HOMEÒSTASI DEL COLESTEROL EN PACIENTS INFECTATS PER VIH QUE REBEN TRACTAMENT ANTIRETROVIRAL

Pere Leyes García

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE MEDICINA

PROGRAMA: DE MEDICINA I RECERCA TRANSLACIONAL

HOMEÒSTASI DEL COLESTEROL EN PACIENTS INFECTATS PER VIH QUE REBEN TRACTAMENT ANTIRETROVIRAL

Memòria presentada per *Pere Leyes García* per optar al grau de doctor en Medicina

Dr. Esteban Martínez Chamorro

Director

Pere Leyes García

Doctorand

Barcelona abril de 2019

A la memòria dels meus pares.

Gràcies al seu esforç vaig tenir oportunitats

que a ells, en els temps convulsos que els va tocar viure, els van ser negades

“Man," I cried, "how ignorant art thou in thy pride of wisdom!”
— Mary Shelley

“The most radical revolutionary will become a conservative the day after the revolution”
— Hannah Arendt

AGRAÏMENTS

La realització d'una tesi en etapes tardanes de la vida professional implica un esforç que hom no preveia ser capaç de fer. Un esforç acompanyat de moments difícils i de temptacions d'abandonar. Per tant, és el moment de reconèixer l'ajut dels altres per poder haver arribat fins aquí.

En primer lloc voldria agrair al Dr. Esteban Martínez, director i tutor de la meva tesi, la confiança dipositada en mi i per transmetre'm la certesa de que aquest projecte arribaria bon port. Agrair-li el seu suport i, sobretot, la seva paciència, donada la meva propensió a donar mil voltes a les coses. Agrair-li també el temps dedicat, aquesta manera seva de posar sempre les coses fàcils i la seva bonhomia, que fa amics allà on va. Em sento molt afortunat d'haver pogut treballar amb algú de la seva vàlua professional. Agrair per extensió al servei de Malalties Infeccioses per haver-me rebut amb els braços oberts.

En segon lloc voldria agrair al Dr. Emili Ros la seva contribució a donar forma a aquest projecte i per posar a la meva disposició la seva expertesa. Agrair-li la seva dedicació en revisar els manuscrits i en saber aportar llum allà on jo hi veia punts foscos. Ha estat una gran sort poder comptar amb la seva col·laboració. Gràcies també a la Montserrat Cofán, no tan sols pel treball del laboratori, sinó també pel seu gran esperit de col·laboració, la seva actitud oberta i la seva disponibilitat en tot moment.

Els meus agraïments a l'Elisa de Lazzari per la difícil tasca d'assumir l'anàlisi estadística d'un projecte d'altri. Per refer tota l'anàlisi quan ho va creure necessari, fins quedar-ne satisfeta. Per la paciència a l'hora d'explicar els models a algú que no era matemàtic i que, no obstant, s'entestava a fer una pregunta darrera l'altra. Gràcies per la seva disponibilitat, inclús en moments en que anava desbordada de feina. I gràcies sobretot per la seva forma pulcra i ordenada de treballar, que per mi va ser com un bàlsam. Agrair *in memoriam* a l'Iñaki Pérez la seva contribució a l'estudi, en el tractament de la base de dades i en les primeres anàlisis. La seva mort sobtada ens va deixar a tots amb el cor encongit.

Agrair als companys de feina del servei d'Endocrinologia i Nutrició de l'Hospital Clínic, pel seu bon tarannà i per no tenir un 'no' com a resposta. Agrair especialment a la gent de Dietètica i Nutrició amb qui he anat madurant professionalment tots aquests anys, per impel·lir-me a buscar certeses i per obligar-me a qüestionar-les.

Agrair també als amics, pel seu suport, per la seva mirada lúcida i la seva estima incondicional, per veure en mi qualitats que ni jo mateix reconec, per la intensitat de les absències i les alegries dels retrobaments, per les complicitats viscudes en coses reals i en d'altres d'inventades, per aportar rauxa en els moments de seny i sensatesa en els moments de rauxa.

Finalment reservo uns agraïments molt especials i plens d'afecte per la meva família. Els meus germans Marutxi, Josep Carles i Carina; els meus nebots i generacions ixents: Laia, Neus, Benjamí, David, Mariona i Arlet. Gràcies pel seu suport i el seu escalf, per tantes coses grans i moltes més de petites. Recordar amb agraïment els meus pares, Pere i Júlia, que tant van treballar per educar-nos i tingueren la saviesa de deixar-nos la millor de les herències: estimar-nos.

ÍNDEX

pàgina

Glossari de termes 1

Introducció 7
1. Infecció per VIH i risc cardiovascular 8
   1.1. Factors lligats al propi pacient 9
      1.1.1. Factors clàssics de risc cardiovascular 9
      1.1.2. Toxicomanies 12
      1.1.3. Envelliment i comorbiditats 12
   1.2. Factors lligats a la infecció per VIH 13
      1.2.1. Efectes del VIH sobre els lípids plasmàtics 13
      1.2.2. Efecte del VIH sobre el transport revers del colesterol 14
      1.2.3. Efecte de la replicació viral 15
      1.2.4. Efecte del VIH sobre marcadors inflamatoris 15
      1.2.5. Efecte del VIH sobre la paret arterial 16
   1.3. Factors lligats al tractament antiretroviral 16
      1.3.1. L'exposició com a factor de risc 16
      1.3.2. Efecte dels trastorns de la composició corporal lligats al tractament antiretroviral sobre els factors de risc cardiovascular 16
      1.3.3. Efecte dels fàrmacs antiretrovirals sobre els factors de risc cardiovascular 18
2. Canvis en la composició corporal 23
   2.1. Composició corporal en l'època prèvia als tractaments antiretrovirals combinats. 23
   2.2. Composició corporal en l'època primerenca de tractament antiretroviral combinat 25
      2.2.1. Lipoatròfia 26
      2.2.2. Lipohipertròfia 29
      2.2.3. Lipotoxicitat 31
   2.3. Composició corporal en l'època tardana de tractament antiretroviral combinat 32
3. Metabolisme lipídic 34
   3.1. Homeòstasi del colesterol. Mecanismes de control i regulació 34
      3.1.1. Homeòstasi del colesterol. Concepte 34
      3.1.2. Síntesi de colesterol 35
      3.1.3. Absorció de colesterol 36
      3.1.4. Metodologia per estudiar l'homeòstasi lipídica 38

3.2. Transport plasmàtic del colesterol 40
3.2.1. Via de l'apoB 40
3.2.2. Via de l'apoA1 41
3.3. Mecanismes de captació, efusió i emmagatzematge de colesterol a la cèl·lula 41
3.3.1. Regulació del colesterol cel·lular 41
3.3.2. Entrada de colesterol a la cèl·lula 43
3.3.3. Efusió o sortida de colesterol de la cèl·lula 43
3.4. Dianes terapèutiques 45
3.5. Hauria de ser considerada la infecció per VIH com un factor de risc més? 48
4. Fisiopatologia de la dislipèmia lligada als inhibidors de la proteasa 49
4.1. Efecte dels inhibidors de la proteasa sobre els lípids plasmàtics 50
4.2. Efecte sobre l'aclariment de triglicèrids 50
4.3. Augment de la disponibilitat d'apoB i de secreció de lipoproteïnes 51
4.4. Efecte dels inhibidors de la proteasa sobre la síntesi lipídica a través de proteïnes d'unió a l'element regulador d'esterols. 51

Justificació i hipòtesis 55

Objectius 59

Estudis i resultats
Estudi 1: Efectes del tractament inicial amb dues pautes antiretrovirals estàndards actuals sobre el metabolisme lipídic. LIPOTAR 63
- AIDS 2018; 32 (10): 1309 65

Estudi 2: paper dels nivells plàsmàtics de fitosterols en la predicció de l'efecte hipolipemiant de l'ezetimiba en subjectes infectats per VIH que reben inhibidors de la proteasa. EZEHIV06 73
- BMC Infect Dis 2014; 14: 497 75

Discussió
– Hipòtesi #1 83
– Hipòtesi #2 91
– Hipòtesi #3 97

Conclusions 101

Bibliografia 105

Fonts de consulta lingüística 131

Glossari

*	3TC	Lamivudina
A	ABCA1	de l'anglès: *ATP-binding cassette (ABC) transporter A1* o Transportador A1 dependent d'ATP
	ABCG5	de l'acrònim anglès: Transportador G5 dependent d'ATP
	ABCG8	de l'acrònim anglès: Transportador G8 dependent d'ATP
	ACAT	Acil-CoA:colesterol aciltransferasa (o també SOAT, de l'anglès: *Sterol O-acyltransferase*). Té dues isoformes: l'ACAT1 és ubiqua excepte al budell, on s'hi trobaria l'ACAT2
	ADNmt	Àcid desoxiribonucleic mitocondrial
	AGL	Àcids grassos lliures
	apoA1	Apoliporoteïna A1
	apoB	Apoliporoteïna B (apoB-48 i apoB-100, fan referència a les dues isoformes principals; sintetitzades a l'intestí i al fetge, respectivament)
	apoC	Apoliporoteïna C
	apoE	Apoliporoteïna E
	APV	Amprenavir
	ARNm	Àcid ribonucleic missatger
	ARV	Antiretroviral
	ATV	Atazanavir
	ATV/r	Atazanavir potenciat amb ritonavir
	AZT	Zidovudina
C	CARDIA	estudi CARDIA, de l'anglès: *Coronary Artery Risk Development in Young Adults*
	CD4	de l'anglès: *Cluster of differentiation 4.* Fa referencia a la molècula de membrana de la família de les immunoglobulines, que s'expressa de forma característica a la superfície dels limfòcits T col·laboradors, macròfags i cèl·lules dendrítiques. En el text: fa referència a la subpoblació de limfòcits T que expressen CD4.
	CEPT	de l'acrònim anglès: Proteïna de transferencia d'èsters de colesterol
D	d4T	Estavudina
	D:A:D	Multicohort D:A:D, de l'anglès: *Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs*
	ddI	Didanosina
	DER	Despesa energètica en repòs
	DET	Despesa energètica total
	DRV	Darunavir

	DXA	de l'anglès: *Dual-energy X-ray absorptiometry*
E	EFV	Efavirenz
F	FRAM	estudi FRAM, de l'anglès: *Fat Redistribution and Metabolic Change in HIV Infection*
	FTC	Emtricitabina
G	GIM	Gruix de l'íntima mitja
	GLUT4	de l'anglès: *Glucose transporter type 4*
H	HDL	de l'acrònim anglès: Lipoproteïna d'alta densitat
	HMGCR	3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductasa o HMG-CoA reductasa; enzim clau en la síntesi del colesterol
	HOMA	de l'anglès: *Homeostatic model assessment*. Model matemàtic utilitzat per estimar la insulinoresistència i la funció cel·lular-β, a partir de la glucosa i la insulina plasmàtiques en dejú.
I	IAM	Infart agut de miocardi
	ICAM	Molècula d'adhesió intercel·lular
	IDL	de l'acrònim anglès: Lipoproteïna de densitat intermitja
	IDOL	de l'anglès: *Inducible Degrader Of the Low-density lipoprotein receptor*
	IL-6	Interleucina-6
	IMC	Índex de massa corporal
	INI	Inhibidor de la integrasa
	IP	Inhibidor de la proteasa
	ITIAN	Inhibidor de la transcriptasa inversa anàleg de nucleòsid/nucleòtid
	ITINN	Inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleòsid
J	JUPITER	estudi JUPITER, de l'anglès: *Justification for the Use of Statin in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin.*
L	LCAT	Lecitin-colesterol acil-transferasa
	LDL	de l'acrònim anglès: Lipoproteïna de baixa densitat
	LDLR	Receptor per l'LDL
	LPL	Lipoprotein lipasa
	LPV/r	Lopinavir potenciat amb ritonavir
	LXR	de l'acrònim anglès: Receptor X del fetge
N	naïve	en el text fa referència a subjectes mai tractats prèviament amb fàrmacs antiretrovirals
	Nef	Proteïna viral; de l'anglès: *Negative Factor*
	NPC1	Proteïna *Niemann-Pick C1;* encarregada del trànsit intracel·lular de colesterol
	NPC1L1	de l'anglès: *Niemann-Pick C1-Like 1;* transportador responsable de l'absorció intestinal de colesterol
	NVP	Nevirapina

P	PPAR	de l'anglès: *Peroxisome proliferator-activated receptor*
	PCSK9	Proprotein-convertasa subtilisina/kexina tipus 9
Q	QM	Quilomicrons
R	RAL	Raltegravir
	RCV	Risc cardiovascular
	REPRIEVE	estudi REPRIEVE, de l'anglès: *Randomized trial to prevent vascular events in HIV*
	RTV	Ritonavir
	RXR	Receptor X de retinoides
S	SCAP	de l'anglès: *SREBP cleavage-activating protein*
	SMART	estudi SMART, de l'anglès: *Strategies for Management of Antiretroviral Therapy*
	SRE	de l'anglès: *Sterol regulatory element*
	SREBP	de l'anglès: *Sterol regulatory element-binding proteins*. Inclou tres isoformes SREBP-1a, SREBP-1c i SREBP-2
	START	estudi START, de l'anglès: *Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment*
T	TAS	Teixit adipós subcutani
	TAV	Teixit adipós visceral
	TC	Tomografia computada
	TDF	Tenofovir
	TG	Triglicèrids
	TNF-α	Factor de necrosi tumoral-α
V	VACS-VC	de l'anglès: *Veterans Aging Cohort Study-Virtual cohort*
	VCAM	Molècula d'adhesió a la cèl·lula vascular
	VHC	Virus de l'hepatitis C
	VIH	Virus de la immunodeficiència humana
	VIH+	Subjectes infectats per VIH
	VLDL	de l'acrònim anglès: lipoproteïna de molt baixa densitat
	Vpr	Proteïna viral R
W	*wild type*	fa referència als al·lels naturals d'un gen determinat en contraposició als al·lels mutants. En el text: animal no modificat genèticament

Glossari de fàrmacs antiretrovirals que apareixen al text

ITIAN - Inhibidors de la transcriptasa inversa anàlegs de nucleòsids/nucleòtids

- 3TC Lamivudina
- AZT Zidovudina
- d4T Estavudina
- ddI Didanosina
- FTC Emtricitabina
- TDF Tenofovir

ITINN - Inhibidors de la transcriptasa inversa no nucleòsids

- EFV Efavirenz
- NVP Nevirapina

IP - Inhibidors de la proteasa

- ATV Atazanavir
- ATV/r Atazanavir potenciat amb ritonavir
- DRV Darunavir
- LPV/r Lopinavir potenciat amb ritonavir
- RTV Ritonavir

INI - Inhibidors de la integrasa

- RAL Raltegravir

INTRODUCCIÓ

Podem dir, sense por a equivocar-nos, que la infecció per VIH ha estat la gran epidèmia de la segona meitat del segle XX. Mentre no es disposà de cap tractament eficaç, la història natural de la infecció per VIH es va caracteritzar per: 1) primoinfecció, 2) una fase asimptomàtica i 3) una fase simptomàtica, la sida pròpiament dita, en la que apareixien infeccions oportunistes i/o neoplàsies que conduïen finalment a la mort de l'individu. Només un petit grup de pacients, anomenats *controladors d'elit*, aconseguien sense tractament sobreviure un temps llarg sense evolucionar a sida. Aquest subgrup de pacients es caracteritzava per tenir alguna alteració genètica que els conferia certa resistència a la replicació del virus.

Durant aquest període, la mortalitat era tan elevada i les infeccions oportunistes i neoplàsies eren tan predominants en el quadre clínic, que la malaltia coronària no va arribar a tenir una expressió clínica florida dins les manifestacions cardíaques de la sida.[1] Tot i així, en estudis necròpsics d'aquell temps ja va cridar l'atenció la inesperada troballa de lesions coronàries significatives en pacients joves sense altres factors de risc.[2] Es podria dir que els afectats per la infecció per VIH no arribaven a envellir prou perquè aquests efectes tinguessin temps a manifestar-se en el quadre clínic.

L'aparició dels primers antiretrovirals, però, no aconseguí aturar la progressió de la malaltia. El virus tenia una taxa de replicació tan elevada, que l'aparició de mutacions que conferien resistència als nous tractaments era ràpida. Aquest panorama canvià radicalment a mitjans de la dècada dels 90 amb l'aparició de tractaments combinats de fàrmacs amb diferents mecanismes d'acció sobre el cicle de replicació viral. Amb aquest nou enfocament, s'aconseguia controlar eficaçment la replicació viral, millorava l'estat immunitari de l'individu i s'aturava la progressió de la malaltia, convertint la infecció per VIH en la malaltia crònica que coneixem avui en dia.

Actualment les primeres línies de tractament en pacients infectats per VIH que han d'iniciar tractament antiretroviral (ARV) són dos inhibidors de la transcriptasa inversa anàlegs de nucleòsids/nucleòtids (ITIAN) més un tercer fàrmac sigui un inhibidor de la integrasa (INI), un inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleòsid (ITINN) o bé un inhibidor de la proteasa (IP).[3,4]

No obstant, tot i que la mortalitat per sida en la nostra àrea ha disminuït, la mortalitat en la població infectada per VIH continua essent elevada.[5] En una anàlisi del registre de l'agència de salut a Anglaterra i Gales s'observà que la mortalitat a l'any 2008 (més de 10 anys després de l'entrada dels primers IP al mercat) continuava essent 5 vegades superior en la població infectada per VIH que en la població general.[6] Descomptant les morts relacionades amb la sida (que representaven un 26% en aquesta cohort), la mortalitat per causes no relacionades amb la sida continuava essent 4 vegades superior a la població general.[6]

En aquest sentit, la infecció per VIH, tot i estar degudament controlada, sembla anar associada a un increment del risc d'infart agut de miocardi (IAM), no explicable pels factors de risc cardiovascular reconeguts.[7] En una anàlisi de la Cohort de Veterans Americans (VACS-VC), incloent 82459 participants (33.2% dels quals eren VIH+), la incidència d'IAM era significativament superior en aquells infectats per VIH en comparació als controls no infectats. Després d'ajustar el model pels factors de risc cardiovascular clàssics, comorbiditats i consum de tòxics, el risc d'IAM continuava essent un 50% superior als no infectats,[8] i aquest increment del risc resultava ser encara major quan s'analitzava el grup de dones per separat.[9]

1. Infecció per VIH i risc cardiovascular

Hi ha molts factors que contribueixen a aquest major risc cardiovascular (RCV). Uns d'ells estan relacionats amb el propi pacient (l'envelliment, alteracions de la composició corporal, major prevalença de comorbiditats i de factors de RCV); altres van lligats a la pròpia infecció pel VIH (inflamació sistèmica, activació immune i afectació vascular), i finalment uns altres factors estan lligats al propi tractament ARV (ja sigui a través de les alteracions metabòliques que provoquen o bé lligats a l'exposició al propi fàrmac independentment dels efectes metabòlics). [Figura 1]

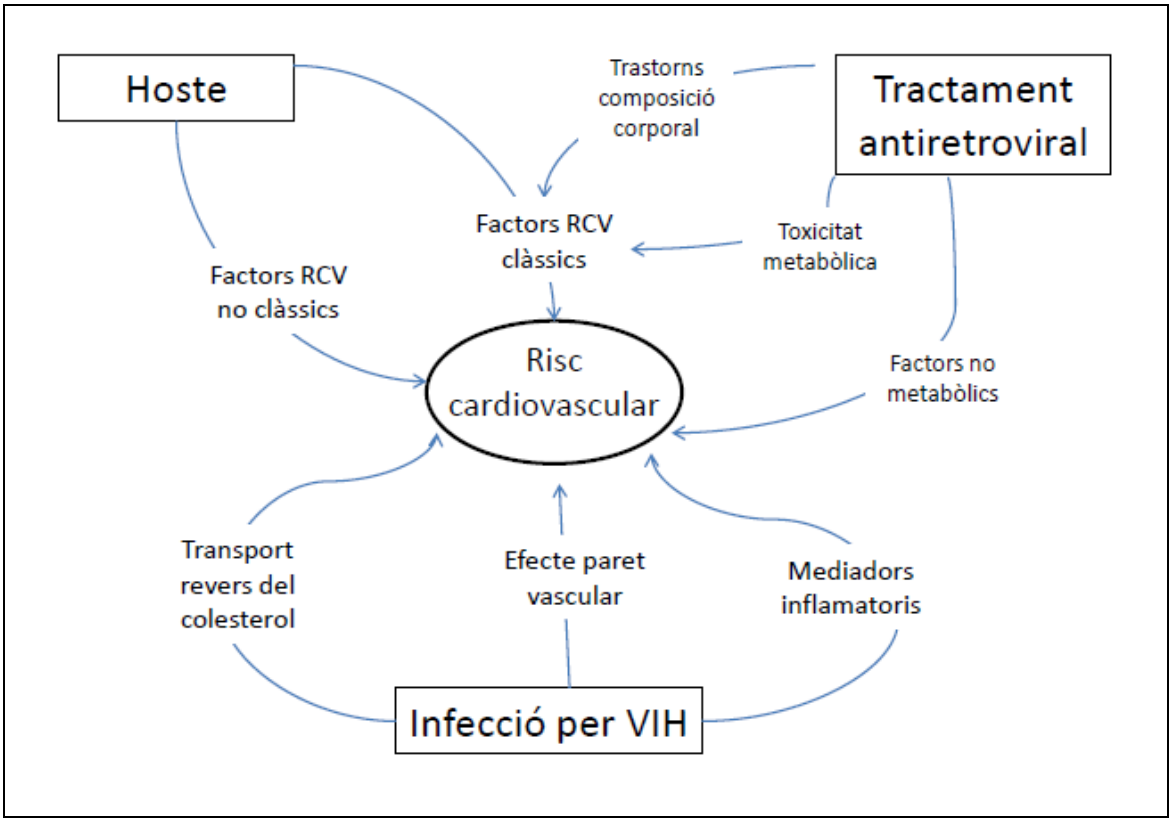

Figura 1: Factors lligats al risc cardiovascular en pacients infectats per VIH

1.1 Factors lligats al propi pacient

1.1.1 Factors clàssics de risc cardiovascular

En una altra anàlisi de la cohort VACS-VC, els subjectes infectats per VIH i sense cap factor de RCV tenien un risc 2 vegades major d'IAM que els controls no infectats, i aquest risc augmentava esgraonadament a mesura que s'hi afegien nous factors de risc,[10] els quals semblen ser especialment prevalents en aquesta població.[7]

És interessant ressaltar les dades d'un estudi de cohorts que mostra que la incidència d'IAM va tenir el seu pic entre els anys 2000 i 2003, per decréixer després progressivament;[11] fet que ha anat en paral·lel a la creixent atenció que ha rebut aquest problema i a l'optimització del seu tractament, tal i com recomanen les guies actuals.[4]

a. Tabaquisme:

Diversos estudis han observat una elevada prevalença de tabaquisme en la població infectada per VIH, que gairebé arriba a doblar la de la població no infectada.[12–14]

En una subanàlisi de l'estudi *SMART*, valorant l'impacte de l'hàbit tabàquic sobre l'evolució clínica, s'observà que els fumadors tenien una major mortalitat, més malalties cardiovasculars i càncers no relacionats amb la sida i més pneumònies que no pas els no fumadors o els exfumadors.[15]

En un estudi de cohorts danès també s'observà un increment de la mortalitat de qualsevol causa i de mortalitat no relacionada amb la sida en els fumadors VIH+, amb una pèrdua estimada de 12.3 anys de vida respecte als subjectes VIH+ no fumadors.[16] Segons dades d'un estudi cas-control, la contribució del tabaquisme a l'IAM és gairebé el doble en la població VIH+ que en la població no infectada per VIH.[17]

b. Diabetis

En un anàlisi d'una cohort prospectiva, la incidència de nous casos de diabetis era 4 vegades superior en el grup d'homes VIH+ que rebien tractament ARV comparat amb homes no infectats per VIH. Malgrat tot, en aquest estudi les dades no estaven controlades per altres covariables com la infecció per virus de l'Hepatitis C (VHC) i el diagnòstic es basava només en una sola determinació de glicèmia en dejú.[18]

En una anàlisi de la multicohort D:A:D, l'exposició a ITIAN (estavudina, didanosina i zidovudina) s'associava a una major incidència de diabetis, mentre que aquest efecte no s'observava amb els IP, suggerint que l'efecte negatiu d'aquests darrers sobre la sensibilitat a la insulina (*vide infra 1.3.3.b*) és de caràcter agut, més que no pas un efecte acumulatiu o a llarg termini.[19]

c. Hipertensió arterial

No queda clar quin és l'efecte de la infecció o el seu tractament sobre la prevalença d'hipertensió arterial (HTA). En l'anàlisi de la cohort D:A:D cap dels grups de fàrmacs (ITIAN, ITINN i IP) s'associava a una major prevalença d'HTA quan el model s'ajustava per altres covariables (edat, sexe, índex de massa corporal).[20]

En un estudi de cohorts més recent, la prevalença d'HTA era superior en el grup de pacients infectats per VIH en comparació al grup de controls no infectats (48.2% vs 36.4% respectivament). No obstant quan el model s'ajustava pel quocient cintura-maluc, que era significativament major en el grup VIH+, l'associació entre VIH i HTA deixava de ser significativa.[21]

d. Dislipèmia

La dislipèmia ha estat una complicació freqüent amb l'ús de fàrmacs ARV, especialment lligada a l'ús d'IP i ITINN.[20] En la cohort D:A:D, l'ús d'aquests fàrmacs s'associava a una prevalença d'hipercolesterolèmia (definida com un colesterol total superior a 240 mg/dL) del 27% i 23%, respectivament; augmentant fins a un 44%, quan s'utilitzaven ambdós conjuntament, mentre que la prevalença en pacients naïve era del 7.7%. Pel que fa a la prevalença d'hipertrigliceridèmia (definida com nivells de triglicèrids superiors a 204 mg/dL), les xifres són de 40%, 32%, 54% i 15%, per pacients amb IP, ITINN, ITINN+IP i naïve, respectivament. Per altra part, l'ús d'ITINN no s'associava a un colesterol d'HDL baix, en contraposició a pautes amb IP o amb ITIAN sols.[20]

1.1.2 Toxicomanies

a. Alcohol

El consum d'alcohol en excés també s'ha relacionat amb una major prevalença de malaltia cardiovascular. En un estudi realitzat amb la cohort de veterans americans, tant el consum excessiu d'alcohol com la dependència alcohòlica es relacionaven amb una major prevalença de malaltia cardiovascular respecte a aquells amb un consum moderat o infreqüent d'alcohol.[22]

b. Cocaïna

En un estudi de cohorts, valorant l'impacte del consum de cocaïna i la infecció per VIH sobre el desenvolupament de l'arteriosclerosi subclínica mitjançant tomografia cardíaca, s'observà que el grup VIH+ consumidor de cocaïna presentava una major prevalença de plaques coronàries en comparació amb els VIH+ no consumidors o els consumidors no infectats per VIH. En l'anàlisi de regressió múltiple, tant la infecció per VIH com el consum de cocaïna es relacionaven de forma independent amb la presència de plaques coronàries.[23]

1.1.3 Envelliment i comorbiditats

Una de les conseqüències del canvi extraordinari que hi ha hagut en la supervivència de la infecció per VIH és que l'espectre d'edat ha variat, augmentant progressivament la proporció de població envellida.[24] De fet, les previsions parlen d'una població infectada per VIH cada cop més envellida i amb major prevalença de comorbiditats. En un estudi de cohorts amb població de més de 45 anys s'observà un major prevalença de comorbiditats en la població VIH+ respecte als controls no infectats; prevalença que augmentava amb l'edat en els dos grups,[25] però continuava essent superior en la població VIH+ respecte als controls.

1.2 Factors lligats a la infecció per VIH

La pròpia infecció per VIH sembla actuar com un factor de RCV més, que se suma a l'efecte dels factors de risc clàssics.[10] Aquest augment de risc s'ha observat tant en els infectats per VIH que prenen tractament ARV com aquells subjectes naïve no exposats mai a cap ARV.[26]

Els estudis fets amb controladors d'elit (subjectes infectats per VIH que controlen la replicació viral i mantenen estable la xifra de CD4 per períodes llargs de temps sense tractament) confirmen el paper del VIH en la gènesi de l'arteriosclerosi. En un estudi de cohorts, que incloïa un grup de controladors d'elit, es va valorar el gruix de la íntima mitja (GIM) en l'artèria caròtida, observant que el GIM en controladors era superior als controls no infectats, d'un nivell similar als de pacients no tractats, però inferior al dels pacients tractats.[27] Resultats similars es van reportar en un altre estudi amb tomografia coronària, on es trobà una presència augmentada de plaques coronàries en controladors d'elit respecte als controls no infectats per VIH.[28]

Una altra mirada a l'efecte de la pròpia infecció per VIH sobre la malaltia cardiovascular ens la proporcionen els estudis de discontinuació. L'estudi *SMART*[29] va ser dissenyat per valorar l'efecte d'unes vacances terapèutiques guiades per la xifra de CD4 a fi de reduir la toxicitat acumulativa dels fàrmacs ARV. De forma sorprenent, el grup que prenia el tractament ARV de forma discontínua presentà un augment de la mortalitat de qualsevol causa, el que obligà a aturar prematurament l'estudi. Tot i així, s'observà una tendència acusada cap a una major taxa de malaltia cardiovascular, plantejant qüestions sobre quina era la contribució de la replicació viral no controlada en el RCV dels pacients infectats per VIH.

1.2.1 Efecte del VIH sobre els lípids plasmàtics

En l'època en que no es disposava de tractament ARV efectiu, la infecció asimptomàtica per VIH es caracteritzava per una disminució del colesterol

total i d'HDL, mentre que a mesura que es deteriorava l'estat immunològic disminuïa també el colesterol d'LDL i augmentava la xifra de triglicèrids (TG).[30] Amb l'ús de tractament ARV, el retorn del colesterol d'LDL als nivells previs a la seroconversió s'interpretà com un signe de restitució de la salut, mentre que la persistència de nivells baixos de colesterol d'HDL suggerien una resposta de l'hoste a la infecció per VIH,[31] de forma similar a la resposta de fase aguda.[32]

Aquest efecte deleteri sobre el colesterol d'HDL també ha estat confirmat en una anàlisi exploratòria de l'estudi *SMART*, observant-se que en discontinuar el tractament ARV es reduïa el colesterol total i d'LDL, però també el colesterol d'HDL, donant lloc a un canvi desfavorable en la raó colesterol total/HDL.[33]

1.2.2 Efecte del VIH sobre el transport revers de colesterol.

Estudis *in vitro* han mostrat que el propi VIH pot interferir directament en el transport revers del colesterol a través de la proteïna viral *Nef*. Aquesta proteïna afecta el funcionament del transportador A1 dependent d'ATP (ABCA1), que forma part d'una família de transportadors de transmembrana. En concret, l'ABCA1 se n'encarregaria de l'efusió del colesterol intracel·lular cap a l'apoA1, contribuint d'aquesta manera a la formació de partícules HDL madures.[34] La inhibició d'aquesta efusió de colesterol per part de la *Nef* viral donaria lloc a un major número de partícules HDL immadures i més petites, que serien més fàcilment catabolitzades i que duria com a resultat final la disminució del colesterol d'HDL. L'altra conseqüència d'aquesta inhibició de la funció de l'ABCA1 seria l'acumulació de colesterol als macròfags infectats, que es transformen en cèl·lules espumoses, el que podria explicar l'augment de risc d'arteriosclerosi observat en aquests pacients.

De forma interessant, el transport revers de colesterol sembla millorar amb el tractament ARV, i aquesta milloria està directament relacionada amb la

reducció de la càrrega viral;[35] el que reforça la idea del paper directe de la replicació viral sobre aquesta alteració.

1.2.3 Efecte de la replicació viral

El VIH necessita el colesterol com a component del seu embolcall i a tal efecte sembla utilitzar la maquinària cel·lular per augmentar la quantitat de colesterol en les balses lipídiques de la membrana, des d'on brotarien virions madurs de VIH. En aquest sentit, la proteïna viral *Nef* també estaria implicada en l'expressió de gens involucrats en la síntesi i captació de colesterol,[36] i alhora en el transport d'aquest colesterol cel·lular cap a aquestes balses lipídiques.[37] Tot sembla indicar que el VIH, a través de la proteïna *Nef*, redirigiria el metabolisme del colesterol cel·lular i alhora n'entorpiria els mecanismes d'efusió i aclariment, a fi d'utilitzar-lo per la seva replicació.

