

**INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN LOS
MARCADORES INFLAMATORIOS Y LA ACTIVACION DEL SISTEMA
MONOCITO MACROFAGICO A TRAVES DEL sTWEAK Y sCD163 EN UNA
POBLACION VIH NAIVE.**

Tesis Doctoral

Ldo. Luis M. Beltrán Romero

Directores

Dr. D Salvador García Morillo

Dr. D. José Villar Ortiz

Doctorando (nombre y firma) : Don Luis M. Beltrán Romero

Director (nombre y firma) : Dr. D Salvador García Morillo

Tutor (nombre y firma): Dr. D. José Villar Ortiz

ÍNDICE

1.- Introducción.

1.1.- Epidemiología de la enfermedad cardiovascular en pacientes con infección por el virus de inmunodeficiencia humana

1.2.- Etiopatogenia de la enfermedad cardiovascular en pacientes con infección por el virus de inmunodeficiencia humana.

1.3.- Marcadores de inflamación, actividad macrofágica y disfunción endotelial en pacientes con infectados por el virus de inmunodeficiencia humana.

2.- Justificación del trabajo.

3.- Objetivos.

4.- Material y métodos.

4.1.- Población.

4.2.- Criterios de inclusión y exclusión.

4.3.- Diseño del estudio.

4.4.- Procedimiento de reclutamiento.

4.5.- Obtención y conservación de las muestras.

4.6.- Determinaciones.

4.7.- Análisis de los datos.

4.8.- Aspectos éticos.

5.- Resultados.

5.1.- Características basales de los pacientes.

5.2.- Evolución de los marcadores inmunoviroológicos y de riesgo vascular clásicos y emergentes a las 48 semanas de tratamiento.

5.3.- Influencia de la coinfección por VHC y/o replicación viral activa sobre los biomarcadores inflamatorios y de activación inmune/endotelial.

5.4.- Asociación entre marcadores de disfunción endotelial, inflamación y actividad macrofágica y variables de riesgo vascular e inmunoviroológicas.

5.5.- Diferencias entre pacientes VIH y controles sanos.

6.- Discusión.

7.- Conclusiones.

8.- Bibliografía.

9.- Agradecimientos.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

- ADMA: Dimetilarginina asimétrica.
- CMV: Citomegalovirus.
- cHDL: Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad.
- cLDL: Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.
- cVLDL: Colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad.
- DE: Desviación estándar.
- DDAH: Dimetilarginina dimetilaminahidrolasa.
- DM-2: Diabetes mellitus tipo 2.
- HHV-8: Virus herpes humano tipo 8.
- HTA: Hipertensión arterial.
- IAM: Infarto agudo de miocardio.
- ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular tipo 1.
- IL-6: Interleucina 6.
- IMC: Índice de masa corporal.
- IP: Inhibidores de la proteasa.
- IQR: Rango intercuartílico.
- ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos y nucleótidos.
- ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos.
- Fn-14: Factor de crecimiento fibroblástico 14.
- FGF-2: Factor de crecimiento fibroblástico tipo 2.
- GIM: Grosor íntima-media.
- PCR: Proteína C reactiva.
- SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia humana adquirido.
- sTNFR-1: Receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral.
- TAR: Tratamiento antirretroviral.
- TARGA: Tratamiento antirretroviral de gran actividad.
- TWEAK: Factor de necrosis tumoral *like* inductor de apoptosis.
- VCAM-1: Molécula de adhesión celular vascular tipo 1.
- VHB: Virus de la hepatitis B.

- VHC: Virus de la hepatitis C.
- VHS: Virus herpes simplex.
- VEB: Virus de Epstein Barr.
- VEGF-A: Factor de crecimiento endotelial vascular A.
- VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- Epidemiología de la enfermedad cardiovascular en pacientes con infección por el virus de inmunodeficiencia humana.

En los países desarrollados, desde la implantación de la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) a mediados de los años 90, el pronóstico a largo plazo y la supervivencia de los pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ha mejorado espectacularmente¹⁻³. En la actualidad la infección por el VIH se ha convertido en una infección crónica controlable en los países industrializados. Sin embargo, aunque la mortalidad global en pacientes con infección VIH ha descendido considerablemente hasta un 0,5-1% por año⁴⁻⁶, aún persiste un considerable exceso de riesgo con respecto a población general con tasas de mortalidad entre 3 y 15 veces mayores^{7,8}.

En la última década han disminuido drásticamente la incidencia y mortalidad de enfermedades definitivas de SIDA (asociadas a la inmunodepresión severa en fases avanzadas de la infección por el VIH). En contrapartida, están aumentando las de otras comorbilidades no-SIDA, entre las que se incluye la enfermedad cardiovascular. En un estudio reciente en una cohorte urbana de Estados Unidos con más de 11500 pacientes con infección VIH, *Berry et al.*⁹ analizaron las tasas y causas de hospitalización de estos pacientes entre el año 2001 y el 2008. Las principales causas de hospitalización fueron las infecciones no asociadas a SIDA, seguidas de las enfermedades definitivas de SIDA, las enfermedades cardiovasculares, psiquiátricas y patología gastrointestinal/hepática. Significativamente en este período hubo un descenso marcado de las hospitalizaciones por enfermedades definitivas de SIDA (6,7 a 2,7 por 100 personas/año de 2001 a 2008) mientras que se incrementaron las debidas a enfermedad cardiovascular y se mantuvieron estables o descendieron ligeramente las de otras

comorbilidades no-SIDA. Este aumento de hospitalizaciones por enfermedad cardiovascular también se ha observado en población europea. *Engsig et al*¹⁰ comunicaron un aumento de la tasa de hospitalización por enfermedad cardiovascular de 2,5 a 4,5 por 100 personas-año de 1995 a 2007 en una cohorte de población VIH danesa.

El mismo patrón se mantiene si miramos la mortalidad con varios registros de diferentes cohortes de pacientes VIH que señalan un marcado descenso de la mortalidad global y por causas definitorias de SIDA con aumento relativo de otras causas, destacando entre ellas la enfermedad cardiovascular¹¹⁻¹⁴.

Además de esta mayor incidencia relativa de enfermedad cardiovascular con respecto a las causas tradicionales de enfermedad y muerte en esta población (enfermedades definitorias de SIDA), es importante remarcar que en pacientes con infección VIH existen tasas de enfermedad cardiovascular arteriosclerótica más elevadas que en población general¹⁵⁻¹⁹.

Esta mayor incidencia de enfermedad cardiovascular arteriosclerótica en población VIH se ha observado tanto para eventos clínicos (infarto agudo de miocardio y hospitalizaciones por cardiopatía isquémica^{17,18,20}; enfermedad arterial periférica sintomática²¹), como con marcadores de enfermedad arteriosclerótica subclínica (grosor íntima-media carotídeo^{22,23}, calcificación coronaria²⁴, índice tobillo-brazo²¹, isquemia miocárdica silente en electrocardiograma basal o de esfuerzo^{25,26} o disfunción endotelial medida por vasodilatación mediada por flujo²⁷⁻³³). También se ha objetivado una incidencia considerablemente elevada de ictus isquémico en población VIH³⁴⁻³⁶, sobre todo en adultos jóvenes, pero no hay estudios poblacionales en los que se determine si esta incidencia está aumentada respecto a población general.

El número de eventos cardiovasculares es todavía bajo (3.65 por 1000 personas-años en una de las series más amplias)³⁷, debido en gran medida a la edad joven de la población, pero es previsible que aumente con el envejecimiento de la misma, tendencia que ya se observa en varios registros de pacientes^{9,10,38}.

En este sentido hay que destacar que, debido al aumento de la esperanza de vida con el tratamiento antirretroviral supresor, la edad media de la población VIH está aumentando. Este hecho predispone al desarrollo de comorbilidades asociada a la edad, muchas de ellas relacionadas con el ámbito cardiovascular (diabetes mellitus tipo 2, hipertensión, enfermedad cardiovascular, enfermedad renal crónica).

En las últimas dos décadas se está observando un envejecimiento de la población VIH, cuyos integrantes previamente al TARGA, no solían alcanzar edades por encima de los 50 años. En datos de la cohorte de seguimiento suiza (Swiss HIV Cohort Study) se observa claramente este hecho: Desde 1990 a 2010 la proporción de pacientes mayores de 50 años se incrementó desde menos del 5% hasta algo más del 30%. Es previsible que si esta tendencia continúa, en la próxima década hasta el 50% de los pacientes de la cohorte superen los 50 años de edad³⁹.

Además del envejecimiento cronológico, se hipotetiza que los pacientes con infección VIH sufren un proceso de envejecimiento biológico acelerado⁴⁰⁻⁴² que contribuiría al desarrollo precoz de comorbilidades asociadas con la edad. En este sentido hay múltiples datos de diversas cohortes que muestran que los pacientes con infección VIH tienen mayor prevalencia de comorbilidades no infecciosas frecuentemente observadas con el envejecimiento (hipertensión arterial, diabetes mellitus, enfermedad cardiovascular, osteoporosis y enfermedad renal crónica) que sujetos de su misma edad, sexo y raza⁴³⁻⁴⁷. Además, en un estudio de casos y controles en población italiana *Guiraldi et al.* comunicaron una mayor probabilidad de desarrollar

estas comorbilidades a edades más tempranas y de que coexistan varias en un mismo individuo (pluripatología) en pacientes VIH con respecto a los controles de población general. Es significativo en este sentido que la prevalencia de pluripatología en los pacientes VIH fue aproximadamente equivalente a la observada en individuos de la población general de 10 a 15 años mayores⁴³.

Por tanto, estamos asistiendo a un cambio en los patrones de morbilidad y mortalidad entre la población infectada por el VIH, dirigiéndose actualmente la problemática hacia la comorbilidad no asociada al SIDA, donde la enfermedad cardiovascular ocupa un papel central.

1.2.- Etiopatogenia de la enfermedad cardiovascular en pacientes con infección por el VIH.

El mayor riesgo cardiovascular en pacientes con infección VIH con respecto a no infectados se debe a la concurrencia de varios determinantes: factores inherentes a la propia infección, factores relacionados con el tratamiento antirretroviral, una elevada prevalencia de factores de riesgo cardiovascular tradicionales y la coexistencia de otros factores que están presentes con mayor frecuencia en estos pacientes (coinfección por virus de la hepatitis C, replicación de virus de la familia herpes o desarrollo de enfermedad renal crónica).

1.2.1.- Factores relacionados con la infección VIH

En un principio se atribuyó el riesgo cardiovascular elevado en pacientes VIH a las alteraciones metabólicas asociadas al tratamiento antirretroviral (TAR), fundamentalmente a los inhibidores de la proteasa, cuya introducción en la práctica

clínica coincidió cronológicamente con los primeros casos comunicados de cardiopatía isquémica en VIH^{48,49}. Sin embargo, esta hipótesis ha cambiado en los últimos años. Diversas evidencias procedentes de estudios experimentales y observacionales y, sobre todo, los hallazgos de un ensayo internacional de interrupción de tratamiento, el estudio Strategies for Management of Anti-Retroviral Therapy (SMART), han redirigido la atención desde el TAR hacia las consecuencias de la infección por el VIH no tratada. En este estudio se compararon dos estrategias de tratamiento, una en la cual se interrumpía el tratamiento antirretroviral cuando se conseguía una recuperación del sistema inmune y los linfocitos CD4+ ascendían por encima de 350 cél/ml y otra en la que el tratamiento antirretroviral se mantenía de forma continua independientemente de los niveles de CD4+. El estudio puso de manifiesto la importancia de la infección VIH per sé en la enfermedad vascular de estos pacientes. En el brazo de interrupción del tratamiento se observó un aumento de complicaciones derivadas de la inmunosupresión y un mayor riesgo de mortalidad por todas las causas. Pero además, los pacientes asignados a esta rama presentaron una mayor mortalidad cardiovascular con un aumento del 50% del riesgo de infarto agudo de miocardio (IAM) con respecto a los pacientes que recibieron tratamiento continuo, a pesar de una menor exposición a los fármacos antirretrovirales⁵⁰.

