cartilage extracellular matrix formation and maturation using sequential extraction and label-free quantitative proteomics. *Mol Cell Proteomics* 9, 1296-1313 (2010).
23. Önnérffjord, P., Khabut, A., Reinholt, F. P., Svensson, O. & Heinegård, D. Quantitative proteomic analysis of eight cartilaginous tissues reveals characteristic differences as well as similarities between subgroups. *J Proteome Res* 287, 18913-18924 (2012).
24. Wilson, R. et al. Changes in the chondrocyte and extracellular matrix proteome during post-natal mouse cartilage development. *Mol Cell Proteomics* 11, M111.014159 (2012).
25. Medina-Aunon, J. A. et al. Protein Information and Knowledge Extractor: Discovering biological information from proteomics data. *Proteomics* 10, 3262-3271 (2010).
26. Rocha, B. et al. Metabolic labeling of human bone marrow mesenchymal stem cells for the quantitative analysis of their chondrogenic differentiation. *J Proteome Res* 11, 5350-5361 (2012).
27. Fernández-Puente, P. et al. Identification of a panel of novel serum osteoarthritis biomarkers. *J Proteome Res* 10, 5095-5101 (2011).
28. Ruiz-Romero, C. et al. Mitochondrial dysregulation of osteoarthritic human articular chondrocytes analyzed by proteomics: a decrease in mitochondrial superoxide dismutase points to a redox imbalance. *Mol Cell Proteomics* 8, 172-189 (2009).
29. Ruiz-Romero, C. et al. Proteomic analysis of human osteoarthritic chondrocytes reveals protein changes in stress and glycolysis. *Proteomics* 8, 495-507 (2008).
30. Capín-Gutiérrez, N., Talamás-Rohana, P., González-Robles, A., Lavallo-Montalvo, C. & Kourí, J. B. Cytoskeleton disruption in chondrocytes from a rat osteoarthrotic (OA)-induced model: its potential role in OA pathogenesis. *Histol Histopathol* 19, 1125-1132 (2004).
31. Lambrecht, S., Verbruggen, G., Verdonk, P. C., Elewaut, D. & Deforce, D. Differential proteome analysis of normal and osteoarthritic chondrocytes reveals distortion of vimentin network in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 16, 163-173 (2008).
32. Calamia, V., de Andrés, M. C., Oreiro, N., Ruiz-Romero, C. & Blanco, F. J. Hsp90 β inhibition modulates nitric oxide production and nitric oxide-induced apoptosis in human chondrocytes. *BMC Musculoskelet Disord* 12, 237 (2011).
33. Boehm, A. K., Seth, M., Mayr, K. G. & Fortier, L. A. Hsp90 mediates insulin-like growth factor 1 and interleukin-1beta signaling in an age-dependent manner in equine articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 56, 2335-2343 (2007).
34. Bassler, C. T., Combal, J. P., Bougaret, S. & Malaise, M. Effects of chondroitin sulfate and interleukin-1 beta on human articular chondrocytes