1.2.4 Efecte del VIH sobre marcadors inflamatoris

Està documentat que la infecció per VIH no tractada s'associa a un increment de marcadors d'activació endotelial i de coagulació, com la molècula d'adhesió a la cèl·lula vascular (VCAM), la molècula d'adhesió intercel·lular (ICAM) i el factor *von Willebrand*. Un cop iniciat el tractament ARV aquests marcadors milloren parcialment, sense arribar a corregir-se completament.[38] En un estudi de cohorts s'observà una augment de marcadors d'inflamació i coagulació (proteïna-C reactiva, interleucina-6 i dímer-D) en la infecció per VIH; marcadors que seguien elevats malgrat la càrrega viral estigués suprimida.[39] Val a dir que l'augment d'aquests marcadors ha estat relacionat amb un increment de mortalitat de qualsevol causa en aquesta població.[40,41] De forma interessant, en una altre estudi, aquells que referien una adherència no òptima al tractament tenien majors nivells d'aquests marcadors, tot i mantenir la càrrega viral suprimida.[42]

1.2.5 Efecte del VIH sobre la paret arterial

A part del major RCV observat en subjectes infectats per VIH, el propi virus podria jugar un paper directe en la promoció o l'acceleració de l'arteriosclerosi, donat que ha estat observat que les cèl·lules del múscul llis arterial poden ser infectades pel VIH tant *in vitro* com *in vivo.*[43]

1.3 Factors lligats al tractament antiretroviral

1.3.1 L' exposició com a factor de risc

La contribució del tractament ARV a l'increment del RCV va ser descrita primerament en un estudi col·laboratiu de vàries cohorts, en el qual l'exposició al tractament ARV combinat augmentava *per se* el risc d'IAM a una raó de 1.26 per cada any de tractament.[44] Per altra part, en un estudi col·laboratiu que recull dades de 11 cohorts de pacients infectats per VIH (D:A:D) també s'observà que l'exposició cumulativa als IP indinavir o lopinavir potenciat amb ritonavir (LPV/r) s'associava un increment del risc d'IAM.[45] Més recentment, l'exposició al darunavir potenciat amb ritonavir també s'ha associat a un risc més elevat d'IAM.[46]

1.3.2 Efecte dels trastorns de la composició corporal lligats al tractament antiretroviral sobre els factors de risc cardiovascular:

Amb el terme lipodistròfia es descriu un ventall de canvis morfològics caracteritzats principalment per pèrdua de teixit adipós subcutani (TAS) o lipoatròfia, especialment palesa en zones perifèriques del cos, junt amb acumulació patològica de teixit adipós visceral (TAV) o lipohipertròfia, seguint un fenotip de distribució central.[47]

Inicialment la lipodistròfia va ser considerada una síndrome que lligava diversos trastorns de la composició corporal amb components de la síndrome metabòlica. Actualment es considera que la lipoatròfia és

l'alteració específica de la infecció per VIH[48,49] i que no va lligada a la lipohipertròfia, ja que s'ha observat que la quantitat de TAV és independent del TAS.[50,51]

La valoració clínica pot subestimar els canvis en la composició corporal, ja que inclús en absència de cap canvi morfològic aparent, els subjectes infectats per VIH poden tenir menor TAS que els controls sans.[50,51]

Per la seva complexitat, els trastorns de la composició corporal són tractats en un capítol apart en aquesta introducció (*veure capítol 2*). Val a dir, però, que la lipodistròfia ha estat associada a dislipèmia, insulinoresistència i HTA,[21,52] afegint confusió sobre quin paper hi juga la toxicitat directa dels fàrmacs ARV i quin paper hi juga el trastorn de la composició corporal.

a. Hipertensió:

   En pacients infectats per VIH, l'augment del greix visceral sembla ser el determinant d'un major risc d'HTA. Com ja s'ha comentat, en estudis de cohorts la prevalença d'HTA s'explica per covariants com el quocient cintura-maluc,[21] sense que s'hagi pogut demostrar una relació directa entre l'exposició a fàrmacs ARV i HTA.[20]

b. Diabetis

   En un estudi de cohorts, s'observà que l'augment del TAV i TAS en la part superior del tronc s'associaven de forma independent a resistència a la insulina mesurada per *Homeostatic Model Assessment* (HOMA), tant en subjectes infectats per VIH com en controls sans.[53] Per altra part, l'acumulació de greix fora del teixit adipós en teixits sensibles a l'acció de la insulina com el fetge[54] o el múscul[55] sembla estar relacionada amb el desenvolupament a la resistència a la insulina.

c. Dislipèmia

   Tant l'augment del teixit adipós visceral com la disminució del teixit adipós subcutani en extremitats s'associen a majors nivells de

triglicèrids i menors nivells de colesterol d'HDL, tant en homes[56] com en dones.[57] En aquest sentit, la pèrdua d'adipòcits podria alterar la capacitat per emmagatzemar l'excés d'energia,[58] la qual cosa derivaria en un augment dels àcids grassos lliures (AGL) i TG circulants.[59]

La disminució de l'aclariment de greixos podria ser un altre factor en la gènesi d'hipertrigliceridèmia en pacients amb fenotip mixt de lipoatròfia i augment del greix visceral, ja que ha estat descrita una disminució de l'aclariment i emmagatzematge dels triglicèrids circulants.[60] Malgrat tot, altres autors han descrit que la disminució de l'aclariment de VLDL ja està present abans d'iniciar el tractament ARV i no es modifica per aquest, pel que seria l'augment de la secreció de VLDL el factor involucrat en l'augment precoç dels triglicèrids lligat al tractament, fenomen que es produeix abans que es puguin detectar canvis en la composició corporal.[61]

1.3.3 Efecte dels fàrmacs antiretrovirals sobre els factors de risc cardiovascular:

Si bé és cert que l'augment del RCV lligat a l'exposició al tractament ARV no s'explica només per l'efecte dels fàrmacs sobre els factors de RCV clàssics, ja que aquest risc es manté significatiu en l'anàlisi ajustada per aquests factors,[44] també és cert que els fàrmacs ARV influeixen sobre aquests factors de risc, amb efectes molt diferents segons cada fàrmac.

Per altra part, tot i que els canvis en la composició corporal poden influir en els factors de RCV clàssics de forma similar a la síndrome metabòlica en la població general, no tots els efectes metabòlics dels ARV s'explicarien a través de canvis en la composició corporal com l'obesitat central, ja que també s'ha descrit l'aparició de canvis en el metabolisme dels glúcids i dels greixos amb l'ús de IP o ITIAN abans de que hi hagi canvis detectables en la composició corporal.[62,63]

a. Dislipèmia

Atès que els fàrmacs ARV es donen en teràpies combinades, es fa difícil avaluar l'efecte individual de cada fàrmac sobre els lípids. No obstant, els estudis de substitució de fàrmacs ARV ens donen una idea aproximada de quins són els fàrmacs amb perfils metabòlics més favorables.

Diferències entre grups farmacològics.

Dins cada grup hi ha força diferències entre els diversos fàrmacs pel que fa al seu perfil metabòlic, fet que dificulta saber en quin grau es pot parlar d'un efecte de classe. Tot i així, de forma general podem dir que alguns ITIAN poden contribuir a l'augment del colesterol en les pautes combinades; que els IP donen lloc a augments mixtes de colesterol i triglicèrids, essent el grup farmacològic que més influeix sobre aquests darrers; que alguns ITINN podrien tenir un efecte més favorable sobre el colesterol d'HDL; mentre que els INI i inhibidors de l'entrada com els antagonistes de la CCR5, tindrien un mínim impacte metabòlic.

En un estudi aleatoritzat, comparant pautes combinades de dos ITIAN amb l'ITINN efavirenz (EFV) o bé l'IP LPV/r, i una tercera pauta sense ITIAN, amb EFV i LPV/r combinats, s'observà que la combinació d'ITINN+IP donava lloc a majors augments del colesterol total i LDL que qualsevol altra pauta combinada per separat. Tant les pautes amb ITINN com amb IP donaven lloc a increments similars de colesterol total i d'LDL, però la pauta amb IP produïa augments majors en la xifra de TG que la pauta amb ITINN, mentre aquesta darrera donava lloc a majors augments del colesterol d'HDL i a canvis més favorables en la raó colesterol total/HDL en comparació als IP.[64]

Inhibidors de la proteasa.

Dins els IP, l'ús de tipranavir i lopinavir potenciats amb ritonavir (RTV) s'associaria a majors increments en els lípids plasmàtics, mentre que

per altra part, saquinavir, atazanavir (ATV) i darunavir (DRV) potenciats amb RTV tindrien un efecte tènue sobre els lípids plasmàtics,[65–68] havent-se observat una milloria en el colesterol total i TG quan passen a substituir un altre IP.[69] De fet, tant ATV com DRV potenciats amb RTV o cobicistat són els més recomanats com a IP d'elecció tant en pacients tractats com en pacients sense tractament previ.[3,4]

Per la seva rellevància en el tema d'aquesta tesi, la fisiopatologia dels trastorns lipídics associats a l'ús d'IP és tractada en un capítol apart (*veure capítol 4*).

Inhibidors de la transcriptasa inversa anàlegs de nucleòsids/-òtids.

Pel que fa als ITIAN, l'ús d'estavudina (d4T) ha estat associada a majors increments del colesterol, mentre que el tenofovir (TDF) tindria pocs efectes adversos sobre els lípids i inclús un efecte hipolipemiant en estudis de substitució d'ARV.[70] La lamivudina (3TC) i la emtricitabina (FTC) també semblen tenir pocs efectes sobre els lípids. L'ús combinat de TDF i FTC sembla tenir un efecte hipolipemiant intrínsec, bàsicament atribuït al TDF, ja que s'ha observat una disminució del colesterol total i d'LDL quan s'afegeix aquest combinat a un IP potenciat amb RTV.[71]

Hi ha varis estudis en pacients naïve comparant l'efecte sobre els lípids plasmàtics de diferents pautes de ITIAN. En un d'ells, és comparà l'ús de TDF vers d4T, ambdós en associació a EFV+3TC, observant que la pauta amb d4T donava lloc a majors increments en la xifres de TG, colesterol total i d'LDL que la pauta amb TDF; mentre que aquesta darrera produïa majors increments en el colesterol d'HDL.[72] En un altre estudi l'ús de d4T amb didanosina (ddI) s'associà a majors increments en colesterol total, no-HDL i d'HDL que l'ús de zidovudina (AZT) amb 3TC.[73] Finalment, en un altre estudi comparant TDF/FTC amb AZT/3TC associades a EFV, s'observà que la pauta amb TDF/FTC donava lloc a menors increments en la xifra de colesterol total i d'LDL que la pauta

amb AZT/3TC, mentre que aquesta darrera donava lloc a majors augments en el colesterol d'HDL.[74]

Inhibidors de la transcriptasa inversa no anàlegs de nucleòsids.

Pel que fa als ITINN, EFV i nevirapina (NVP) donen lloc a increments similars en colesterol total i d'LDL, alhora que la NVP donaria lloc a majors increments en el colesterol d'HDL que no pas l'EFV.[75] El mecanisme implicat seria a través d'una augment de la producció d'apoA-1, sense produir-se canvis en el seu catabolisme.[76] La impressió general és que l'ús d'ITINN té un efecte bastant neutre sobre el perfil lipídic o inclús amb milloria de la raó colesterol total/HDL, fent que el seu ús no s'hagi associat a un augment de la incidència d'IAM.[77]

b. Metabolisme glucídic

Inhibidors de la proteasa.

L'efecte dels IP sobre la sensibilitat a la insulina varia en funció del tipus de fàrmac. En un estudi realitzat amb voluntaris sans, s'avaluaren per separat els efectes de RTV i amprenavir (APV) mitjançant *clamp* euglucèmic hiperinsulinèmic amb un disseny creuat i comparat amb placebo. En aquest estudi, l'administració d'una sola dosi terapèutica de RTV s'associà a una disminució a la sensibilitat a la insulina, mentre que no s'observaren canvis amb l'administració d'APV.[78] No obstant, en un altre estudi de disseny similar, també amb voluntaris sans, s'observà que la dosi de RTV habitualment emprada com a potenciador no afectava la sensibilitat a la insulina.[79] El mecanisme implicat sembla ser una inhibició relativament selectiva del transportador de glucosa GLUT4,[80] sense afectar les vies de senyalització o de translocació dels transportadors de glucosa cap a la membrana.[81]

Inhibidors de la transcriptasa inversa anàlegs de nucleòsids/-òtids.

No tan sols els IP han estat relacionats amb una disminució de la sensibilitat a la insulina, també els ITIAN semblen jugar-hi un paper. En un subestudi d'un assaig aleatoritzat en pacients naïve que iniciaven tractament ARV es comparen dues pautes: una amb ITIAN i una altra sense. Als 3 mesos d'iniciar el tractament, s'observà una disminució en la sensibilitat a la insulina valorada mitjançant *clamp* euglucèmic hiperinsulinèmic en aquells pacients que duien LPV/r associat a ITIAN (LPV/r+ AZT/3TC), efecte que no es veia en la pauta sense ITIAN (LPV/r+NVP).[63] De forma interessant, aquests efectes es produïen en absència de canvis detectables en la composició corporal mesurada de forma acurada mitjançant absorciometria de raigs X d'energia dual (DXA) i tomografia computada (TC).

En resum, les dades actuals apunten a que l'augment del risc cardiovascular es deu a la combinació de diferents factors: la pròpia infecció per VIH (sigui per mediadors inflamatoris, per disrupció del metabolisme del colesterol per part de proteïnes virals, o bé per efecte directe del virus sobre la paret vascular), una major prevalença dels factors de RCV clàssics, en bona part lligada a la toxicitat metabòlica del tractament ARV i, finalment, un efecte idiosincràtic de l'exposició a certs fàrmacs ARV no explicable per l'efecte d'aquests sobre els factors de RCV clàssics.

Dels estudis de valoració de l'efecte de pautes discontínues[29] hem après que els beneficis d'una supressió viral continuada són molt superiors als d'intentar reduir l'exposició al tractament ARV mitjançant pautes discontínues. En aquest sentit, pel que fa al RCV, el control de la replicació viral sembla pesar molt més que la toxicitat lligada al tractament ARV.

En conseqüència, la supressió viral contínua mitjançant tractament ARV, l'ús de fàrmacs ARV amb menor toxicitat com a tractament de primera línia i un maneig òptim dels factors de RCV associats, són les millors armes que tenim per reduir la malaltia cardiovascular en aquesta població, tal i com ens indica el declivi del risc d'IAM els darrers anys en la població infectada per VIH.[11]

2. Canvis en la composició corporal

2.1. Composició corporal en l'època prèvia als tractaments antiretrovirals combinats.

Si haguéssim de resumir en una imatge la infecció per VIH abans del tractament antiretroviral combinat, aquesta seria la d'una persona consumida, amb desnutrició severa. De fet, als anys 80, a l'inici de l'epidèmia de la infecció per VIH, a l'Àfrica subsahariana la malaltia era descrita amb el qualificatiu de *Slim Disease*, essent la pèrdua de pes i la diarrea símptomes prominents.[82]

Amb l'eclosió de l'epidèmia de la sida, la pèrdua de pes va arribar a tenir tanta entitat, que el quadre constitucional o '*wasting syndrome'*, entès com una pèrdua de pes igual o superior al 10% associada a diarrea i/o febre de més d'un mes d'evolució, en absència de cap altra infecció o procés concurrent, va ser un criteri de fase avançada de la infecció per VIH, la sida pròpiament dita.[83]

En fases avançades de la sida, el quadre de '*wasting'* era molt prevalent i d'un curs imparable. En un estudi de composició corporal en pacients en fases avançades de la malaltia, la magnitud de la depleció de massa cel·lular corporal era un clar determinant del moment de la mort, independentment de la causa subjacent d'aquesta pèrdua de pes.[84]

Canvis en la composició corporal en el *wasting syndrome*.

Pel que fa a la composició corporal, la pèrdua de massa muscular va ser una característica destacada en el quadre clínic,[85] a diferència de la desnutrició lligada a la inanició, que afecta predominantment el teixit adipós i en menor grau el muscular. També seria un tret diferencial dels trastorns de composició corporal que apareixerien més tard lligats al tractament antiretroviral combinat: la lipodistròfia, amb el teixit adipós com a diana principal.

A l'igual que altres models de desnutrició, la pèrdua de massa magra en la infecció per VIH tenia valor pronòstic. En un estudi prospectiu, l'índex de massa magra corporal (una variant de l'IMC, entesa com la massa magra dividida per la talla al

quadrat) era junt amb la xifra de CD4 un predictor independent de supervivència.[86] Altres estudis també van relacionar la magnitud de la pèrdua de pes amb la supervivència i la progressió de la malaltia,[84,87] així com amb un deterior de l'estat funcional.[88] Inclús a l'època del tractament ARV combinat, un IMC per sota 17 a l'inici del tractament continuava comportant-se com un predictor independent de mortalitat.[89]

Canvis en metabolisme intermediari.

La fisiopatologia del 'wasting' va mostrar ser força complexa. Per una part, no semblava concordar amb cap dels dos models de desnutrició coneguts (la inanició i la resposta inflamatòria), però alhora presentava característiques d'ambdós models. Podríem dir que en la fisiopatologia hi jugava una combinació d'ambdues situacions, amb una preponderància diferent de cadascuna en funció de l'etapa de la malaltia i de la presència o no de complicacions agudes.

En el curs de la infecció per VIH, la pèrdua de pes podia seguir dos patrons: 1) episodis aguts de pèrdua de pes, lligats sovint a infeccions oportunistes, i 2) pèrdua subaguda o crònica de pes, sovint lligada a malaltia gastrointestinal. A diferència d'altres models d'infeccions cròniques, el que cridava l'atenció és que un cop resolta la complicació o infecció oportunista, alguns pacients guanyaven pes i, fins i tot, molts pacients podien presentar fases d'estabilitat de pes fins que no es presentava una nova complicació.[90]

En el model inflamatori o de resposta a l'agressió, el quadre hipermetabòlic i catabòlic és determinant dels canvis en la composició corporal i es manté mentre dura la resposta inflamatòria, responent poc al suport nutricional. En els estudis calorimètrics en pacients infectats per VIH, la despesa energètica en repòs (DER) no va mostrar ser determinant en la pèrdua de pes, observant-se a més, gran variabilitat interindividual en aquest paràmetre.[91] Tot i haver estat reportada una major DER respecte als controls, quan aquesta es corregia per la massa magra,[91] la manca de correlació entre els canvis en la DER i els canvis de pes no permetia afirmar que l'hipermetabolisme fos el contribuïdor principal en la pèrdua de pes.

De fet, la despesa energètica total (DET), que és el determinant del balanç energètic, era més baixa en aquells pacients que perdien pes, en gran part degut a la dràstica reducció de la despesa energètica lligada a l'activitat física. Finalment, la principal causa de pèrdua de pes i del desequilibri en la balança energètica resultava ser la profunda reducció en la ingesta calòrica i no pas les variacions en la DET.[92]

Malgrat tot, tampoc es pot dir que el model metabòlic associat al 'wasting' era el de la resposta al dejuni. La manca de reducció de la DER corregida per massa magra[91] era un tret diferencial de la resposta adaptativa al dejú, caracteritzada per la reducció de la DER a mesura que es perd pes. A més, durant la infecció per VIH s'observaren tota una sèrie d'alteracions en el metabolisme intermediari, tals com hipertigliceridèmia[93] i augment de la lipogènesi,[94] que no corresponen al d'un model pur de dejuni.

Per altra banda, en contraposició a altres models inflamatoris en que s'observa cert blocatge de la resposta anabòlica, l'alteració en el metabolisme proteic en la infecció per VIH es caracteritzava per un augment del recanvi proteic, sense veure's alterada la resposta anabòlica al suport nutricional.[95] I pel que fa al metabolisme glucídic, estudis amb *clamp* hiperinsulinèmic mostraren que la sensibilitat a la insulina estava preservada en pacients amb sida,[96] el que contrasta amb la relativa insulinoresistència observada en els models de sèpsia.

2.2. Composició corporal en l'època primerenca de tractament antiretroviral combinat

Amb la irrupció del tractament ARV combinat, l'espectacular millora en la supervivència[97] va anar en paral·lel a la descripció dels primers casos de lipodistròfia.[98] La lipodistròfia és considerada una conseqüència del tractament ARV i una entitat diferenciada del *wasting*, aquest darrer caracteritzat principalment per pèrdua de massa muscular, tot i que també s'acompanya de pèrdua de teixit adipós en tots els territoris.[99]

La lipodistròfia va ser entesa inicialment com una síndrome que incloïa canvis en la composició corporal de diferent naturalesa (des de la pèrdua de greix fins a la seva acumulació en diversos territoris), acompanyats sovint d'alteracions metabòliques com la hiperlipèmia o la resistència a la insulina.[98] Malgrat tot, ni en homes ni en dones s'ha trobat associació entre lipoatròfia perifèrica i un augment recíproc del greix visceral, ben al contrari, els subjectes afectes per lipoatròfia tenen menys greix en tots els territoris que els controls VIH sense lipoatròfia o que els controls sans.[49–51] Per aquest motiu, la lipodistròfia ha deixat d'entendre's com una síndrome de redistribució del greix, i ambdues alteracions de la composició corporal, lipoatròfia i lipohipertròfia, han passat a ser considerades entitats separades, preferint-se l'ús de termes descriptius de cadascuna.

El tret més destacat i característic d'aquesta complicació és la pèrdua de teixit adipós subcutani o lipoatròfia, principalment palesa a cara, extremitats i natges, essent fàcilment detectable per exploració física, tot i que s'estima que quan és clínicament evident, la pèrdua de greix ja és superior del 30%.[100] L'acumulació de greix o lipohipertròfia és menys freqüent i s'observa generalment a l'abdomen, el tronc o regió dorsocervical. Els pacients poden presentar lipoatròfia, lipohipertròfia o una combinació d'ambdues.[101]

Hi ha una disparitat de freqüències reportades en diferents estudis, que reflecteixen la disparitat en els criteris diagnòstics emprats (que van des de la auto-percepció i mesures antropomètriques rudimentàries, fins a l'ús de tècniques de composició corporal com la DXA o la TC), el que fa difícilment comparables els estudis.

2.2.1. Lipoatròfia

El terme fa referència a la pèrdua de teixit adipós subcutani. Pot afectar qualsevol territori de l'organisme, però com ja s'ha esmentat, es fa més evident a extremitats, cara i natges.

Aquest quadre és fruit de la interacció de factors inherents a l'hoste, factors lligats al propi virus i factors lligats al tractament ARV. En una anàlisi

multivariant del *Nutrition for Healthy Living Study* ajustada per l'ús d'ARV, una càrrega viral elevada en temps basal era predictora de pèrdua de massa grassa, mentre que la xifra basal de CD4 guardava una relació lineal amb el guany de greix troncular.[102]

a. Factors de l'hoste

L'edat, el gènere i el grup ètnic són coneguts factors que influencien la distribució del greix en la població general. També són factors que juguen un paper en l'aparició i manifestació de la lipodistròfia, sense que estigui clara la patogènia d'aquesta associació.

b. Factors relacionats amb el tractament

L'exposició perllongada a ITIAN anàlegs de timidina, especialment la d4T i en menor grau l'AZT, s'ha associat a un major risc de lipoatròfia.[47,73] El paper d'altres fàrmacs és controvertit donada la dificultat d'establir relacions causals quan s'avaluen teràpies combinades.

La lipoatròfia tendeix a millorar quan es treuen els ITIAN del tractament combinat. En un estudi fet en pacients amb fracàs virològic, avaluant l'efecte de canviar a una pauta sense ITIAN (LPV/r+EFV), s'observà un augment en el contingut del teixit adipós subcutani.[103] En un assaig aleatoritzat, valorant l'efecte de la substitució d'anàlegs de la timidina (AZT o d4T) per TDF o abacavir, s'observà un augment del greix en les extremitats de manera similar en ambdós grups. Aquells subjectes que prenien d4T abans del canvi eren els que experimentaven majors increments en el greix a les extremitats.[104] Resultats equiparables es van obtenir en un altre estudi en que s'aleatoritzaren els participants a seguir amb anàlegs de la timidina o bé a substituir-los per abacavir, observant-se un augment del greix en extremitats en el grup que havia canviat a abacavir respecte als controls.[105]

Pel que fa als ITINN, diversos estudis han mostrat que la lipodistròfia es rara en individus que en reben i que el risc de lipodistròfia o complicacions metabòliques pot dependre més d'altres fàrmacs associats. En aquest sentit, un estudi amb tres branques de tractament en pacients naïve (comparant pautes combinades amb ITINN, amb IP potenciat i una branca sense ITIAN) aportà resultats conflictius amb la idea del paper neutral dels ITINN sobre els canvis de composició corporal: a les 96 setmanes de tractament, la lipoatròfia avaluada mitjançant DXA era més freqüent en la pauta de 2ITIAN+EFV (32%) que no pas en la pauta de 2ITIAN+ LPV/r (17%), essent la pauta sense ITIAN (EFV+LPV/r) la que tenia una incidència menor de lipoatròfia (9%). Malgrat tot, l'avantatge d'aquesta darrera pauta pel que fa a la composició corporal quedava contrarestat per l'augment del colesterol.[106]

Els IP inhibeixen la diferenciació dels adipòcits en cultius cel·lulars,[107,108] però no està clar en quina mesura contribueixen a les alteracions sistèmiques observades. Tot i que inicialment l'exposició a IP es va considerar com un factor de risc per desenvolupar lipodistròfia, aquesta concepció ha anat canviant en observar-se menor prevalença de lipoatròfia en pautes amb LPV/r en comparació a EFV,[106] o major increment del greix a extremitats en pautes amb ATV/r en comparació amb EFV.[109]

En la patogènia hi juga un paper fonamental la toxicitat mitocondrial, que es produeix per l'efecte inhibitori del tractament ARV sobre l'ADN-polimerasa mitocondrial, el que donaria lloc a la depleció de l'ADN mitocondrial (ADNmt) i conduiria a una disfunció dels mitocondris. Per altra part, també influeix un estat proinflamatori caracteritzat per l'expressió augmentada de molècules com el factor de necrosi tumoral-α (TNF-α) i la interleucina-6 (IL-6),[110–112] el que afavoriria una cascada d'esdeveniments que conduirien a un augment de l'apoptosi dels adipòcits i una alteració de l'adipogènesi.

c. Factors lligats a la infecció per VIH

També s'ha descrit una alteració en la distribució de greix en pacients infectats per VIH mai exposats a tractament ARV.[48,101]

Certes proteïnes virals podrien tenir un paper en la gènesi de la lipodistròfia. En un estudi amb cultius cel·lulars, l'exposició a la proteïna viral R (Vpr) donava lloc a la supressió de l'expressió genètica mitjançada pel receptor activat per proliferador de peroxisoma gamma (PPAR-γ).[113] Els PPAR són un grup de receptors nuclears que funcionen com a factors de transcripció i regulen l'expressió gènica. Els gens activats per PPAR-γ estimulen la captació de greix i la lipogènesi en adipòcits.

Estudis en pacients que inicien tractament ARV han mostrat alteracions en l'expressió de gens que codifiquen proteïnes mitocondrials i de gens que intervenen en la diferenciació dels adipòcits en biòpsies de teixit adipós.[114] No obstant, crida l'atenció la troballa d'alteracions en l'expressió gènica en pacients VIH+ encara no tractats, el que apuntaria cap a un paper del propi virus en el desenvolupament del quadre.[110] Tot sembla indicar que el VIH, a traves de mediadors inflamatoris i/o l'acció paracrina de proteïnes virals, iniciaria tota una sèrie d'alteracions en el teixit adipós que després es veurien amplificades amb el tractament ARV. En aquest sentit, l'expressió de PPAR-γ, de proteïnes d'unió a l'element regulador d'esterols tipus 1c (SREBP1c) i del transportador de glucosa GLUT4 ha mostrat ser significativament inferior en pacients amb lipodistròfia que en els que no en tenen.[110,115]

2.2.2. Lipohipertròfia

El terme fa referència a l'augment del teixit adipós visceral, principalment a l'abdomen, però també a amuntegaments molt localitzats de greix, com el "gep de búfal" en la regió dorsocervical. La fisiopatologia d'aquest quadre és complexa i inclou factors lligats a la composició corporal prèvia, així com

factors inherents al VIH i al tractament ARV. Probablement les alteracions metabòliques associades a l'acumulació de greix visceral en pacients VIH+ es produeixen per mecanismes semblants als observats en pacients obesos.

L'augment del greix visceral no és un fet inherent la infecció per VIH i el seu tractament. En un estudi de cohorts, comparant subjectes de l'estudi *FRAM* amb controls sans de l'estudi *CARDIA*, els homes VIH+ tenien menys teixit adipós subcutani que no pas els controls, mentre que la lipohipertròfia central era menys freqüent en homes VIH+ que en controls (40.2% vs. 55.9%, P = 0.001).[51] Dades de seguiment a 5 anys de la mateixa cohort, apunten a que els subjectes infectats per VIH guanyen teixit adipós tant subcutani com visceral, sovint de forma paral·lela als controls, però persistint amb menor quantitat de TAS i TAV que els controls.[116]

Hi ha la hipòtesi que el TAS constitueix la diana principal dels insults derivats del tractament ARV, i que el TAV seria un magatzem alternatiu del greix que no pot ser emmagatzemat adequadament en el TAS. No obstant, segons un estudi amb biòpsies de teixit adipós, el TAV també es veu afectat pel tractament ARV i experimenta deplecions de l'ADNmt similars al TAS,[117] el que parlaria en contra d'un paper purament "passiu" o "reactiu" del TAV a la lipoatròfia. Per altra banda, el TAV i el TAS són diferents en termes de metabolisme i expressió gènica. En aquest mateix estudi s'observà que, a diferència del TAS, on s'observava una disminució dels ARN missatgers (ARNm) de factors lligats a l'adipogènesi com el PPAR-γ i l'adiponectina, en canvi el TAV no presentava alteracions en l'expressió genètica d'aquests factors respecte als controls sans, havent-se trobat també que l'expressió de citocines pro-inflamatòries no era tan acusada com en el cas del TAS.[117] Així doncs, el TAS i el TAV podrien respondre de manera diferent o en diferent intensitat als insults causants de la lipodistròfia. És interessant destacar que, a diferència de la lipoatròfia, la lipohipertròfia no sembla millorar amb la substitució dels anàlegs de la timidina.[104,118]

Una altra manifestació diferent a l'acumulació de greix visceral és la hipertròfia localitzada de caràcter lipomatós, el que és coneix com a "gep de búfal". No s'ha pogut associar a cap règim ARV concret, però si s'ha relacionat amb la presència d'hiperinsulinèmia.[119] D'una manera similar al TAV, presenta depleció de l'ADNmt, però manté preservada l'expressió de gens adipogènics, sense observar-se inducció de senyals proinflamatoris.[120]

2.2.3. Lipotoxicitat

Entenem per lipotoxicitat els efectes deleteris derivats de l'acumulació de greix en àrees ectòpiques fora del teixit adipós. Com a resultat dels múltiples insults que intervenen en la patogènia de la lipodistròfia, l'activació de la lipòlisi i l'emmagatzematge deficient de greix en el TAS, donen lloc a un augment dels AGL circulants, que són importants mediadors d'aquesta acció lipotòxica en els teixits sensibles a l'acció de la insulina. En un estudi comparant subjectes infectats per VIH amb controls sans aparellats, s'observà que el nivell d'AGL després d'una càrrega de glucosa estaven augmentats en VIH+ i tenien una relació directa amb la quantitat de greix visceral, mentre que els AGL en dejú tenien una relació inversa amb el greix subcutani i estaven més elevats en aquells amb menys TAS. Per altra part, la lipòlisi en dejú també estava augmentada en subjectes VIH+ i era un predictor robust d'insulinoresistència.[121]

En pacients infectats per VIH en tractament ARV, s'ha descrit un augment del contingut gras hepàtic,[122] descrivint-se troballes radiològiques compatibles amb *Fetge Gras No Alcohòlic* en una tercera part d'una cohort sense coinfecció per VHC ni consum d'alcohol.[123] El contingut gras al fetge s'ha relacionat amb nivells baixos d'adiponectina, els quals podrien estar implicats en la insulinoresistència observada en aquests pacients.[124]

En un estudi observacional, el contingut de greix en el fetge era significativament superior en els pacients amb lipodistròfia en comparació als pacients sense lipodistròfia i als controls sans, i es relacionava directament amb el grau d'hiperinsulinèmia.[54] Per altra part, també s'ha

descrit l'acumulació de greix en el múscul esquelètic, en associació a una menor sensibilitat a la insulina.[55]

La coinfecció per VHC pot empitjorar la resistència a la insulina en aquests pacients. En un estudi observacional, el grau d' insulinoresistència valorada mitjançant HOMA era significativament superior en pacients infectats per VHC i els coinfectats per VIH-VHC, respecte als només infectats per VIH. De fet, la coinfecció per VHC podria anar associada a una major risc de diabetis mellitus.[125,126]

2.3. Composició corporal en l'època tardana de tractament antiretroviral combinat

Els avenços i l'accés als tractaments ARV han fet possible l'assolir una supressió viral sostinguda en la majoria de pacients, el que ha permès que l'expectativa de vida s'apropi a la de la població general.[127] El diagnòstic i l'inici precoç del tractament abans que hi hagi immunodepressió greu o complicacions associades, així com la bona adherència al tractament en són factors clau.[128] Aquest canvi de paradigma de la infecció per VIH, entesa com una condició crònica, ha fet que hagi pres rellevància la recerca de pautes d'ARV amb menor toxicitat, així com la prevenció i tractament de les comorbiditats lligades a la interacció de la malaltia amb el procés d'envelliment.