La infección por el VIH por sí misma puede aumentar el riesgo de enfermedad cardiovascular por diversos mecanismos: 1) Estado proinflamatorio persistente, 2) Daño endotelial directo y mediado por la inflamación crónica, 3) Aumento de estrés oxidativo y 4) Alteraciones metabólicas indirectas.

Por un lado, la infección VIH se acompaña de una activación de diversas vías inflamatorias de la pared vascular⁵¹, que conducen a la liberación de citocinas y la expresión de moléculas de adhesión endotelial que facilitan la adherencia y

transmigración de los leucocitos⁵²⁻⁵⁴. Existe una relación estrecha entre disfunción endotelial e inflamación, de modo que diversas citocinas inflamatorias inducen activación endotelial y alteran su funcionalidad⁵⁵. *Eugenin et al.* demostraron que el VIH es capaz de infectar células musculares lisas arteriales in vitro e in vivo, lo que produce un fenómeno inflamatorio local con secreción de citocinas proinflamatorias y disfunción del endotelio⁵⁶. Además, el VIH es capaz de producir daño directo de las células endoteliales producido por varias de sus proteínas (*Tat, gp120*) que van a inducir un aumento de la permeabilidad endotelial, apoptosis de células endoteliales y activación de las mismas con aumento de expresión de moléculas de adhesión (E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1)⁵⁷⁻⁶³.

La infección VIH per sé se asocia también con un aumento del estrés oxidativo con deterioro de los mecanismos de reparación del ADN y acumulación de lesiones oxidativas⁶⁴.

Por último, el VIH puede favorecer la aterogénesis a través de sus efectos indirectos metabólicos, fundamentalmente lipídicos con un descenso del cHDL y apoA1, menor aclaramiento de cLDL, con aumento de los índices aterogénicos, y elevación de triglicéridos⁶⁵⁻⁶⁹. De nuevo el ensayo SMART ha aportado datos significativos al respecto: En el brazo de interrupción del tratamiento se encontró un descenso significativamente mayor de cHDL al cabo de un mes respecto a los que continuaron tratamiento⁷⁰ y se observó que el ascenso de cHDL con el tratamiento fue mayor en aquellos pacientes que partían de unos niveles más elevados de marcadores inflamatorios basales⁷¹. Además del descenso en términos absolutos del cHDL, hay que considerar que probablemente las partículas circulantes de HDL sean funcionalmente menos activas y por tanto menos ateroprotectoras, al tener menos capacidad de eflujo de

colesterol (transporte de colesterol desde pared vascular a las lipoproteínas circulantes) como se describe en diferentes situaciones proinflamatorias⁷². Sin embargo, este escenario aún no se ha explorado de forma concreta en la infección por el VIH.

1.2.2.- Factores relacionados con el tratamiento

Las descripciones de los primeros casos de enfermedad coronaria prematura en pacientes infectados por el VIH comenzaron poco tiempo después de comenzar a estar disponible el tratamiento antirretroviral combinado de gran actividad, por lo que desde el inicio se le relacionó con la enfermedad cardiovascular. Esta supuesta relación se confirmó posteriormente en diversos estudios epidemiológicos en los que se objetivó asociación entre la exposición prolongada al TAR y un incremento del riesgo cardiovascular. El estudio más representativo al respecto, el Data Collection of Adverse Events Study (D:A:D), en el que se incluyeron más de 23000 pacientes procedentes de 11 cohortes de Europa, Australia y Estados Unidos, mostró un aumento de la incidencia IAM con la exposición al TAR. Además este riesgo se incrementaba cuanto mayor era el tiempo de exposición, oscilando desde 0'32 por 1000 pacientes-año para los pacientes sin TAR, hasta 2'93 por 1000 pacientes-año para aquellos con más de 6 años de TAR (aumento del riesgo de desarrollar IAM del 26% durante los 6 primeros años de tratamiento)⁷³.

Sin embargo, este incremento de riesgo asociado al TAR es bastante modesto en contraposición con la primeras estimaciones realizadas⁷⁴. En el mismo estudio D:A:D, hay que matizar que aunque el TAR constituyó un factor de riesgo independiente para la incidencia de infarto agudo de miocardio, los factores de riesgo cardiovascular clásicos mostraron una contribución relativa mayor que la exposición al TAR⁷³. Además es

importante también enfatizar un hecho básico: el riesgo absoluto asociado a la existencia de una infección por el VIH no controlada sobrepasa ampliamente el riesgo de enfermedad coronaria asociada al TAR⁷⁵, y esto es así desde el punto de vista de la disminución de eventos SIDA, pero probablemente también desde el ángulo de la enfermedad cardiovascular que aumentaría en ausencia de control de la replicación viral como se observó en el comentado estudio SMART⁵⁰.

Por tanto, la exposición al TAR se asocia a un incremento del riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular pero su contribución parece ser proporcionalmente menos importante que la de la propia infección VIH no controlada y que la concurrencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos. En este sentido, las recomendaciones actuales para prevenir la enfermedad cardiovascular arteriosclerótica en los pacientes con infección VIH van en la dirección de iniciar el TAR precozmente para conseguir controlar la infección VIH además, por supuesto, de incidir sobre los factores de riesgo cardiovascular clásicos modificables⁷⁶.

Sigue existiendo cierta preocupación por la posibilidad de que la toxicidad del TAR a largo plazo pueda limitar su beneficio clínico, no solo desde el punto de vista cardiovascular, sino también a otros niveles (renal, metabolismo óseo-mineral, estrés oxidativo). Sin embargo, un estudio recientemente publicado por el grupo de estudio EuroSIDA aporta cierta tranquilidad en este aspecto. En este estudio se analizaron las tasas de mortalidad por distintas causas según grupos estratificados por tiempo de exposición acumulada a tratamiento antirretroviral. Los autores no encontraron diferencias en las tasas de mortalidad por cualquier causa ni de mortalidad por causas no SIDA en los grupos con exposición prolongada respecto a los de menor tiempo de

exposición al mismo lo que sugiere que no existieron efectos negativos derivados de la exposición mantenida a largo plazo⁷⁷.

El aumento de riesgo cardiovascular asociado al TAR demostrado en diversos estudios epidemiológicos se ha atribuido, entre otros factores, al efecto deletéreo que estos fármacos ejercen sobre el metabolismo lipídico e hidrocarbonado favoreciendo el desarrollo de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia así como de resistencia a la insulina y diabetes^{79,80}. Estas alteraciones pueden presentarse bien de manera aislada o bien formando parte de otras entidades, como el síndrome metabólico o la lipodistrofia. Se ha descrito su asociación con las principales clases farmacológicas, inhibidores de la proteasa (IP), inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos y nucleótidos (ITIAN) e inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINAN) en mayor o menor medida, aunque los efectos difieren según la clase y también intrac clase entre los distintos fármacos. La dislipemia y desarrollo de resistencia a la insulina es más frecuente con los IP, sobre todo los de primera generación como saquinavir, indinavir o lopinavir aunque los de nueva generación como atazanavir y probablemente darunavir, tienen menos tendencia a producir estos efectos⁸⁰⁻⁸⁵. Los ITIAN e ITINAN también pueden producir dislipemia y resistencia a la insulina y están implicados en la aparición de lipodistrofia, fundamentalmente la estavudina, de escaso uso actualmente⁸⁶⁻⁸⁸. Además de la variabilidad inter e intrac clase va a existir una importante variabilidad interindividual dependiente de cada sujeto. En cualquier caso, independientemente de la pauta utilizada, el inicio del tratamiento antirretroviral, suele asociar un aumento de los lípidos plasmáticos (aumento de colesterol total, colesterol LDL y colesterol HDL en menor medida e incremento de triglicéridos) que en parte podría estar también relacionado con la ganancia de peso durante el TAR⁸⁹.

Para terminar, además de los efectos metabólicos sobre el metabolismo lipídico e hidrocarbonado se han descrito otros efectos potencialmente proaterogénicos asociados al uso de fármacos antirretrovirales:

- *Disfunción endotelial*: En diversos estudios tanto in vitro como en voluntarios sanos y en pacientes infectados por el VIH se ha descrito que el TAR es capaz de inducir disfunción endotelial medida por tests funcionales de vasorreactividad o por marcadores plasmáticos. Concretamente ritonavir, indinavir, zidovudina y abacavir se han asociado a un empeoramiento de la función endotelial⁹⁰⁻⁹⁴.

- *Estrés oxidativo, inflamación y senescencia vascular*: Estudios in vitro apoyan que algunos antirretrovirales, sobre todo inhibidores de la proteasa, aunque también ITIAN, estarían implicados en un aumento del stress oxidativo y la inflamación y favorecerían la aparición precoz de marcadores de senescencia en células del endotelio vascular y mononucleares circulantes⁹⁵⁻⁹⁸. Además, parece que estos efectos podrían revertirse, al menos parcialmente, con antioxidantes o estatinas^{97,98}.

1.2.3.- Factores relacionados con el paciente

El último pilar fundamental en el que se apoya el mayor riesgo vascular en los pacientes infectados por el VIH es la elevada prevalencia que presentan de algunos de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales como tabaquismo, dislipemia y diabetes mellitus tipo 2^{17,99-101}.

La importancia de estos factores de riesgo en la enfermedad cardiovascular de los pacientes con infección VIH se ha puesto de manifiesto en múltiples estudios de cohortes con una magnitud de asociación mayor que con el TAR¹⁰² aunque hay que

tener en cuenta que el propio TAR puede inducir o contribuir a la aparición de algunos de ellos.

Estilo de vida

El tabaquismo es muy frecuente en la población con infección por VIH presentando tasas de prevalencia superiores a las observadas en las poblaciones sin infección VIH con las que se ha comparado, que oscilan entre el 35 y el 72%, según la población estudiada¹⁰³⁻¹⁰⁶. En una comunicación del año 2012 con datos del análisis de factores de riesgo cardiovascular en 2011 en la cohorte española multicéntrica CoRIS (Cohorte de la Red Española de Investigación en SIDA) conformada por pacientes de 13 comunidades autónomas la prevalencia de tabaquismo fue del 46%, por lo que continúa siendo bastante elevada¹⁰⁷.

Además los hábitos dietéticos también parecen ser peores en esta población. En un estudio de casos y controles que incluyó a 356 pacientes infectados por el VIH y a 162 voluntarios sanos, se comprobó que los pacientes infectados por VIH tenían una ingesta significativamente mayor de grasas totales, saturadas, *trans* y de colesterol¹⁰⁸. Es posible que sin un control dietético adecuado muchos de los pacientes infectados por el VIH tiendan a una ingesta calórica mayor para tratar de compensar la lipoatrofia. Recientemente se ha comunicado que planificando una dieta con menor cantidad de grasas saturadas y menor aporte calórico en pacientes VIH que iniciaban tratamiento antirretroviral la incidencia de dislipemia fue significativamente menor que en aquellos sujetos que iniciaron tratamiento sin hacer cambios en la dieta⁸⁹.