- cultivated in clusters. *Osteoarthritis Cartilage* 6, 196-204 (1998).
35. Imada, K. et al. Anti-arthritic action mechanisms of natural chondroitin sulfate in human articular chondrocytes and synovial fibroblasts. *Biol Pharm Bull* 33, 410-414 (2010).
 36. Sawitzke, A. D. et al. Clinical efficacy and safety of glucosamine, chondroitin sulphate, their combination, celecoxib or placebo taken to treat osteoarthritis of the knee: 2-year results from GAIT. *Ann Rheum Dis* 69, 1459-1464 (2010).
 37. Huskisson, E. C. Glucosamine and chondroitin for osteoarthritis. *J Int Med Res* 36, 1161-1179 (2008).
 38. Lipiello, L., Woodward, J., Karpman, R. & Hammad, T. A. In vivo chondroprotection and metabolic synergy of glucosamine and chondroitin sulfate. *Clin Orthop Relat Res*, 229-240 (2000).
 39. Lipiello, L. Glucosamine and chondroitin sulfate: biological response modifiers of chondrocytes under simulated conditions of joint stress. *Osteoarthritis Cartilage* 11, 335-342 (2003).
 40. Orth, M. W., Peters, T. L. & Hawkins, J. N. Inhibition of articular cartilage degradation by glucosamine-HCl and chondroitin sulphate. *Equine Vet J Suppl* 224-229 (2002).
 41. Henrotin, Y. & Lambert, C. Chondroitin and glucosamine in the management of osteoarthritis: an update. *Curr Rheumatol Rep* 15, 361 (2013).
 42. Du Souich, P. Absorption, distribution and mechanism of action of SYSADOAS. *Pharmacol Ther* (2014).
 43. Henrotin, Y., Mathy, M., Sanchez, C & Lambert, C. Chondroitin sulfate in the treatment of osteoarthritis: from in vitro studies to clinical recommendations. *Ther Adv Musculoskelet Dis* 2, 335-348 (2010).
 44. Ronca, F., Palmieri, L., Panucci, P. & Ronca, G. Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate. *Osteoarthritis Cartilage* 6 Suppl A, 14-21 (1998).
 45. Sobal, G., Dorokta, R., Menzel, J. & Sinzinger, H. Uptake studies with chondrotropic ^{99m}Tc-chondroitin sulfate in articular cartilage. Implications for imaging osteoarthritis in the knee. *Nucl Med Biol* 40, 1013-1017 (2013).
 46. Sobal, G., Menzel, J. & Sinzinger, H. Uptake of ^{99m}Tc-labeled chondroitin sulfate by chondrocytes and cartilage: a promising agent for imaging of cartilage degeneration. *Nucl Med Biol* 36, 65-71 (2009).
 47. Lo, Y. L., Sung, K. H., Chiu, C. C. & Wang, L. F. Chemically conjugating polyethylenimine with chondroitin sulfate to promote CD44-mediated endocytosis for gene delivery. *Mol Pharm* 10, 664-676 (2013).
 48. Fujimoto, T. et al. CD44 binds a chondroitin sulfate proteoglycan, aggrecan. *Int Immunol* 13, 359-366 (2001).
 49. Legendre, F., Baugé, C., Roche, R., Saurel, A. S. & Pujol, J. P. Chondroitin sulfate modulation of matrix and inflammatory gene expression in IL-1beta-stimulated chondrocytes study in hypoxic alginate bead cultures. *Osteoarthritis Cartilage* 16, 105-114 (2008).
 50. Campo, G. M. et al. Glycosaminoglycans reduced inflammatory response by modulating toll-like receptor-4 in LPS-stimulated chondrocytes. *Arch Biochem Biophys* 491, 7-15 (2009).
 51. DeLise, A. M., Fischer, L. & Tuan, R. S. Cellular interactions and signaling in cartilage development. *Osteoarthritis Cartilage* 8, 309-334 (2000).
 52. Hintze, V. et al. Sulfated hyaluronan and chondroitin sulfate derivatives interact differently with human transforming growth factor-β1 (TGF-β1). *Acta Biomater* 8, 2144-2152 (2012).
 53. Lim, J. J. & Temenoff, J. S. The effect of desulfation of chondroitin sulfate on interactions with positively charged growth factors and upregulation of cartilaginous markers in encapsulated MSCs. *Biomaterials* 34, 5007-5018 (2013).
 54. Anderson, J. W., Nicolosi, R. J. & Borzelleca, J. F. Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy. *Food Chem Toxicol* 43, 187-201 (2005).
 55. D'Abusco, A. S. et al. Glucosamine affects intracellular signalling through inhibition of mitogen-activated protein kinase phosphorylation in human chondrocytes. *Arthritis Res Ther* 9, R104 (2007).
 56. Scotto d'Abusco, A., Politi, L., Giordano, C. & Scandurra, R. A peptidyl-glucosamine derivative affects IKKalpha kinase activity in human chondrocytes. *Arthritis Res Ther* 12, R18 (2010).
 57. Ruiz-Romero, C., López-Armada, M. J. & Blanco, F. J. Proteomic characterization of human normal articular chondrocytes: a novel tool for the study of osteoarthritis and other rheumatic diseases. *Proteomics* 5, 3048-3059 (2005).

58. Tat, S. K., Pelletier, J. P., Mineau, F., Duval, N & Martel-Pelletier, J. Variable effects of 3 different chondroitin sulfate compounds on human osteoarthritic cartilage/chondrocytes: relevance of purity and production process. *J Rheumatol* 37, 656-664 (2010).
59. Jin, J. et al. Differential proteome profiling using iTRAQ in microalbuminuric and normoalbuminuric type 2 diabetic patients. *Exp Diabetes Res* 2012, 168602 (2012).

Patrocinado por Laboratorios



Disclaimer: “Esta publicación se presenta como un servicio de información y formación científica en la profesión médica. Las opiniones, comentarios y contenidos elaborados por los diferentes autores son titularidad de éstos y de su exclusiva responsabilidad por lo que no son, ni representan necesariamente la opinión de Arafarma Group S.A. Asimismo Arafarma Group S.A. no se hace responsable de los mismos ni de la utilización que se haga de ellos.”.