Una anàlisi retrospectiva de l'evolució de la composició corporal a partir de l'any 2005, probablement reflectint l'ús estès de pautes d'ARV amb menor toxicitat, mostra un augment progressiu del greix a cames i en el depòsit visceral, tant en els subjectes amb lipoatròfia com amb lipohipertròfia.[129]

Els inhibidors de la integrasa (INI) són un nou grup de fàrmacs ARV que presenten baixa toxicitat, donat que la integrasa no és present en les cèl·lules dels mamífers i, per tant, el seu blocatge és específic pel virus i té poc potencial d'afectar el metabolisme cel·lular de l'hoste. Els INI són actualment recomanats tant en pautes de primera línia com a alternatives de canvi de pauta (sigui per toxicitat o per fracàs virològic).[4,130]

El seu perfil metabòlic més favorable ha estat documentat en estudis de substitució,[131] havent-se reportat milloria en el perfil lipídic quan un IP potenciat amb RTV[132] o l'EFV[133] són substituïts per un INI. Com a tractament de primera línia, l'ús d'un INI com el raltegravir (RAL) s'associa a augments del greix a tronc i extremitats de la mateixa magnitud que l'EFV, però amb una afectació del perfil lipídic significativament menor que aquest darrer.[134]

Un dels efectes observats amb l'ús d'INI és l'augment de pes. En un estudi retrospectiu, els subjectes que havien canviat a un règim que contenia INI havien guanyat pes a un ritme d'1.9 kg/any, mentre que els que seguiren amb EFV havien guanyat 0.6 kg/any.[135] Cal tenir en compte, però, que el període analitzat (18 mesos) era massa curt com per poder inferir tendències a llarg termini. Tot i així, aquesta tendència creixent també s'ha descrit en la població general, on s'estima un guany de pes entre 0.55 i 0.89 kg per any, augmentant de forma paral·lela la prevalença de sobrepès i obesitat.[136]

L'inici del tractament ARV sovint s'associa amb un període de guany de pes, més pronunciat en aquells pacients que presenten baix pes al moment de l'inici.[137] De fet, en l'època primerenca de TARV, aquest augment de pes era indicatiu d'una millor supervivència en aquells subjectes amb un pes baix o normal a l'inici del tractament, un efecte que no es veia en aquells subjectes que ja tenien sobrepès a l'inici del tractament.[138] No obstant, la història natural de la infecció per VIH segueix un curs paral·lel al de l'altra pandèmia de la nostra època: l'obesitat; havent-se observat en els darrers anys un percentatge creixent de subjectes amb sobrepès o obesitat al moment del diagnòstic.[137,139] Aquesta tendència creixent continua un cop iniciat el tractament ARV. Als 3 anys de l'inici del tractament un 22% dels individus amb normopès inicial havien passat a tenir sobrepès, mentre que un 18% dels que ja tenien sobrepès a l'inici havien esdevingut obesos.[139]

3. Metabolisme lipídic

3.1. Homeòstasi del colesterol. Mecanismes de control i regulació a l'organisme.

El colesterol és un component essencial de les membranes cel·lulars i contribueix a mantenir la seva estabilitat. Juga un paper determinant en la formació de les anomenades balses lipídiques, uns microdominis de membrana que actuen com una mena de centres on convergeixen molècules de senyalització i es facilita el trànsit de proteïnes a la membrana. Per altra part, és precursor de metabòlits com les sals biliars, els oxiesterols o les hormones esteroides, amb importants funcions fisiològiques. Donada la seva importància, el contingut cel·lular de colesterol és estretament regulat a fi d'evitar-ne una mancança o un excés que pugui ser tòxic.

3.1.1. Homeòstasi del colesterol. Concepte

Entenem per homeòstasi del colesterol com tot un conjunt de processos per mitjà dels quals es regula la quantitat de colesterol a l'organisme, i que és fruit de la interacció entre absorció, síntesi i l'excreció de colesterol en forma d'àcids biliars. De fet, síntesi i absorció de colesterol semblen mantenir una estreta relació a través de complicats mecanismes de retroalimentació, i responen conjuntament i recíproca a qualsevol agent hipolipemiant que actuï sobre l'un o l'altre, amb gran variabilitat entre individus.

Aquesta interacció va quedar reflectida en el treball de *Grundy i cols*, que mostrà una relació entre la síntesi diària de colesterol i la quantitat de colesterol absorbit, mentre que la interferència de l'absorció mitjançant esterols vegetals donava lloc a una disminució del colesterol plasmàtic i a un augment reactiu de la síntesi.[140]

S'estima que el contingut corporal de colesterol en un subjecte de 70 kg és de 35 g. En el balanç diari, la síntesi *de novo* de colesterol (1-1.2 g/dia) tindria més pes que la ingesta (0.2-0.4 g/dia). La circulació enterohepàtica juga també un paper important, atès que a través de la bilis se secreten a

diari 24 g de colesterol en forma de sals biliars, un 95% dels quals es reabsorbeixen al budell prim distal (íleum). A més de les sals biliars, se secreten per la bilis uns 2 g de colesterol. Es calcula que en terme mitjà un 50% del colesterol intestinal és absorbit.[141]

3.1.2. Síntesi de colesterol

La síntesi de colesterol està fermament regulada a través de sensors de nivells de colesterol intracel·lular, a partir dels quals es modula l'expressió de proteïnes clau en el control de l'homeòstasi del colesterol.

La cèl·lula té mecanismes ràpids per controlar l'activitat dels enzims involucrats en la síntesi i el metabolisme del colesterol. Quan això no és suficient, es posen en marxa sistemes reguladors a nivell transcripcional. Les SREBP són els factors principals d'aquest nivell de regulació. Els mamífers codifiquen tres isoformes d'SREBP anomenades SREBP-1a, SREBP-1c, i SREBP-2. L'SREBP-1a és la menys selectiva d'elles, actuant com a potent activadora de tots els gens involucrats en la síntesi de colesterol, àcids grassos i triglicèrids. L'SREBP-1c i l'SREBP-2 serien més selectives i, mentre l'SREBP-1c afavoriria la biosíntesi d'àcids grassos, l'SREBP-2 estimularia la transcripció d'enzims clau en la síntesi de colesterol com la HMG-CoA reductasa (HMGCR) i activaria el gen del receptor d'LDL (el mecanisme pel qual entra el colesterol a la cèl·lula).[142]

Així doncs, quan les concentracions cel·lulars de colesterol són altes, l'SREBP2 es troba al reticle endoplasmàtic en forma inactiva, formant complex amb una proteïna de clivatge, l'SCAP. Quan a la cèl·lula li manca colesterol, el complex migra cap a l'aparell de Golgi, on pateix un clivatge per acció de dues proteases S1P i S2P, permetent que l'SREBP que en resulta es traslladi cap al nucli, es lligui a l'element regulador d'esterols (SRE) i activi la transcripció de múltiples gens que donen lloc a un increment dels nivells de colesterol cel·lular.[142]

Influència de la dieta i la composició corporal:

Estudis en humans mostren una heterogeneïtat en la resposta dels lípids circulants al canvi en el patró dietètic de greixos. En la majoria de subjectes un increment en el colesterol de la dieta es compensa amb una reducció de la fracció del colesterol absorbit i/o de la síntesi endògena de colesterol.[143,144] En aquells subjectes en que la síntesi no decreix de forma compensatòria s'observa aleshores un increment en els nivells plasmàtics de colesterol.[144]

La síntesi de colesterol es troba incrementada en el sobrepès, un increment que va associat a una disminució de l'absorció del colesterol.[145] Per altra banda, la reducció de pes en subjectes obesos mitjançant restricció calòrica s'associa a una disminució en la síntesi de colesterol i, en menor mesura, en els nivells circulants de colesterol total i d'LDL.[146]

3.1.3. Absorció de colesterol

L'absorció de colesterol i d'esterols vegetals està mediatitzada per un mateix transportador, el Niemann–Pick C1-like 1 (NPC1L1), que està localitzat a la vora en raspall de l'intestí proximal.[147] Aquest transportador juga un paper clau en l'absorció del colesterol biliar i l'aportat per la dieta. [Figura 2]

El model transgènic de ratolins genoanul·lats per NPC1L1 dona lloc a una gran supressió de l'absorció de colesterol i d'esterols vegetals, i els fa resistents a la hipercolesterolèmia induïda per la dieta.[147] En ratolins *wild-type*, que expressen normalment NPC1L1, l'administració d'ezetimiba, un inhibidor d'aquest transportador, dona lloc a una supressió de l'absorció del colesterol comparable a l'observada en ratolins genoanul·lats per NPC1L1, en els quals l'ezetimiba no tindria cap efecte.[148] En humans s'han descrit variants de l' NPC1L1 associades a una reducció en l'absorció de colesterol i menors nivells plasmàtics de colesterol d'LDL.[149]

L' NPC1L1 té un paper clau en la regulació de l'homeòstasi del colesterol. La deficiència d'NPC1L1 dona lloc a una expressió augmentada de l'ARNm de la

hidroximetilglutaril-CoA sintasa i un increment de la síntesi intestinal de colesterol sense que hi hagi canvis en l'expressió dels transportadors dependents d'ATP, ABCG5 i ABCG8, els quals retornen part del colesterol absorbit a la llum intestinal (*vide infra*).[147,148] En ratolins *wild type*, l'alimentació rica en colesterol disminueix l'expressió de l'ARNm d'NPC1L1[147] i augmenta l'expressió d'ABCG5 i ABCG8, que tindrien un efecte antagònic al de l'NPC1L1.[150] En humans també s'ha observat una reducció de la fracció de colesterol que s'absorbeix, en situacions d'ingesta augmentada de colesterol.[144]

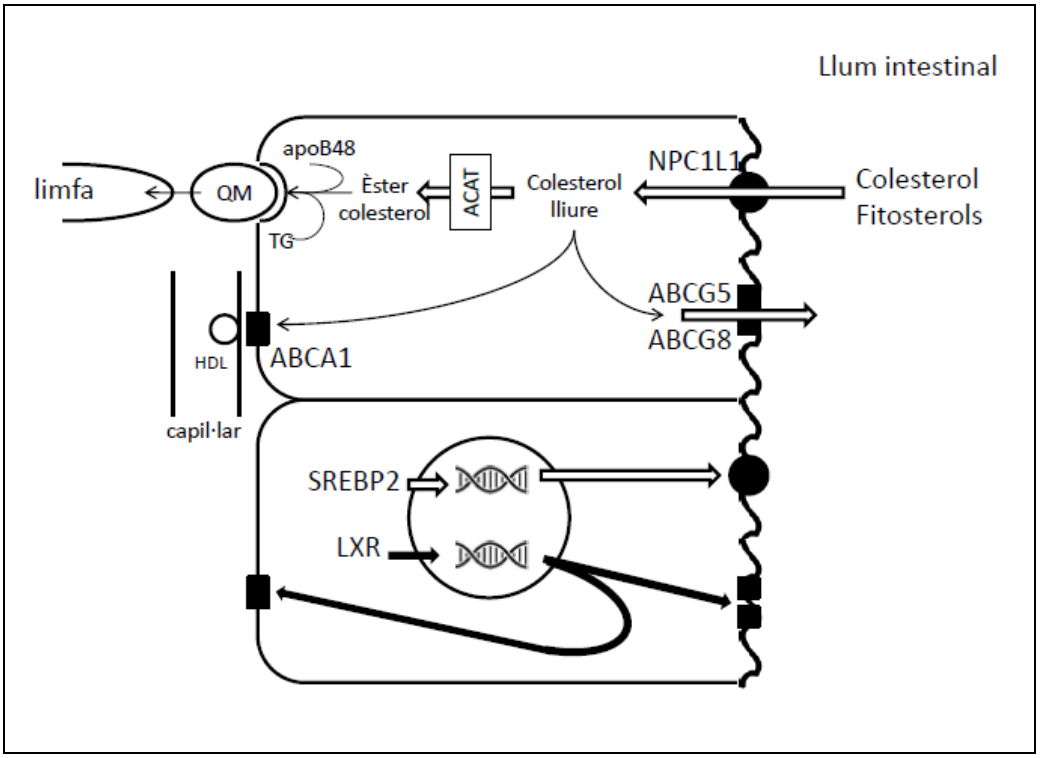

Figura 2: Absorció del colesterol i esterol vegetals

En la mateixa localització que l'*NPC1L1,* s'hi troben dos transportadors ABCG5 i ABCG8, la funció principal dels quals és tornar a secretar cap a la llum intestinal el colesterol lliure (no esterificat) i els esterols vegetals de dins la cèl·lula intestinal.[150] També s'expressen en la membrana canalicular de l'hepatòcit i són encarregats de la secreció dels esterols cap a la bilis.[151]

La mutació inactivant de qualsevol d'aquests 2 transportadors dona lloc a un gran augment en l'absorció d'esterols vegetals i colesterol, el que suggereix que ambdós heterodímers funcionen conjuntament en el procés de retornar els esterols absorbits cap a la llum intestinal. El quadre clínic resultant de la disfunció d'aquests transportadors es coneix com sitosterolèmia i es caracteritza per un gran augment d'esterols vegetals en plasma i un augment menys marcat del colesterol, produint una arteriosclerosi accelerada.[150]

Un cop dins l'enteròcit, una part del colesterol és esterificat preferentment per l'acil-CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT) tipus 2 i, un cop esterificat, ja no és susceptible de tornar a ser efluït pels transportadors ABCG5 i G8. Els esterols vegetals, en canvi, són mals substrats per l'ACAT2[152] i són en gran part efluïts de nou cap a la llum intestinal. Malgrat tot, en competir amb el colesterol pel mateix transportador *NPC1L1*, l'administració d'esterols vegetals resulta en una disminució de l'absorció del colesterol i alhora produeix un augment recíproc en la síntesi de colesterol.[153]

Influència de l'apoE:

Les diferents isoformes de l'apoE podrien jugar un paper en l'absorció del colesterol. Els portadors de l'apoE2 presenten una menor absorció i una major síntesi de colesterol que els portadors d'apoE4,[154] essent aquests darrers més sensibles a variacions en el colesterol de la dieta.[155]

3.1.4. Metodologia per estudiar l'homeòstasi lipídica

a. **Absorció de colesterol:**

a.1. Mètode de balanç de colesterol: aquest mètode mesura la massa de colesterol que s'absorbeix, calculant la diferència entre el colesterol ingerit i l'excreció fecal de colesterol exogen. Per tal fi, cal estimar quina és la quantitat de colesterol endogen que s'excreta per la femta mitjançant l'administració intravenosa de colesterol marcat.[156]

a.2. La tècnica de la raó d'isòtops en plasma, en comptes de quantificar la quantitat de colesterol que és absorbida, el que fa és estimar la fracció de colesterol que s'absorbeix a partir de la raó entre dos isòtops: un d'ells administrat per via oral, representant la fracció de colesterol exogen, i un altre administrat per via intravenosa, representant del *pool* de colesterol endogen.[157]

a.3. Raó d'esterols vegetals respecte al colesterol: L'ús d'aquests marcadors subrogats es basa en el fet que tant els esterols vegetals (o fitoesterols) com el colesterol utilitzen el mateix transportador per ser absorbits.[158] Hi ha estudis que mostren que els nivells de fitoesterols circulants es correlacionen amb l'absorció del colesterol. D'aquesta manera, els nivells plasmàtics dels principals fitoesterols, campesterol i sitosterol, expressats com la seva raó respecte al colesterol plasmàtic, poden ser utilitzats com indicadors de l'absorció de colesterol.[159–161]

b. **Síntesi del colesterol:**

b.1. *La síntesi fraccional de colesterol* es calcula sobre un període de 24 hores després d'administrar aigua marcada amb deuteri. Es mesura la incorporació de deuteri al colesterol lliure de la membrana de les hematies, i s'expressa en relació al *pool* de colesterol total.[156]

b.2. *Quantificació dels precursors de colesterol*: La base d'aquesta tècnica rau en el fet que els metabòlits precursors en la biosíntesi de colesterol es vessen cap al plasma de forma proporcional a la seva formació en la via sintètica del colesterol. Precursors com el latosterol, expressats com una raó vers el colesterol total, mostren una bona correlació amb la taxa de síntesi mesurada per tècnica isotòpica.[162,163] De totes maneres, cal tenir en compte que aquesta tècnica no permet quantificar directament la quantitat de colesterol sintetitzat, però sí que és útil per indicar si la síntesi augmenta o disminueix com a resultat de qualsevulla intervenció.

3.2. Transport plasmàtic del colesterol

A fi de ser transportat, el colesterol ha de ser solubilitzat al plasma mitjançant les lipoproteïnes. Aquestes partícules consisteixen en una apolipoproteïna estructural, apolipoproteïnes perifèriques, lípids estructurals (colesterol i fosfolípids) i un nucli hidrofòbic on s'hi transporta la càrrega lipídica, siguin triglicèrids, èsters d'esterols o vitamines liposolubles.

De forma general, les lipoproteïnes es poden dividir en dues classes en funció de la seva apolipoproteïna estructural: les que contenen l'apolipoproteïna B (apoB) i aquelles que contenen apolipoproteïna A1 (apoA1). En combinació amb altres apolipoproteïnes perifèriques com l'apoE i les apoC, l'apoB i l'apoA1 defineixen la funció i el destí metabòlic de la partícula lipoproteica i la seva càrrega lipídica.[164]

3.2.1. **Via de l'apoB**

Els greixos de la dieta s'absorbeixen al budell prim i són empaquetats en lipoproteïnes grans anomenades quilomicrons (QM) amb una apoB específica de l'intestí, l'apoB-48. Els QM s'encarreguen bàsicament de transportar i lliurar triglicèrids als teixits perifèrics, on activen la lipoprotein lipasa (LPL) present en els capil·lars, la qual hidrolitza els triglicèrids i allibera AG als teixits. Les partícules de QM remanents, relativament enriquides en colesterol, són ràpidament aclarides pel fetge i integrades en les seves vies metabòliques.

El fetge, per la seva part, produeix *de novo* una segona classe de lipoproteïna amb apoB: la lipoproteïna de molt baixa densitat (VLDL), la qual conté l'apoB-100 i comparativament està més enriquida en colesterol que el QM. La VLDL reparteix de forma similar TG als teixits, on per mitjà de l'apoC2 del seu embolcall estimula la LPL en els capil·lars. Durant aquest procés, la proporció de colesterol en el nucli augmenta progressivament donant lloc a la lipoproteïna de baixa densitat (LDL). Si les VLDL no es catabolitzen acuradament, es formen lipoproteïnes romanents enriquides en colesterol. Les cèl·lules tenen un receptor per l'LDL (LDLR) per mitjà del qual es

produeix la internalització de la partícula, en un procés en el que el LDLR es pot reutilitzar vàries vegades. En aquest sentit, l'LDL és la lipoproteïna que serveix per repartir colesterol a l'organisme i el LDLR és un mecanisme essencial per aclarir colesterol de la circulació i incorporar-lo a la cèl·lula.[164,165]

3.2.2. **Via de l'apoA1**

Al contrari de les lipoproteïnes que contenen apoB, les que contenen apoA1 se n'encarreguen del que es coneix com el transport revers del colesterol, és a dir, el transport des de la perifèria al fetge. L'apoA1 és sintetitzada bàsicament a l'intestí i al fetge. Les lipoproteïnes d'alta densitat (HDL) naixents són pobres en lípids. L'apoA1 d'aquestes partícules activa l'ABCA1 de les cèl·lules perifèriques i aquesta fa efluir colesterol lliure cap a les partícules d'HDL, on és esterificat per mitjà de la lecitin-colesterol acil-transferasa (LCAT) i emmagatzemat al nucli de la partícula. A mesura que l'HDL es carrega de colesterol va augmentant de mida i canviant a la seva forma madura i, per via de la proteïna de transferència d'èsters de colesterol (CETP), transfereix el colesterol a les VLDL i LDL en intercanvi per TG. En aquest procés la partícula d'HDL no és destruïda i pot participar en el transport revers del colesterol vàries vegades.[164,165]

3.3. Mecanismes de captació, efusió i emmagatzematge del colesterol a la cèl·lula

3.3.1. Regulació del colesterol cel·lular

Un excés de colesterol lliure és tòxic per la cèl·lula, pel que aquesta té mecanismes ràpids per controlar l'activitat enzimàtica d'enzims involucrats en el metabolisme del colesterol i mecanismes reguladors a nivell transcripcional, principalment la regulació a la baixa de sensors d'esterols com els factors de transcripció SREBP, que al seu torn actuen modulant l'expressió dels gens que codifiquen els enzims clau de la homeòstasi del colesterol intracel·lular. D'aquesta manera, un increment en la concentració

cel·lular de colesterol dona lloc a la reducció de l'activitat de la HMGCR, que és l'enzim limitant en la síntesi del colesterol; un augment de l'activitat de la colesterol 7α-hidroxilasa, enzim limitant en la biosíntesi d'àcids biliars, i un augment de l'ACAT, que s'encarrega d'esterificar el colesterol, llevant-lo de la seva toxicitat i permetent el seu emmagatzematge a la cèl·lula. Com a resultat es produeix una disminució de la síntesi de colesterol, un augment de la síntesi de sals biliars i un increment en l'esterificació de colesterol, respectivament. Si aquesta regulació no és suficient, hi ha altres mecanismes de regulació a nivell transcripcional, com el receptor X del fetge (LXR) (*vide infra* 3.3.3).

Per altra banda, si es produeix una disminució del colesterol cel·lular, s'indueixen els efectes contraris sobre aquests enzims i es produeix una regulació a l'alça de les SREBP donant lloc a la situació inversa.[166] [Figura 3]

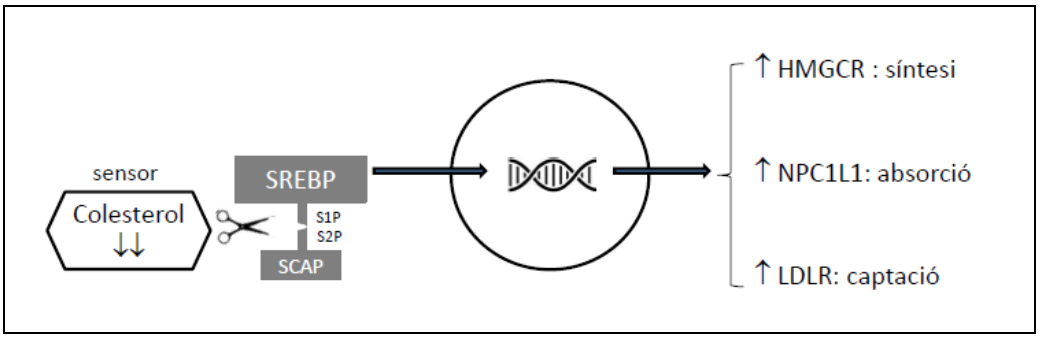

Figura 3: Mecanismes de regulació en situacions de disminució del colesterol cel·lular

Per tant, quan la concentració de colesterol en l'hepatòcit és baixa l'expressió gènica és orientada a augmentar la síntesi endògena i la captació de colesterol del plasma, a disminuir l'efusió de colesterol i la síntesi de d'àcids biliars. En situació d'abundància de colesterol cel·lular, se'n disminueix la síntesi, n'augmenta l'efusió i l'esterificació, i augmenta també la síntesi de sals biliars.

3.3.2. Entrada de colesterol a la cèl·lula

L'entrada del colesterol a dins la cèl·lula es realitza a través del receptor per les LDL (LDLR). L'apoB de la partícula de colesterol d'LDL facilitaria el seu lligam amb el LDLR, el qual té varis dominis proteics implicats en l'endocitosi de la partícula d'LDL. Habitualment, un cop dins la cèl·lula el LDLR allibera la partícula d'LDL, la qual és degradada, mentre que el receptor es pot reciclar de nou a la membrana.

La quantitat de LDLR a la cèl·lula és regulada per una altra proteïna, la proprotein-convertasa subtilisina/kexina tipus 9 (PCSK9). Quan la PCSK9 es lliga al LDLR impedeix el seu retorn a la membrana i el redirecciona cap al lisosoma, disminuint la quantitat de LDLR disponibles a la membrana i augmentant els nivells de colesterol plasmàtic.

Efecte dels greixos dietètics:

La composició del greix de la dieta també juga un paper important en la regulació d'aquesta homeòstasi. Els àcids grassos saturats disminueixen l'activitat del LDLR al fetge, el que eleva la quantitat de colesterol d'LDL circulant. En estudis animals, nivells alts d'ingesta de colesterol disminuïen l'expressió del LDLR independentment de la composició dels altres greixos de la dieta. En canvi, quan la ingesta de colesterol era baixa la resta de greixos jugava un paper important: una dieta rica en àcid linoleic (un AG poliinsaturat) augmentaria el contingut hepàtic de LDLR, mentre que una dieta rica en àcid palmític (un AG saturat) el disminuiria.[167]

3.3.3. Efusió o sortida de colesterol de la cèl·lula.

L'efusió del colesterol des de la cèl·lula cap a la lipoproteïna acceptora, l'HDL, és el primer pas del transport revers del colesterol.[168] Aquesta efusió es fa principalment a través de l'ABCA1 i l'ABCG1.[169]

De la mateixa manera que l'homeòstasi del colesterol en situacions de mancança venia regulada a nivell transcripcional per l'SREBP; en situacions d'abundància de colesterol, l'homeòstasi ve donada per un factor amb acció oposada: el LXR. El LXR forma heterodímers amb el receptor X de retinoides (RXR), a través del qual es modula la transcripció de múltiples gens.[170]

En situació de manca de colesterol, l'heterodímer és silenciat mitjançat lligands repressors. En situacions d'excés de colesterol, el sistema pot ser activat tant pels agonistes del LXR (els oxiesterols), com pels agonistes del RXR (àcid 9-cis-retinoic), resultant en l'expressió de varis gens diana,[171] entre els que hi trobem l'ABCA1 (principal encarregada de l'efusió de colesterol),[171] l'ABCG1 (responsable de l'efusió de colesterol no mediatitzada per ABCA1), l'enzim 7 α-hidroxilasa (pas clau en la síntesi de sals biliars), i els dos heterodímers ABCG5 i ABCG8[172](que a la membrana canalicular de l'hepatòcit se n'encarregarien de la secreció de colesterol a la bilis, i a la membrana luminal dels enteròcits actuarien de forma inversa a l'NPC1L1, retornant el colesterol absorbit a la llum intestinal).[151] Per altra part, el LXR estaria també implicat en la reducció del LDLR, induint la transcripció d'un factor que indueix la seva degradació (IDOL), mitjançant ubiqüitinació.[173,174] [Figura 4]

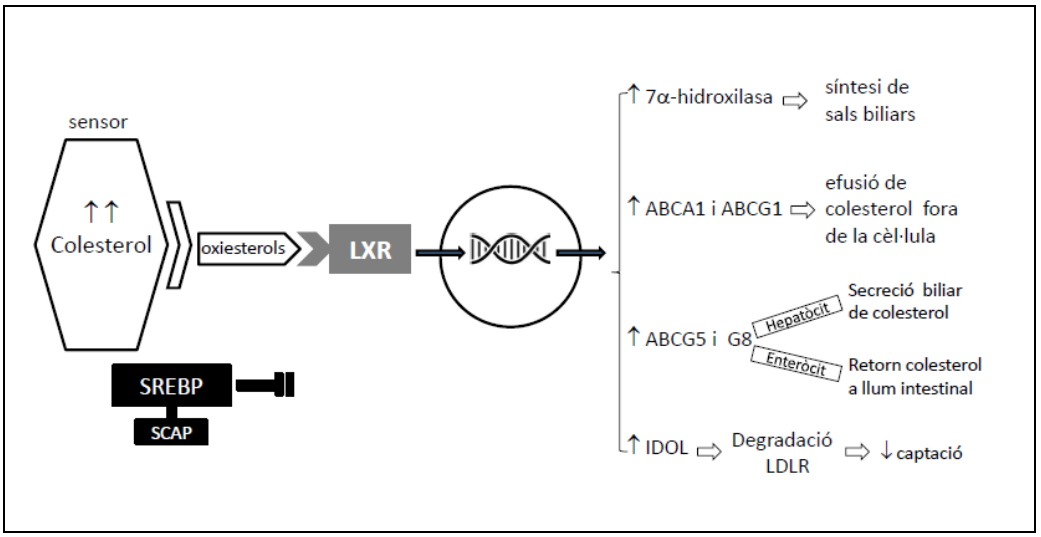

Figura 4: Mecanismes de regulació en situacions d'augment del colesterol cel·lular

Altres nivells de regulació:

L'homeòstasi del colesterol també podria estar regulada a nivell epigenètic, com així ho suggereixen estudis sobre el paper dels microRNA en el metabolisme del colesterol.[165] En aquest sentit, s'ha demostrat que miR-33 es coexpressa amb SREBP-2 quan els nivells de colesterol són baixos, i que la sobreexpressió de miR-33 minva la capacitat de la cèl·lula d'efluir colesterol, sembla ser que a través de silenciar l'expressió d'ABCA1.[175]

3.4. Dianes terapèutiques

Atès l'augment de risc cardiovascular observat en la població infectada per VIH, hi ha la preocupació que les fórmules tradicionals per identificar els pacients tributaris de prevenció primària podrien subestimar el risc en aquesta població, en no considerar altres factors de risc no tradicionals, com la replicació viral mateixa, en la gènesi d'aterosclerosi. Per aquest motiu s'han creat calculadores de RCV específiques per població VIH. Malgrat tot, falten dades prospectives per determinar la seva validesa.[176,177] No obstant, tot i aplicant les guies per la població general, les dades actuals parlen que l'ús d'estatines com a prevenció primària en població infectada per VIH és inferior a la recomanada, i que d'aplicar-se guies més recents que augmenten el ventall de població tractada, augmentaria encara més la bretxa entre pacients candidats i pacients tractats realment.[178]

Estatines.

La inhibició de la HMGCR, un enzim clau en la síntesi del colesterol, és un abordatge terapèutic atractiu pel tractament de la dislipèmia, ja que com a resposta a la disminució del colesterol intracel·lular augmenta la producció de LDLR i, a través d'aquest, augmenta la captació i degradació de colesterol d'LDL. Les estatines, fàrmacs inhibidors de la HMGCR, són prou conegudes per la seva eficàcia en disminuir les xifres de colesterol d'LDL en plasma i en la prevenció de la malaltia cardiovascular en la població general.[179] A part de la seva acció hipolipemiant, les estatines tenen també altres efectes pliotròpics que podrien contribuir als seus efectes beneficiosos,[180] tant en prevenció primària com secundària. En aquest

sentit, són de destacar els resultats de l'estudi JUPITER, un assaig aleatoritzat i a doble cec, valorant l'efecte del tractament amb rosuvastatina en una població amb normolipèmia però amb nivells augmentats de la proteïna-C reactiva d'alta sensibilitat, un marcador d'inflamació, observant que el tractament reduïa la incidència d'esdeveniments cardiovasculars.[181] De forma interessant, la reducció d'esdeveniments cardiovasculars fou superior a la que caldria esperar per la reducció en el colesterol d'LDL,[179] donant suport a la idea que efectes no mediats pels lípids, probablement antiinflamatoris, també hi juguen un paper.

Donat que molts antiretrovirals poden ser inductors (ITINN) o bé inhibidors (IP, cobicistat) del citocrom CYP3A4, l'enzim que metabolitza vàries estatines, la possibilitat d'interaccions farmacològiques ha estat un tema de preocupació, sobretot quan s'utilitzen IP. En aquest cas, es desaconsella l'ús de lovastatina i simvastatina, i en cas d'utilitzar-se atorvastatina, s'aconsella l'ús a dosis baixes. La pravastatina, pel seu baix potencial d'interacció, és un dels fàrmacs d'elecció, ara bé, si es necessita un fàrmac més potent, la pitavastatina és una bona alternativa, ja que es metabolitza primàriament per glucuronoconjugació.