Factores de riesgo cardiovascular metabólicos

La resistencia a la insulina, diabetes y dislipemia están íntimamente relacionadas entre ellas y con el síndrome metabólico como entidad que agrupa a estas alteraciones y que confiere un grado de riesgo vascular elevado. El paciente con infección por el VIH comparte los mismos factores predisponentes que la población general para el desarrollo de estas alteraciones (predisposición individual, dieta, sedentarismo, obesidad), pero además, hay factores de riesgo específicos que podrían explicar la mayor incidencia de alteraciones del metabolismo hidrocarbonado y lipídico en estos pacientes: efecto directo del VIH, tratamiento con algunos fármacos antirretrovirales, presencia de lipodistrofia o coinfección por virus hepatitis C.

La dislipemia es más frecuente en la población infectada por el VIH que en la población general. En la era previa al TARGA, los pacientes con infección por VIH avanzada, presentaban un patrón dislipémico inflamatorio caracterizado niveles disminuidos de colesterol HDL, valores normales o ligeramente aumentados de colesterol LDL, hipertrigliceridemia y concentraciones elevadas de colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad (cVLDL). Este patrón se asocia con una alta prevalencia de partículas de LDL pequeñas y densas, con mayor capacidad aterogénica. Tras la introducción del TARGA, el perfil lipídico más frecuentemente observado en estos pacientes se caracteriza por elevación de los valores plasmáticos de triglicéridos y colesterol total, especialmente del cLDL, y descenso de cHDL¹⁰⁹. En el estudio D:A:D⁷³ se observó una prevalencia basal de dislipemia del 45,9%. Se espera que la frecuencia de dislipemia descienda con el uso de hipolipemiantes y de fármacos antirretrovirales con mejor perfil metabólico aunque en la comunicación de la cohorte CoRIS del análisis de prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en 2011 persiste una prevalencia de

hipercolesterolemia en torno al 27%, 36% de cHDL descendido y 19% de hipertrigliceridemia¹⁰⁷.

La frecuencia de las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado observada en pacientes con infección VIH varía según los estudios realizados. La prevalencia de diabetes es muy variada comunicándose prevalencias en torno al 17% en cohortes antiguas¹¹⁰ con cifras mucho menores en análisis más recientes (2,9% CoRIS 2011)¹⁰⁷.

Como entidad que agrupa diversas alteraciones metabólicas proaterogénicas con la resistencia a la insulina como sustrato fisiopatológico subyacente, el síndrome metabólico confiere un riesgo vascular elevado a los pacientes que lo presentan (conurrencia de obesidad abdominal, niveles elevados de triglicéridos, HDL colesterol reducido, presión arterial elevada e intolerancia a la glucosa, según la definición de la National Cholesterol Education Program, ATP III)¹¹¹. También en este caso se ha comunicado una elevada prevalencia del mismo en pacientes con infección por el VIH alcanzando en cifras en torno al 25%^{107,112-114}.

Hipertensión arterial

En cuanto a la prevalencia de HTA los datos de la mayoría de estudios realizados hasta ahora no apoyan una mayor prevalencia de HTA en pacientes con infección VIH, con o sin TARGA, respecto a la población general⁹⁹. En las diversas series su prevalencia oscila entre el 8 y el 28%¹⁰³⁻¹⁰⁶ y su frecuencia aumenta con la edad¹¹⁵.

1.2.4.- Otros factores

Además de la propia infección VIH, el tratamiento antirretroviral y los factores de riesgo vascular clásicos, otros factores pueden estar implicados en el mayor riesgo vascular de los pacientes con infección VIH.

Coinfección por el virus de la hepatitis C (VHC)

La relación entre la infección por el VHC y la enfermedad cardiovascular arteriosclerótica es controvertida, aunque hay muchos datos que apuntan en esta dirección.

En un análisis retrospectivo con más 20.000 pacientes con infección VIH se comunicó un aumento del riesgo de IAM en pacientes coinfectados por VHC, respecto a no coinfectados, que se mantuvo después de ajustar por los factores tradicionales de riesgo cardiovascular (hipertensión arterial, edad, diabetes y tabaquismo), tanto en la era pre como postratamiento antirretroviral combinado, aunque en este último caso la diferencia en el riesgo de IAM entre mono infectados y coinfectados no alcanzó la significación estadística¹¹⁶. Grandes estudios de cohortes posteriores como el D:A:D no han podido corroborar esta relación aunque el número de eventos es bajo lo que dificulta que se puedan encontrar diferencias.

Sin embargo, si miramos marcadores intermedios de arteriosclerosis, tanto en población general como en sujetos con coinfección VIH-VHC, la infección por el VHC se ha relacionado con una mayor prevalencia de arteriosclerosis subclínica coronaria y carotídea¹¹⁷⁻¹²⁰. Recientemente *Sosner et al.* han demostrado que la coinfección VHC es un factor independiente asociado a la presencia de placas vasculares (carotídeas o femorales) en pacientes VIH, con mayor prevalencia de las mismas en el grupo de

coinfectados a pesar de tener un mejor perfil metabólico (niveles más bajos de cLDL y presión arterial sistólica)¹²¹.

Además, la coinfección por el VHC se ha asociado con una mayor frecuencia de resistencia insulínica en diversos estudios epidemiológicos¹²²⁻¹²⁴. La infección por VHC se acompaña de un estado proinflamatorio, protrombótico con activación plaquetaria, de disfunción endotelial y aumento de producción de especies reactivas de oxígeno. Varios mecanismos actuando de forma simultánea podrían contribuir a explicar la asociación entre enfermedad cardiovascular y VHC, con el triángulo inflamación crónica-esteatosis hepática-resistencia insulínica ocupando un papel central¹²⁸. Estudios preliminares sugieren que la erradicación del VHC puede mejorar la resistencia insulínica y, por tanto, podría ser también un objetivo deseable desde el punto de vista cardiovascular^{129,130}.

Otras infecciones crónicas

Además de la infección por el VHC se ha explorado la posibilidad de que en sujetos con infección VIH la coinfección por otros virus pueda participar en el mayor riesgo vascular de éstos, por su potencial efecto proinflamatorio y aterogénico¹³¹.

- *Virus hepatitis B*: Aunque un estudio transversal encontró una asociación entre la antigenemia del virus B y la presencia de placas carotídeas¹³², la mayoría de los estudios no ha encontrado una vinculación entre la infección persistente por este virus y la presencia de enfermedad cardiovascular clínica¹³³ o de aterosclerosis coronaria evaluada por coronariografía^{134,135}.

- *Familia virus herpes*: Varios virus de la familia herpes han mostrado tener efectos potencialmente aterogénicos¹³⁶ y asociarse con arteriosclerosis subclínica^{137,138}. Se ha postulado que debido a la menor respuesta inmune frente a antígenos virales, los virus

de la familia herpes podrían tener consecuencias cardiovasculares más severas en pacientes con infección VIH. En un estudio de casos y controles recientemente publicado se evaluó la asociación entre arteriosclerosis subclínica coronaria y marcadores de infección de citomegalovirus (CMV), virus de herpes simple 1 y 2 (VHS 1 y 2) y virus herpes humano tipo 8 (HHV-8) en pacientes infectados por el VIH. En este estudio el VHS-2 se asoció de forma independiente con la presencia de arteriosclerosis coronaria subclínica y la infección por múltiples virus herpes con niveles más elevados de calcio coronario, lo que apoyaría el papel proaterogénico de los virus herpes en este escenario¹³⁹.

Enfermedad renal crónica

Por último hay que tener en cuenta que en población con infección VIH es más frecuente el desarrollo de enfermedad renal crónica¹⁴⁰, factor ampliamente asociado a la enfermedad cardiovascular¹⁴¹. Esta mayor prevalencia de enfermedad renal se va a explicar tanto por efecto directo del VIH como por la potencial nefrotoxicidad de algunos antirretrovirales (tenofovir), la presencia de factores de riesgo vascular tradicionales como diabetes e hipertensión y el propio desarrollo de arteriosclerosis cuya relación con la enfermedad renal es bidireccional¹⁴².

1.3. Marcadores de inflamación, actividad macrofágica y disfunción endotelial en pacientes con infección VIH.

En pacientes con infección VIH existe un estado de inflamación y activación inmune persistente que se ha implicado en el aumento de enfermedad cardiovascular de esta población. En este contexto, en los últimos años se están buscando marcadores plasmáticos que nos permitan evaluar la intensidad de estos procesos y correlacionarlos

con la enfermedad vascular de estos pacientes. Para nuestro trabajo hemos seleccionado algunos de los marcadores más representativos para la evaluación del estado inflamatorio (PCR ultrasensible), activación y disfunción endotelial (VCAM-1 y ADMA) y dos marcadores relacionados con inflamación y actividad macrofágica recientemente asociados con enfermedad cardiovascular arteriosclerótica, el CD163 y TWEAK solubles en plasma.

1.3.1.- Marcadores plasmáticos de inflamación

➤ *PCR ultrasensible*

La proteína C reactiva medida por técnicas ultrasensibles (PCRus) es un marcador inflamatorio ampliamente relacionado con la enfermedad cardiovascular arteriosclerótica. Las concentraciones plasmáticas elevadas de PCRus se asocian a un mayor riesgo de eventos coronarios incidentes, enfermedad arterial periférica y enfermedad vascular cerebral en población general¹⁴³⁻¹⁴⁶.

En los pacientes con infección VIH se han descrito niveles más elevados de PCRus que en población general^{147,148}. Son muchos los estudios que han explorado el comportamiento de la PCRus en estos pacientes. Por un lado, como marcador de progresión de la enfermedad se ha encontrado relación entre los niveles de PCRus (y otros marcadores inflamatorios y de coagulación como IL-6 y dímeros D) con un peor pronóstico de la enfermedad asociándose con una mayor incidencia de enfermedades oportunistas y mortalidad por cualquier causa^{54-149,150}.

Por otro lado, también se ha explorado su relación con la enfermedad cardiovascular en estos pacientes. En un amplio estudio retrospectivo *Triant et al.*

comunicaron que valores elevados de PCRus en pacientes con infección por VIH se asociaban a un mayor riesgo de IAM, de forma que los pacientes con infección VIH y PCRus elevada presentaban una *odds ratio* para infarto agudo de miocardio 4 veces superior a los sujetos VIH negativos y con PCR no elevada¹⁵¹. Por el momento, a diferencia de lo que ocurre en población general, no existen datos prospectivos que exploren la relación de la PCRus con la incidencia de eventos cardiovasculares en pacientes VIH aunque sí empiezan a aparecer comunicaciones de su relación con factores de riesgo vascular (IMC, lípidos)¹⁵² y marcadores de arteriosclerosis subclínica como el grosor íntima-media¹⁵³.

1.3.2.- Marcadores plasmáticos de activación y disfunción endotelial

➤ *sVCAM-1*

Se ha descrito un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular asociado a niveles circulantes elevados de diversas moléculas de adhesión liberadas por el endotelio vascular, tanto en sujetos aparentemente sanos como en pacientes con enfermedad cardiovascular conocida^{144,154,155}. De ellas VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) e ICAM-1 (Intercellular Cell Adhesion Molecule-1) han sido las más estudiadas en pacientes con infección VIH. Mientras VCAM-1 se expresa fundamentalmente en células activadas del endotelio y músculo liso vascular, ICAM-1 se expresa adicionalmente en diversas células de linaje hematopoyético y fibroblastos apareciendo como un marcador menos específico de activación endotelial¹⁵⁶.