En població VIH s'ha reportat una menor efectivitat tant de les estatines com dels fibrats per reduir les xifres de colesterol d'LDL i de triglicèrids, respectivament.[182,183] En població infectada per VIH, les dades sobre la disminució de la mortalitat lligada a l'ús d'estatines provenen d'estudis no controlats.[184] Actualment hi ha en marxa un gran estudi aleatoritzat (REPRIEVE) de prevenció primària amb pitavastatina comparat amb placebo en pacients infectats per VIH en tractament ARV,[185] el qual ajudarà a determinar els beneficis i els criteris per l'ús del tractament amb estatines en aquesta població.

Altres tractaments diferents de les estatines.

En la població general els tractaments diferents de les estatines no són recomanats com a tractaments de primera línia en prevenció primària. El seu ús pot ser considerat en associació a una estatina si no s'arriben als objectius terapèutics o com alternativa en cas de toxicitat.[186]

Els *fibrats* fan la seva acció a través de l'activació del PPARα, essent el seu efecte principal la reducció dels TG, ja que incrementen la LPL i disminueixen l'apoC3 (inhibidora de la LPL). També tenen certa activitat augmentant el colesterol d'HDL, en promoure la síntesis d'apoA. En estudis d'intervenció, els pacients amb hipertrigliceridèmia són els que es beneficien més del seu efecte. L'evidència disponible sobre la seva efectivitat en prevenció primària per reduir els esdeveniments cardiovasculars en població general és de qualitat moderada, amb un efecte global força modest.[187,188] Els *àcids grassos omega 3* també han mostrat ser eficaços en la reducció de la hipertrigliceridèmia en pacients amb VIH, però amb una efectivitat menor a la dels fibrats, tot i que el seu ús combinat pot aportar un efecte addicional.[189] Per altra part, associats a estatines no presenten els problemes de toxicitat vistos amb l'associació d'aquestes amb fibrats. *L'àcid nicotínic* és un altre fàrmac d'ús poc estès en població VIH+, tant pels problemes de tolerància gastrointestinal, que s'han reduït amb les formes d'administració retardada, com pel seu efecte advers sobre el metabolisme hidrocarbonat.

Inhibidors de l'absorció del colesterol. Abans de disposar-se d'inhibidors específics de l'absorció, la colestiramina era un agent disponible que actuava disminuint la reabsorció de sals biliars, activant la síntesi *de novo* de sals biliars i promovent la captació de colesterol d'LDL. Per la seva capacitat quelant dins la llum intestinal, no ha estat un agent utilitzat en pacients amb VIH, pel risc potencial d'inhibir l'absorció dels fàrmacs ARV.

L'ezetimiba pertany a una altra classe d'hipolipemiants i actua inhibint l'absorció de colesterol per mitjà del blocatge del transportador intestinal de colesterol, l'NPC1L1. En no interferir amb el citocrom P-450, constitueix un agent farmacològic interessant en el pacient VIH, ja que té un baix potencial d'interaccions farmacològiques amb els fàrmacs ARV. El seu efecte sobre el colesterol és limitat, no assolint-se reduccions en el colesterol d'LDL més enllà del 20%,[190] pel que no es recomana com a prevenció primària en monoteràpia. No obstant, això podria canviar arrel dels resultats preliminars d'un assaig clínic en població japonesa de

més de 75 anys i colesterol d'LDL superior a 140 mg/dL, en que l'ús d'ezetimiba en monoteràpia aconseguí reduir els esdeveniments cardíacs.[191] Malgrat tot, en tractar-se d'una població amb un patró dietètic molt diferent al nostre i d'un estrat d'edat molt concret, fa difícil saber si es poden extrapolar aquests resultats a la població general.

En associació a una estatina ha mostrat tenir una acció sinèrgica, essent eficaç per reduir encara més les xifres de colesterol d'LDL.[192,193] En prevenció secundària, el seu ús conjunt amb una estatina ha demostrat major prevenció d'esdeveniments cardiovasculars que l'estatina sola.[194]

Hi ha nous fàrmacs amb nous mecanismes d'acció, e.g. els inhibidors de la PCSK9 que augmenten la quantitat de LDLR en la membrana en inhibir-ne la degradació. El seu ús, ara per ara, és restringit al tractament de la hipercolesterolèmia familiar i pacients d'alt risc cardiovascular que mantenen un colesterol d'LDL alt malgrat el tractament amb estatines d'alta potència.

3.5. Hauria de ser considerada la infecció per VIH com un factor de risc més?

Tot i les dades que parlen de l'augment del RCV en la infecció per VIH, actualment la infecció per VIH no es considera un equivalent de risc.

Per una part, les dades epidemiològiques de les que disposem van lligades al risc relatiu respecte a la població general. Per altra part, les dades prospectives de que disposem provenen d'una iniciativa multicohort (D:A:D study) que inclou pacients de l'època primerenca de tractament ARV combinat. Per tant, aquestes dades no tenen perquè reflectir la situació actual, donats els grans canvis que s'han produït en el tractament ARV.

Actualment les guies recomanen com a tractaments de primera línia combinacions amb poca toxicitat metabòlica i, per tant, amb poca repercussió sobre els factors de RCV clàssics. En aquest sentit, també cal tenir en compte el millor perfil farmacocinètic de les pautes actuals. El fet d'assolir nivells farmacològics més estables amb posologies més simples implica millores tant en el control de la

replicació viral, com en la reducció de la toxicitat, ja que es redueixen pics farmacològics.

Per altra part, hom es planteja la incògnita de si hi ha un efecte de 'memòria metabòlica' de la replicació viral o l'ús d'ARV més tòxics. En aquest sentit, es fa difícil de saber quina part de l'augment del RCV en cohorts més antigues podria ser deguda al període d'infecció per VIH sense tractament, tenint en compte que en aquelles èpoques s'indicava tractament ARV quan hi havia immunodeficiència o complicacions associades. Fa només 10 anys, a les guies europees, l'inici del tractament ARV era obligat quan els CD4 estaven per sota de 200 cèl·lules/µL, recomanable entre 200 i 350, aconsellable entre 350-500 si la càrrega viral era elevada o el declivi de CD4 ràpid, i per sobre de 500 s'aconsellava posposar el seu inici.[195] A partir dels resultats de l'estudi *START*, que mostrà l'efecte deleteri de demorar l'inici del tractament ARV fins que no hi hagués declivi immunològic,[196] les guies recomanen iniciar el tractament independentment de la xifra de CD4.[4] Aquest inici precoç del tractament junt amb l'ús de pautes amb menor toxicitat, podria explicar moltes diferències en mortalitat i esdeveniments cardiovasculars respecte a cohorts antigues, fent que no tinguem estudis longitudinals amb les pautes actuals.

Tot i així, és important destacar que l'extensió de l'ús de medicació hipolipemiant com a prevenció primària ha coincidit amb una disminució del risc d'IAM en aquesta població a nivells comparables de la població general,[11] el que reforça les recomanacions recollides en les guies de tractament per VIH,[4] aplicant criteris similars als de la població general.

4. Fisiopatologia de la dislipèmia lligada als inhibidors de la proteasa

Entre les diferents famílies d'ARV, els IP són els que semblen tenir una major impacte sobre els lípids plasmàtics. Tot i així, els IP tenen una menor tendència a generar resistències,[197] pel que continuen constituint un grup farmacològic important en el tractament de la infecció per VIH.

Val a dir que fàrmacs d'aquesta família es donen sovint combinats, un d'ells com a potenciador farmacològic (inhibint la metabolització de l'altre). Tot i que el potenciador (sovint el RTV) es dona a dosis baixes, cal tenir en compte que també pot condicionar l'efecte sobre els lípids del tractament combinat.[198] El cobicistat és un potenciador farmacològic més recent que no té activitat antiviral i actua inhibint el citocrom CYP3A.[199] El seu ús en substitució del RTV s'ha vist relacionat amb millories en el perfil lipídic, tant de les xifres de colesterol total i d'LDL, com de TG.[200]

4.1. Efecte dels inhibidors de la proteasa sobre els lípids plasmàtics

Els IP han mostrat tenir un major impacte sobre el metabolisme dels triglicèrids, essent el RTV el més perjudicial. Així i tot, és molt probable que interactuïn els efectes de la pròpia infecció per VIH[30] amb els propis del tractament ARV.

Per valorar l'efecte intrínsec dels IP sobre els lípids plasmàtics, sense la interferència de les alteracions inflamatòries pròpies de la infecció per VIH, són interessants els estudis realitzats amb subjectes no infectats per VIH. En aquest sentit, en un estudi amb voluntaris sans, de disseny creuat, comparant RTV a dosis baixes (100mg *b.i.d.*) amb LPV/r (400/100 mg *b.i.d.*), cadascun d'ells administrat durant 14 dies i amb un període de rentat de 7 dies entremig, s'observà que ambdues pautes produïen increments en el colesterol d'LDL i els nivells de triglicèrids. El grup LPV/r mostrava major increment en el colesterol total, mentre que en el grup RTV es produïa una disminució en el colesterol d'HDL. En ambdós grups es produïa un increment de la raó colesterol total/HDL de la mateixa magnitud.[198]

4.2. Efecte sobre l'aclariment de triglicèrids.

Tot i que inicialment es va hipotetitzar que els IP podien entorpir l'aclariment de triglicèrids, aquest efecte no ha estat demostrat.

En un altre estudi amb voluntaris sans, aleatoritzat i a doble-cec, comparat amb placebo, l'administració de RTV durant 14 dies donava lloc a increments en els nivells de colesterol, triglicèrids, lipoproteïna(a) i apoB. Aquest increment en el colesterol total era el resultat d'increments en el colesterol de VLDL i d'IDL, sense poder-se demostrar una alteració en l'activitat LPL o en l'aclariment de partícules remanents. L'aparició a curt termini d'aquestes alteracions lipídiques feia també molt improbable que fossin el resultat dels canvis en la composició corporal, molt prevalents amb les pautes d'aquell temps.[201]

4.3. Augment de la disponibilitat d'apoB i de secreció de lipoproteïnes

Més probablement, el mecanisme implicat en la gènesi de la dislipèmia és la inhibició de la degradació proteasòmica de l'apoB, donant lloc a una secreció augmentada de lipoproteïnes que en contenen.[202,203] En aquest sentit, la producció de VLDL depèn de la síntesi I secreció de la seva apolipoproteïna principal, l'apoB. La secreció d'apoB està controlada per mecanismes posttranscripcionals, fent que només una part de l'apoB sintetitzada sigui secretada mentre la resta és degradada dins la pròpia cèl·lula per la via del proteasoma. Per tant, la inhibició de la hidròlisi de l'apoB que es produeix per efecte dels IP[202] augmentaria la disponibilitat d'aquesta proteïna per ser secretada en forma de VLDL.

4.4. Efecte dels inhibidors de la proteasa sobre la síntesi lipídica a través les proteïnes d'unió a l'element regulador d'esterols

Com ja s'ha esmentat, les SREBP són factors de transcripció lligats a la membrana del reticle endoplasmàtic que s'activen en funció del nivell d'esterols, emigrant llavors al nucli, i asseguren que hi hagi suficient colesterol per cobrir les necessitats cel·lulars o que la cèl·lula no es sobrecarregui amb colesterol quan n'hi ha un excés. A tal fi, activen directament l'expressió de gens implicats en el metabolisme lipídic.[204] En aquest sentit, l'SREBP-1c és més important en la regulació de la síntesi d'àcids grassos mentre que l'SREBP-2 més important en la via de la biosíntesi del colesterol.[142]

En estudis experimentals s'han observat increments en la síntesi d'esterols i àcids grassos amb l'administració de RTV, de forma paral·lela a l'acumulació intranuclear d'SRBEP.[205,206] Aquest efecte no semblava degut a un augment en l'expressió d'aquests factors de transcripció, donat que el RTV no afectava els nivells de ARNm d'aquests, ni tampoc afectava l'activació d'aquests factors. En conjunt, tot sembla indicar que el RTV inhibeix la degradació proteasòmica d'aquests factors, donant lloc a un acumulament de formes activades en el nucli que indueixen la síntesi d'esterols i àcids grassos.[205]

JUSTIFICACIÓ I HIPÒTESIS

En l'estudi de la fisiopatologia dels trastorns lipídics associats al tractament ARV, els IP han estat el grup farmacològic amb més efectes adversos sobre el perfil lipídic i, per tant, el grup en que més s'han estudiat, tot i que la fisiopatologia no ha de ser necessàriament comuna a la dels altres ARV.

La principal alteració fisiopatològica observada amb els IP és l'augment de la secreció de partícules VLDL riques en TG.[201] En aquest sentit, es produeix un augment tant del número de partícules, és a dir de la secreció d'apoB, com un major enriquiment d'aquestes amb triglicèrids.[61] Estudis experimentals *in vitro*[202] i *in vivo* [203] confirmen aquests mecanismes. Així mateix, també hi ha dades experimentals que apunten que els IP, a través de a l'acumulació intranuclear d'SRBEP, estimularien la síntesi d'àcids grassos i esterols.[205]

En pacients infectats per VIH en tractament ARV, l'augment del colesterol de VLDL ha estat el major contribuïdor a l'augment del colesterol total observat, pel que la dislipèmia en aquests pacients ha estat atribuïda a un augment primari del colesterol de VLDL, amb el subseqüent increment de les partícules derivades del seu metabolisme. No obstant, el paper dels canvis en l'homeòstasi del colesterol en la fisiopatologia d'aquest quadre ha estat poc estudiat.

Això ens ha conduït a fer les dues primeres hipòtesis :

1. La hipercolesterolèmia lligada al tractament antiretroviral va associada a una alteració en l'homeòstasi del colesterol, manifestada en forma d'augment de la síntesi o de l'absorció del colesterol.

2. El trastorn de l'homeòstasi que cal esperar és un augment de la síntesi del colesterol.

Probablement la menor efectivitat tant de les estatines com dels fibrats per reduir les xifres de colesterol d'LDL i de triglicèrids, respectivament,[182,183] estigui relacionada amb l'alteració en l'homeòstasi del colesterol produïda pel tractament ARV, pel que és esperable que l'efectivitat de nous fàrmacs com l'ezetimiba també en quedi condicionada.

Això ens duu a fer una tercera hipòtesi:

3. Els canvis en l'homeòstasi del colesterol induïts pel tractament antiretroviral podrien restar eficàcia al tractament amb un inhibidor de l'absorció del colesterol.

OBJECTIUS

Partint de les hipòtesis formulades, els objectius plantejats en aquesta tesi doctoral són els següents:

1. Avaluar l'efecte del tractament antiretroviral combinat sobre l'homeòstasi del colesterol en pacients infectats per VIH.

   Estudi 1 ↵

2. Comparar els efectes sobre l'homeòstasi del colesterol de dues pautes diferents d'antiretrovirals: una basada en un inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleòsid i l'altra en un inhibidor de la proteasa potenciat.

   Estudi 1 ↵

3. Valorar si l'alteració en l'homeòstasi del colesterol, que hom preveu trobar en pacients amb dislipèmia associada a l'ús d'un inhibidor de la proteasa potenciat, afecta la resposta terapèutica a un inhibidor de l'absorció del colesterol com l'ezetimiba.

   Estudi 2 ↵

ESTUDIS I RESULTATS

Estudi 1: LIPOTAR

Efectes del tractament inicial amb dues pautes antiretrovirals estàndards actuals sobre el metabolisme lipídic.

Núm. EudraCT: 2007-002698-29

Disseny:

Assaig clínic aleatoritzat, multicèntric i en obert. Subestudi metabòlic de l'estudi LIPOTAR, incloent tots els subjectes de l'estudi.

Mètodes:

Es van incloure 49 pacients infectats per VIH, naïve per tractament antiretroviral. S'aleatoritzaren a una raó 1:1 a rebre LPV/r o EFV ambdós en combinació amb TDF i FTC. Variables a estudi: perfil lipídic i marcadors subrogats de l'absorció i síntesi de colesterol (nivells sèrics de fitosterols i de precursors de la síntesi del colesterol, respectivament). Temps d'estudi: basal i després de 16 setmanes de tractament.

Resultats:

Després de 16 setmanes de tractament, els nivells de colesterol total, colesterol no-HDL i triglicèrids van augmentar significativament en el grup-LPV/r, però no en el grup-EFV. Els marcadors d'absorció de colesterol (raó campesterol/colesterol i raó sitosterol/colesterol) es van incrementar significativament en el grup-LPV/r, però no en el grup-EFV, mentre que no es van produir canvis en cap dels dos grups pel que fa a la raó latosterol/colesterol, un marcador de la síntesi de colesterol.

Conclusions:

El tractament basat en LPV/r produeix un increment en el colesterol plasmàtic en comparació al tractament basat en EFV. Segons les nostres dades, és l'absorció, més que no pas la síntesi, el mecanisme implicat en l'augment del colesterol associat al LPV/r.

Publicació:

Un augment en l'absorció del colesterol, més que no pas en la síntesi, està implicat en la hipercolesterolèmia lligada als inhibidors de la proteasa potenciats amb ritonavir.

AIDS 2018; 32(10):1309-1316.

CONCISE COMMUNICATION

Increased cholesterol absorption rather than synthesis is involved in boosted protease inhibitor-associated hypercholesterolaemia

Pere Leyes[a], Montserrat Cofan[b], Ana González-Cordón[c], Elisa de Lazzari[c], Joan Trabal[a], Pere Domingo[d], Eugenia Negredo[e], Francesc Vidal[f], Maria T. Forga[a], Jose M. Gatell[c], Emili Ros[b] and Esteban Martínez[c]

Objective: The aim of this study was to compare the differential effects of first-line efavirenz (EFV)-based vs. boosted lopinavir-based antiretroviral regimens on cholesterol metabolism.

Design: Multicentre, open-label, randomized clinical trial.

Methods: Forty-nine naive HIV-infected patients were randomized (1 : 1) to receive either ritonavir-boosted lopinavir (LPV/r) or EFV both in combination with tenofovir and emtricitabine (ClinicalTrials.gov: NCT00759070). Lipid profile and serum phytosterols and cholesterol precursors were determined at baseline and after 16 weeks.

Results: After 16 weeks of intervention, total and non-HDL cholesterol as well as triglyceride levels significantly increased in the LPV/r-group ($+1.0 \pm 0.8$; $+0.8 \pm 0.7$ and $+0.8 \pm 1.5$ mmol/l, respectively), but not in the EFV-group ($+0.4 \pm 0.7$; $+0.4 \pm 0.6$ and 0.2 ± 0.5 mmol/l, respectively). Markers of cholesterol absorption (campesterol-to-cholesterol and sitosterol-to-cholesterol ratios) significantly increased in the LPV/r-group, but not in the EFV-group, whereas there were no changes in either group of the lathosterol-to-cholesterol ratio, a marker of cholesterol synthesis.

Conclusion: Treatment with an LPV/r-based therapy increased total cholesterol relative to EFV-based therapy. Our data suggest that absorption rather than synthesis is the mechanism involved in LPV/r-associated increased total cholesterol.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

AIDS 2018, **32**:1309–1316

Keywords: antiretroviral treatment, dyslipidaemia, HIV infection, metabolic complications, protease inhibitors

[a]Endocrinology and Nutrition Service, Hospital Clínic de Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, [b]Endocrinology and Nutrition Service, Hospital Clínic de Barcelona, Ciber Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, [c]Infectious Diseases Service, Hospital Clínic de Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, [d]Infectious Diseases Department, Hospital Universitari Arnau de Vilanova & Santa Maria, Institut de Recerca Biomédica de Lleida (IRBLLeida), Universitat de Lleida, Lleida, [e]Lluita contra la Sida Foundation, Germans Trias i Pujol University Hospital, Badalona, and [f]Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII, IISPV, Universitat Rovira I Virgili, Tarragona, Spain.

Correspondence to Dr. Pere Leyes, Endocrinology and Nutrition Service, Hospital Clínic de Barcelona, University of Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain.

Tel: +34 932 279 846; e-mail: pleyes@clinic.cat
Received: 21 December 2017; revised: 11 March 2018; accepted: 13 March 2018.

DOI:10.1097/QAD.0000000000001837

ISSN 0269-9370 Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Introduction

In recent years, HIV infection and some unwanted consequences of its treatment have emerged as additional risk factors for cardiovascular disease in HIV-infected individuals. Untreated HIV infection has been associated with increased markers of endothelial and coagulation activation that were partially but not completely corrected with antiretroviral treatment (ART) [1]. In a prospective longitudinal cohort study (Veterans Aging Cohort Study-Virtual Cohort), successfully treated HIV infection was associated with a 50% increased risk of acute myocardial infarction (AMI) after adjustment for classical risk factors [2], and risk was found to be even higher in women [3]. The contribution of ART to this higher cardiovascular risk was first shown in a collaborative multicohort study, in which ART exposure was linked to an increased risk of AMI, with an adjusted 1.26 relative risk for each additional year of therapy [4]. Apart from cardiovascular disease, increased rates of hypertension, diabetes and dyslipidaemia have been reported in this population [5].

Dyslipidaemia has been a well recognized complication of ART, particularly associated with the use of thymidine nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), efavirenz (EFV) and protease inhibitors [6,7]. Nevertheless, the pathogenesis of ART-related hyperlipidaemia is not fully understood. A study with seronegative volunteers comparing low-dose ritonavir 100-mg bid with ritonavir-boosted lopinavir (LPV/r) 400/100-mg bid, each one administered for 14 days and with a 7-day washout period between them, showed that both ritonavir and LPV/r resulted in increases in total cholesterol (TC), LDL-cholesterol and triglyceride levels compared with baseline, with a greater increase in TC in the LPV/r group. Ritonavir resulted in lower HDL-cholesterol vs. baseline, whereas LPV/r had a neutral effect. The total-to-HDL cholesterol ratio was increased in both groups to the same extent [8]. As the most commonly scenario in HIV-infected patients on ART is mixed hyperlipidaemia with great increments in triglyceride levels, lipid abnormalities have been mostly attributed to increases in VLDL-cholesterol [9]. However, little attention has been paid to cholesterol homeostasis.

Small amounts of noncholesterol sterols circulate in blood and can be used as reliable biomarkers of cholesterol metabolism [10,11]. Plasma cholesterol precursors such as lathosterol are markers of cholesterol synthesis and, when expressed as ratios to cholesterol, show a good correlation with the synthesis rate measured by isotope kinetic techniques [12]. Plant sterols or phytosterols are absorbed in the small bowel via the same receptor involved in cholesterol absorption [13]. Therefore, plasma levels of the main phytosterols, campesterol and sitosterol, can be used as reliable indicators of cholesterol absorption [14].

A combination of two nucleoside reverse-transcriptase inhibitors and either a non-NRTI (NNRTI), a boosted protease inhibitor or an integrase inhibitor, have been considered among first-line options in antiretroviral-naive HIV-infected patients [7,15]. In this study, we compared the differential effects of EFV and LPV/r, combined with tenofovir (TDF) and emtricitabine (FTC), on cholesterol metabolism in a population of ART naive patients. Knowledge of the mechanisms involved in the elevation of plasma cholesterol might provide insight into the pathogenesis of this adverse effect and be useful to target pharmacological intervention.

Patients and methods

Study design

This was a planned 16-week substudy of a multicentre, open-label, randomized clinical trial (LIPOTAR-07; ClinicalTrials.gov identifier: NCT00759070), addressed to all study participants [16]. Forty-nine naive HIV-infected patients were randomized (1 : 1) to receive either LPV/r 800/200 mg or EFV 600 mg together with TDF 300 mg and FTC 200 mg as their first-line antiretroviral regimen for at least 48 weeks. The randomization was centralized at the Clinical Trials Unit of Hospital Clinic de Barcelona. A randomization sequence was computer generated in blocks of four for each participating centre. Researchers performed the enrolment and ignored the allocation of each patient until the time of inclusion.

Eligibility criteria were chronic HIV infection with no previous ART, age equal or above 18 years, meeting criteria to start ART according to standard recommendations at the time of the study design (i.e. $CD4^+$ cell count <500 cells/μl), plasma LDL-cholesterol level less than 190 mg/dl and no lipid-lowering treatment. Exclusion criteria were consumption of phytosterol-enriched functional foods within 1 month before study entry, prior history of cardiovascular disease, secondary hypercholesterolaemia, abnormal renal function (defined by creatinine >1.2 mg/dl), increased transaminase levels (defined by five times above the upper level of normality), concomitant treatment for hepatitis virus coinfections, diabetes mellitus, active illicit drug or alcohol abuse, AIDS-defining opportunistic infection or treatment for any opportunistic infection, pregnancy or breastfeeding.

At study entry, all patients received written recommendations to ensure avoidance of phytosterol supplements and any lipid-lowering drugs during the study period. Patients were assessed at baseline and after 16 weeks of treatment. At each visit, a fasting blood sample was obtained for determination of serum noncholesterol sterols and plasma levels of TC, HDL cholesterol and LDL cholesterol, triglyceride, glucose, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, bilirubin, creatinine, blood cell count,

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

creatine phosphokinase, lactate dehydrogenase, amylase, lipase, $CD4^+$ cell count and viral load. Weight, height and body composition assessed by dual-energy X-ray absorptiometry (Hologic Discovery, HologicInc, Marlborough, USA) were measured at baseline and at 16 weeks.

The study was approved by the institutional Ethics Committee of the Hospital Clinic de Barcelona and was conducted between December 2008 and July 2010. Written informed consent was obtained from each patient before study entry.

Laboratory methods

Overnight fasting blood samples were obtained at baseline and after 16 weeks of intervention. Except for standard biochemistry and blood-cell analyses, aliquots of serum were immediately frozen and stored at $-80\,^{\circ}C$ until analysis.

Standardized assays were used to measure haematological variables, blood glucose, lipid profile (TC, triglycerides and HDL-cholesterol by direct methods, LDL-cholesterol by the Friedewald formula), serum creatinine, total bilirubin, aspartate aminotransferase, alanine transaminase, alkaline phosphatase, γ-glutamyltranspeptidase and serum high-sensitivity C-reactive protein (CRP).

Serum plant sterols (campesterol and sitosterol) and the cholesterol precursor lathosterol were determined by gas chromatography (Agilent 6890 Gas Chromatograph HP 6890 with capillary column, autosampler and flameionization detector) at the Biomedical Diagnostic Center of Hospital Clinic of Barcelona and at the IDIBAPS Cardiovascular Risk, Nutrition and Aging Lab, as previously described [17]. For data analysis, both campesterol-to-cholesterol and sitosterol-to-cholesterol ratios were used as markers of cholesterol absorption, whereas the lathosterol-to-cholesterol ratio was used as a marker of cholesterol synthesis.

$CD4^+$ T-lymphocyte counts were measured by flow cytometry. Plasma HIV-1 RNA was measured by a PCR assay (Amplicor HIV Monitor; Roche Diagnostics Systems, Branchburg, New Jersey, USA; lower limit of detection 50 copies/ml).

Sample size

A sample of 50 patients (25 per study arm) was calculated based on the expected increment of plasma cholesterol. Considering a SD of 30 mg/dl in fasting plasma cholesterol values in naive HIV-infected patients, 46 study participants were sufficient to detect a difference of 25 mg/dl between the two treatment arms with 80% power and an alpha error of 0.05 [18,19]. Sample size calculation was performed by comparing mean values for two independent samples using the UCLA's Dept of Statistics Power Calculator. Assuming a loss of 10%, the final sample size was established as 50 study patients.

Statistical analysis

Quantitative variables were summarized using mean and SD or median and interquartile range and compared between treatment arms at baseline with *t* tests or Wilcoxon rank-sum tests, respectively.

Ordinary least squares regression was performed to assess the effect of treatment exposure over time on the lipid profile and standard laboratory values, cholesterol synthesis and absorption markers and body composition. For each parameter regarded as dependent variable, the model included treatment arms, time (baseline and 16 weeks) and their interaction as independent variables. Regression coefficient representing differences at week 16 between arms and the difference-in-differences estimator were presented. CRP was log-transformed to reduce skewness and improve the distribution of residuals.

All tests were two-tailed with significance level set at 0.05. Statistical analyses were performed using STATA (StataCorp. 2013, Stata: Release 13, Statistical Software; StataCorp LP, College Station, Texas, USA).

Results

Study population

Forty-nine patients were included in the study and twenty-two patients were eligible for analysis in each study arm. All but one study participants were men (one woman allocated to the LPV/r-group). Both groups were comparable at baseline in $CD4^+$ cell count, viral load, plasma glucose and serum lipids, except for BMI, which was higher in the LPV/r-group (25.8 ± 3.7 vs. 23.6 ± 2.1; $P = 0.01$) (Table 1).

Lipid changes

After 16 weeks of intervention TC, non-HDL-cholesterol and triglyceride levels significantly increased in the LPV/r-group, achieving higher levels at the end of the intervention compared with the EFV-group. LDL-cholesterol followed the same pattern showing a trend to higher levels in the LPV/r-group relative to the EFV-group, whereas no changes were observed in HDL-cholesterol, total-to-HDL cholesterol ratios or plasma glucose levels (Table 1).

Changes in serum phytosterols and cholesterol precursors

Markers of cholesterol absorption (campesterol-to-cholesterol and sitosterol-to-cholesterol ratios) were significantly increased in the LPV/r-group compared with the EFV-group. On the other hand, the lathosterol-to-cholesterol ratio, a marker of cholesterol synthesis, remained unchanged in both groups (Table 2; Fig. 1).

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Table 1. Effects of two HIV treatment regimens on the lipid profile and standard laboratory values.

	TDF + FTC + EFV	TDF + FTC + LPV/r	Overall *P* value
Baseline TC	4.0 (±0.9)	3.9 (±0.6)	0.0003
Δ TC	0.4 (±0.7)	1.0 (±0.8)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	0.521 (0.040; 1.001)		
Diff in Diff (95% CI)	0.612 (−0.068; 1.291)		
Baseline LDL-cholesterol	2.5 (±0.8)	2.4 (±0.5)	0.0635
Δ LDL-cholesterol	0.2 (±0.7)	0.5 (±0.6)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	0.182 (−0.226; 0.590)		
Diff in Diff (95% CI)	0.277 (−0.299; 0.854)		
Baseline non-HDL-cholesterol	2.9 (±0.9)	3.0 (±0.5)	0.0002
Δ Non-HDL-cholesterol	0.4 (±0.6)	0.8 (±0.7)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	0.543 (0.107; 0.978)		
Diff in Diff (95% CI)	0.521 (−0.110; 1.153)		
Baseline HDL-cholesterol	1.0 (0.3) [20]	0.9 (0.2)	0.1405
Δ HDL-cholesterol	0.1 (0.3) [20]	0.1 (0.2) [20]	
Diff at 16 weeks (95% CI)	−0.022 (−0.170; 0.126)		
Diff in Diff (95% CI)	0.037 (−0.178; 0.251)		
Baseline total/HDL-cholesterol	4.1 (±1.2)	4.3 (±0.9)	0.2576
Δ Total/HDL-cholesterol	0.1 (±1.2)	0.4 (±1.0)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	0.504 (−0.112; 1.121)		
Diff in Diff (95% CI)	0.313 (−0.581; 1.206)		
Baseline triglycerides	1.0 (±0.4)	1.5 (±0.8)	0.0063
Δ Triglycerides	0.2 (±0.5)	0.8 (±1.5)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	0.935 (0.268; 1.603)		
Diff in Diff (95% CI)	0.523 (−0.432; 1.478)		
Baseline glucose	4.9 (±0.7)	4.8 (±0.6)	0.4957
Δ Glucose	0.3 (±0.7)	0.1 (±0.6)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	−0.240 (−0.746; 0.265)		
Diff in Diff (95% CI)	−0.144 (−0.859; 0.571)		
Baseline log-CRP	−1.2 (±1.3)	−1.8 (±1.1)	0.4092
Δ log-CRP	−0.2 (±1.7)	0.1 (±1.1)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	−0.217 (−0.944; 0.510)		
Diff in Diff (95% CI)	0.372 (−0.655; 1.400)		
Baseline $\log_{10}$-VL	4.3 (±1.5)	4.4 (±1.5)	0.0000
Δ $\log_{10}$-VL	−2.6 (±1.4)	−2.5 (±1.6)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	0.62 (−0.414; 0.938)		
Diff in Diff (95% CI)	0.120 (−0.836; 1.075)		
Baseline $CD4^+$	311.9 (±95.0)	323.0 (±138.4)	0.0001
Δ $CD4^+$	147.8 (±143.9)	117.9 (±125.2)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	−18.86 (−96.47; 58.76)		
Diff in Diff (95% CI)	−29.943 (−139.700; 79.815)		

All variables expressed in mmol/l, except for CRP (mg/dl). Baseline and Δ values are expressed as means ± SD. Overall *P* value of the regression model including treatment arm, time and their interaction. CI, confidence interval; CRP, C-reactive protein; Diff in Diff, difference-in-differences; Diff, difference; EFV, efavirenz; FTC, emtricitabine; LPV/r, ritonavir-boosted lopinavir; TC, total cholesterol; TDF, tenofovir; VL, viral load.

Table 2. Effects of two HIV treatment regimens on markers of cholesterol synthesis and absorption.

	TDF + FTC + EFV	TDF + FTC + LPV/r	Overall *P* value
Baseline campesterol/cholesterol	1.4 (±0.4)	1.6 (±0.7)	0.0000
Δ Campesterol/cholesterol	0.2 (±0.6)	1.2 (±0.7)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	1.209 (0.798; 1.621)		
Diff in Diff (95% CI)	1.014 (0.432; 1.596)		
Baseline sitosterol/cholesterol	1.3 (±0.5)	1.4 (±0.9)	0.0000
Δ Sitosterol/cholesterol	0.2 (±0.7)	1.7 (±1.2)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	1.627 (1.110; 2.144)		
Diff in Diff (95% CI)	1.483 (0.752; 2.215)		
Baseline lathosterol/cholesterol	1.5 (±0.4)	1.5 (±0.7)	0.9933
Δ Lathosterol/cholesterol	0.0 (±0.6)	0.0 (±0.6)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	0.003 (−0.336; 0.342)		
Diff in Diff (95% CI)	−0.043 (−0.522; 0.436)		

All variables expressed in mmol/l. Baseline and Δ values are expressed as means ± SD. Overall *P* value of the regression model including treatment arm, time and their interaction. CI, confidence interval; Diff in Diff, difference-in-differences; Diff, difference; EFV, efavirenz; FTC, emtricitabine; LPV/r, ritonavir-boosted lopinavir; TDF, tenofovir.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

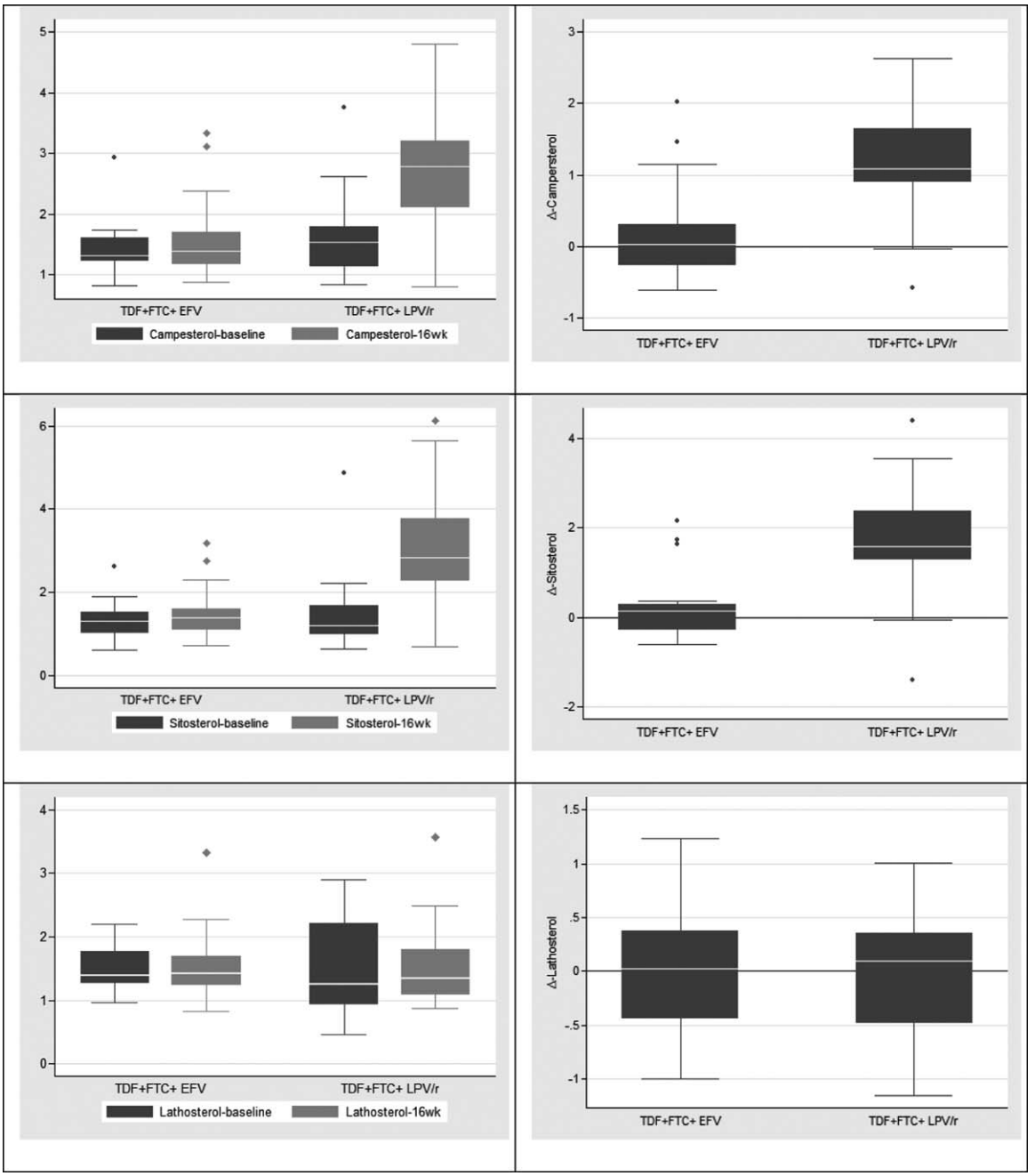

Fig. 1. Effects on markers of cholesterol synthesis and absorption. From top to bottom, changes in campesterol-to-cholesterol, sitosterol-to-cholesterol and lathosterol-to-cholesterol ratios are shown. On the left column, baseline and 16-week values for both treatment arms are shown. On the right column, delta values for both treatment arms are shown.

Efficacy and body composition changes

Regarding antiviral efficacy, both groups experienced reductions in the viral load and improvements in the $CD4^+$ cell count to a similar extent (Table 1). BMI and waist circumference remained unchanged throughout the study period. No significant changes in total, upper and lower limb fat and bone mineral density were observed (Table 3).

Discussion

In this randomized controlled trial, naive HIV-infected patients were randomly treated with two ART regimes, containing LPV/r or EFV, each one in combination with TDF and FTC. We observed significantly increased serum cholesterol levels together with circulating biomarkers of cholesterol absorption only in the LPV/

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Table 3. Effects of two HIV treatment regimens on body composition.

	TDF + FTC + EFV	TDF + FTC + LPV/r	Overall *P* value
Baseline BMI	23.6 (±2.1)	25.8 (±3.7)	0.0228
Δ BMI	0.0 (±0.8)	−0.3 (±0.9)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	1.894 (0.082; 3.706)		
Diff in Diff (95% CI)	−0.290 (−2.822; 2.242)		
Baseline waist-circumference	83.9 (±8.6)	90.4 (±11.5)	0.1597
Δ waist-circumference	1.2 (±5.0)	−0.9 (±3.2)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	3.377 (−2.821; 9.576)		
Diff in Diff (95% CI)	−3.087 (−11.853; 5.679)		
Baseline DXA total fat	13227.8 (±4867.7)	17986.4 (±8569.3)	0.1098
Δ DXA total fat	1015.5 (±2049.1)	16.5 (±3999.5)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	2728.72 (−1900.00; 7326.94)		
Diff in Diff (95% CI)	−2000 (−8300; 4230.2)		
Baseline DXA upper limb fat	1115.0 (±585.4)	1506.6 (±886.2)	0.1293
Δ DXA upper limb fat	173.3 (±245.8)	130.9 (±333.0)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	349.61 (−170.02; 869.24)		
Diff in Diff (95% CI)	−41.998 (−749.441; 665.445)		
Baseline DXA lower limb fat	3970.8 (±1720.0)	4916.0 (±2442.3)	0.1413
Δ DXA lower limb fat	243.8 (±592.7)	452.7 (±1049.2)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	1235.76 (−231.12; 2702.63)		
Diff in Diff (95% CI)	290.545 (−1700; 2287.583)		
Baseline BMD	1.2 (±0.1)	1.2 (±0.1)	0.8211
Δ BMD	0.0 (±0.0)	0.0 (±0.0)	
Diff at 16 weeks (95% CI)	−0.020 (−0.076; 0.036)		
Diff in Diff (95% CI)	−0.002 (−0.079; 0.075)		

Weight is expressed in kg, BMI in kg/m^2, waist circumference in cm, DXA in g. Overall *P* value of the regression model including treatment arm, time and their interaction. BMD, bone mineral density; CI, confidence interval; Diff in Diff, difference-in-differences; Diff, difference; DXA, dual-energy X-ray absorptiometry; EFV, efavirenz; FTC, emtricitabine; LPV/r, ritonavir-boosted lopinavir; TDF, tenofovir.

r-treated group. Markers of cholesterol synthesis were unchanged in the two treatment groups. In contrast to what has been generally assumed, our data strongly suggest that hypercholesterolaemia associated with LPV/r-based therapy results from increased absorption rather than synthesis of cholesterol.

Given that hypocholesterolaemia is common in untreated HIV-infection, the rise in cholesterol levels after ART has been interpreted at least in part as a return-to-normality process. However, in many patients cholesterol levels may increase beyond normal levels, leading to overt hypercholesterolaemia. In experimental studies, increased sterol and fatty acid synthesis has been reported with ritonavir administration in association with intranuclear accumulation of sterol response element-binding proteins (SREBPs) [20,21]. SREBPs are membrane-bound transcription factors that are activated in a sterol-dependent manner and ensure that there is sufficient cholesterol to meet cellular requirements, and to this end directly activate expression of genes involved in the synthesis and uptake of cholesterol, and lipogenesis [22].

In-vitro studies have shown that SREBP-2 promotes the expression of the cholesterol receptor Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) [23,24], thus increasing intestinal sterol absorption, which would provide an explanation for our results. On the other hand, the heterodimer of ATP-binding cassette (ABC) transporters G5 (ABCG5) and G8 (ABCG8) promotes the efflux of sterols from enterocytes back into the intestinal lumen and from hepatocytes into bile, and therefore, inhibition of these ABC transporters could also result in increased sterol absorption [25]. However, studies assessing the effect of protease inhibitors on the expression of NPC1L1 or the activity of ABCG5 and ABCG8 are yet to be made.

Serum triglyceride levels were also elevated following the initiation of the LPV/r regime. Protease inhibitors have been reported to exert the most impact on triglyceride metabolism, with great difference between drugs, ritonavir being the most detrimental. Altered triglyceride clearance has been postulated as a possible mechanism, but unchanged levels of lipoprotein lipase in HIV-negative volunteers taking ritonavir [9,26] and no short-term alterations in VLDL clearance in HIV-infected patients starting ART [27] argue against this explanation. A more likely mechanism is inhibited proteasomal degradation of apoB by protease inhibitors, leading to an increased secretion of apoB-containing lipoproteins, including triglyceride-rich VLDL, as reported [28].

One limitation of our study is that we did not directly assess intestinal cholesterol absorption. However, several studies have shown a good correlation between the levels of the surrogate markers used in our study and the results from isotope techniques as gold standard [11,29,30]. Another limitation is the almost exclusive male population; therefore, these results do not necessarily apply to women. Although this distribution was obtained by

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

chance, it is a reflection of the actual trend in new HIV infections. Our study was aimed to describe the acute and direct effects of two ART regimes on cholesterol metabolism, and therefore, the results only reflect the short-term effects of ART. However, results from a 1-year prospective study comparing NNRTI-based and protease inhibitor-based regimes in treatment-naive HIV patients point out in the same direction, with greater increments in cholesterol and triglyceride levels in the protease inhibitor-group [31], suggesting persistence of lipid alterations over time. Although both antiretroviral regimens in our study were first-line drugs when the study was started, we are aware that in current practice, newer and less toxic drugs are used. As we only compared a protease inhibitor with a NNRTI, we do not know if the effect observed is a group effect shared more or less by all protease inhibitors or it is only a LPV/r-related effect. Our study does not assess more currently used protease inhibitors like atazanavir or darunavir, but these currently used protease inhibitors are also drug-boosted and can induce dyslipidaemia compared with other nonprotease inhibitor drugs [32,33]. Our study also has strengths, including the homogeneous naive population, the randomized trial design and the response to ART as a marker of compliance with treatment.

In summary, our results suggest that increased intestinal cholesterol absorption rather than synthesis accounts for hypercholesterolaemia associated with protease inhibitor-based treatment in antiretroviral-naive HIV-infected patients. The knowledge of this new mechanism of ART toxicity may provide the basis for a better understanding of the physiopathology of ART-induced dyslipidaemia and ultimately for further improvement in the lipid tolerability of future protease inhibitor therapy.

Acknowledgements

We pay tribute to the memory of Iñaki Pérez, beloved friend and insightful researcher, who died during the completion of the study.

The current work was supported by an unrestricted research grant from AbbVie. The funder had no role in study design, data collection, data analysis, data interpretation or the writing of the article.

Authors' contributions

P.L., E.M. and E.R. designed the study. E.d.L. undertook data management statistical analysis. M.C. performed the determination of serum plant sterols and cholesterol precursors. E.M., P.D., E.N., F.V. were involved in the enrolment and monitoring of the study. P.L., E.M., A.G-C., J.T. and M.F. were involved in the interpretation of data. P.L. and E.M. drafted the article. All authors critically reviewed and approved the final version.

Conflicts of interest

P.D. has received honoraria for lectures or advisory boards and his institution research grant from ViiV Healthcare, Gilead Sciences, MSD and Janssen; E.N. has received funding or honoraria from ViiV Healthcare, Merck, Janssen Cilag, Bristol Meyers Squibb, Gilead and AbbVie for research grants or consultancy. F.V. received research grants from Gilead and honoraria for lectures from Janssen, ViiV Healthcare and Merck. J.M.G. has received funding or honoraria from ViiV Healthcare, Merck, Janssen Cilag, Bristol Meyers Squibb, Gilead and AbbVie for research grants or consultancy. E.M. has received funding or honoraria from ViiV Healthcare, Merck, Janssen Cilag, Bristol Meyers Squibb and AbbVie for research grants or consultancy. The rest of the authors declare no conflicts of interest.

References

1. Wolf K, Tsakiris DA, Weber R, Erb P, Battegay M. **Antiretroviral therapy reduces markers of endothelial and coagulation activation in patients infected with human immunodeficiency virus type 1.** *J Infect Dis* 2002; **185**:456–462.
2. Freiberg MS, Chang C-CH, Kuller LH, Skanderson M, Lowy E, Kraemer KL, *et al*. **HIV infection and the risk of acute myocardial infarction.** *JAMA Intern Med* 2013; **173**: 614–622.
3. Womack JA, Chang C-CH, So-Armah KA, Alcorn C, Baker JV, Brown ST, *et al*. **HIV infection and cardiovascular disease in women.** *J Am Heart Assoc* 2014; **3**:e001035.
4. Friis-Møller N, Sabin CA, Weber R, d'Arminio Monforte A, El-Sadr WM, Reiss P, *et al*. **Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction.** *N Engl J Med* 2003; **349**: 1993–2003.
5. Triant Va, Lee H, Hadigan C, Grinspoon SK. **Increased acute myocardial infarction rates and cardiovascular risk factors among patients with human immunodeficiency virus disease.** *J Clin Endocrinol Metab* 2007; **92**:2506–2512.
6. Friis-Møller N, Weber R, Reiss P, Thiébaut R, Kirk O, d'Arminio Monforte A, *et al*. **Cardiovascular disease risk factors in HIV patients – association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study.** *AIDS* 2003; **17**:1179–1193.
7. European AIDS Clinical Society. EACS guidelines, version 9.0. October 2017. http://www.eacsociety.org/files/guidelines_9.0-english.pdf [Accessed 20 December 2017].
8. Shafran SD, Mashinter LD, Roberts SE. **The effect of low-dose ritonavir monotherapy on fasting serum lipid concentrations.** *HIV Med* 2005; **6**:421–425.
9. Purnell JQ, Zambon A, Knopp RH, Pizzuti DJ, Achari R, Leonard JM, *et al*. **Effect of ritonavir on lipids and postheparin lipase activities in normal subjects.** *AIDS* 2000; **14**:51–57.
10. Miettinen TA, Gylling H. **Effect of statins on noncholesterol sterol levels: implications for use of plant stanols and sterols.** *Am J Cardiol* 2005; **96**:40D–46D.
11. Miettinen TA, Tilvis RS, Kesäniemi YA. **Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population.** *Am J Epidemiol* 1990; **131**:20–31.
12. Matthan NR, Raeini-Sarjaz M, Lichtenstein AH, Ausman LM, Jones PJ. **Deuterium uptake and plasma cholesterol precursor levels correspond as methods for measurement of endogenous cholesterol synthesis in hypercholesterolemic women.** *Lipids* 2000; **35**:1037–1044.
13. von Bergmann K, Sudhop T, Lütjohann D. **Cholesterol and plant sterol absorption: recent insights.** *Am J Cardiol* 2005; **96**: 10D–14D.
14. Sudhop T, Lütjohann D, von Bergmann K. **Sterol transporters: targets of natural sterols and new lipid lowering drugs.** *Pharmacol Ther* 2005; **105**:333–341.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

15. Panel de expertos de GeSIDA y Plan Nacional sobre el Sida. **GESIDA/National AIDS Plan: consensus document on antiretroviral therapy in adults infected by the human immunodeficiency virus (updated January 2015).** *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2015; **33**:543.e1–43.
16. Egaña-Gorroño L, Martínez E, Domingo P, Loncà M, Escribà T, Fontdevila J, *et al*. **Differential subcutaneous adipose tissue gene expression patterns in a randomized clinical trial of efavirenz or lopinavir–ritonavir in antiretroviral-naive patients.** *Antimicrob Agents Chemother* 2014; **58**:6717–6723.
17. Leyes P, Martínez E, Larrousse M, Cofán M, Trabal J, Pérez-Heras AM, *et al*. **Effects of ezetimibe on cholesterol metabolism in HIV-infected patients with protease inhibitor-associated dyslipidemia: a single-arm intervention trial.** *BMC Infect Dis* 2014; **14**:497.
18. Johnson MA, Gathe JC, Podzamczer D, Molina J-M, Naylor CT, Chiu Y-L, *et al*. **A once-daily lopinavir/ritonavir-based regimen provides noninferior antiviral activity compared with a twice-daily regimen.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; **43**:153–160.
19. Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, Pozniak AL, Gazzard B, Campo RE, *et al*. **Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV.** *N Engl J Med* 2006; **354**:251–260.
20. Riddle TM, Kuhel DG, Woollett LA, Fichtenbaum CJ, Hui DY. **HIV protease inhibitor induces fatty acid and sterol biosynthesis in liver and adipose tissues due to the accumulation of activated sterol regulatory element-binding proteins in the nucleus.** *J Biol Chem* 2001; **276**:37514–37519.
21. Hui DY. **Effects of HIV protease inhibitor therapy on lipid metabolism.** *Prog Lipid Res* 2003; **42**:81–92.
22. Sato R. **Sterol metabolism and SREBP activation.** *Arch Biochem Biophys* 2010; **501**:177–181.
23. Alrefai WA, Annaba F, Sarwar Z, Dwivedi A, Saksena S, Singla A, *et al*. **Modulation of human Niemann-Pick C1-like 1 gene expression by sterol: role of sterol regulatory element binding protein 2.** *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; **292**:G369–G376.
24. Pramfalk C, Jiang Z-Y, Cai Q, Hu H, Zhang S-D, Han T-Q, *et al*. **HNF1alpha and SREBP2 are important regulators of NPC1L1 in human liver.** *J Lipid Res* 2010; **51**:1354–1362.
25. Yu XH, Qian K, Jiang N, Zheng XL, Cayabyab FS, Tang CK. **ABCG5/ABCG8 in cholesterol excretion and atherosclerosis.** *Clin Chim Acta* 2014; **428**:82–88.
26. Lee GA, Seneviratne T, Noor MA, Lo JC, Schwarz J-M, Aweeka FT, *et al*. **The metabolic effects of lopinavir/ritonavir in HIV-negative men.** *AIDS* 2004; **18**:641–649.
27. Carpentier YA, Scruel O. **Changes in the concentration and composition of plasma lipoproteins during the acute phase response.** *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; **5**:153–158.
28. Liang JS, Distler O, Cooper Da, Jamil H, Deckelbaum RJ, Ginsberg HN, *et al*. **HIV protease inhibitors protect apolipoprotein B from degradation by the proteasome: a potential mechanism for protease inhibitor-induced hyperlipidemia.** *Nat Med* 2001; **7**:1327–1331.
29. Tilvis RS, Miettinen TA. **Serum plant sterols and their relation to cholesterol absorption.** *Am J Clin Nutr* 1986; **43**:92–97.
30. MacKay D, Jones PJH. **Evaluation of methods for the determination of cholesterol absorption and synthesis in humans.** *Atherosclerosis* 2011; **218**:253–262.
31. Low H, Dewar E, Bukrinsky M, Hoy J, Dart A, Sviridov D, *et al*. **The effect of HIV infection on atherosclerosis and lipoprotein metabolism: a one year prospective study.** *Atherosclerosis* 2013; **229**:206–211.
32. Clotet B, Feinberg J, van Lunzen J, Khuong-Josses M-A, Antinori A, Dumitru I, *et al*. **Once-daily dolutegravir versus darunavir plus ritonavir in antiretroviral-naive adults with HIV-1 infection (FLAMINGO): 48 week results from the randomised open-label phase 3b study.** *Lancet* 2014; **383**: 2222–2231.
33. Ofotokun I, Na LH, Landovitz RJ, Ribaudo HJ, McComsey GA, Godfrey C, *et al*. **Comparison of the metabolic effects of ritonavir-boosted darunavir or atazanavir versus raltegravir, and the impact of ritonavir plasma exposure: ACTG 5257.** *Clin Infect Dis* 2015; **60**:1842–1851.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Estudi 2: EZEHIV06

Paper dels nivells plasmàtics de fitosterols en la predicció de l'efecte hipolipemiant de l'ezetimiba en subjectes infectats per VIH que reben inhibidors de la proteasa.

Núm. EudraCT: 2006-006156-36

Disseny:

Estudi d'intervenció, en obert, amb una sola branca de tractament.

Mètodes:

Es van incloure quinze pacients tractats amb un inhibidor de la proteasa potenciat amb ritonavir i un colesterol d'LDL> 3.36 mmol/L (>130 mg/dL). Es van utilitzar nivells plasmàtics d'esterols vegetals i de precursors de la síntesi del colesterol com a marcadors d'absorció i de síntesi, respectivament, i es van mesurar a més nivells plasmàtics de triglicèrids, colesterol total, d'LDL i d'HDL, i apolipoproteïnes A i B. Els pacients es van valorar en temps basal i després de 8 setmanes de tractament amb ezetimiba.

Resultats:

El tractament amb ezetimiba va ser ben tolerat i va donar lloc a reduccions significatives en el colesterol total, colesterol d'LDL (−20.4%), colesterol no-HDL (−13.4%) i apolipoproteïna B (−9.1%). El tractament es va associar amb una reducció dels marcadors d'absorció del colesterol (-43% en la raó campesterol/colesterol i -42% en la raó sitosterol/colesterol) i s'acompanyà d'un augment en els marcadors de síntesi (+53% de la raó latosterol/colesterol). Els nivells d'aquests marcadors en temps basal no guardaven cap relació amb la resposta al tractament. Les xifres de CD4 i la càrrega viral van romandre sense canvis.

Conclusions:

Els nivells de marcadors d'absorció o de síntesi no semblen ser factors determinants en la resposta a l'ezetimiba en pacients que duen tractament antiretroviral que conté un IP potenciat amb ritonavir.

Publicació:

Efectes de l'ezetimiba en el metabolisme del colesterol en pacients infectats per VIH amb dislipèmia associada a inhibidors de la proteasa: un estudi d'intervenció amb una sola branca de tractament.

BMC Infect Dis 2014;14:497.

Leyes et al. BMC Infectious Diseases 2014, 14:497
http://www.biomedcentral.com/1471-2334/14/497

BMC Infectious Diseases

RESEARCH ARTICLE Open Access

Effects of ezetimibe on cholesterol metabolism in HIV-infected patients with protease inhibitor-associated dyslipidemia: a single-arm intervention trial

Pere Leyes[1*], Esteban Martínez[2], María Larrousse[2], Montserrat Cofán[3], Joan Trabal[5], Ana María Pérez-Heras[3,4], María T Forga[1] and Emilio Ros[3,4]

Abstract

Background: The effects of ezetimibe on cholesterol metabolism in HIV-infected patients receiving boosted protease inhibitors have not been thoroughly assessed. The aim of this study was to assess cholesterol homeostasis in patients with PI associated dyslipidemia and its relationship with the response to treatment with the cholesterol-absorption inhibitor ezetimibe.

Methods: Fifteen patients with ritonavir-boosted PI-containig therapy and LDL-cholesterol > 3.36 mmol/L (>130 mg/dL) were assessed at baseline and after an 8-week course of ezetimibe 10 mg/d. Serum non-cholesterol sterols were measured at each visit as markers of cholesterol synthesis and absorption. Total-, LDL-, and HDL-cholesterol triglycerides, apolipoproteins A1 and B, high sensitivity C-reactive protein, CD4 cells and HIV-1 RNA were also measured.

Results: Ezetimibe treatment was well tolerated in all patients and resulted in significant reductions in total cholesterol (−11.4%, p = .002), LDL-cholesterol (−20.4%, p = .003), non-HDL-cholesterol (−13.4%, p = .002) and apolipoprotein B (−9.1%, p = .021).
Treatment with ezetimibe was associated with decreased cholesterol absorption markers (campesterol-to-cholesterol ratio −43.0%, p = .001; sitosterol-to-cholesterol ratio −41.9%, p = .001) and increased synthesis markers (lathosterol-to-cholesterol ratio 53.2%, p = .005). Baseline absorption or synthesis markers were unrelated to the response to treatment. CD4 cell count and plasma HIV-1 RNA remained unchanged.

Conclusions: The level of cholesterol absorption or synthesis does not appear to be a major determinant of the responsiveness to ezetimibe in patients on ritonavir-boosted PI-containing therapy.

Trial registration: EudraCT: 2006-006156-36

Keywords: HIV infection, Cholesterol, Phytosterols, Ezetimibe, Protease inhibitors

Background

Abnormalities of lipid metabolism are common complications of HIV therapy, particularly with protease inhibitors (PI) [1]. Antiretroviral treatment exposure is an independent risk factor for cardiovascular disease in HIV-infected patients [2], which is particularly linked to PI exposure and relates in part to lipid alterations [3]. This risk adds to conventional risk factors, particularly smoking, which is highly prevalent among seropositive patients [4]. In addition, HIV-associated inflammation and vascular dysfunction may also lead to increased cardiovascular morbidity despite successful antiretroviral therapy (ART) [5].

Although statins are considered the drugs of choice for attaining LDL-cholesterol targets in HIV-infected patients [6], some statins may display clinically significant interactions with common antiretroviral drugs through inhibition of CYP3A metabolic pathways [7]. Furthermore statin therapy in HIV-infected patients has a lipid-

* Correspondence: pleyes@clinic.cat
[1]Endocrinology and Nutrition Service, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, Villarroel 170, Barcelona 08036, Spain
Full list of author information is available at the end of the article

BioMed Central

© 2014 Leyes et al.; licensee BioMed Central Ltd. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly credited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

lowering efficacy lower than expected, thus patients may require high doses or additional cholesterol-lowering agents [8]. Ezetimibe is a lipid lowering agent that reversibly inhibits intestinal cholesterol absorption without interfering with hepatic P-450 enzymes [9], thus showing a low potential for drug interactions compared with currently available statins. As PI increase cholesterol synthesis through activation of SREBP regulated pathways [10], it is unknown whether the use of a cholesterol-absorption inhibitor in HIV-infected patients treated with PI induces different changes in cholesterol metabolism than those reported in non-HIV infected dyslipidemic patients.

Small amounts of non-cholesterol sterols circulate in blood and can be used as reliable biomarkers of cholesterol metabolism [11]. Plasma cholesterol precursors such as lathosterol are markers of cholesterol synthesis and, when expressed as ratios to cholesterol, show a good correlation with synthesis rates measured by isotope kinetic techniques [12]. Plant sterols or phytosterols are absorbed in the small bowel via the same receptor involved in cholesterol absorption (NPC1L1) [13]. Therefore, plasma levels of the main phytosterols, campesterol and sitosterol, can be used as indicators of cholesterol absorption [8,14].

In general population with hypercholesterolemia, treatment with ezetimibe resulted in decreased LDL-cholesterol by −17 to −20% [15-17]. A reduction in campesterol/cholesterol and sitosterol/cholesterol ratios (−41 and −34%, respectively), and an increase in lathosterol/cholesterol ratio (+72%) has also been reported [15,17,18].

The aim of this study was to assess cholesterol homeostasis in patients with PI-associated dyslipidemia and its relationship with the response to treatment with the cholesterol-absorption inhibitor ezetimibe.

Methods

Patients

HIV-infected adults (≥18 years) receiving stable ritonavir-boosted PI-containing ART, with plasma HIV-1 RNA below 50 copies/ml at least for the previous 6 months, and presenting with plasma LDL-cholesterol levels between 3.36 and 4.91 mmol/l (130–190 mg/dL) without statin therapy were considered eligible for study. Exclusion criteria were: hypersensitivity to ezetimibe, consumption of phytosterol-enriched functional foods within one month before study entry, prior history of cardiovascular disease, secondary hypercholesterolemia, renal insufficiency (defined by a glomerular filtration rate (MDRD) <60 mL/min/1.73 m^2), increased transaminase levels (defined by 5 times above the upper level of normality), concomitant treatment for hepatitis virus coinfections, diabetes mellitus, active illicit drug or alcohol abuse, AIDS-defining opportunistic infection within 3 months prior to study entry, any acute illness within one month prior to study entry, and pregnancy or breastfeeding. Criteria for patient withdrawal from the study were any changes in antiretroviral regimen during the study period, including dose changes or drug discontinuation.

The study was approved by the institutional review board of Hospital Clinic de Barcelona, and conducted according to good practice guidelines. All patients provided written informed consent before study entry.

Study design

In this open-label intervention study, participants received ezetimibe 10 mg/d during 8 weeks. At study entry, all patients received written recommendations to ensure avoidance of phytosterol supplements during the study period. Patients were scheduled for visits at baseline and week 8. At each visit 3-day food records were obtained and the nutrient composition of the diet was assessed by using Food Process-Plus software (version 8.0). Spent boxes of medication were collected to assess compliance. Anthropometric measurements were made by standard methods. Waist circumference was measured in the upright position half way between the lower subcostal margin and the iliac crest. Previous ART was recorded as time of exposure to combination ART (cART) as well as to thymidine and non-thymidine analogues (TA) Reverse Transcriptase Inhibitors (RTI), PI, and non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTI) families.

Laboratory methods

Fasting blood samples were obtained at baseline and at the end of the treatment period. Except for standard biochemistry and blood-cell analyses, serum samples were stored at −80°C and analyzed at the end of the study. Total cholesterol, triglycerides, and HDL-cholesterol [after precipitation of apolipoprotein (apo) B–containing lipoproteins] were determined by standard enzymatic methods in an automatic analyzer DDPPII Hitachi (Roche, Basle, Switzerland), using specific reagents (Boehringer-Mannheim, Mannheim, Germany). LDL-cholesterol was calculated by using the Friedewald equation. ApoAl and apoB were determined by using turbidimetry. Concentrations of variables reflecting glucose control and kidney and liver function, i.e., fasting glucose, total bilirubin, aspartate aminotransferase, alanine transaminase, alkaline phosphatase, γ-glutamyl transpeptidase, and creatinine were determined on the automatic analyzer. Hematological variables (total and differential white blood cell count, red blood cell count, hemoglobin concentration, hematocrit, mean corpuscular volume, and platelet count and volume) were determined on a Coulter counter.

Non-cholesterol sterols and high sensitivity C-reactive protein (CRP) were determined in frozen samples of whole serum. Plant sterols (campesterol and sitosterol)

and the cholesterol precursor lathosterol were analyzed by gas chromatography as previously described [19]. Briefly, epicoprostanol (2 μg) was added to serum (0.1 ml) as internal standard. After alkaline hydrolysis, extraction, and derivatization to trimethylsilyl ethers, the sterols were quantified by gas chromatography on a 30 m nonpolar capillary column (TRB-Esterol; Teknokroma, Barcelona, Spain) with a Perkin-Elmer GC Autosystem (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA). Plant sterol and precursors concentrations are expressed as ratios to cholesterol (μmol/mmol cholesterol). Inter- and intra-assay CVs were 5.0% and 3.2% for lathosterol, 1.9% and 1.6% for campesterol, and 2.0% and 1.8% for sitosterol, respectively. CRP was determined by turbidimetry. The intra-assay coefficient of variation for CRP was 3.1%.