El VIH es capaz de inducir a través de su proteína *Tat* la expresión de estas moléculas de adhesión en estudios experimentales *in vitro*¹⁵⁷⁻¹⁵⁹. Hay múltiples estudios que han mostrado niveles más elevados de estos marcadores en pacientes con infección

VIH con respecto a sujetos sanos. Pero además sus niveles circulantes (sVCAM-1) se han relacionado con parámetros metabólicos de riesgo vascular (resistencia a la insulina, lipodistrofia, dislipemia) y marcadores de inflamación, lo que ha hecho sugerir que la arteriosclerosis acelerada en estos pacientes pueda estar mediada por una activación/disfunción endotelial¹⁶⁰⁻¹⁶⁴. En este sentido, en un estudio de casos y controles en el que se determinaron diversos marcadores plasmáticos de inflamación y activación endotelial y el grosor íntima-media carotídeo como dato de arteriosclerosis subclínica, *Ross et al.* encontraron que sVCAM-1 se correlacionó de forma positiva con diversas citocinas inflamatorias y se asoció en el análisis de regresión múltiple con el grosor íntima media carotídeo en el grupo de pacientes VIH¹⁶⁴.

Además los niveles de VCAM-1 se han relacionado con una mayor replicación viral y peores parámetros inmunológicos^{162,163}. Se ha sugerido también que sVCAM-1 y sICAM-1 se relacionan con reactivaciones de replicación viral coincidentes con interrupciones de tratamiento^{165,166}. Esto podría explicar en parte el aumento de enfermedad cardiovascular observado en ensayos de interrupción de tratamiento, como el comentado SMART, al producir estas interrupciones un aumento del estrés endotelial asociado a las reactivaciones de la replicación viral.

➤ ADMA

El óxido nítrico (NO) es un potente vasodilatador sintetizado y liberado por el endotelio que juega un papel fundamental en el la homeostasis vascular (tono vascular, proliferación del músculo liso, interacción con elementos formes circulantes)¹⁶⁷. Una producción endotelial disminuida de NO y/o una actividad biológica reducida del mismo constituyen elementos iniciales en el proceso de desarrollo de la arteriosclerosis.

La dimetilarginina asimétrica (ADMA) es un inhibidor endógeno de la óxido nítrico sintetasa que provoca disfunción endotelial por este mecanismo. La ADMA deriva del catabolismo de proteínas que contienen residuos metilados de arginina y sus niveles circulantes vienen determinados en gran medida por la actividad de la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH), enzima encargada de su catabolismo, cuya actividad se reduce en situaciones como la hipercolesterolemia, hiperglucemia, hipertensión o incremento del estrés oxidativo¹⁶⁷. La concentración plasmática de ADMA se relaciona de forma inversa con la función endotelial medida por pruebas funcionales (vasodilatación dependiente de endotelio), de forma que, a mayor concentración plasmática peor resultado se obtiene en las pruebas de función endotelial¹⁶⁸.

Inicialmente se describió la presencia de niveles elevados de ADMA en población con enfermedad cardiovascular o de elevado riesgo vascular. Posteriormente, estudios prospectivos han corroborado su papel como marcador de riesgo vascular al mostrar que predice de forma independiente la incidencia de eventos y mortalidad cardiovascular en pacientes situados en diferentes escenarios de riesgo cardiovascular global¹⁶⁹⁻¹⁷².

En pacientes con infección VIH se ha demostrado que existe disfunción endotelial medida por vasodilatación mediada por flujo con respecto a controles¹⁷³. En consonancia, diversos grupos han comunicado que existen niveles más elevados de ADMA en pacientes con infección VIH respecto a sujetos sanos^{174,175}. *Kurz et al.* comunicaron que los niveles de ADMA en pacientes con infección VIH se asociaban con marcadores de activación inmune¹⁷⁴ mientras el grupo de *Jang et al.* ha objetivado una correlación positiva entre los niveles de ADMA y el *score* de calcio coronario medido por tomografía computarizada en pacientes VIH¹⁷⁵.

1.3.3.- CD163 y TWEAK solubles

➤ *sCD163*

Los macrófagos y sus precursores circulantes, los monocitos, juegan un papel fundamental en el proceso de aterogénesis por diversas vías: secreción de citocinas proinflamatorias; migración transendotelial, acumulación en pared vascular y fagocitosis de lípidos transformándose en células espumosas; y participación en el proceso de “eflujo de colesterol” (transporte reverso de colesterol desde la pared vascular hacia las partículas de HDL circulantes)¹⁷⁶. En pacientes con infección VIH los monocitos muestran un fenotipo activado (CD14+/CD16+) con una mayor secreción de citocinas proinflamatorias y los macrófagos muestran una menor capacidad de “eflujo de colesterol”^{176,177}. Recientemente se ha descrito además, que estos pacientes presentan marcadores de senescencia en monocitos equiparables a los de individuos 30 años mayores, lo cual hace pensar que la activación mantenida del sistema inmune innato podría llevar a una inmunosenescencia precoz que participaría en el desarrollo de comorbilidades asociadas a la edad, entre ellas, la enfermedad cardiovascular¹⁷⁸.

El CD 163 es un receptor de membrana de los monocitos-macrófagos que une y retira de la circulación y tejidos los complejos de hemoglobina-haptoglobina¹⁷⁹. Se ha implicado en diversos procesos de control de mecanismos inflamatorios de forma que los macrófagos CD163+ representarían un fenotipo anti-inflamatorio al participar en la captación de hemoglobina (potente agente oxidante) y estabilización de placas necróticas o hemorrágicas (inestables y con alto riesgo de trombosis)¹⁸⁰. En este sentido, se ha descrito una expresión aumentada de CD163 en macrófagos de placas hemorrágicas o inestables¹⁸¹.

Además, el CD163 puede encontrarse en forma soluble (*sCD163*) en plasma al

ser escindido activamente de la membrana monocito-macrofágica por un mecanismo dependiente de proteasas en respuesta a diversas condiciones pro-inflamatorias y oxidativas. Recientemente se ha propuesto que en este proceso de escisión y liberación a plasma del CD163 participarían proteasas secretadas por los neutrófilos (fundamentalmente la elastasa) y que este mecanismo podría tener un papel importante en la desestabilización de las placas de ateroma: la infiltración neutrofílica de la placa conllevaría una mayor tasa de escisión del CD163 (aumentando el sCD163 circulante en plasma y disminuyendo el CD163 en membrana) con la subsiguiente acumulación intraplaca de hemoglobina al disminuir el aclaramiento por el CD163 de la superficie macrofágica, lo cual incrementaría el riesgo de desestabilización de la placa de ateroma¹⁸². Por otro lado, además de ser un posible marcador de inestabilidad de la placa, dado que el CD163 es específico del linaje monocito-macrófago los niveles circulantes de sCD163 se consideran un marcador específico de activación de monocitos-macrófagos¹⁸³.

Hay diversos estudios que relacionan el sCD163 con la enfermedad vascular arteriosclerótica. Se han encontrado niveles más elevados de sCD163 en pacientes con diabetes mellitus¹⁸⁴ y una correlación positiva con el GIM en individuos sanos asintomáticos¹⁸⁵. También se han descrito niveles más altos en pacientes con enfermedad coronaria relacionándose éstos con la extensión de las lesiones coronarias¹⁸⁶ y en pacientes con enfermedad arterial periférica¹⁸⁷.

En pacientes con VIH el sCD163 se ha asociado con la actividad de la enfermedad tanto en infección aguda como en pacientes crónicamente infectados y en modelos animales se ha relacionado con progresión a SIDA^{188,189}. En relación a la enfermedad cardiovascular en pacientes con infección VIH en el último año y medio se han publicado dos interesantes estudios en los que se relaciona el sCD163 con la

presencia arteriosclerosis subclínica. *Burdo et al.* comunicaron en 102 hombres con infección VIH y niveles de viremia bajos o indetectables, que los niveles de sCD163 se asociaron a la presencia de placas coronarias no calcificadas. Esta asociación se mantuvo tras ajustar por la presencia de factores de riesgo vascular tradicionales, los cuales se relacionaron con la presencia de placas coronarias calcificadas pero no de placas no calcificadas. Los datos de *Burdo et al.* apuntan a la importancia de la activación monocítica-macrofágica en la génesis de lesiones coronarias de fenotipo inflamatorio en población VIH de forma independiente a los factores de riesgo clásicos¹⁹⁰. Por otro lado, *Sharath et al.* exploraron la presencia de inflamación arterial medida por tomografía por emisión de positrones (PET) en pacientes VIH y un grupo control con similar carga de riesgo vascular (Framingham Risk Score equiparable) y su relación con diversos biomarcadores relacionados con enfermedad vascular, entre ellos sCD163. En este estudio los pacientes con infección VIH presentaron un mayor grado de inflamación arterial que los controles de similar carga de riesgo vascular. El nivel de inflamación vascular medido por PET se correlacionó consistentemente con los niveles de sCD163 pero no con marcadores de inflamación o coagulación asociados con enfermedad vascular como la PCR ultrasensible o los dímeros D¹⁹¹.

➤ *sTWEAK*

El TWEAK (Tumor necrosis factor-like WEAK inducer of apoptosis) es una citocina multifuncional perteneciente a la superfamilia del TNF. Se ha implicado en el control de múltiples actividades celulares incluyendo proliferación, migración, diferenciación, apoptosis, angiogénesis y regulación de la inflamación a través de la interacción con su receptor Fn-14 (Fibroblast growth factor-inducible 14)¹⁹². TWEAK se sintetiza como una proteína transmembrana que posteriormente es escindida y circula en su forma soluble (sTWEAK)¹⁹³.

Se ha descrito su participación como mediador en múltiples procesos de la pared arterial. Por un lado, se ha implicado en el proceso de aterogénesis al inducir citocinas proinflamatorias y enzimas de degradación de la matriz extracelular lo que reduciría la estabilidad de la placa¹⁹⁴. Además participa en el remodelado arterial aumentando las respuestas vasculares inflamatorias y el tamaño de lesiones ateroscleróticas en modelos murinos de aterosclerosis¹⁹⁵. El TWEAK también potencia el crecimiento de células endoteliales y su migración, pudiendo participar en la regulación de la angiogénesis patológica, actuando solo o en conjunción con FGF-2 o VEGF-A^{196,197}.

En este contexto el sTWEAK se ha propuesto como un potencial marcador de arteriosclerosis. Teniendo en cuenta las funciones en las que se le ha implicado, se esperaría que los niveles plasmáticos de sTWEAK estuvieran elevados en pacientes con enfermedad cardiovascular aterosclerótica, pero al contrario, se han descrito niveles circulantes descendidos en diversas circunstancias asociadas a arteriosclerosis, sin que se conozca el mecanismo subyacente. Se postula que, al menos en parte, podría deberse a un aclaramiento aumentado de sTWEAK por macrófagos CD163+ al identificarse que éstos son capaces de unir e internalizar sTWEAK en cultivos celulares y en placas de ateroma humanas¹⁸⁵.

Asumiendo que la cinética y funcionalidad celular del sTWEAK no es aún conocida completamente, en los últimos años han aparecido múltiples trabajos que relacionan de forma consistente la presencia de niveles de sTWEAK disminuidos con enfermedad vascular. Se ha descrito una menor cantidad de sTWEAK en plasma de pacientes con arteriosclerosis carotídea comparado con individuos sanos, correlacionándose de forma inversa sus niveles con el GIM en sujetos asintomáticos¹⁹⁸. En la misma línea se han descrito concentraciones reducidas de sTWEAK en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 y 2^{199,200}, hemodiálisis²⁰¹ y enfermedad coronaria²⁰².

También en enfermos con enfermedad renal crónica, los niveles reducidos de sTWEAK se asocian con una mayor severidad de disfunción endotelial y predicen un pronóstico adverso^{203,204} al igual que en insuficiencia cardíaca estable donde los niveles más bajos de sTWEAK se relacionan con un peor pronóstico²⁰⁵. Por último, se ha comunicado que existen niveles más reducidos en pacientes con enfermedad arterial periférica¹⁸⁷ y que en este escenario las concentraciones reducidas de sTWEAK predicen la mortalidad cardiovascular a largo plazo²⁰⁶.