The number of CD4 T lymphocytes was measured by flow cytometry. Plasma HIV-1 RNA was measured by a PCR assay (Amplicor HIV Monitor, Roche Diagnostics Systems, Branchburg, New Jersey, USA; lower limit of detection 50 copies/mL).

Statistical analyses

The primary efficacy variable was the change in serum LDL-cholesterol. Key secondary variables were changes in other lipids, non-cholesterol sterols, and CRP. Variables were described as medians and interquartile ranges. Outlier values of CRP (1.5 times the interquartilic range above the median) were excluded from the analysis of CRP response. A sample size of 15 evaluable patients was considered necessary to detect a decrease of at least 20% in LDL-cholesterol, according to previous data [20], with an 80% power and a significance level of 0.05, using a two-sided test. We used the Wilcoxon rank test for within-group comparisons and the Spearman's rho test for correlation between continuous variables. Analyses were performed using SPSS software version 16.0.

Results

Baseline characteristics

Fifteen patients (9 men and 6 women, mean age 53 years) were included and eligible for analysis. Eight

Table 1 Baseline data and outcome variables in 15 patients treated with ezetimibe for 8 weeks

Variables	Baseline	Treatment	% change	P*
Dietary assessment				
Total calories (kj/d)	8037 [6728–9033]	7657 [6841–11167]	−4.7%	.55
Total fat (g/d)	93 [76–105]	86 [83–115]	−7.5%	.53
Saturated fatty acids (g/d)	26 [17–31]	24 [19–32]	−7.7%	.94
Cholesterol (mg/d)	254 [223–340]	294 [247–346]	15.7	.81
Phytosterols (mg/d)	184 [141–211]	156 [129–193]	−15.2%	.09
Body weight (kg)	73.0 [61.2-80.1]	73.1 [63.9-80.8]	0.1%	1
Waist circumference (cm)	92.5 [85.7-96]	95.0 [88–100]	2.7%	.55
Lipids and apos				
Total cholesterol (mmol/L)	5.87 [5.46-6.54]	5.2 [4.89-5.61]	−11.4%	.002
LDL-cholesterol (mmol/L)	3.93 [3.46-4.27]	3.13 [2.95-3.44]	−20.4%	.003
nonHDL-cholesterol (mmol/L)	4.63 [4.29-5.30]	4.01 [3.59-4.42]	−13.4%	.002
HDL-cholesterol (mmol/L)	1.21 [1.11-1.47]	1.19 [1.03-1.34]	−2.1%	.11
Triglycerides (mmol/L)	1.64 [1.15-2.04]	1.42 [1.15-2.29]	−13.1%	.46
Apo A1 (g/L)	1.47 [1.39-1.53]	1.54 [1.44-1.59]	4.7%	1
Apo B (g/L)	1.21 [1.09-1.42]	1.10 [0.95-1.24]	−9.1%	.02
C-reactive protein (mg/L)	1.2 [0.4-1.6]	0.6 [0.5-3.5]	−50%	.61
Plasma viral load (copies/mL)	49 [49–49]	49 [49–49]	0%	.65
CD4 cell count (cells/μL)	503 [353–802]	499 [323–794]	−0.8%	.65
Lathosterol (μmol/L)	7.08 [5.19-9.43]	9.97 [6.68-12.67]	40.9%	.015
Lathosterol/cholesterol	1.26 [0.84-1.54]	1.93 [1.37-2.40]	53.2%	.005
Campesterol (μmol/L)	27.78 [20.22-38.95]	14.78 [10.72-18.51]	−46.8%	.001
Campesterol/cholesterol	4.65 [3.23-6.36]	2.62 [1.98-3.53]	−43.6%	.001
Sitosterol (μmol/L)	22.96 [20.34-33.25]	14.77 [10.96-19.52]	−35.7%	.001
Sitosterol/cholesterol	4.46 [3.70-6.09]	2.59 [2.17-3.76]	−41.9%	.001

Results are expressed as medians [IQR]. *Wilcoxon Rank test.

patients were active smokers. Median ART exposure was 504 w (range 228–581). Median exposures to specific therapies were: non-TA RTI, 449 w; TA RTI, 303 w; PI, 350 w, and NNRTI, 32 w. Intake of selected nutrients did not change between time points. The intervention had no effect on body weight or waist circumference (Table 1).

Efficacy

After 8 weeks of ezetimibe treatment, significant changes from baseline were observed for total cholesterol (–0.67 mmol/L; p = .002), LDL-cholesterol (–0.80 mmol/L; p = .003), non-HDL-cholesterol (–0.62 mmol/L; p = .002) and apoB (–0.11 g/L; p = .021). No significant changes were observed for HDL-cholesterol, triglycerides, apoA1 or CRP (Table 1). Total cholesterol and LDL-cholesterol responses were consistent in most patients (Figure 1).

Treatment with ezetimibe was associated with a reduction in plasma campesterol and sitosterol concentrations in every participant, which confirms participants' compliance with the study drug. Similar results were observed for their ratios to cholesterol. Conversely, plasma lathosterol increased in most treated subjects (Table 1, Figure 1).

Concerning safety, CD4 cell count and plasma HIV-1 RNA remained unchanged. No changes in routine biochemistry or hematologic parameters were observed.

Relationship between markers of cholesterol metabolism and response to treatment

Baseline campesterol- and sitosterol-to-cholesterol ratios (as markers of absorption) and the lathosterol-to-cholesterol ratio (as a marker of synthesis) were not associated with the cholesterol lowering response to ezetimibe, as judged by the lack of correlation between these variables and changes in LDL-cholesterol after treatment. No correlation was observed either between baseline lipid levels and these markers.

Baseline campesterol- and sitosterol-to-cholesterol ratios were highly correlated between them (r = .932; p < .001). Although lathosterol-to-cholesterol ratio increased as expected in response to cholesterol absorption inhibition, the changes were unrelated to those of either campesterol or sitosterol. Changes in CRP did not correlate with changes in plasma lipids or non-cholesterol sterols.

Previous antiretroviral exposure (total cART or subfamilies: TA- and non-TA-RTI, PI, NNRTI) did not show any correlation with markers of cholesterol absorption or synthesis. No association existed between antiretroviral exposure and baseline lipid levels either.

Discussion

In this study we confirmed that 8 weeks of ezetimibe monotherapy was effective in reducing total and LDL-cholesterol in HIV patients receiving boosted-PI containing ART. The reduction in LDL-cholesterol levels (–20.4%) was

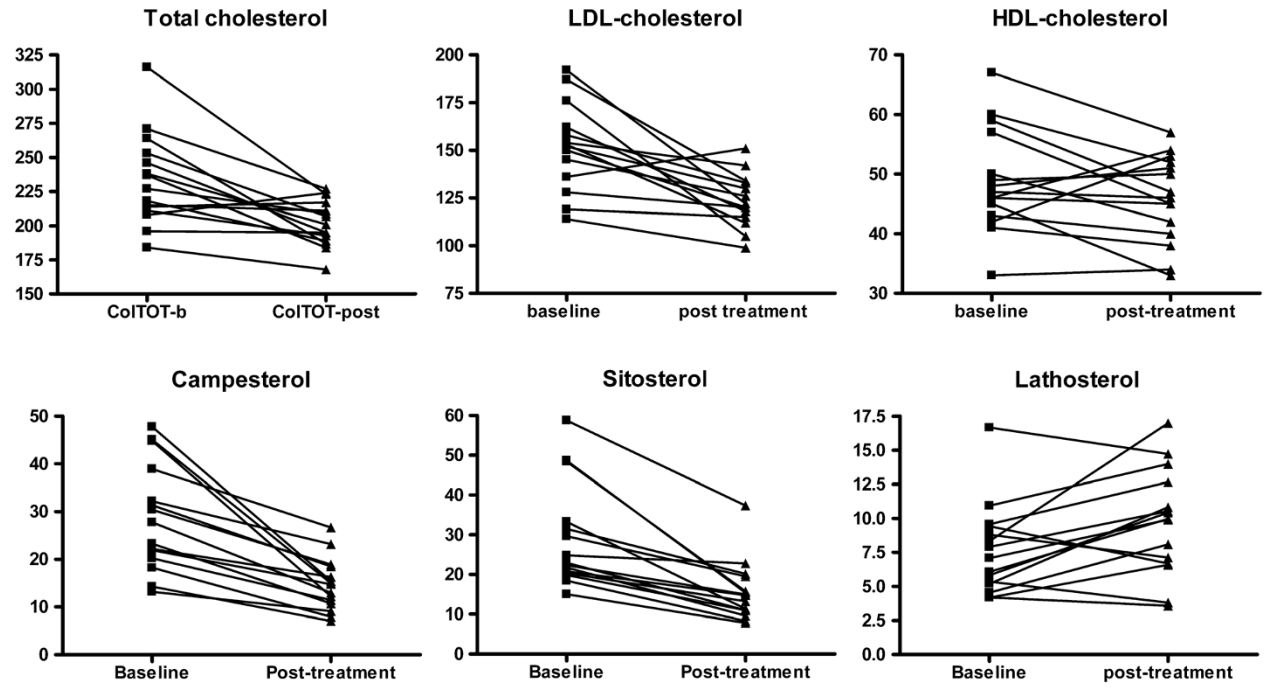

Figure 1 Individual changes in total cholesterol, lipoprotein cholesterol and non-cholesterol sterols after ezetimibe treatment.

in the expected range of responses reported in studies of ezetimbe monotherapy in the general population with dyslipidemia (−16% to −20%) [15-17], as well as in HIV-infected patients [21]. According to our data, seropositive patients receiving boosted-PI do not necessarily have a weaker response to ezetimibe, as suggested by *Wohl et al.* [20]. These authors found a poor response to ezetimibe (−5.3% LDL-cholesterol reduction) in HIV patients on triple therapy, but their mean baseline LDL-cholesterol (3.31 mmol/L) was lower than that in our population, which could account, at least in part, for the differences observed.

However, despite its efficacy in reducing serum cholesterol levels, the effectiveness of ezetimibe in reducing major cardiovascular events is yet to be proven. There is an ongoing clinical trial (IMPROVE-IT; ClinicalTrials.gov identifier NCT00202878) addressing this issue.

In our study ezetimibe resulted in a reduction in cholesterol absorption markers and an increase in cholesterol synthesis markers, which were in the range of the changes reported in non-HIV dyslipidemic subjects [15,17,18], suggesting that PI-containing ART has no major effect on cholesterol absorption or synthesis. However, the level of cholesterol absorption does not appear to be a major determinant of the responsiveness to ezetimibe, as shown by the lack of correlation between cholesterol absorption or synthesis markers and baseline lipid levels or their response to therapy. Other studies in non-HIV hypercholesterolemic subjects have produced similar results [22,23]. In one study, only a weak inverse correlation (r: −0.17) was found between baseline campesterol-to-lathosterol ratio and the response to ezetimibe [18]. In our study, neither baseline sitosterol- nor campesterol-to-lathosterol ratios correlated with response to therapy (data not shown). It is possible that factors downstream the primary site of action of ezetimibe could be major determinants of response.

In our study CRP decreased non-significantly after ezetimibe treatment. The great intra- and inter-individual variability observed with this marker makes it difficult to detect changes, at least in small studies. In a meta-analysis assessing the contribution of LDL-dependent effects of cholesterol-lowering therapies to changes in CRP, most of the CRP reduction was related to LDL changes [24]. As noted above, the small sample size is one limitation of our study, particularly for secondary outcomes. However, the study population was quite homogeneous for antiretroviral therapy and viral control, ruling out any potential influence of antiretroviral changes or uncontrolled HIV replication on the results.

Conclusions

The pharmacological inhibition of cholesterol absorption by ezetimibe is followed by a compensatory increase in cholesterol synthesis. The level of cholesterol absorption or synthesis prior to therapy does not appear to be a major determinant of the responsiveness to ezetimibe. Our findings in HIV patients receiving ritonavir-boosted PI-containing therapy are similar to those reported in non-HIV hypercholesterolemic subjects, suggesting that therapy with protease inhibitors by itself does not substantially affect cholesterol homeostasis.

Abbreviations

ART: Antiretroviral therapy; cART: Combination ART; CRP: C-reactive protein; NPC1L1: Niemann-Pick C1-Like 1; PI: Protease inhibitors; RTI: Reverse Transcriptase Inhibitors; SREBP: Sterol regulatory element-binding protein; TA: Thymidine analogues.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests. The study drug ezetimibe was generously supplied by Merck Sharp & Dohme (MSD), Spain. MSD had no role in study design, data collection, analysis, and interpretation, or writing of the report.

Authors' contributions

PL participated in study design, data monitoring, data analysis, and writing of the manuscript. EM participated in study design, recruitment, data monitoring, data analysis, and writing of the manuscript. ML participated in recruitment and data monitoring. MC: carried out laboratory analysis of non-cholesterol esterols and CRP. JT and AP: carried out dietary counselling and analysis of dietary data. MF: participated in writing of the manuscript. ER participated in design, data analysis, writing and revision of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

Emili Corbella provided expert assistance with statistical analyses. CIBERobn is an initiative of ISCIII. The study was supported in part by grant FIS PS09/01292, ISCIII, Spain.

Author details

[1]Endocrinology and Nutrition Service, Hospital Clínic, Universitat de Barcelona, Villarroel 170, Barcelona 08036, Spain. [2]Infectious Diseases Unit, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer (IDIBAPS), Hospital Clínic, Villarroel 170, Barcelona 08036, Spain. [3]Lipid Clinic, IDIBAPS, Hospital Clínic, Villarroel 170, Barcelona 08036, Spain. [4]CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERobn), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, Spain. [5]Fundació Clinic per la Recerca Biomèdica, Hospital Clínic, Villarroel 170, Barcelona 08036, Spain.

Received: 3 July 2014 Accepted: 2 September 2014
Published: 11 September 2014

References

1. Carr A, Samaras KM, Thorisdottir A, Kaufmann GR, Chisholm DJ, Cooper DA: **Diagnosis, prediction, and natural course of HIV-1 protease-inhibitor associated lipodystrophy, hyperlipidaemia, and diabetes mellitus: a cohort study.** *Lancet* 1999, **353:**2093–99.
2. Friis-Møller N, Sabin CA, Weber R, Monforte A, El-Sadr WM, Reiss P, Thiébaut R, Morfeldt L, De Wit S, Pradier C, Calvo G, Law MG, Kirk O, Phillips AN, Lundgren JD: **Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction.** *N Engl J Med* 2003, **349:**1993–2003.
3. DAD Study Group, Friis-Møller N, Reiss P, Sabin CA, Weber R, Monforte A, El-Sadr W, Thiébaut R, De Wit S, Kirk O, Fontas E, Law MG, Phillips A, Lundgren JD: **Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infection.** *N Engl J Med* 2007, **356:**1723–1735.
4. Friis-Møller N, Weber R, Reiss P, Thiébaut R, Kirk O, Monforte A, Pradier C, Morfeldt L, Mateu S, Law M, El-Sadr W, De Wit S, Sabin CA, Phillips AN, Lundgren JD, DAD study group: **Cardiovascular disease risk factors in HIV patients – association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study.** *AIDS* 2003, **17:**1179–93.
5. Baker JV, Henry WK, Neaton JD: **The consequences of HIV infection and antiretroviral therapy use for cardiovascular disease risk: shifting paradigms.** *Curr Opin HIV AIDS* 2009, **4:**176–182.

6. The EACS executive committee,*Guidelines. Prevention and management of noninfectious co-morbidities in HIV*; [http://www.eacsociety.org/Guidelines.aspx]
7. Ray GM: **Antiretroviral and Statin Drug-Drug Interactions.** *Cardiol Rev* 2009, **17:**44–47.
8. Silverberg MJ, Leyden W, Hurley L, Go AS, Quesenberry CP Jr, Klein D, Horberg MA: **Response to newly prescribed lipid-lowering therapy in patients with and without HIV infection.** *Ann Intern Med* 2009, **150:**301–313.
9. Van Heek M, Davis H: **Pharmacology of ezetimibe.** *Eur Heart J* 2002, **4**(suppl J):J5–J8.
10. Hui DY: **Effects of HIV protease inhibitor therapy on lipid metabolism.** *Prog Lipid Res* 2003, **42:**81–92.
11. Miettinen TA, Tilvis RS, Kesäniemi YA: **Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population.** *Am J Epidemiol* 1990, **131:**20–31.
12. Matthan NR, Raeini-Sarjaz M, Lichtenstein AH, Ausman LM, Jones PJ: **Deuterium uptakes and plasma cholesterol precursor levels correspond as methods for measurement of endogenous cholesterol synthesis in hypercholesterolemic women.** *Lipids* 2000, **35:**1037–44.
13. Von Bergmann K, Sudhop T, Lütjohann D: **Cholesterol and plant sterol absorption: recent insights.** *Am J Cardiol* 2005, **96**(suppl):10D–14D.
14. Sudhop T, Lütjohann D, von Bergmann K: **Sterol transporters: targets of natural sterols and new lipid lowering drugs.** *Pharmacol Ther* 2005, **105:**333–41.
15. Sudhop T, Lüthohann D, Kodal A, Igel M, Tribble DL, Shah S, Perevozskaya I, von Bergmann K: **Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans.** *Circulation* 2002, **106:**1943–1948.
16. Dujovne CA, Ettinger MP, McNeer JF, Lipka LJ, LeBeaut AP, Suresh R, Yang B, Veltri EP, Ezetimibe Study Group: **Efficacy of a potent new selective cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, in patients with primary hypercholesterolemia.** *Am J Cardiol* 2002, **90:**1092–1097.
17. Hiramitsu S, Ishiguro Y, Matsuyama H, Yamada K, Kato K, Noba M, Uemura A, Yoshida S, Matsubara Y, Kani A, Hasegawa K, Hishida H, Ozaki Y: **The effects of ezetimibe on surrogate markers of cholesterol absorption and synthesis in Japanese patients with dyslipidemia.** *J Atheroscler Thromb* 2010, **17:**106–114.
18. Assmann G, Kannenberg F, Ramey DR, Musliner TA, Gutkin SW, Veltri EP: **Effects of ezetimibe, simvastatin, atorvastatin, and ezetimibe-statin therapies on non-cholesterol sterols in patients with primary hypercholesterolemia.** *Curr Med Res Opin* 2008, **24:**249–259.
19. Escurriol V, Cofán M, Moreno-Iribas C, Larrañaga N, Martínez C, Navarro C, Rodríguez L, González CA, Corella D, Ros E: **Phytosterol plasma concentrations and coronary heart disease in the prospective Spanish EPIC population study.** *J Lipid Res* 2010, **51:**618–624.
20. Wohl DA, Waters D, Simpson RJ Jr, Richard S, Schnell A, Napravnik S, Keys J, Eron JJ Jr, Hsue P: **Ezetimibe alone reduces low-density lipoprotein cholesterol in HIV-infected patients receiving combination antiretroviral therapy.** *Clin Infect Dis* 2008, **47:**1105–8.
21. Coll B, Aragonés G, Parra S, Alonso-Villaverde C, Masana L: **Ezetimibe effectively decreases LDL-cholesterol in HIV-infected patients.** *AIDS* 2006, **20:**1675–7.
22. Lakoski SG, Xu F, Vega GL, Grundy SM, Chandalia M, Lam C, Lowe RS, Stepanavage ME, Musliner TA, Cohen JC, Hobbs HH: **Indices of cholesterol metabolism and relative responsiveness to ezetemibe and simvastatin.** *J Clin Endocrinol Metab* 2010, **95:**800–809.
23. Jakulj L, Vissers MN, Groen AK, Hutten BA, Lutjohann D, Veltri EP, Kastelein JJ: **Baseline cholesterol absorption and the response to ezetimibe/simvastatin therapy: a post-hoc analysis of the ENHANCE trial.** *J Lipid Res* 2010, **51**(4):755–62.
24. Kinlay S: **Low-density lipoprotein-dependent and –independent effects of cholesterol-lowering therapies on C-reactive protein.** *J Am Coll Cardiol* 2007, **49:**2003–2009.

doi:10.1186/1471-2334-14-497
Cite this article as: Leyes *et al.*: Effects of ezetimibe on cholesterol metabolism in HIV-infected patients with protease inhibitor-associated dyslipidemia: a single-arm intervention trial. *BMC Infectious Diseases* 2014 **14**:497.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- **Convenient online submission**
- **Thorough peer review**
- **No space constraints or color figure charges**
- **Immediate publication on acceptance**
- **Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar**
- **Research which is freely available for redistribution**

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

BioMed Central

DISCUSSIÓ

Hipòtesi #1**: La hipercolesterolèmia lligada al tractament antiretroviral va associada a una alteració en l'homeòstasi del colesterol, manifestada en forma d'augment de la síntesi o de l'absorció del colesterol.**

L'estudi *LIPOTAR* va ser dissenyat per estudiar els trets diferencials de dues pautes d'antiretrovirals que en el moment de l'estudi eren pautes de primera línia de tractament i permetien abordar l'objectiu de la hipòtesi formulada. Una d'elles basada en un ITINN, l'efavirenz, i l'altre en un IP potenciat, el lopinavir potenciat amb ritonavir.

Els resultats de l'estudi van confirmar aquesta primera hipòtesi, mostrant que es produïa una alteració en l'homeòstasi del colesterol en forma d'augment de l'absorció del colesterol. Aquesta alteració s'observava en aquell grup en el que es produïa un major augment en la xifra de colesterol plasmàtic, el grup que duia un inhibidor de la proteasa potenciat.

Que l'alteració fisiopatològica observada (augment dels marcadors d'absorció) vagi en paral·lel a l'alteració clínica objectivada en aquest mateix grup (la hipercolesterolèmia), reforça el lligam entre aquestes dues.

Ús de marcadors subrogats

L'ús de marcadors subrogats, com és el cas del nostre estudi, sempre ha de ser vist com una limitació de l'estudi. Les tècniques isotòpiques són complicades i costoses, i poc factibles en un disseny multicèntric. Per altra banda, els marcadors subrogats ens permeteren l'estudi de l'homeòstasi del colesterol en un context experimental com el nostre, malgrat sigui a expenses de perdre informació, això és, no mesurar directament la magnitud de l'absorció o la síntesi de colesterol. Tot i així, diversos estudis han trobat una bona correlació entre els nivells dels marcadors utilitzats i els resultats obtinguts per tècniques isotòpiques, considerades l'estàndard de referència.[160,161,207] Val a dir,però, que un grup va publicar resultats discordants, en no trobar correlació entre aquests marcadors i l'absorció fraccional de colesterol.[208] Malgrat tot, hi ha dades que resten fiabilitat a aquests resultants. Per una part, van trobar una absorció fraccional de colesterol (25%) molt inferior a la reportada en

estudis previs, que gira al voltant de 40% a 60%. Per altra part, hi havia també limitacions metodològiques, donat que aquest estudi emprava una única dosi elevada de colesterol marcat, mentre que altres estudis havien donat petites dosis repetides de traçador sobre períodes més extensos de temps (e.g. 7 dies), el que proporcionaria un millor estimat de l'absorció mitja diària.

Com a marcadors aïllats més robusts d'absorció es van utilitzar el campesterol i el sitosterol, i per la síntesi, el latosterol. No obstant, també es va fer una anàlisi agregada de tots els marcadors de síntesi (Σlatosterol, desmosterol i lanosterol) per una part, i els d'absorció (Σdihidrocolesterol, estigmasterol, campesterol i sitosterol) per l'altra, donant resultats superposables als de l'anàlisi dels marcadors per separat (dades no incloses en l'original publicat). [Figura 5]

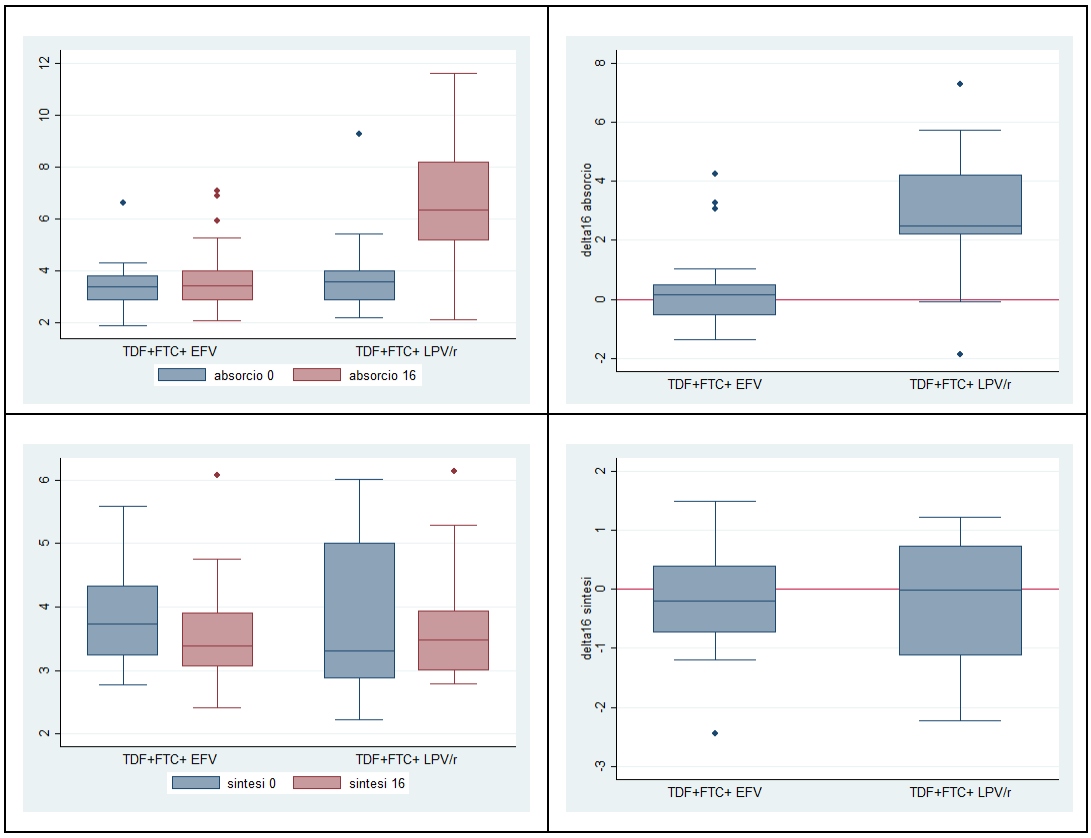

Figura 5: Anàlisi agregada dels marcadors d'absorció i síntesi

Disseny de l'estudi

L'objectiu principal de l'estudi era investigar el mecanisme pel qual tractament antiretroviral pot produir hipercolesterolèmia. El disseny va ser a curt termini, a fi d'avaluar l'efecte abans que apareguessin eventuals canvis en la composició corporal que poguessin influir sobre els resultats.

La limitació d'aquest enfocament és que no permet valorar l'efecte a llarg termini, ni tampoc si l'organisme és capaç de posar en marxa mecanismes d'adaptació per contrarestar aquest efecte.

Malgrat tot, a les 16 setmanes els mecanismes de regulació a l'insult metabòlic introduït pel tractament antiretroviral han d'haver arribat a una nova fase d'estabilitat. Estudis a més llarg termini mostren que la hipercolesterolèmia persisteix als 12 mesos d'haver iniciat el tractament amb un IP, el que apuntaria a que l'alteració en l'homeòstasi del colesterol es manté en el temps.[209]

Efecte de la composició corporal

A l'estudi també es va avaluar la composició corporal a fi de valorar si aquesta podia influir en els resultats.

Per efecte de l'atzar, el grup LPV/r tenia en temps basal més pes, IMC i perímetre de cintura que el grup EFV. Pel que fa a la composició corporal, el grup LPV/r tenia més greix total, però no d'extremitats, que el grup EFV. Malgrat tot, a les 16 setmanes les diferències entre grups deixaven de ser significatives, i no es detectaren diferències entre amb grups pel que fa als canvis de la composició corporal.

Està reportat que la síntesi de colesterol es troba incrementada en el sobrepès, un increment que va associat a una disminució de l'absorció del colesterol,[145] pel que no sembla que la diferència de pes observada entre grups pugui haver influït en els resultats de manera positiva, donat que els canvis esperats amb major sobrepès (major síntesi i menor absorció) van en sentit contrari als observats (major absorció).

Tot i així, es realitzà una anàlisi exploratòria a fi de veure si l'IMC podia estar influint en els resultats. A tal fi es compararen els subjectes amb un IMC igual o superior a 25 amb els que el tenien inferior, és a dir, els individus amb cert grau de sobrepès amb els que no en tenien. No s'observaren diferències significatives entre ambdós grups pel que fa als canvis del colesterol i dels marcadors de síntesi i absorció utilitzats en el nostre estudi. La mateixa anàlisi es va repetir per separat a la branca LPV/r, que era la que experimentava canvis. De nou, no s'observaren diferències en el comportament d'aquestes variables en funció de l'IMC. Per tant, podem concloure que malgrat que, degut a l'atzar, hi hagué certa asimetria pel que fa a l'IMC, aquest no va influir de forma significativa en els resultats.

Efecte de l'edat

En el nostre estudi, hi havia certa diferència d'edat entre grups: mentre en el grup EFV l'edat mitja era de 34 anys, en el grup LPV/r era de 40 anys. Tot i que es podria

Taula 1: Anàlisi de regressió ajustada per l'edat

	TDF+FTC + EFV	**TDF+FTC +LPV/r**	valor-p global
Colesterol total basal	4.0 (± 0.9)	3.9 (± 0.6)	
Δ Colesterol total	0.4 (± 0.7)	1.0 (± 0.8)	**<.001**
Diff in Diff (95% CI)	0.62 (-0.03; 1.27)		
Colesterol LDL basal	2.5 (± 0.8)	2.4 (± 0.5)	
Δ Colesterol LDL	0.2 (± 0.7)	0.5 (± 0.6)	**.04**
Diff in Diff (95% CI)	0.27 (-0.28 ; 0.83)		
Colesterol no-HDL basal	2.9 (± 0.9)	3.0 (± 0.5)	
Δ Colesterol no-HDL	0.4 (± 0.6)	0.8 (± 0.7)	**<.001**
Diff in Diff (95% CI)	0.49 (-0.09 ; 1.08)		
B' Campesterol/col-tot	1.4 (± 0.4)	1.6 (± 0.7)	
Δ Campesterol/col-tot	0.2 (± 0.6)	1.2 (± 0.7)	**<.001**
Diff in Diff (95% CI)	1.04 (0.46 ; 1.61)		
B' Sitosterol/col-tot	1.3 (± 0.5)	1.4 (± 0.9)	
Δ Sitosterol/col-tot	0.2 (± 0.7)	1.7 (± 1.2)	**<.001**
Diff in Diff (95% CI)	1.50 (0.77 ; 2.24)		
B' Lathosterol/col-tot	1.5 (± 0.4)	1.5 (± 0.7)	
Δ Lathosterol/col-tot	0.0 (± 0.6)	0.0 (± 0.6)	**ns**
Diff in Diff (95% CI)	-0.07 (-0.50 ; 0.35)		

Totes les variables expressades en mmol/L

Els valors basals i increments Δ s'expressen com mitges ± DS

Diff in Diff (95% CI): Diferències en diferències (95% Interval de confiança)

considerar la diferència com a poc rellevant, vàrem voler repetir el model de regressió ajustat per l'edat, obtenint resultats molt similars als del model no ajustat. [Taula 1]

Paper de l'inhibidor de proteasa potenciat en els resultats

Atès que ambdues branques tenien la mateixa composició pel que fa a la base d'ITIAN (TDF i FTC), hem d'atribuir les diferències entre grups al tercer fàrmac antiretroviral de la pauta combinada, això és, l'EFV o el LPV/r. Això no vol dir necessàriament que l'efecte observat sigui l'efecte pur d'un sol fàrmac, donat que també pot ser fruit de la interacció de l'IP amb els altres dos fàrmacs que vertebren la combinació.

Nogensmenys, en un estudi avaluant l'efecte aïllat d'un IP en voluntaris sans també s'observaren augments del colesterol total i d'LDL,[198] el que suggereix que els canvis observats poden atribuir-se majoritàriament a l'ús de LPV/r. Pel que fa a l'estudi amb voluntaris sans, s'observà un increment del colesterol total del 19% a les 2 setmanes de tractament. Malgrat que aquest interval de temps és possiblement massa curt com perquè les seves dades siguin directament comparables amb les del nostre estudi a les 16 setmanes, ens poden servir, si més no, com a punt de referència. En el nostre estudi, el grup amb LPV/r experimentà increments del 25% pel que fa al colesterol total. És possible que part d'aquest increment sigui degut a un efecte de retorn a la normalitat, donat en aquest estudi avaluem dos canvis concomitants: la reducció de la càrrega viral de VIH i l'efecte dels fàrmacs. El fet que el colesterol total de partida fos relativament baix (151 mg/dL) respecte la població espanyola de referència,[210,211] tenint en compte una edat mitja de 37 anys en el nostre estudi, reforça la idea de que el control en la virèmia pot haver influït o contribuït en l'augment del colesterol observat amb el tractament.