Hasta nuestro conocimiento no existen estudios que exploren el comportamiento y significado de sTWEAK en pacientes con infección por el VIH.

➤ *sCD163/sTWEAK*

En 2007 *Bover et al.* identificaron al CD163 como un posible receptor del TWEAK²⁰⁷. Desde entonces el grupo español de Moreno et al. han estudiado en profundidad la relación entre el CD163 y el TWEAK y su significado en la enfermedad vascular aterosclerótica.

Primero demostraron que los macrófagos CD163+ unen e internalizan sTWEAK in vitro y que tanto TWEAK como CD163 se expresan en placas de ateroma humanas colocalizándose lo que hace pensar que la interacción existe también in vivo. Además las concentraciones plasmáticas de sTWEAK y sCD163 se asocian de forma inversa. A partir de aquí se hipotetiza, que esta interacción entre CD163 y TWEAK podría ser la responsable de los niveles descendidos de sTWEAK en individuos con enfermedad cardiovascular¹⁸⁵.

Partiendo de esta base se ha explorado la relación entre los niveles circulantes de ambos marcadores y su ratio (sCD163/sTWEAK) con la presencia de enfermedad arteriosclerótica encontrando resultados prometedores. El ratio sCD163/sTWEAK se ha

relacionado con la progresión de la enfermedad arterial periférica de miembros inferiores¹⁸⁷ y de arteriosclerosis carotídea (grosor íntima media)¹⁸⁵ y más recientemente en pacientes con enfermedad arterial periférica este ratio se relacionó con la mortalidad por global y mortalidad cardiovascular siendo capaz de mejorar la predicción de las escalas basadas en factores de riesgo vascular clásicos²⁰⁶.

Hasta nuestro conocimiento, no se ha estudiado el comportamiento y significado de este ratio en pacientes con infección VIH.

2.- JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

En pacientes con infección VIH existen tasas de enfermedad cardiovascular más elevadas que en población general, debido a la interacción de varios factores: la propia infección VIH, el tratamiento antirretroviral y una mayor prevalencia de factores de riesgo cardiovascular tradicionales entre otros. Se hipotetiza que la existencia de un estado proinflamatorio y activación del sistema inmune persistentes juegan un papel fundamental en el desarrollo de arteriosclerosis acelerada en estos pacientes. En estas circunstancias el peso específico de cada uno de los factores descritos previamente es variable, de forma que aunque el tratamiento antirretroviral tiene efectos deletéreos sobre marcadores de inflamación y función endotelial en población sana, es probable que en pacientes VIH, al suprimir la replicación viral, el efecto neto sobre estos aspectos sea beneficioso. Por tanto, sería atractivo explorar el comportamiento de marcadores de inflamación, actividad macrofágica y disfunción endotelial en pacientes *naive* (aquellos que no han recibido tratamiento antirretroviral previamente) basalmente y después de iniciar el tratamiento.

Además, la identificación de nuevos marcadores que se relacionen con enfermedad cardiovascular y puedan predecir su desarrollo en pacientes con infección VIH sería de gran interés clínico. Las escalas de estratificación del riesgo cardiovascular de las que disponemos hasta el momento se comportan de modo subóptimo en población VIH infraestimando el riesgo de eventos futuros²⁰⁸: han sido diseñadas y validadas en población general y no tienen en cuenta mecanismos aterogénicos específicos de los pacientes VIH como la inflamación o la activación inmune persistentes. Por tanto, disponer de biomarcadores que al mismo tiempo, midan estos procesos y se relacionen con el desarrollo de enfermedad vascular arteriosclerótica, podría mejorar la predicción de riesgo en estos pacientes, permitiendo identificar los sujetos en alto riesgo de padecer un evento cardiovascular futuro y establecer las estrategias preventivas oportunas. En este contexto, exploramos por primera vez en nuestro conocimiento el comportamiento del sTWEAK y su relación con el sCD163 (ratio sCD163/TWEAK) en pacientes con infección VIH, marcadores que se han asociado de forma consistente con enfermedad cardiovascular en población no-VIH.

3.- OBJETIVOS

Los objetivos primarios del estudio son:

1.- Evaluar el efecto del tratamiento antirretroviral sobre la activación del sistema inmune (sCD163, sTWEAK y ratio sCD163/sTWEAK), el estado inflamatorio (PCRus) y la función endotelial (ADMA, sVCAM-1) en pacientes con infección VIH basalmente y tras 48 semanas de tratamiento.

2.- Explorar el comportamiento en pacientes con infección VIH de dos nuevos marcadores relacionados con enfermedad cardiovascular, sTWEAK y sCD163, comparándolos con sujetos controles sin infección VIH.

Como objetivo secundario nos planteamos evaluar la influencia de la persistencia de replicación viral activa y/o coinfección por VHC en el estado de activación inmune de pacientes con infección VIH.

4.- MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Población.

Se incluyeron 26 pacientes con infección por el VIH y 23 sujetos controles sanos. Los pacientes VIH procedían de la consulta específica de Infección VIH del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Virgen del Rocío que hubieran iniciado tratamiento antirretroviral hacía al menos un año y de los que se disponían de muestras de suero y plasma conservadas a -80°C. Además debían cumplir todos los criterios de inclusión y no tener ninguna causa de exclusión. Las muestras se obtuvieron de la citoteca y la seroteca del Laboratorio de Inmunovirología (PAI CTS-590, Hospital Universitario Virgen del Rocío). Los controles sanos dieron su consentimiento para que se le realizara la extracción de suero y plasma para las determinaciones del estudio.

4.2. Criterios de Inclusión y exclusión

- **Criterios de inclusión pacientes VIH:**

- * Pacientes mayores de 18 años.

- * Seguimiento en consultas de al menos 12 meses.

- * Infección documentada al menos 6 meses antes.
- * No haber recibido ningún tipo de tratamiento antirretroviral previamente a la inclusión en el estudio (pacientes *naive*).
- * Cumplir criterios virológicos o inmunológicos para iniciar tratamiento antirretroviral según las recomendaciones internacionales.
- * Consentimiento a participar en el estudio.

- **Criterios de exclusión pacientes VIH:**

- * Pacientes infectados por el VIH-2
- * Infección aguda por el VIH.
- * Infección crónica por VIH estadio C3 con procesos oportunistas activos.
- * Patología psiquiátrica o aquellos que se supongan no van a mantener un seguimiento clínico a medio-largo plazo.
- * Paciente con enfermedad oncológica o médica en fase de terminalidad biológica.
- * Neoplasia activa o que ha recibido tratamiento quimioterápico en los 12 meses previos.
- * Pacientes o tutores que no hayan otorgado el consentimiento informado.
- * Pacientes embarazadas.
- * Antecedentes de enfermedad cardiovascular isquémica.
- * Diabetes mellitus tipo 2.

- **Criterios de inclusión individuos grupo control:**

- * Pacientes mayores de 18 años.
- * Consentimiento a participar en el estudio.

- **Criterios de exclusión individuos grupo control:**

- * Infección por VIH.
- * Antecedentes de enfermedad cardiovascular isquémica.
- * Diabetes mellitus tipo 2.

4.3. Diseño del estudio

Se realizó un estudio longitudinal retrospectivo en el que se analizaron los marcadores plasmáticos de inflamación, activación macrofágica y disfunción endotelial en muestras basales (de 0 a 15 días previas a iniciar tratamiento antirretroviral) y postratamiento (48 ± 2 semanas del inicio del tratamiento). Los datos clínicos y analíticos relativos a factores de riesgo vascular e inmunoviológicos se recogieron de la base de datos informatizada de la consulta de Infección VIH del Dr. Leal.

Se compararon los resultados de los marcadores plasmáticos de inflamación, activación macrofágica y disfunción endotelial en el grupo de pacientes VIH en las fechas basal y a las 48 semanas y con el grupo de controles sanos.

4.4.- Procedimiento de reclutamiento

Se incluyeron de forma retrospectiva desde la fecha actual 26 pacientes consecutivos en los que se disponía de muestras de plasma y/o suero previas a iniciar el

tratamiento antirretroviral y 48 semanas tras haber iniciado el mismo. Los pacientes procedían de la consulta de Infección VIH del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Virgen del Rocío y habían dado su consentimiento por escrito para el uso de muestras biológicas conservadas y análisis de datos incluidos en la base de datos informatizada, de acceso restringido a los clínicos e investigadores participantes en el estudio.

4.5. Obtención y conservación de las muestras.

Todas las muestras se obtenían por venopunción directa en ayunas de 12 horas. Se obtuvieron, en cada tiempo, 40 ml de sangre venosa, empleando agujas *Venoject*[®] (Terumo[™]) y tubos conteniendo 1 mg.dL⁻¹ de EDTA, citrato sódico al 3,8% (Vacutainer[™]) y suero. Inmediatamente después de cada extracción sanguínea se procedía a la separación del plasma y suero. Las muestras se mantuvieron a -80°C hasta la realización de las determinaciones para evitar variaciones interensayo.

4.6.- Determinaciones

Se determinaron en las muestras previamente procesadas tal como se describe los siguientes marcadores plasmáticos:

- PCRus: Las concentraciones en plasma de PCR se midieron ensayando 100 µL de muestra con el kit comercial *C-reactive Protein Assay*[®] (Immundiagnostik AG [™], Bensheim, Germany).

- ADMA: Los niveles de ADMA se midieron mediante enzima inmunoensayo (ELISA) competitivo (DLD Diagnostika GmbH, Hamburg, Germany). El límite inferior

de detección fue de 0,05 $\mu\text{mol/l}$ con un coeficiente de variación intraensayo de 6,4% e interensayo 10,2%.

- sVCAM-1: Las concentraciones de sVCAM-1 se determinaron por un ELISA comercializado (HUMAN sVCAM-1 platinum BMS232CE, eBioscience). El límite inferior de detección era de 0,6 ng/ml y el coeficiente de variación intra e interensayo de 3,1% y 5,2% respectivamente.

- sTWEAK y sCD163: Las concentraciones de sTWEAK y sCD163 fueron determinadas por duplicado mediante ELISA con kits comercializados (Bender MedSystems, Vienna, Austria; R&D Systems, Minneapolis, USA; respectivamente). Un total de 50 μl de plasma de las muestras se ensayaron en paralelo con concentraciones estándares conocidas de TWEAK y CD163 recombinante. El nivel mínimo detectable de TWEAK era de 10 pg/ml con unos coeficientes de variación intra e interensayo de 6,2% y 8,3% respectivamente y de sCD163 0,177 ng/ml con coeficientes de variación de 3,6% y 4,8% respectivamente.

4.7.- Análisis de los datos

Los datos fueron codificados, introducidos y analizados en el programa SPSS Statistics® versión 20.

En todas las pruebas estadísticas se consideran como significativos los valores de p inferiores a 0,05. Todos los contrastes de hipótesis son bilaterales.

1. Análisis descriptivo

Se han calculado las frecuencias correspondientes a las variables cualitativas. Las variables cuantitativas se expresan como media aritmética \pm desviación típica en caso de

que cumplan condiciones de simetría y como mediana y rango intercuartílico en caso de asimetría.

2. Contraste de normalidad: Se ha realizado mediante el test de Shapiro-Wilk dado nuestro tamaño muestral.

3. Comparaciones de medias aritméticas.

○ Muestras independientes: Se ha utilizado la t de Student o U de Mann-Whitney para comparar dos grupos no relacionados, según la variable cumpliera o no la distribución de normalidad.

○ Muestras apareadas: Se ha utilizado la t de Student o prueba de Wilcoxon para comparar los dos grupos, según la variable cumpliera o no la distribución de normalidad.

4. Correlación y regresión: Se calculó el coeficiente de correlación lineal rho de Spearman para variables que no cumplan la distribución de normalidad y r de Pearson para variables normales.

4.8.- Aspectos éticos

Durante el desarrollo de este proyecto de tesis doctoral se han aplicado los principios éticos recogidos en la última revisión de la declaración de Helsinki. Los datos obtenidos en el estudio se utilizaron exclusivamente para obtener conclusiones científicas. La identidad de los pacientes fue confidencial y sólo conocida por el clínico responsable de cada paciente. En todos los casos fue necesario para incluir a un paciente en el estudio que hubiera otorgado el consentimiento informado tanto para el uso de sus

datos en la base informatizada como para las extracciones sanguíneas y su uso para fines científicos. En caso contrario, el paciente no se incluyó en el estudio.

Este proyecto cuenta con la aprobación del Comité Ético de los Hospitales Universitarios Virgen del Rocío de Sevilla al formar parte del proyecto de investigación financiado por el Instituto de Salud Carlos III *Inmunosenescencia y multifuncionalidad de linfocitos T. Estudio de las variables predictivas de mortalidad, riesgo vascular y respuesta a vacunas en el anciano sano y en pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo1 (VIH-1) como modelo de inmunosenescencia prematura*, en colaboración con el Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Virgen del Rocío.

5.- RESULTADOS

5.1.- Características basales de los pacientes.

Se incluyeron 26 pacientes con infección VIH en el estudio de los cuales 20 eran varones y 6 mujeres. La media de edad de los pacientes fue de 37.5 (DE \pm 10,3 años).

Las características epidemiológicas y clínicas en relación con la infección VIH se muestran en la tabla 1. Se registró una alta incidencia de hábitos tóxicos con la mitad de los pacientes fumadores activos, una quinta parte (6/26) que consumían otros tóxicos (metadona y cannabis, ninguno refería ser consumidor activo de cocaína) y 3 que tomaban más de 60 g de etanol al día. En cuanto a los grupos de riesgo de transmisión, el más representado fue el homosexual/bisexual con 15 pacientes, seguido de la transmisión heterosexual con 6 casos y de los usuarios de drogas por vía parenteral con 5.

Las características de la población relativas al riesgo vascular se muestran en la tabla 2. Es de destacar que de los pacientes en que se pudieron aplicar las escalas de estratificación de riesgo (21 de 26, en 5 casos no se disponían de datos suficientes), todos según EuroSCORE y todos menos uno aplicando el Framingham Risk Score, estaban encuadrados en categorías de riesgo cardiovascular bajo o intermedio.

Tabla 1: Características basales demográficas y clínicas en relación con infección VIH (n=26).

Variables	Valores
Edad (años)	37,5 ± 10,3
Varones/Mujeres	20/6
Tabaquismo activo	13/26
Consumo de alcohol >60g	3/26
Consumo activo de otros tóxicos	6/26
Grupos de transmisión	
- Heterosexual	6/26
- Homosexual/Bisexual	15/26
- Usuario drogas vía parenteral	5/26
IMC (kg/m ²)	25,79 ± 4,46
Tiempo desde el diagnóstico VIH (años)	5 (1-26)
CD4 (células/ml)	283 (151-405)
Nadir CD4 (células/ml)	170 (123-317)
CD8 (células/ml)	743 (570-1130)
Carga viral (copias/ml)	32050 (8520-171246)
Coinfección VHC activa	3/26

Media (± DE) en variables simétricas. Mediana (IQR) en variables asimétricas. n/total en variables cualitativas. IMC: Índice de Masa Corporal. CD4: Linfocitos CD4 + circulantes. Nadir CD4: Menor cifra de linfocitos CD4 + registrada. CD8: Linfocitos CD8+ circulantes.

Tabla 2: Características basales de riesgo vascular (n=26)

Variables	Valores
Antecedentes familiares de ECV precoz	2/26
HTA	5/26
Dislipemia	1/26
Colesterol total (mg/dl)	170,8 ± 45,3
cLDL (mg/dl)	103,3 ± 37,2
cHDL (mg/dl)	
- Hombres	40 (34-47)
- Mujeres	54,5 (37-67)
Índice aterogénico (cLDL/cHDL)	2,45 ± 0,95
Triglicéridos (mg/dl)	110 (75-142)
Glucemia basal (mg/dl)	89,3 ± 10,7
Presión arterial (mmHg)	
- Sistólica	129,6 ± 15,2
- Diastólica	82,9 ± 10
Categorías Framingham ^a	
- Bajo riesgo (<10%)	13/21
- Riesgo intermedio (10-20%)	7/21
- Riesgo alto (>20%)	1/21
Categoría SCORE ^a	
- Bajo riesgo (<1%)	15/21
- Riesgo intermedio (1-5%)	6/21
- Riesgo alto (5-10%)	0/21
- Riesgo muy alto (>10%)	0/21

Media (± DE) en variables simétricas. Mediana (IQR) en variables asimétricas. n/total en variables cualitativas. HTA: Diagnóstico previo de HTA. Dislipemia: Diagnóstico previo de dislipemia. IMC: Índice de Masa Corporal. Categorías Framingham: Categorías según riesgo coronario a 10 años calculadas por escala de Framingham. Categorías SCORE: Categorías según riesgo de evento cardiovascular mortal a 10 años calculadas por la puntuación SCORE. a) Datos sobre 21 pacientes, 5 sujetos con datos incompletos para aplicar escalas de estratificación de riesgo.

5.2.- Evolución de los marcadores inmunoviroológicos y de riesgo vascular clásicos y emergentes a las 48 semanas de tratamiento.

En la tabla 3 se recoge la comparación de los datos inmunoviroológicos, factores de riesgo vascular y marcadores inflamatorios, de activación macrofágica y endotelial a nivel basal y tras 48 semanas de tratamiento antirretroviral.

A las 48 semanas 23 de los 26 pacientes presentaban carga viral indetectable y se observó un lógico ascenso de las cifras de linfocitos CD4+. Desde el punto de vista de los parámetros metabólicos es de destacar que hubo un ascenso significativo de los niveles de colesterol pero a expensas de cHDL fundamentalmente, sin diferencias significativas en cLDL lo que redundó en una mejoría no significativa del índice aterogénico cLDL/cHDL. Por otro lado, hubo un ascenso que sí alcanzó la significación estadística de los niveles de triglicéridos a las 48 semanas de tratamiento antirretroviral.

Además de esta mejoría del perfil aterogénico de las lipoproteínas circulantes, el tratamiento antirretroviral se asoció a un descenso en la concentración de sCD163, sVCAM-1 y PCRus sin que hubiera diferencias significativas en los niveles de sTWEAK y ADMA. Se observó también una tendencia a descender del cociente sCD163/sTWEAK a las 48 semanas de tratamiento cercana a la significación estadística [Basal 2,88(2,37-3,85) vs 48sem 2,44(1,42-3,2); $p=0,062$].

Tabla 3: Evolución de datos inmunoviroológicos y marcadores de riesgo vascular a las 48 semanas de tratamiento (n=26).

	Basal	48 semanas	<i>p</i>
CD4 (cél/ml)	283 (151-405)	435 (300-652)	<0,001
CD8 (cél/ml)	743 (570-1130)	758 (563-1077)	NS
Carga viral indetectable (n/total) ^a	No procede	23/26	No procede
Carga viral (copias/ml)	32050 (8520-171246)	248 (173-759) ^b	No procede ^b
Glucemia (mg/dl)	89,3 ± 10,7	93,1 ± 10	NS
Colesterol (mg/dl)			
- Total	170,8 ± 45,3	197,1 ± 43,1	0,001
- cLDL	103,3 ± 37,2	109,6 ± 34,8	NS
- cHDL	42 (36-52)	50 (41-68)	0,006
- cLDL/cHDL	2,45 ± 0,95	2,19 ± 1,01	NS
Triglicéridos (mg/dl)	110 (75-142)	123 (89-197)	0,039
Transaminasas (UI/l)			
- GPT	23 (18-34)	21 (16-47)	NS
- GOT	22 (19-33)	26 (16-30)	NS
Creatinina (mg/dl)	0,79 ± 0,15	0,83 ± 0,13	NS
sTWEAK (pg/ml)	351 (318-401)	325 (299-386)	NS
sCD163 (ng/ml)	1085 (828-1480)	792 (562-1025)	0,003
sCD163/sTWEAK	2,88 (2,37-3,85)	2,44 (1,42-3,2)	0,062
sVCAM-1 (ng/ml)	617 (424-832)	393 (318-519)	<0,001
ADMA (ng/ml)	210 (158-290)	194 (166-256)	NS
PCRus (mg/l)	2,41 (1,62-5,43)	1,16 (0,59-1,58)	0,002

Media (± DE) en variables simétricas. Mediana (IQR) en variables asimétricas. n/total en variables cualitativas. Valor de significación estadística *p* calculado por *t* de Student para muestras apareadas en comparaciones de variables normales y prueba de Wilcoxon en variables que no cumplían distribución de normalidad. NS= No significativo. a) Proporción de pacientes con carga viral indetectable a las 48 semanas. b) Valores calculados con los 3 pacientes con carga viral detectable a las 48 semanas únicamente con fines descriptivos.

Sin embargo, teniendo en cuenta que la coinfección por VHC y la persistencia de replicación VIH activa a pesar del tratamiento podrían considerarse como estímulos que mantendrían la activación inmune, realizamos también los análisis sin incluir a los pacientes que cumplían estas condiciones (tabla 4). En este caso los cambios en los parámetros lipídicos se mantuvieron sin variaciones relevantes (aumento de colesterol total a expensas de cHDL y aumento de triglicéridos) y también los cambios en los marcadores inflamatorios, de activación macrofágica y endotelial con descensos