Una bona manera de destriar el paper del fàrmac és comparar ambdues branques de tractament i valorar les diferències en els increments. En el nostre estudi, el grup-LPV experimentà un increment del colesterol total 0.61 mmol/L superior que el grup-EFV. Aquesta diferència suposaria percentualment un augment del 15.6% del colesterol total per sobre dels canvis experimentats en l'altre grup, i parla a favor de que hi ha un efecte atribuïble al propi fàrmac.

Validesa externa dels resultats

Una de les principals limitacions del nostre estudi és que el LPV/r ha deixat de ser un fàrmac de primera línia en la pràctica actual. L'ús d'inhibidors de la integrasa com a tercer fàrmac combinat amb dos ITIAN ha anat guanyant terreny per la seva baixa toxicitat. Per altra part, d'utilitzar-se un IP en el tractament combinat, aquest acostuma a ser ATV o DRV, que tenen un perfil metabòlic més favorable que no pas el LPV. Tot i així, continuen mantenint efectes diferencials pel que fa als lípids en comparació a altres fàrmacs.[67]

És per això que en no haver valorat altres IP, els resultats obtinguts no són necessàriament generalitzables a tots ells. Cal tenir en compte, però, que el nostre estudi pretenia descriure un mecanisme fisiopatològic i no pas quantificar un risc associat a un tractament. Per altra part, els nous IP també s'utilitzen potenciats amb ritonavir o cobicistat, segons el cas, i el ritonavir per si sol ha mostrat provocar canvis lipídics a les dosis utilitzades com a potenciador farmacològic.[198] Tant l'ús d'ATV com de DRV potenciats amb RTV s'ha vist associat a canvis en el perfil lipídic de magnitud més moderada (augment del 10% del colesterol total),[67] pel que és probable que el mecanisme fisiopatològic descrit en el nostre estudi també sigui aplicable a agents del mateix grup farmacològic.

Pel que fa a la dieta, és ben coneguda la influència dels greixos de la dieta sobre l'homeòstasi del colesterol,[144,167] pel que és probable que els resultats que hom espera trobar puguin modificar-se en funció del patró dietètic. En el nostre estudi no vam mesurar la ingesta dietètica. En tractar-se d'un estudi multicèntric qualsevol intent de mesurar el patró dietètic podria veure's modificat per la poca fiabilitat del registre dietètic i la variabilitat interobservador i, per tant, esbiaixar l'anàlisi d'aquest, tenint en compte que la grandària mostral era relativament petita.

Per altra part, la composició corporal també és un factor que pot influir en l'homeòstasi del colesterol, havent-se descrit un augment de la síntesi del colesterol lligat al sobrepès.[145,146] Donat que cada cop hi ha més subjectes amb sobrepès o obesitat al moment del diagnòstic de la infecció per VIH,[137,139] es fa difícil predir quin

és l'efecte en aquesta població o almenys la magnitud d'aquest efecte. Si bé en el nostre estudi un 36% dels subjectes tenia un IMC superior a 25, aquest sobrepès era en la majoria força moderat.

En qualsevol cas, el nostre estudi ha descrit un mecanisme fisiopatològic lligat a l'ús de LPV/r i el seu disseny no permet predir la magnitud dels canvis en diferents subpoblacions. Tot i així, creiem que juga un paper important en la gènesi de la hipercolesterolèmia, i que interactua amb altres possibles factors com la dieta o la composició corporal.

Hipòtesi #2: **El trastorn de l'homeòstasi que cal esperar és un augment de la síntesi del colesterol.**

En aquest cas, els resultats de l'estudi van ser contraris a la hipòtesi de partida: el trastorn de l'homeòstasi observat no va ser un augment de la síntesi del colesterol sinó un augment de l'absorció d'aquest.

El perquè d'aquesta hipòtesi:

L'augment de la síntesi *de novo* de triglicèrids amb l'ús d'IP està ben descrit en humans.[94] També s'ha descrit un augment de la secreció de VLDL[61] degut a una major disponibilitat d'apoB, per l'efecte inhibitori que tenen els IP sobre la seva degradació proteasòmica.[202]

En estudis experimentals amb ratolins, el RTV ha mostrat incrementar la síntesi d'esterols i àcids grassos tot inhibint la degradació proteasòmica de les SRBEPs i promovent la seva acumulació en el nucli,[205] on induirien l'expressió de gens lligats a la síntesi de greixos. Val a dir que aquest estudi es va fer exposant els animals al RTV, l'IP més potent pel que fa a la toxicitat metabòlica, però no a una combinació de fàrmacs antiretrovirals com s'utilitzen a la pràctica clínica. Les dosis emprades en aquest estudi eren de 2 mg al dia, que en animals amb un pes mig de 22g equivalen a una dosi de RTV de 6000 mg en un individu de 65 kg; 5 vegades més que la dosi terapèutica del RTV i 30 vegades més que la dosi emprada com a potenciador farmacològic.

Donats els resultats dels estudis experimentals, hom podia hipotetitzar que les diferents isoformes de l'SREBP es veien afectades de la mateixa manera per l'IP i compartien el mateix mecanisme, pel que la hipòtesi d'un augment de la síntesi del colesterol lligat a l'ús d'IP era la més versemblant. Possiblement un IP utilitzat a dosis més baixes no doni lloc a un efecte clínic tan cridaner i inclús pugui ser contrarestat per altres mecanismes fisiològics de regulació, mentre que a dosis molt elevades pugi sobrepassar els mecanismes compensadors.

No hi ha dades que suggereixin que l'IP tingui certa especificitat per alguna de les isoformes de l'SREBP. És plausible que a dosis altes actuï indistintament sobre totes les

isoformes, mentre que a dosis més baixes actuï de forma predominant sobre una d'elles. Per altra banda, és possible que a mitjà o llarg termini hi intervinguin altres nivells de regulació que no s'observen en els estudis animals a curt termini (pocs dies), com pot ser una regulació de l'expressió gènica que doni lloc a menor ARNm per SREBP. En el subestudi genètic de l'estudi LIPOTAR, s'objectivaren diferències en l'expressió de gens com el de l'adiponectina, del transportador de la glucosa GLUT4 i de la lipoproteïna lipasa en teixit adipós, amb una regulació a la baixa en la branca de l'EFV i una regulació a l'alça en la branca del LPV/r.[114] Malgrat tot, aquests canvis no són necessàriament un esdeveniment patogènic primari sinó que poden ser purament reactius. Un bon exemple és l'augment de l'expressió del gen pel GLUT4 associada a LPV/r, que ha d'interpretar-se com un mecanisme compensador per l'efecte inhibitori del LPV/r sobre el GLUT4. A l'estudi LIPOTAR no es mesuraren gens involucrats en la síntesi de lípids o en l'absorció de colesterol, però és plausible que hi hagi canvis reactius en l'expressió gènica als efectes de l'IP sobre el metabolisme lipídic. Tot i així, a manca de dades que ho confirmin, qualsevol suposició en aquest sentit és de caràcter purament especulatiu.

Possible mecanisme d'acció:

Un augment de l'absorció del colesterol es pot explicar per dos mecanismes: per un augment de l'acció del transportador NPC1L1 que se n'encarrega de l'absorció del colesterol luminal, o bé per una disminució de l'activitat dels transportadors que retornen el colesterol a la llum intestinal, l'ABCG5 i ABCG8.

Hom pot hipotetitzar que una disminució de l'acció dels transportadors ABCG5 i G8 que se n'encarreguen de l'efusió del colesterol de nou a la llum intestinal o al canalicle biliar (segons la localització d'aquests) és poc probable, ja que els canvis observats en el nostre estudi són relativament de poca magnitud, en comparació als canvis observats en pacients amb una alteració d'aquest transportador.

Els ABCG5 i G8, funcionen com heterodímer, i qualsevol mutació en un d'ells dona lloc a una disfunció de tot el transportador. La sitosterolèmia, un rar trastorn d'herència autosòmica recessiva i caracteritzat per una disfunció d'aquest transportador, dona

lloc a grans augments en els nivells plasmàtics de fitosterols en una magnitud de fins a 100 vegades als controls.[212] En pacients amb sitosterolèmia s'han reportat nivells de sitosterol en plasma de 15 a 60 mg/dL, mentre que en controls aquests oscil·len al voltant de 0.22 mg/dL.[212] En el nostre estudi, la branca LPV/r tenia uns nivells de sitosterol a les 16 setmanes de 0.56 mg/dL, molt per sota del rang observat en pacients amb disfunció d'aquest transportador.

És per aquest motiu que l'augment de l'activitat en el transportador NPC1L1 sembla el mecanisme més plausible. L'NPC1L1 és una proteïna de transmembrana que juga un paper crític en l'absorció de colesterol. Aquesta proteïna pren colesterol lliure de la llum intestinal i el transporta cap a dins la cèl·lula per mitjà d'un procés d'endocitosi. El mecanisme d'acció de l'ezetimiba, un inhibidor de l'absorció, seria boquejant aquest procés d'endocitosi.[213] L'NPC1L1 té en el vessant citoplasmàtic un domini sensor d'esterols que mostra homologia amb el d'altres elements claus en el metabolisme cel·lular del colesterol: la HMGCR i la proteïna d'activació del clivatge de l'SREBP, i també amb la proteïna Nieman Pick C1 (NPC1), encarregada del trànsit intracel·lular del colesterol.[214,215] En situacions d'estabilitat, l'NPC1L1 es troba en el compartiment de reciclatge endocític,[216] mentre que en situacions de manca de colesterol l'NPC1L1 és retornat de nou cap a la membrana luminal. D'aquesta manera, el trànsit de l'NPC1L1 sembla determinar la capacitat de la cèl·lula per absorbir colesterol,[217] constituint un dels possibles mecanismes d'acció per a regular-ne l'activitat.[218]

L'altre nivell de regulació de l'activitat del transportador és a través de l'expressió del gen de l'NPC1L1 per efecte de diversos factors de transcripció.[219,220] En estudis in vitro, l'SREBP-2 promou l'expressió d'NPC1L1,[220,221] el que podria explicar en part el lligam entre l'acció inhibidora de l'IP sobre la degradació proteasòmica d'SREBP-2 i l'augment d'absorció a l'enteròcit, però no permetria explicar perquè l'efecte final a l'organisme és el de la predominança de l'augment d'absorció.

De forma interessant, en un estudi en ratolins l'administració de fenofibrat, un agonista PPAR-α, donava lloc a una reducció en l'absorció de colesterol en associació amb una disminució de l'expressió d'ARNm per NPC1L1. Aquests efectes van mostrar ser dependents de PPAR-α, donat que en ratolins genoanul·lats per PPAR-α el fenofibrat no produïa aquests efectes.[222] En un altre estudi amb ratolins,

l'administració de RTV disminuïa l'expressió en fetge de gens diana del PPAR-α i bloquejava parcialment l'efecte d'un fibrat sobre aquest.[223] Tot i que no tenim dades en humans, hipotèticament aquest efecte antagonista sobre el PPAR-α podria facilitar l'expressió d'ARNm per NPC1L1. En aquest sentit, l'existència de senyals redundants (estimulació via SREBP-2 i disminució de senyals repressors del PPAR-α) podria explicar aquesta preponderància de l'augment d'absorció.

Interrelació absorció i síntesi:

Un fet que crida l'atenció en el nostre estudi és la manca de contraregulació de la síntesi, en forma d'una disminució d'aquesta. De fet, els marcadors de síntesi romanen força invariables en els dos grups al llarg de l'estudi.

Diversos estudis mostren que el cos té mecanismes per adaptar-se a una dieta rica en colesterol, primàriament disminuint-ne la síntesi,[143,144] i que quan aquesta regulació no es produeix, augmenten les xifres de colesterol.[144]

En el nostre cas, és fa difícil pensar que en el grup LPV s'hi hagin concentrat per atzar una població de no-compensadors, pel que hom tendeix a pensar en la possibilitat de que coexisteixin estímuls per la síntesi i l'absorció, amb predominança de l'efecte del darrer, mentre que la síntesi roman invariable, no compensant a la baixa.

Com pot influir la infecció per VIH en aquests canvis:

El virus del VIH redirecciona el metabolisme lipídic de les cèl·lules que infecta cara a augmentar la disponibilitat de colesterol per a la síntesi de nous virions. A tal fi, n'augmenta la síntesi i la captació, i en disminueix l'efusió cap a fora la cèl·lula. Aquesta disminució de l'efusió guarda relació amb la progressió de la malaltia (estant l'efusió més conservada a majors nivells de CD4 i menor càrrega viral).[224]

Els efectes de la infecció per VIH sobre el metabolisme lipídic de l'organisme és probable que siguin a través de mediadors inflamatoris, de forma similar als models de sèpsia.

La infecció no tractada per VIH dona lloc a increments de la xifra de TG i AGL en plasma, i una reducció del colesterol total, d'HDL i d'LDL, junt amb una reducció dels nivells d'apoA-1 i apoB-100.[30] En estudis *in vitro*, la secreció d'apoA-1 i d'apoB es veu reduïda un 50% en presència de TNF-α i d'IL-6.[225] El mecanisme difereix entre ambdues apolipoproteïnes: mentre els nivells d'ARNm d'apoA-1 disminueixen, no és el cas de l'apoB, en que el mecanisme implicat sembla ser l'augment de la seva degradació.[225] Per altra part, algunes citocines també són capaces d'estimular la captació d'LDL mitjançant un augment de receptors per l'LDL.[226,227] Per tant, en processos inflamatoris, tant una menor secreció d'apolipoproteïnes com una major activitat del receptor d'LDL semblen jugar un paper en la disminució dels nivells de colesterol en plasma.

Cal esperar doncs, que en controlar la infecció es produeixi l'efecte contrari, a mode de retorn a la normalitat. En aquest sentit, en aquest estudi mesurem dos canvis concomitants: la reducció de la càrrega viral de VIH i l'efecte dels fàrmacs, essent difícil saber de quina manera ha pogut influir el control de la infecció sobre els resultats, ja que no tenim dades de com varia l'homeòstasi del colesterol amb la seroconversió. No obstant, les diferències entre les branques de tractament cal atribuir-les a l'efecte farmacològic, donat que ambdues branques de tractament produïen la mateixa reducció en la càrrega viral. [Figura 6]

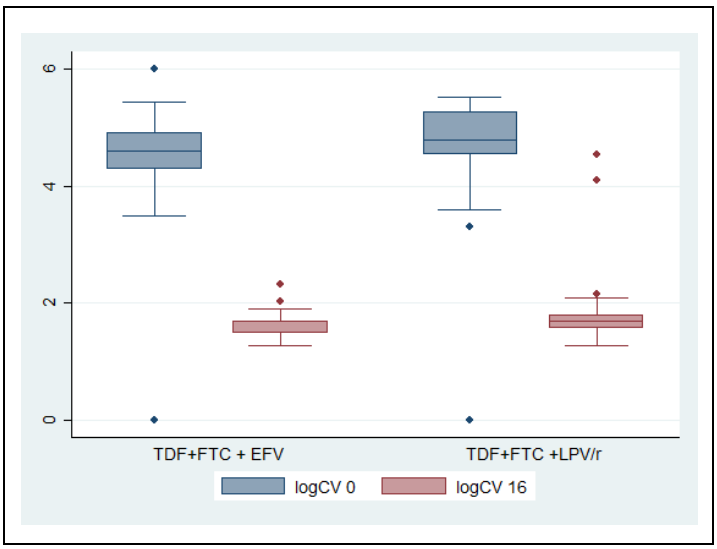

Figura 6: Reducció de la càrrega viral

Hipòtesi #3: **Els canvis en l'homeòstasi del colesterol induïts pel tractament antirretroviral, podrien restar eficàcia al tractament amb un inhibidor de l'absorció del colesterol.**

La tercera hipòtesi tampoc es confirma en aquest cas, en part perquè anava lligada a la hipòtesi #2. Partint de la hipòtesi de que el tractament amb IP donaria lloc a un augment de la síntesi de colesterol, era plausible que la reducció farmacològica de la seva absorció tingués un efecte terapèutic menor.

Efectivitat de la medicació hipolipemiant

En l'estudi EZEHIV06, la disminució de l'absorció del colesterol era d'una magnitud similar descrita a la població general tractada amb monoteràpia (reducció del 20%).[228–230] També s'observà de forma paral·lela una reducció en els marcadors d'absorció: -41.9% per la raó sitosterol/colesterol i -43.6%. per la raó campesterol/colesterol, en consonància al publicat en estudis en població general (reduccions de -27.2% i -43%, respectivament).[230]

Aquests resultats contrasten amb els d'us d'estatines en una cohort de pacients amb VIH amb diferents pautes d'antiretrovirals, en que s'observava un aplanament de la corba dosi resposta en la forma de cap canvi addicional en el colesterol total i d'LDL després d'augmentar la dosi de rosuvastatina de 10 a 20 mg.[183]

Interrelació absorció i síntesi.

A l'estudi EZEHIV06 sí que s'observà un efecte compensatori, en forma d'augment de la síntesi de colesterol en resposta a una inhibició de la seva absorció, tal com ens indica l'augment del 53.2% de la raó latosterol/colesterol; resultats que estan en consonància amb el que hi ha publicat en la població general (+45.3%).[230] Aquests resultats contrasten amb els de l'estudi LIPOTAR, en que l'augment de l'absorció no va anar acompanyat d'una reducció de la síntesi. Sembla doncs, que els mecanismes assegurar la disponibilitat de colesterol i reaccionar a una disminució d'aquest romanen intactes.

Paper en el tractament de la dislipèmia.

Hom pot preguntar-se si el tractament amb un fàrmac que actua sobre el trastorn de l'homeòstasi del colesterol lligat a l'ús d'IP aporta algun avantatge. La manca d'interaccions farmacològiques, en no interferir en el metabolisme dels fàrmacs ARV, és un punt fort d'aquest grup farmacològic.

Les recomanacions pel que fa a la prevenció primària en pacients infectats per VIH segueixen les guies per a la població general, que estableixen les estatines com a fàrmac de primera línia. Tenint en compte que l'efecte terapèutic de l'ezetimiba en monoteràpia és força moderat i presenta un aplanament de la corba dosi-resposta a partir dels 10 mg, que fa que no s'obtingui major efecte en incrementar la dosi, se'l considera un fàrmac de segona línia per quan apareix toxicitat a l'estatina.

Donat que l'administració d'ezetimiba s'acompanya d'un increment compensador de la síntesi, l'ús combinat d'un fàrmac inhibidor de l'absorció amb un fàrmac inhibidor de la síntesi té un efecte sinèrgic; el que fa de l'ezetimiba un bon fàrmac per utilitzar de forma combinada amb una estatina, en cas de ser necessària una major reducció del colesterol plasmàtic.

En el cas de pacients VIH en tractament antiretroviral, en que la corba dosi-resposta a estatines sembla més aplanada,[183] el planteig de donar dosis més baixes d'estatines en combinació amb ezetimiba sembla prou raonable. Per una part, per la menor possibilitat d'interaccions farmacològiques amb la utilització d'estatines a dosis baixes, i per altra part, perquè l'addició d'ezetimiba a una estatina ha mostrat tenir un efecte addicional en la reducció d'esdeveniments cardiovasculars,[194] el que no fa pensar que reduir la dosi d'estatina a expenses de combinar-la amb l'ezetimiba sigui inferior en la prevenció d'esdeveniments cardiovasculars.

Tot i així, cal veure si la dislipèmia associada als nous fàrmacs antiretrovirals també mostra un aplanament de la corba dosi-resposta com el descrit en estudis més antics. En aquest sentit, en comptes d'utilitzar estatines a dosis màximes, sembla raonable escalar la dosi d'estatina fins que aquesta no aporti major efecte i aleshores considerar l'addició d'ezetimiba.

CONCLUSIONS

1. En la fisiopatogènia de la hipercolesterolèmia lligada al tractament amb un inhibidor de la proteasa potenciat s'hi produeix una alteració en l'homeòstasi del colesterol.

2. Aquesta alteració de l'homeòstasi es manifesta en forma d'un augment de l'absorció del colesterol.

3. Aquesta alteració de l'homeòstasi no sembla restar efectivitat al tractament amb un inhibidor de l'absorció del colesterol com l'ezetimiba.

BIBLIOGRAFIA

1. Rerkpattanapipat P, Wongpraparut N, Jacobs LE, et al. Cardiac manifestations of acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med* 2000; 160: 602–608.

2. Tabib A, Greenland T, Mercier I, et al. Coronary lesions in young HIV-positive subjects at necropsy. *Lancet* 1992; 340: 730.

3. Pérez-Molina JA, Polo R, López-Aldeguer J, et al. Executive summary of the GeSIDA/National AIDS Plan consensus document on antiretroviral therapy in adults infected by the human immunodeficiency virus (updated January 2018). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Epub ahead of print 11 June 2018. DOI: 10.1016/j.eimc.2018.02.010.

4. European AIDS Clinical Society. European AIDS Clinical Society (EACS) Guidelines. *http://www.eacsociety.org/files/2017_guidelines_9.0-english_rev-20181024.pdf*. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.1002/oby.21371.

5. Martínez E, Milinkovic A, Buira E, et al. Incidence and causes of death in HIV-infected persons receiving highly active antiretroviral therapy compared with estimates for the general population of similar age and from the same geographical area. *HIV Med* 2007; 8: 251–258.

6. Simmons RD, Ciancio BC, Kall MM, et al. Ten-year mortality trends among persons diagnosed with HIV infection in England and Wales in the era of antiretroviral therapy: AIDS remains a silent killer. *HIV Med* 2013; 14: 596–604.

7. Triant V a, Lee H, Hadigan C, et al. Increased Acute Myocardial Infarction Rates and Cardiovascular Risk Factors among Patients with Human Immunodeficiency Virus Disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2506–2512.

8. Freiberg MS, Chang C-CH, Kuller LH, et al. HIV Infection and the Risk of Acute Myocardial Infarction. *JAMA Intern Med* 2013; 173: 614–22.

9. Womack JA, Chang C-CH, So-Armah KA, et al. HIV infection and cardiovascular disease in women. *J Am Heart Assoc* 2014; 3: e001035.

10. Paisible A-L, Chang C-CH, So-Armah KA, et al. HIV infection, cardiovascular disease risk factor profile, and risk for acute myocardial infarction. *J Acquir*

Immune Defic Syndr 2015; 68: 209–16.

11. Klein DB, Leyden WA, Xu L, et al. Declining relative risk for myocardial infarction among HIV-positive compared with HIV-negative individuals with access to care. *Clin Infect Dis* 2015; 60: 1278–1280.

12. Masiá M, Pérez-Cachafeiro S, Leyes M, et al. [Cardiovascular risk in human immunodeficiency virus-infected patients in Spain. CoRIS cohort, 2011]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012; 30: 517–27.

13. Oh JY, Greene K, He H, et al. Population-based study of risk factors for coronary heart disease among HIV-infected persons. *Open AIDS J* 2012; 6: 177–80.

14. Mdodo R, Frazier EL, Dube SR, et al. Cigarette smoking prevalence among adults with HIV compared with the general adult population in the United States: Cross-sectional surveys. *Ann Intern Med* 2015; 162: 335–344.

15. Lifson AR, Neuhaus J, Arribas JR, et al. Smoking-related health risks among persons with HIV in the Strategies for Management of Antiretroviral Therapy clinical trial. *Am J Public Health* 2010; 100: 1896–903.

16. Helleberg M, Afzal S, Kronborg G, et al. Mortality attributable to smoking among HIV-1-infected individuals: A nationwide, population-based cohort study. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 727–734.

17. Calvo-Sánchez M, Perelló R, Pérez I, et al. Differences between HIV-infected and uninfected adults in the contributions of smoking, diabetes and hypertension to acute coronary syndrome: two parallel case-control studies. *HIV Med* 2013; 14: 40–8.

18. Brown TT, Cole SR, Li X, et al. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study. *Arch Intern Med* 2005; 165: 1179–84.

19. De Wit S, Sabin CA, Weber R, et al. Incidence and Risk Factors for New-Onset Diabetes in HIV-Infected Patients. *Diabetes Care* 2008; 31: 1224–1229.

20. Friis-Møller N, Weber R, Reiss P, et al. Cardiovascular disease risk factors in HIV

patients--association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study. *AIDS* 2003; 17: 1179–93.

21. van Zoest RA, Wit FW, Kooij KW, et al. Higher Prevalence of Hypertension in HIV-1-Infected Patients on Combination Antiretroviral Therapy Is Associated With Changes in Body Composition and Prior Stavudine Exposure. *Clin Infect Dis* 2016; 63: 205–13.

22. Freiberg MS, McGinnis KA, Kraemer K, et al. The Association Between Alcohol Consumption and Prevalent Cardiovascular Diseases Among HIV-Infected and HIV-Uninfected Men. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; 53: 247–253.

23. Lai S, Lima JAC, Lai H, et al. Human immunodeficiency virus 1 infection, cocaine, and coronary calcification. *Arch Intern Med* 2005; 165: 690–5.

24. Smit M, Brinkman K, Geerlings S, et al. Future challenges for clinical care of an ageing population infected with HIV: a modelling study. *Lancet Infect Dis* 2015; 15: 810–8.

25. Schouten J, Wit FW, Stolte IG, et al. Cross-sectional comparison of the prevalence of age-associated comorbidities and their risk factors between HIV-infected and uninfected individuals: the AGEhIV cohort study. *Clin Infect Dis* 2014; 59: 1787–97.

26. Islam FM, Wu J, Jansson J, et al. Relative risk of cardiovascular disease among people living with HIV: a systematic review and meta-analysis. *HIV Med* 2012; 13: 453–68.

27. Hsue PY, Hunt PW, Schnell A, et al. Role of viral replication, antiretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. *AIDS* 2009; 23: 1059–67.

28. Pereyra F, Lo J, Triant VA, et al. Increased coronary atherosclerosis and immune activation in HIV-1 elite controllers. *AIDS* 2012; 26: 2409–12.

29. El-Sadr WM, Lundgren JD, Neaton JD, et al. CD4+ Count–Guided Interruption of Antiretroviral Treatment. *N Engl J Med* 2006; 355: 2283–2296.

30. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, et al. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 1045–52.

31. Grunfeld C, Tien P. Difficulties in Understanding the Metabolic Complications of Acquired Immune Deficiency Syndrome. *Clin Infect Dis* 2003; 37: S43–S46.

32. Carpentier YA, Scruel O. Changes in the concentration and composition of plasma lipoproteins during the acute phase response. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5: 153–8.

33. Phillips AN, Carr A, Neuhaus J, et al. Interruption of antiretroviral therapy and risk of cardiovascular disease in persons with HIV-1 infection: Exploratory analyses from the SMART trial. *Antivir Ther* 2008; 13: 177–187.

34. Rhew DC, Bernal M, Aguilar D, et al. Association between protease inhibitor use and increased cardiovascular risk in patients infected with human immunodeficiency virus: a systematic review. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 959–72.

35. Lo J, Rosenberg ES, Fitzgerald ML, et al. High-Density Lipoprotein-Mediated Cholesterol Efflux Capacity Is Improved by Treatment With Antiretroviral Therapy in Acute Human Immunodeficiency Virus Infection. *Open Forum Infect Dis* 2014; 1: ofu108.

36. van ’t Wout AB, Swain JV, Schindler M, et al. Nef Induces Multiple Genes Involved in Cholesterol Synthesis and Uptake in Human Immunodeficiency Virus Type 1-Infected T Cells. *J Virol* 2005; 79: 10053–10058.

37. Zheng Y-H, Plemenitas A, Fielding CJ, et al. Nef increases the synthesis of and transports cholesterol to lipid rafts and HIV-1 progeny virions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8460–5.

38. Wolf K, Tsakiris DA, Weber R, et al. Antiretroviral therapy reduces markers of endothelial and coagulation activation in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 2002; 185: 456–62.

39. Neuhaus J, Jacobs DR, Baker J V, et al. Markers of inflammation, coagulation,

and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis* 2010; 201: 1788–95.

40. Kuller LH, Tracy R, Belloso W, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med* 2008; 5: 1496–1508.

41. Nordell AD, McKenna M, Borges AH, et al. Severity of cardiovascular disease outcomes among patients with hiv is related to markers of inflammation and coagulation. *J Am Heart Assoc* 2014; 3: 1–10.

42. Castillo-Mancilla JR, Phillips AN, Neaton JD, et al. Association of Suboptimal Antiretroviral Therapy Adherence With Inflammation in Virologically Suppressed Individuals Enrolled in the SMART Study. *Open forum Infect Dis* 2018; 5: ofx275.

43. Eugenin EA, Morgello S, Klotman ME, et al. Human immunodeficiency virus (HIV) infects human arterial smooth muscle cells in vivo and in vitro: Implications for the pathogenesis of HIV-mediated vascular disease. *Am J Pathol* 2008; 172: 1100–1111.

44. Friis-Møller N, Sabin CA, Weber R, et al. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003; 349: 1993–2003.

45. Worm SW, Sabin C, Weber R, et al. Risk of myocardial infarction in patients with HIV infection exposed to specific individual antiretroviral drugs from the 3 major drug classes: the data collection on adverse events of anti-HIV drugs (D:A:D) study. *J Infect Dis* 2010; 201: 318–330.

46. Ryom L, Lundgren JD, El-Sadr W, et al. Cardiovascular disease and use of contemporary protease inhibitors: the D:A:D international prospective multicohort study. *Lancet HIV* 2018; 5: e291–e300.

47. Shlay JC, Sharma S, Peng G, et al. The effect of individual antiretroviral drugs on body composition in HIV-infected persons initiating highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51: 298–304.

48. Palella FJ, Cole SR, Chmiel JS, et al. Anthropometrics and examiner-reported body habitus abnormalities in the multicenter AIDS cohort study. *Clin Infect Dis*

2004; 38: 903–7.

49. Tien PC, Cole SR, Williams CM, et al. Incidence of lipoatrophy and lipohypertrophy in the women's interagency HIV study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 34: 461–6.

50. Study of Fat Redistribution and Metabolic Change in HIV Infection (FRAM). Fat distribution in women with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 42: 562–71.

51. Bacchetti P, Gripshover B, Grunfeld C, et al. Fat distribution in men with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 40: 121–31.

52. Carr A, Samaras K, Thorisdottir A, et al. Diagnosis, prediction, and natural course of HIV-1 protease-inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia, and diabetes mellitus: a cohort study. *Lancet* 1999; 353: 2093–9.

53. Grunfeld C, Rimland D, Gibert CL, et al. Association of upper trunk and visceral adipose tissue volume with insulin resistance in control and HIV-infected subjects in the FRAM study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 46: 283–90.

54. Sutinen J, Häkkinen A-M, Westerbacka J, et al. Increased fat accumulation in the liver in HIV-infected patients with antiretroviral therapy-associated lipodystrophy. *AIDS* 2002; 16: 2183–2193.

55. Luzi L, Perseghin G, Tambussi G, et al. Intramyocellular lipid accumulation and reduced whole body lipid oxidation in HIV lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284: E274-80.

56. Wohl D, Scherzer R, Heymsfield S, et al. The associations of regional adipose tissue with lipid and lipoprotein levels in HIV-infected men. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008; 48: 44–52.

57. Currier J, Scherzer R, Bacchetti P, et al. Regional adipose tissue and lipid and lipoprotein levels in HIV-infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008; 48: 35–43.

58. Simha V, Garg A. Lipodystrophy: lessons in lipid and energy metabolism. *Curr*

Opin Lipidol 2006; 17: 162–9.

59. Reeds DN, Mittendorfer B, Patterson BW, et al. Alterations in lipid kinetics in men with HIV-dyslipidemia. *Am J Physiol Metab* 2003; 285: E490–E497.

60. Sekhar R V, Jahoor F, Pownall HJ, et al. Severely dysregulated disposal of postprandial triacylglycerols exacerbates hypertriacylglycerolemia in HIV lipodystrophy syndrome. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 1405–10.

61. Carpentier A, Patterson BW, Uffelman KD, et al. Mechanism of highly active anti-retroviral therapy-induced hyperlipidemia in HIV-infected individuals. *Atherosclerosis* 2005; 178: 165–72.

62. Mulligan K, Grunfeld C, Tai VW, et al. Hyperlipidemia and insulin resistance are induced by protease inhibitors independent of changes in body composition in patients with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000; 23: 35–43.

63. Blümer RM, van Vonderen MG, Sutinen J, et al. Zidovudine/lamivudine contributes to insulin resistance within 3 months of starting combination antiretroviral therapy. *AIDS* 2008; 22: 227–236.

64. Stein JH, Komarow L, Cotter BR, et al. Lipoprotein Changes in HIV-Infected Antiretroviral-Naïve Individuals after Starting Antiretroviral Therapy: ACTG Study A5152s Stein: Lipoprotein Changes on Antiretroviral Therapy. *J Clin Lipidol* 2008; 2: 464–471.

65. Hill A, Sawyer W, Gazzard B. Effects of First-Line Use of Nucleoside Analogues, Efavirenz, and Ritonavir-Boosted Protease Inhibitors on Lipid Levels. *HIV Clin Trials* 2009; 10: 1–12.

66. Mills AM, Nelson M, Jayaweera D, et al. Once-daily darunavir/ritonavir vs. lopinavir/ritonavir in treatment-naive, HIV-1-infected patients: 96-week analysis. *AIDS* 2009; 23: 1679–1688.

67. Ofotokun I, Na LH, Landovitz RJ, et al. Comparison of the metabolic effects of ritonavir-boosted darunavir or atazanavir versus raltegravir, and the impact of ritonavir plasma exposure: ACTG 5257. *Clin Infect Dis* 2015; 60: 1842–51.

68. Martinez E, Gonzalez-Cordon A, Ferrer E, et al. Early lipid changes with atazanavir/ritonavir or darunavir/ritonavir. *HIV Med* 2014; 15: 330–8.

69. Wangpatharawanit P, Sungkanuparph S. Switching Lopinavir/Ritonavir to Atazanavir/Ritonavir vs Adding Atorvastatin in HIV-Infected Patients Receiving Second-Line Antiretroviral Therapy With Hypercholesterolemia: A Randomized Controlled Trial. *Clin Infect Dis* 2016; 63: 818–20.

70. Llibre JM, Domingo P, Palacios R, et al. Sustained improvement of dyslipidaemia in HAART-treated patients replacing stavudine with tenofovir. *AIDS* 2006; 20: 1407–14.

71. Santos JR, Saumoy M, Curran A, et al. The lipid-lowering effect of tenofovir/emtricitabine: a randomized, crossover, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2015; 61: 403–8.

72. Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL, et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naive patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2004; 292: 191–201.

73. Dubé MP, Parker RA, Tebas P, et al. Glucose metabolism, lipid, and body fat changes in antiretroviral-naive subjects randomized to nelfinavir or efavirenz plus dual nucleosides. *AIDS* 2005; 19: 1807–18.

74. Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006; 354: 251–60.

75. van Leth F, Phanuphak P, Stroes E, et al. Nevirapine and efavirenz elicit different changes in lipid profiles in antiretroviral-therapy-naive patients infected with HIV-1. *PLoS Med* 2004; 1: e19.

76. Franssen R, Sankatsing RR, Hassink E, et al. Nevirapine increases high-density lipoprotein cholesterol concentration by stimulation of apolipoprotein A-I production. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 1336–41.

77. Friis-Møller N, Reiss P, Sabin CA, et al. Class of Antiretroviral Drugs and the Risk

of Myocardial Infarction. *N Engl J Med* 2007; 356: 1723–1735.

78. Lee GA, Rao M, Mulligan K, et al. Effects of ritonavir and amprenavir on insulin sensitivity in healthy volunteers. *AIDS* 2007; 21: 2183–90.

79. Taylor SA, Lee GA, Pao VY, et al. Boosting dose ritonavir does not alter peripheral insulin sensitivity in healthy HIV-seronegative volunteers. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; 55: 361–364.

80. Murata H, Hruz PW, Mueckler M. Indinavir inhibits the glucose transporter isoform Glut4 at physiologic concentrations. *AIDS* 2002; 16: 859–863.

81. Murata H, Hruz PW, Mueckler M. The mechanism of insulin resistance caused by HIV protease inhibitor therapy. *J Biol Chem* 2000; 275: 20251–20254.

82. Serwadda D, Sewankambo NK, Carswell JW, et al. Slim disease: a new disease in Uganda and its association with HTLV-III infection. *Lancet* 1985; 326: 849–852.

83. Institute of Medicine (US) Committee for the Oversight of AIDS Activities. CDC Classification System for HIV Infections and Revised Case Definition for AIDS. *Confronting AIDS: Update 1988. Washington (DC): National Academies Press (US); 1988. Appendix B, CDC Classification System for HIV Infections and Revised Case Definition for AIDS.*, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK218874/ (1988, accessed 31 August 2018).

84. Kotler DP, Tierney AR, Wang J, et al. Magnitude of body-cell-mass depletion and the timing of death from wasting in AIDS. *Am J Clin Nutr* 1989; 50: 444–7.

85. Kotler DP, Wang J, Pierson RN. Body composition studies in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Clin Nutr* 1985; 42: 1255–65.

86. Melchior JC, Niyongabo T, Henzel D, et al. Malnutrition and wasting, immunodepression, and chronic inflammation as independent predictors of survival in HIV-infected patients. *Nutrition* 1999; 15: 865–9.

87. Wheeler DA, Gibert CL, Launer CA, et al. Weight loss as a predictor of survival and disease progression in HIV infection. Terry Beirn Community Programs for Clinical Research on AIDS. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998; 18:

80–5.

88. Grinspoon S, Corcoran C, Rosenthal D, et al. Quantitative assessment of cross-sectional muscle area, functional status, and muscle strength in men with the acquired immunodeficiency syndrome wasting syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 201–6.

89. Paton NI, Sangeetha S, Earnest A, et al. The impact of malnutrition on survival and the CD4 count response in HIV-infected patients starting antiretroviral therapy. *HIV Med* 2006; 7: 323–30.

90. Macallan DC, Noble C, Baldwin C, et al. Prospective analysis of patterns of weight change in stage IV human immunodeficiency virus infection. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 417–24.

91. Schwenk A, Höffer-Belitz E, Jung B, et al. Resting energy expenditure, weight loss, and altered body composition in HIV infection. *Nutrition* 1996; 12: 595–601.

92. Macallan DC, Noble C, Baldwin C, et al. Energy expenditure and wasting in human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1995; 333: 83–8.

93. Grunfeld C, Kotler DP, Hamadeh R, et al. Hypertriglyceridemia in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med* 1989; 86: 27–31.

94. Hellerstein MK, Grunfeld C, Wu K, et al. Increased de novo hepatic lipogenesis in human immunodeficiency virus infection. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 559–65.

95. Macallan DC, McNurlan MA, Milne E, et al. Whole-body protein turnover from leucine kinetics and the response to nutrition in human immunodeficiency virus infection. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 818–26.

96. Hommes MJ, Romijn JA, Endert E, et al. Insulin sensitivity and insulin clearance in human immunodeficiency virus-infected men. *Metabolism* 1991; 40: 651–6.

97. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV

Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998; 338: 853–60.

98. Carr A, Samaras K, Burton S, et al. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS* 1998; 12: F51-8.

99. Mulligan K, Tai VW, Algren H, et al. Altered fat distribution in HIV-positive men on nucleoside analog reverse transcriptase inhibitor therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001; 26: 443–8.

100. Podzamczer D, Ferrer E, Martínez E, et al. How much fat loss is needed for lipoatrophy to become clinically evident? *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009; 25: 563–7.

101. Miller J, Carr A, Emery S, et al. HIV lipodystrophy: prevalence, severity and correlates of risk in Australia. *HIV Med* 2003; 4: 293–301.

102. McDermott AY, Terrin N, Wanke C, et al. CD4+ cell count, viral load, and highly active antiretroviral therapy use are independent predictors of body composition alterations in HIV-infected adults: a longitudinal study. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 1662–70.

103. Boyd MA, Carr A, Ruxrungtham K, et al. Changes in Body Composition and Mitochondrial Nucleic Acid Content in Patients Switched from Failed Nucleoside Analogue Therapy to Ritonavir-Boosted Indinavir and Efavirenz. *J Infect Dis* 2006; 194: 642–650.

104. Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J, et al. A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipoatrophy. *AIDS* 2006; 20: 2043–50.

105. Carr A, Workman C, Smith DE, et al. Abacavir substitution for nucleoside analogs in patients with HIV lipoatrophy: a randomized trial. *JAMA* 2002; 288: 207–15.

106. Haubrich RH, Riddler SA, DiRienzo AG, et al. Metabolic outcomes in a randomized trial of nucleoside, nonnucleoside and protease inhibitor-sparing regimens for initial HIV treatment. *AIDS* 2009; 23: 1109–18.

107. Gougeon ML, Pénicaud L, Fromenty B, et al. Adipocytes targets and actors in the pathogenesis of HIV-associated lipodystrophy and metabolic alterations. *Antivir Ther* 2004; 9: 161–177.

108. Roche R, Poizot-Martin I, Yazidi CM-E, et al. Effects of antiretroviral drug combinations on the differentiation of adipocytes. *AIDS* 2002; 16: 13–20.

109. McComsey GA, Kitch D, Sax PE, et al. Peripheral and central fat changes in subjects randomized to abacavir-lamivudine or tenofovir-emtricitabine with atazanavir-ritonavir or efavirenz: ACTG Study A5224s. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 185–96.

110. Giralt M, Domingo P, Guallar JP, et al. HIV-1 infection alters gene expression in adipose tissue, which contributes to HIV- 1/HAART-associated lipodystrophy. *Antivir Ther* 2006; 11: 729–40.

111. Jan V, Cervera P, Maachi M, et al. 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* 2004; 9: 555–64.

112. Sevastianova K, Sutinen J, Kannisto K, et al. Adipose tissue inflammation and liver fat in patients with highly active antiretroviral therapy-associated lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295: e85–e91.

113. Shrivastav S, Kino T, Cunningham T, et al. 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* 2008; 22: 234–47.

114. Egaña-Gorroño L, Martínez E, Domingo P, et al. Differential subcutaneous adipose tissue gene expression patterns in a randomized clinical trial of efavirenz or lopinavir-ritonavir in antiretroviral-naive patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 6717–23.

115. Kannisto K, Sutinen J, Korsheninnikova E, et al. 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* 2003; 17: 1753–62.

116. Grunfeld C, Saag M, Cofrancesco J, et al. Regional adipose tissue measured by MRI over 5 years in HIV-infected and control participants indicates persistence of HIV-associated lipoatrophy. *AIDS* 2010; 24: 1717–26.

117. Gallego-Escuredo JM, Villarroya J, Domingo P, et al. Differentially altered molecular signature of visceral adipose tissue in HIV-1-associated lipodystrophy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2013; 64: 142–148.

118. Martin A, Smith DE, Carr A, et al. Reversibility of lipoatrophy in HIV-infected patients 2 years after switching from a thymidine analogue to abacavir: the MITOX Extension Study. *AIDS* 2004; 18: 1029–36.

119. Mallon PWG, Wand H, Law M, et al. Buffalo hump seen in HIV-associated lipodystrophy is associated with hyperinsulinemia but not dyslipidemia. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 38: 156–162.

120. Guallar JP, Gallego-Escuredo JM, Domingo JC, et al. Differential gene expression indicates that 'buffalo hump' is a distinct adipose tissue disturbance in HIV-1-associated lipodystrophy. *AIDS* 2008; 22: 575–84.

121. Hadigan C, Borgonha S, Rabe J, et al. Increased rates of lipolysis among human immunodeficiency virus-infected men receiving highly active antiretroviral therapy. *Metabolism* 2002; 51: 1143–7.

122. Moreno-Torres A, Domingo P, Pujol J, et al. Liver triglyceride content in HIV-1-infected patients on combination antiretroviral therapy studied with 1H-MR spectroscopy. *Antivir Ther* 2007; 12: 195–203.

123. Guaraldi G, Squillace N, Stentarelli C, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in HIV-Infected Patients Referred to a Metabolic Clinic: Prevalence, Characteristics, and Predictors. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 250–257.

124. Sutinen J, Korsheninnikova E, Funahashi T, et al. Circulating concentration of adiponectin and its expression in subcutaneous adipose tissue in patients with

highly active antiretroviral therapy-associated lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1907–1910.

125. Jain MK, Aragaki C, Fischbach L, et al. Hepatitis C is associated with type 2 diabetes mellitus in HIV-infected persons without traditional risk factors. *HIV Med* 2007; 8: 491–7.

126. Kotler DP. Hepatitis C, human immunodeficiency virus and metabolic syndrome: interactions. *Liver Int* 2009; 29 Suppl 2: 38–46.

127. May MT, Gompels M, Delpech V, et al. Impact on life expectancy of HIV-1 positive individuals of CD4+ cell count and viral load response to antiretroviral therapy. *AIDS* 2014; 28: 1193–202.

128. van Sighem AI, Gras LAJ, Reiss P, et al. Life expectancy of recently diagnosed asymptomatic HIV-infected patients approaches that of uninfected individuals. *AIDS* 2010; 24: 1527–35.

129. Guaraldi G, Stentarelli C, Zona S, et al. The natural history of HIV-associated lipodystrophy in the changing scenario of HIV infection. *HIV Med* 2014; 15: 587–94.

130. AIDS Study Group (GESIDA) of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology and the National AIDS Plan. Executive summary of the GESIDA/National AIDS Plan Consensus Document on Antiretroviral Therapy in Adults Infected by the Human Immunodeficiency Virus (Updated January 2017). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2017; 36: 435–445.

131. Raffi F, Esser S, Nunnari G, et al. Switching regimens in virologically suppressed HIV-1-infected patients: evidence base and rationale for integrase strand transfer inhibitor (INSTI)-containing regimens. *HIV Med* 2016; 17: 3–16.

132. Martínez E, Larrousse M, Llibre JM, et al. Substitution of raltegravir for ritonavir-boosted protease inhibitors in HIV-infected patients: the SPIRAL study. *AIDS* 2010; 24: 1697–707.

133. Pozniak A, Markowitz M, Mills A, et al. Switching to coformulated elvitegravir,

cobicistat, emtricitabine, and tenofovir versus continuation of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor with emtricitabine and tenofovir in virologically suppressed adults with HIV (STRATEGY-NNRTI). *Lancet Infect Dis* 2014; 14: 590–599.

134. Lennox JL, Dejesus E, Berger DS, et al. Raltegravir versus Efavirenz regimens in treatment-naive HIV-1-infected patients: 96-week efficacy, durability, subgroup, safety, and metabolic analyses. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; 55: 39–48.

135. 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: 527–531.

136. Lewis CE, Jacobs DR, McCreath H, et al. Weight gain continues in the 1990s: 10-year trends in weight and overweight from the CARDIA study. Coronary Artery Risk Development in Young Adults. *Am J Epidemiol* 2000; 151: 1172–81.

137. Crum-Cianflone N, Roediger MP, Eberly L, et al. Increasing Rates of Obesity among HIV-Infected Persons during the HIV Epidemic. *PLoS One* 2010; 5: 1–9.

138. Yuh B, Tate J, Butt AA, et al. Weight change after antiretroviral therapy and mortality. *Clin Infect Dis* 2015; 60: 1852–9.

139. Koethe JR, Jenkins CA, Lau B, et al. Rising Obesity Prevalence and Weight Gain Among Adults Starting Antiretroviral Therapy in the United States and Canada. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2016; 32: 50–58.

140. Grundy SM, Ahrens EH, Davignon J, et al. The interaction of cholesterol absorption and cholesterol synthesis in man. *J Lipid Res* 1969; 10: 304–15.

141. Rezen T, Rozman D, Pascussi JM, et al. Interplay between cholesterol and drug metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics* 2011; 1814: 146–160.

142. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 2002; 109: 1125–31.

143. Nestel PJ, Poyser A. Changes in cholesterol synthesis and excretion when cholesterol intake is increased. *Metabolism* 1976; 25: 1591–9.

144. McNamara DJ, Kolb R, Parker TS, et al. Heterogeneity of cholesterol homeostasis in man. Response to changes in dietary fat quality and cholesterol quantity. *J Clin Invest* 1987; 79: 1729–39.

145. Miettinen TA, Gylling H. Cholesterol absorption efficiency and sterol metabolism in obesity. *Atherosclerosis* 2000; 153: 241–8.

146. Di Buono M, Hannah JS, Katzel LI, et al. Weight loss due to energy restriction suppresses cholesterol biosynthesis in overweight, mildly hypercholesterolemic men. *J Nutr* 1999; 129: 1545–8.

147. Davis HR, Zhu L-J, Hoos LM, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) is the intestinal phytosterol and cholesterol transporter and a key modulator of whole-body cholesterol homeostasis. *J Biol Chem* 2004; 279: 33586–92.

148. Altmann SW, Davis HR, Zhu L-J, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science* 2004; 303: 1201–4.

149. Cohen JC, Pertsemlidis A, Fahmi S, et al. Multiple rare variants in NPC1L1 associated with reduced sterol absorption and plasma low-density lipoprotein levels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 1810–5.

150. Berge KE, Tian H, Graf GA, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 2000; 290: 1771–5.

151. Yu X-H, Qian K, Jiang N, et al. ABCG5/ABCG8 in cholesterol excretion and atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 2014; 428: 82–8.

152. Temel RE, Gebre AK, Parks JS, et al. Compared with Acyl-CoA:cholesterol O-acyltransferase (ACAT) 1 and lecithin:cholesterol acyltransferase, ACAT2 displays the greatest capacity to differentiate cholesterol from sitosterol. *J Biol Chem* 2003; 278: 47594–601.

153. Jones PJ, Raeini-Sarjaz M, Ntanios FY, et al. Modulation of plasma lipid levels

and cholesterol kinetics by phytosterol versus phytostanol esters. *J Lipid Res* 2000; 41: 697–705.

154. Kesäniemi YA, Ehnholm C, Miettinen TA. Intestinal cholesterol absorption efficiency in man is related to apoprotein E phenotype. *J Clin Invest* 1987; 80: 578–81.

155. Sarkkinen E, Korhonen M, Erkkilä A, et al. Effect of apolipoprotein E polymorphism on serum lipid response to the separate modification of dietary fat and dietary cholesterol. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1215–22.

156. Santosa S, Varady KA, AbuMweis S, et al. Physiological and therapeutic factors affecting cholesterol metabolism: does a reciprocal relationship between cholesterol absorption and synthesis really exist? *Life Sci* 2007; 80: 505–14.

157. Bosner MS, Lange LG, Stenson WF, et al. Percent cholesterol absorption in normal women and men quantified with dual stable isotopic tracers and negative ion mass spectrometry. *J Lipid Res* 1999; 40: 302–8.

158. von Bergmann K, Sudhop T, Lütjohann D. Cholesterol and plant sterol absorption: recent insights. *Am J Cardiol* 2005; 96: 10D-14D.

159. Sudhop T, Lütjohann D, von Bergmann K. Sterol transporters: targets of natural sterols and new lipid lowering drugs. *Pharmacol Ther* 2005; 105: 333–341.

160. Miettinen TA, Tilvis RS, Kesäniemi YA. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am J Epidemiol* 1990; 131: 20–31.

161. Tilvis RS, Miettinen TA. Serum plant sterols and their relation to cholesterol absorption. *Am J Clin Nutr* 1986; 43: 92–7.

162. Matthan NR, Raeini-Sarjaz M, Lichtenstein AH, et al. Deuterium uptake and plasma cholesterol precursor levels correspond as methods for measurement of endogenous cholesterol synthesis in hypercholesterolemic women. *Lipids* 2000; 35: 1037–44.

163. Kempen HJ, Glatz JF, Gevers Leuven JA, et al. Serum lathosterol concentration is

an indicator of whole-body cholesterol synthesis in humans. *J Lipid Res* 1988; 29: 1149–55.

164. Yassine H. Tappin K. and Sethi MJ. *Lipid Management*. Cham: Springer International Publishing, 2015. Epub ahead of print 2015. DOI: 10.1007/978-3-319-11161-2.

165. Meaney S. Epigenetic regulation of cholesterol homeostasis. *Front Genet* 2014; 5: 311.

166. Scallen TJ, Sanghvi A. Regulation of three key enzymes in cholesterol metabolism by phosphorylation/dephosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983; 80: 2477–80.

167. Mustad VA, Ellsworth JL, Cooper AD, et al. Dietary linoleic acid increases and palmitic acid decreases hepatic LDL receptor protein and mRNA abundance in young pigs. *J Lipid Res* 1996; 37: 2310–23.

168. Zhang H, Temel RE, Martel C. Cholesterol and lipoprotein metabolism: Early Career Committee contribution. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014; 34: 1791–4.

169. Wang X, Collins HL, Ranalletta M, et al. Macrophage ABCA1 and ABCG1, but not SR-BI, promote macrophage reverse cholesterol transport in vivo. *J Clin Invest* 2007; 117: 2216–24.

170. Lee SD, Tontonoz P. Liver X receptors at the intersection of lipid metabolism and atherogenesis. *Atherosclerosis* 2015; 242: 29–36.

171. Costet P, Luo Y, Wang N, et al. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor. *J Biol Chem* 2000; 275: 28240–5.

172. Repa JJ, Berge KE, Pomajzl C, et al. Regulation of ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8 by the liver X receptors alpha and beta. *J Biol Chem* 2002; 277: 18793–800.

173. Zelcer N, Hong C, Boyadjian R, et al. LXR regulates cholesterol uptake through Idol-dependent ubiquitination of the LDL receptor. *Science* 2009; 325: 100–4.

174. Zhang L, Reue K, Fong LG, et al. Feedback regulation of cholesterol uptake by the LXR-IDOL-LDLR axis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32: 2541–6.

175. Marquart TJ, Allen RM, Ory DS, et al. miR-33 links SREBP-2 induction to repression of sterol transporters. *Proc Natl Acad Sci* 2010; 107: 12228–12232.

176. Friis-Møller N, Ryom L, Smith C, et al. An updated prediction model of the global risk of cardiovascular disease in HIV-positive persons: The Data-collection on Adverse Effects of Anti-HIV Drugs (D:A:D) study. *Eur J Prev Cardiol* 2016; 23: 214–23.

177. CHIP – Centre of Excellence for Health, Immunity and Infections, https://www.chip.dk/Tools-Standards/Clinical-risk-scores (accessed 27 September 2018).

178. Clement ME, Park LP, Navar AM, et al. Statin Utilization and Recommendations Among HIV- and HCV-infected Veterans: A Cohort Study. *Clin Infect Dis* 2016; 63: 407–13.

179. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration, Baigent C, Blackwell L, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. *Lancet* 2010; 376: 1670–1681.

180. Davignon J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation* 2004; 109: III39-43.

181. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FAH, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008; 359: 2195–207.

182. Silverberg MJ, Leyden W, Hurley L, et al. Response to newly prescribed lipid-lowering therapy in patients with and without HIV infection. *Ann Intern Med* 2009; 150: 301–13.

183. Johns KW, Bennett MT, Bondy GP. Are HIV positive patients resistant to statin therapy? *Lipids Health Dis* 2007; 6: 27.

184. Moore RD, Bartlett JG, Gallant JE. Association between use of HMG CoA reductase inhibitors and mortality in HIV-infected patients. *PLoS One* 2011; 6: e21843.

185. Evaluating the Use of Pitavastatin to Reduce the Risk of Cardiovascular Disease in HIV-Infected Adults - Full Text View - ClinicalTrials.gov, https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02344290 (accessed 27 September 2018).

186. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2014; 129: S1-45.

187. Jakob T, Nordmann AJ, Schandelmaier S, et al. Fibrates for primary prevention of cardiovascular disease events. *Cochrane database Syst Rev* 2016; 11: CD009753.

188. Silverman MG, Ference BA, Im K, et al. Association between lowering LDL-C and cardiovascular risk reduction among different therapeutic interventions: A systematic review and meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc* 2016; 316: 1289–1297.

189. Gerber JG, Kitch DW, Fichtenbaum CJ, et al. Fish oil and fenofibrate for the treatment of hypertriglyceridemia in HIV-infected subjects on antiretroviral therapy: results of ACTG A5186. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008; 47: 459–66.

190. Pandor A, Ara RM, Tumur I, et al. Ezetimibe monotherapy for cholesterol lowering in 2,722 people: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Intern Med* 2009; 265: 568–580.

191. Ezetimibe in Prevention of Cerebro- and Cardiovascular Events in Middle- to High-Risk, Elderly (75 Years Old or Over) Patients With Elevated LDL-Cholesterol - American College of Cardiology, https://www.acc.org/latest-in-cardiology/clinical-trials/2018/11/08/22/56/ewtopia75 (accessed 9 December 2018).

192. Ballantyne CM, Houri J, Notarbartolo A, et al. Effect of Ezetimibe

Coadministered With Atorvastatin in 628 Patients With Primary Hypercholesterolemia. *Circulation* 2003; 107: 2409–2415.

193. Martínez E, Leyes P, Ros E. Effectiveness of lipid-lowering therapy in HIV patients. *Curr Opin HIV AIDS* 2008; 3: 240–6.

194. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med* 2015; 372: 2387–2397.

195. EACS. European AIDS Clinical Society EACS. *Guidelines for the Clinical Management and Treatment of HIV Infected Adults in Europe*, http://www.eacsociety.org/files/2008_eacsguidelines-v4-english_oct.pdf (2008, accessed 28 September 2018).

196. INSIGHT START Study Group, Lundgren JD, Babiker AG, et al. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *N Engl J Med* 2015; 373: 795–807.

197. Iyidogan P, Anderson KS. Current perspectives on HIV-1 antiretroviral drug resistance. *Viruses* 2014; 6: 4095–139.

198. Shafran SD, Mashinter LD, Roberts SE. The effect of low-dose ritonavir monotherapy on fasting serum lipid concentrations. *HIV Med* 2005; 6: 421–425.

199. Sherman EM, Worley M V., Unger NR, et al. Cobicistat: Review of a Pharmacokinetic Enhancer for HIV Infection. *Clin Ther* 2015; 37: 1876–93.

200. Echeverría P, Bonjoch A, Puig J, et al. Significant improvement in triglyceride levels after switching from ritonavir to cobicistat in suppressed HIV-1-infected subjects with dyslipidaemia. *HIV Med* 2017; 18: 782–786.

201. Purnell JQ, Zambon A, Knopp RH, et al. Effect of ritonavir on lipids and post-heparin lipase activities in normal subjects. *AIDS* 2000; 14: 51–7.

202. Liang JS, Distler O, Cooper D a, et al. HIV protease inhibitors protect apolipoprotein B from degradation by the proteasome: a potential mechanism for protease inhibitor-induced hyperlipidemia. *Nat Med* 2001; 7: 1327–1331.

203. Riddle TM, Schildmeyer NM, Phan C, et al. The HIV protease inhibitor ritonavir

increases lipoprotein production and has no effect on lipoprotein clearance in mice. *J Lipid Res* 2002; 43: 1458–1463.

204. Sato R. Sterol metabolism and SREBP activation. *Arch Biochem Biophys* 2010; 501: 177–81.

205. Riddle TM, Kuhel DG, Woollett LA, et al. HIV Protease Inhibitor Induces Fatty Acid and Sterol Biosynthesis in Liver and Adipose Tissues Due to the Accumulation of Activated Sterol Regulatory Element-binding Proteins in the Nucleus. *J Biol Chem* 2001; 276: 37514–37519.

206. Hui DY. Effects of HIV protease inhibitor therapy on lipid metabolism. *Prog Lipid Res* 2003; 42: 81–92.

207. MacKay D, Jones PJH. Evaluation of methods for the determination of cholesterol absorption and synthesis in humans. *Atherosclerosis* 2011; 218: 253–262.

208. Jakulj L, Mohammed H, van Dijk TH, et al. Plasma plant sterols serve as poor markers of cholesterol absorption in man. *J Lipid Res* 2013; 54: 1144–50.

209. Low H, Dewar E, Bukrinsky M, et al. The effect of HIV infection on atherosclerosis and lipoprotein metabolism: a one year prospective study. *Atherosclerosis* 2013; 229: 206–211.

210. Gómez-Gerique JA, Gutiérrez-Fuentes JA, Montoya MT, et al. [Lipid profile of the Spanish population: the DRECE (diet and risk of cardiovascular disease in Spain) study. DRECE study group]. *Med Clin (Barc)* 1999; 113: 730–5.

211. Gómez Gerique JA, Ferreira Gonzalez I, Rubio Herrera MA, et al. Improvement of serum lipids concentration in a general population historical cohort. Why? *Clin Investig Arterioscler* 2017; 29: 239–247.

212. Salen G, Patel S, Batta a K. Sitosterolemia. *Cardiovasc Drug Rev* 2002; 20: 255–70.

213. Ge L, Wang J, Qi W, et al. The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1. *Cell Metab* 2008; 7: 508–

19.

214. Davies JP, Ioannou YA. Topological analysis of Niemann-Pick C1 protein reveals that the membrane orientation of the putative sterol-sensing domain is identical to those of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and sterol regulatory element binding protein cleavage-activating. *J Biol Chem* 2000; 275: 24367–74.

215. Wang J, Chu B-B, Ge L, et al. Membrane topology of human NPC1L1, a key protein in enterohepatic cholesterol absorption. *J Lipid Res* 2009; 50: 1653–62.

216. Grant BD, Donaldson JG. Pathways and mechanisms of endocytic recycling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10: 597–608.

217. Yu L, Bharadwaj S, Brown JM, et al. Cholesterol-regulated translocation of NPC1L1 to the cell surface facilitates free cholesterol uptake. *J Biol Chem* 2006; 281: 6616–24.

218. Kwon HJ, Abi-Mosleh L, Wang ML, et al. Structure of N-terminal domain of NPC1 reveals distinct subdomains for binding and transfer of cholesterol. *Cell* 2009; 137: 1213–24.

219. Park S-W. Intestinal and hepatic niemann-pick c1-like 1. *Diabetes Metab J* 2013; 37: 240–8.

220. Pramfalk C, Jiang Z-Y, Cai Q, et al. HNF1alpha and SREBP2 are important regulators of NPC1L1 in human liver. *J Lipid Res* 2010; 51: 1354–62.

221. Alrefai WA, Annaba F, Sarwar Z, et al. Modulation of human Niemann-Pick C1-like 1 gene expression by sterol: Role of sterol regulatory element binding protein 2. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G369-76.

222. Valasek MA, Clarke SL, Repa JJ. Fenofibrate reduces intestinal cholesterol absorption via PPARalpha-dependent modulation of NPC1L1 expression in mouse. *J Lipid Res* 2007; 48: 2725–35.

223. Goetzman ES, Tian L, Nagy TR, et al. HIV protease inhibitor ritonavir induces lipoatrophy in male mice. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003; 19: 1141–50.

224. Tort O, Escribà T, Egaña-Gorroño L, et al. Cholesterol efflux responds to viral

load and CD4 counts in HIV+ patients and is dampened in HIV exposed. *J Lipid Res* 2018; 59: 2108–2115.

225. Ettinger WH, Varma VK, Sorci-Thomas M, et al. Cytokines decrease apolipoprotein accumulation in medium from Hep G2 cells. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 8–13.

226. Grove RI, Mazzucco C, Allegretto N, et al. Macrophage-derived factors increase low density lipoprotein uptake and receptor number in cultured human liver cells. *J Lipid Res* 1991; 32: 1889–97.

227. Fraunberger P, Schaefer S, Werdan K, et al. Reduction of circulating cholesterol and apolipoprotein levels during sepsis. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 357–62.

228. Sudhop T, Lütjohann D, Kodal A, et al. Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation* 2002; 106: 1943–8.

229. Dujovne CA, Ettinger MP, McNeer JF, et al. Efficacy and safety of a potent new selective cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, in patients with primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2002; 90: 1092–7.

230. Hiramitsu S, Ishiguro Y, Matsuyama H, et al. The effects of ezetimibe on surrogate markers of cholesterol absorption and synthesis in Japanese patients with dyslipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2010; 17: 106–14.

FONTS DE CONSULTA LINGÜÍSTICA

OPTImot. Cercador general de consulta lingüística

https://aplicacions.llengua.gencat.cat/llc/AppJava/index.html

Diccionari de la llengua catalana. DIEC2.

https://dlc.iec.cat/

TERMCAT. Consultes terminològiques.

http://www.termcat.cat/ca/Cercaterm

http://www.termcat.cat/ca/Diccionaris_En_Linia/183/Fitxes/

Nova ortografia i gramàtica catalanes

http://llengua.gencat.cat/ca/eines_i_serveis/optimot/optimot-nova-gramatica-i-ortografia/

https://www.iec.cat/llengua/documents/ortografia_catalana_versio_digital.pdf

Abreviacions, construcció, ús i apostrofació d'acrònims:

http://llengua.gencat.cat/web/.content/documents/publicacions/altres/arxius/abrevia.pdf

https://aplicacions.llengua.gencat.cat/llc/AppJava/index.html?action=Principal&method=cerca_generica&input_cercar=acronims&tipusCerca=cerca.fitxes