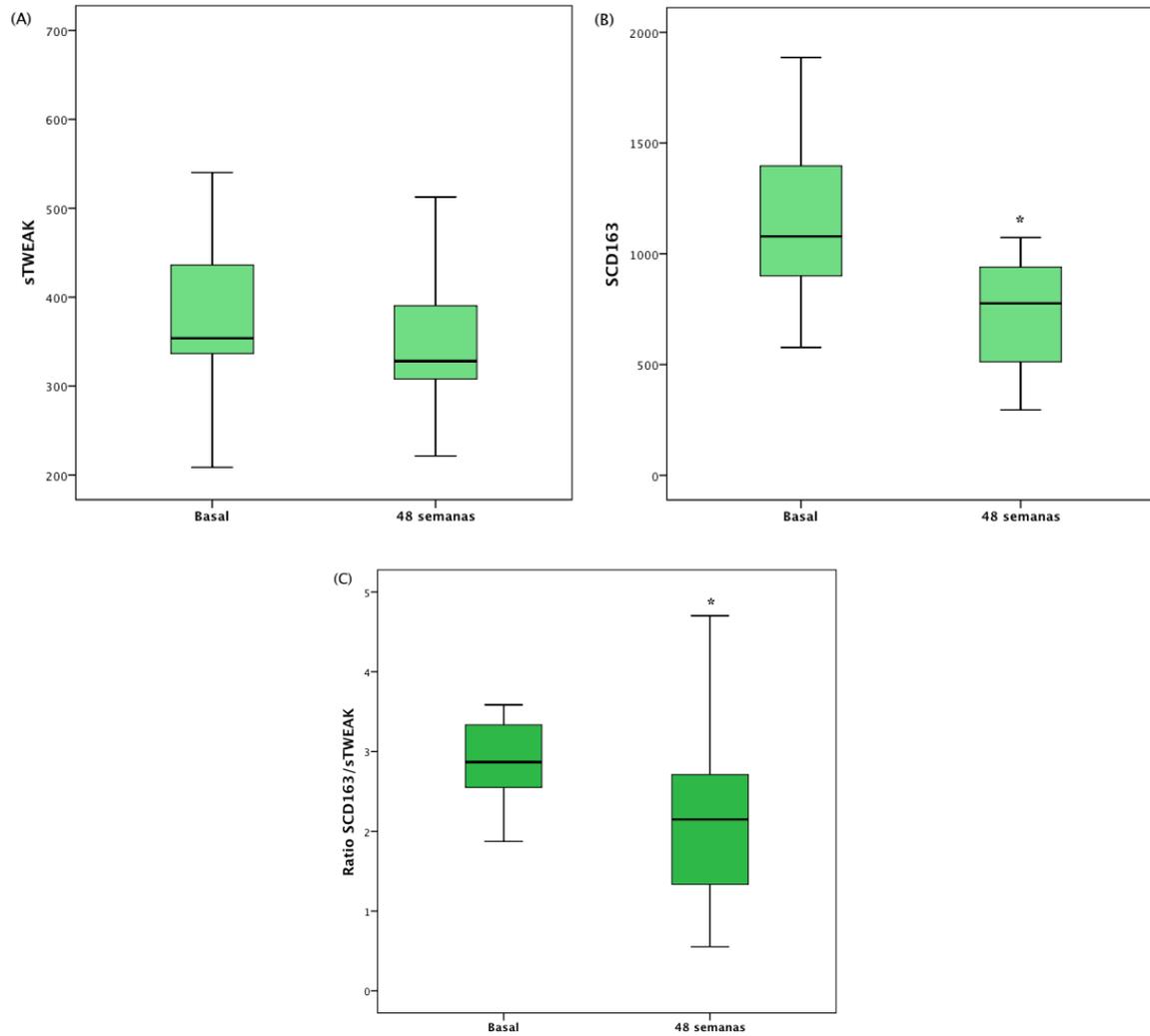
significativos de PCRus, sCD163 y sVCAM-1 sin diferencias en ADMA ni sTWEAK. Sin embargo, ahora sí, el descenso del cociente sCD163/sTWEAK a las 48 semanas alcanzó la significación estadística [n=21: Basal 2,87(2,47-3,36) vs 48sem 2,15(1,3-2,71); $p=0,005$].

Tabla 4: Evolución marcadores de riesgo vascular a las 48 semanas de tratamiento en pacientes sin coinfección VHC y que consiguen supresión de la replicación viral (n=21).

	Basal	48 semanas	<i>p</i>
CD4 (cél/ml)	242 (142-517)	538 (300-711)	<0,001
CD8 (cél/ml)	876 (591-1216)	847 (619-1157)	NS
Glucemia (mg/dl)	90,4 ± 10,5	91,6 ± 8,9	NS
Colesterol (mg/dl)			
- Total	164,4 ± 40	196,7 ± 46	<0,001
- cLDL	100 ± 35	110,8 ± 34,9	NS
- cHDL	39 (36-48)	50 (39-60)	0,017
- cLDL/cHDL	2,51 ± 0,99	2,3 ± 0,98	NS
Triglicéridos (mg/dl)	99 (63-135)	126 (96-223)	0,008
Transaminasas (UI/l)			
- GPT	21 (14-35)	20 (14-44)	NS
- GOT	21 (19-30)	21 (16-28)	NS
Creatinina (mg/dl)	0,79 ± 0,15	0,85 ± 0,14	0,006
sTweak (pg/ml)	354 (329-447)	328 (301-401)	NS
sCD163 (ng/ml)	1079 (865-1416)	776 (501-951)	0,002
sCD163/sTWEAK	2,87 (2,47-3,36)	2,15 (1,3-2,71)	0,005
sVCAM-1	558 (397-832)	393 (311-519)	0,001
ADMA (ng/ml)	209 (157-314)	195 (150-260)	NS
PCRus (mg/l)	2,18 (1,23-3,65)	0,99 (0,48-1,53)	<0,001

Media (± DE) en variables simétricas. Mediana (IQR) en variables asimétricas. n/total en variables cualitativas. Valor de significación estadística *p* calculado *t* de Student para muestras apareadas en comparaciones de variables normales y prueba de Wilcoxon en variables que no cumplieran distribución de normalidad. NS= No significativo.

Figura 1: Niveles de sTWEAK(A), sCD163(B) y ratio sCD163/sTWEAK(C) basalmente y a las 48 semanas de tratamiento en pacientes VIH sin coinfección por VHC y con replicación viral suprimida a las 48 semanas (n=21). * p< 0,05.



5.3.- Modulación del cambio en los biomarcadores inflamatorios y de activación inmune/endotelial a las 48 semanas en función del tipo de tratamiento.

De los 26 pacientes con infección VIH, 14 recibieron inhibidores de la proteasa en su pauta de tratamiento antirretroviral (IPs), 23 inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótidos (ITIAN), 18 inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos/nucleótidos (ITINAN) y 3 maraviroc (antagonista CCR5, inhibidor de la entrada).

Para analizar la posible influencia del tipo de tratamiento en la evolución de los biomarcadores con el TAR comparamos las diferencias del cambio desde basal a 48 semanas en los distintos biomarcadores, en función de si recibían o no fármacos de una determinada familia de antirretrovirales (Tabla 5). Los pacientes que incluyeron IPs en su régimen de tratamiento presentaron un menor descenso de sCD163 a las 48 semanas respecto a aquellos que no lo incluían [203,7(-253 to 441,5) ng/ml vs 507,8(107,4 to 728,4) ng/ml; $p=0,047$]. No hubo diferencias en el resto de biomarcadores según recibieran o no IPs, ni tampoco al comparar por el uso de otras familias de antirretrovirales. No analizamos las diferencias de cambio para fármacos individuales debido al bajo tamaño muestral y el elevado número de pautas de tratamiento.

Tabla 5: Cambio en los biomarcadores de inflamación, activación inmune y endotelial (basal - 48 semanas) según los tipos de antirretrovirales.

	<i>n</i>	sTWEAK	sCD163	sCD163/sTWEAK	ADMA	sVCAM-1	PCRus
IP							
-Sí	14	-15,4(-71,2 a 32,1)	203,7(-253 a 441,5)	0,56(-0,39 a 1,17)	-5,1(-94,7 a 73,5)	165,7(69,6 a 249,3)	1,19(0,57 a 2,19)
- No	12	41,7(-23 a 84,5)	507,8(107,4 a 728,4)	0,42(-0,71 a 2,13)	69,4(-46,6 a 132,4)	126,4(48 a 274,9)	1,41(0,41 a 3,41)
		p=0,087	p=0,047	p=0,98	p=0,134	p=1	p=0,78
ITIAN							
-Sí	23	31,9(-36,4 a 71,7)	377,9(44,5 a 560,9)	0,46 (-0,46 a 1,53)	34,2(-49,6 a 123,8)	127,9(48 a 268)	0,96(0,47 a 4,37)
- No	3	-42,7(-211 a ---)	203,7(169,9 a ---)	1,05(0,43 a ---)	-94,7(-655,3 a ---)	165,7(69,6 a ---)	2,49(1,19 a ---)
		p=0,128	p=0,62	p=0,541	p=0,177	p=0,887	p=0,211
ITINAN							
-Sí	18	28,8(-33,1 a 70,5)	369,7(24,6 a 622,7)	0,41(-0,54 a 1,91)	49,8(-44,4 a 123,8)	167,7(48,1 a 283,5)	1,18(0,39 a 2,67)
- No	8	-6,5(-103,1 a 61,8)	294(178,4 a 450,1)	0,84(-0,21 a 1,17)	-39,4(-115,6 a 73,5)	101,2(69,6 a 249,3)	1,54(0,7 a 2,87)
		p=0,406	p=0,61	p=0,849	p=0,141	p=0,799	p=0,416
MVC							
-Sí	3	-42,7(-211,5 a ---)	203,7(169,9 a ---)	1,05(0,43 a ---)	-94,7(-655,3 a ---)	165,7(69,6 a ---)	2,49(1,19 a ---)
- No	23	31,9(-36,1 a 71,7)	378(44,5 a 561)	0,46(-0,47 a 1,53)	34,23(-49,7 a 123,9)	127,9(48,1 a 268)	0,96(0,47 a 2,16)
		p=0,128	p=0,62	p=0,541	p=,177	p=0,887	p=0,211

Mediana (IQR) de los valores obtenidos al restar a las concentraciones de cada biomarcador a nivel basal las obtenidas a las 48 semanas. IP= Inhibidores de la proteasa. ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótidos. ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos/nucleótidos. MVC: Maraviroc.

5.4.- Influencia de la coinfección por VHC y/o replicación viral activa sobre los biomarcadores inflamatorios y de activación inmune/endotelial.

En la tabla 6 se recogen las características epidemiológicas, inmunoviroológicas y de riesgo vascular de los pacientes con coinfección por VHC y/o replicación viral activa a las 48 semanas (VHC+/CV+; n=5) y de los pacientes sin coinfección VHC y con replicación viral controlada (VHC-/CV-; n=21). Al compararlos, los datos inmunoviroológicos y de riesgo vascular no difirieron de forma significativa salvo por una menor cifra de CD4 a las 48 semanas (lógico teniendo en cuenta que el grupo de coinfección VHC incluye a los pacientes con replicación viral no controlada con tratamiento) y una carga viral basal sorprendentemente más baja.

En cuanto a los marcadores de inflamación y activación inmune/endotelial los pacientes con coinfección VHC y/o replicación viral activa presentaron niveles significativamente más elevados a las 48 semanas de sCD163 [1290 (997-2152) vs 776 (501-951); $p=0,01$] y del ratio sCD163/sTWEAK [4,08 (3,04-9,01) vs 2,15 (1,3-2,71); $p<0,001$] con tendencias a un peor perfil inflamatorio en otros marcadores (PCRus, sVCAM-1) que no alcanzaron la significación estadística (tabla 7).

Tabla 6: Características inmunoviroológicas y de riesgo vascular en pacientes con coinfección VHC y/o replicación viral activa (n=5) versus pacientes sin coinfección VHC y replicación viral controlada (n=21).

	VHC/Carga viral +	No VHC/ Carga viral -	<i>p</i>
Edad	43,8 ± 6,5	36 ± 10,6	NS
Sexo (varones/total)	4/5	16/21	NS
Tabaquismo (n/total)	1/5	12/21	NS
HTA (n/total)	1/5	4/21	NS
Diabetes mellitus tipo 2 (n/total)	1/5	0/21	NS
Dislipemia (n/total)	0/5	1/21	NS
CD4 (cél/ml)			
- Nadir	153(150-315)	177 (103-348)	NS
- Basal	319 (211-343)	242 (142-517)	NS
- 48 semanas	370 (300-436)	538 (300-711)	0,017
CD8 (cél/ml)			
- Basal	618 (557-654)	876 (591-1216)	0,002
- 48 semanas	553 (520-622)	847 (619-1157)	0,001
Carga viral basal (copias/ml)	10400 (3200-28600)	52600 (10465-174993)	0,049
IMC (Kg/m ²)	26,2 ± 1,6	25,7 ± 4,8	NS
Presión arterial basal (mmHg)			
- Sistólica	143 ± 7	127 ± 15	NS
- Diastólica	88 ± 16	82 ± 9	NS
Glucemia (mg/dl)			
- Basal	84,4 ± 11	90,4 ± 10,5	NS
- 48 semanas	99,2 ± 13,2	91,6 ± 8,9	NS
Colesterol total (mg/dl)			
- Basal	197,4 ± 61	164,4 ± 40	NS
- 48 semanas	198,8 ± 32	196,7 ± 46	NS
cLDL (mg/dl)			
- Basal	116 ± 47	100 ± 35	NS
- 48 semanas	105 ± 38	110,8 ± 34,9	NS
cHDL (mg/dl)			
- Basal	48 (38-75)	39 (36-48)	NS
- 48 semanas	72 (46-94)	50 (39-60)	NS
Triglicéridos (mg/dl)			
- Basal	133 (100-154)	99 (63-135)	NS
- 48 semanas	90 (84-157)	126 (96-223)	NS

Media (± DE) en variables simétricas. Mediana (IQR) en variables asimétricas. n/total en variables cualitativas. Valor de significación estadística *p* calculado por *t* de Student para muestras independientes en comparaciones de variables normales, U de Mann-Whitney en variables que no cumplían distribución de normalidad y test de Chi cuadrado para variables cualitativas. NS= No significativo.

Tabla 7: Marcadores inflamatorios y de activación inmune/endotelial en pacientes con coinfección VHC y/o replicación viral activa (n=5) versus pacientes sin coinfección VHC y replicación viral controlada (n=21).

	VHC/Carga viral +	No VHC/ Carga viral -	<i>p</i>
sTweak (pg/ml)			
- Basal	321 (281-371)	354 (329-447)	NS
- 48 semanas	321 (221-342)	328 (301-401)	NS
sCD163 (ng/ml)			
- Basal	1460 (768-2283)	1079 (865-1416)	NS
- 48 semanas	1290 (997-2152)	776 (501-951)	0,01
sCD163/sTWEAK			
- Basal	4,72 (2,06-7,9)	2,87 (2,47-3,36)	NS
- 48 semanas	4,08 (3,04-9,01)	2,15 (1,3-2,71)	<0,001
sVCAM-1 (ng/ml)			
- Basal	749 (534-1436)	558 (397-832)	NS
- 48 semanas	423 (365-1176)	393 (311-519)	NS
ADMA (ng/ml)			
- Basal	210 (143-263)	209 (157-314)	NS
- 48 semanas	189 (176-272)	195 (150-260)	NS
PCRus (mg/l)			
- Basal	3,92 (1,93-6,42)	2,18 (1,23-3,65)	NS
- 48 semanas	2,14 (0,89-9,6)	0,99 (0,48-1,53)	NS

Mediana (IQR). Valor de significación estadística *p* calculado por *t* de Student para muestras apareadas en comparaciones de variables normales y U de Mann-Whitney en variables que no cumplían distribución de normalidad. NS: No significativo.

5.5.- Asociación entre marcadores de disfunción endotelial, inflamación y actividad macrofágica y variables de riesgo vascular e inmunovirológicas.

En la tabla 8 se muestran las correlaciones entre los marcadores inflamatorios y de activación inmune/endotelial y los factores inmunovirológicos y de riesgo cardiovascular .

Al analizar la relación entre los biomarcadores emergentes y los factores de riesgo vascular tradicionales no encontramos asociación con la edad, presión arterial, IMC, colesterol total ni cLDL a nivel basal ni a las 48 semanas. sTWEAK se correlacionó negativamente con la concentración de cHDL a nivel basal y a las 48 semanas (Basal: *rho* -0,464; *p*=0,02; 48 semanas: *rho* -0,4; *p*=0,043) y positivamente

con la glucemia basal ($\rho=0,499$; $p=0,009$). El ratio sCD163/sTWEAK con el ratio cLDL/cHDL también de forma negativa a nivel basal y a las 48 semanas (Basal: $\rho: -0,505$; $p=0,01$. 48 semanas: $\rho=-0,461$; $p= 0,018$). Comparando los niveles de biomarcadores según el sexo, presencia de tabaquismo activo o categorías de riesgo por Framingham risk score o el EuroSCORE (tras agrupar los casos en bajo riesgo vs riesgo intermedio-alto) no hallamos diferencias significativas .

Por otro lado, las concentraciones de sCD163 basales se correlacionaron negativamente con el nadir de linfocitos CD4+ ($\rho=-0,473$; $p=0,015$) y a las 48 semanas con el recuento de linfocitos CD4+ ($\rho=-0,562$; $p=0,003$). Igualmente el ratio sCD163/sTWEAK se correlacionó a nivel basal con el nadir de CD4 ($\rho=-0,437$; $p=0,025$) y a las 48 semanas con los CD4 ($\rho=-0,527$; $p=0,006$). No observamos correlación entre ninguno de estos biomarcadores y la carga viral en valor absoluto o tras normalizar por su logaritmo.

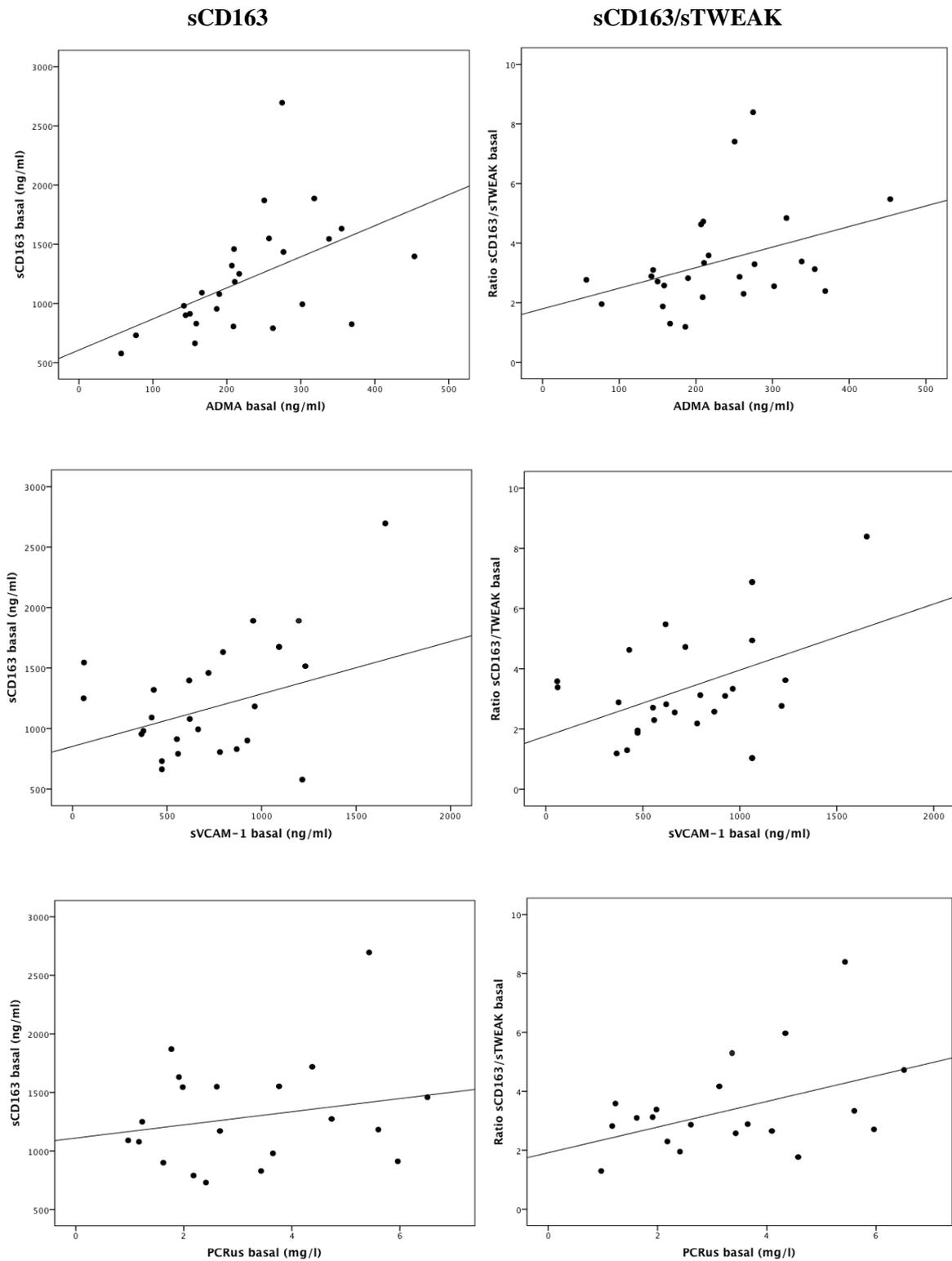
Al analizar la relación entre estos marcadores entre sí, sCD163 y su ratio sCD163/sTWEAK mostraron una correlación positiva con los niveles de ADMA, sVCAM-1 y PCRus a nivel basal sin que esta asociación se mantuviera a las 48 semanas. sTWEAK también se correlacionó con la PCRus a nivel basal aunque no con los marcadores de activación y disfunción endotelial (sVCAM-1 y ADMA).

Tabla 8: Correlación de sTWEAK, sCD163 and sCD163/sTWEAK con los parámetros inmunovirológicos, metabólicos y biomarcadores emergentes de inflamación y activación/function endotelial antes y después del TAR.

	sTWEAK		sCD163		sCD163/sTWEAK	
	Basal	48 semanas	Basal	48 semanas	Basal	48 semanas
Edad	0,062; p=0,762	-0,145; p=0,479	0,348; p=0,081	0,200; p=0,327	0,277; p=0,171	0,254; p=0,211
IMC	-0,008; p=0,975	NA ^a	0,032; p=0,895	NA ^a	0,014; p=0,955	NA ^a
Carga viral	-0,138; p=0,502	NA ^b	0,216 ; p=0,288	0,295; p=0,143	0,207; p=0,311	0,258; p=0,203
Nadir CD4	-0,112; p=0,587	-0,346; p=0,083	-0,473; p=0,015	-0,346; p=0,083	-0,437; p=,025	-0,232; p=0,254
CD4	-0,136; p=0,509	0,064; p=0,756	-0,361; p=0,07	-0,562; p=0,003	-0,288; p= 0,154	-0,527; p=0,006
CD8	-0,061; p=0,766	-0,044; p=0,831	-0,132; p=0,522	-0,181; p=0,377	-0,111; p=0,589	-0,144; p=0,483
CD4/CD8	-0,227; p= 0,265	-0,030; p=0,883	-0,283; p=0,162	-0,393; p=0,047	-0,169; p=0,410	-0,346; p=0,083
Col. Total	0,175; p=0,392	0,095; p=0,644	-0,108; p=0,600	-0,207; p=0,311	-0,299; p=0,137	-0,268; p=0,185
cLDL	0,252; p=0,224	0,112; p=0,588	-0,121; p=0,564	-0,364; p=0,067	-0,334; p=0,103	-0,396; p=0,045
cHDL	-0,454; p=0,023	-0,400; p=0,043	-0,082; p=0,698	0,313; p=0,119	0,159; p=0,447	0,446; p=0,022
cLDL/cHDL	0,604; p=0,001	0,339; p=0,09	-0,145; p=0,49	-0,353; p=0,077	-0,505; p=0,01	-0,461; p=0,018
Triglicéridos	0,179; p=0,382	0,530; p=0,005	-0,001; p=0,996	-0,138; p=0,500	-0,183; p=0,371	-0,352; p=0,077
Creatinina	0,035; p=0,867	0,012; p=0,952	-0,438; p=0,025	-0,186; p=0,364	-0,329; p=0,101	-0,151; p=0,462
Glucosa	0,499; p=0,009	-0,045; p=0,828	-0,056; p=0,785	0,200; p=0,327	-0,304; p=0,131	0,188; p=0,357
ADMA	-0,187; p=0,113	0,304; p= 0,139	0,689; p <0,001	0,262; p=0,206	0,615; p <0,001	0,128; p=0,540
sVCAM-1	-0,209; p=0,088	-0,352; p=0,118	0,374; p=0,002	0,058; p=0,8	0,441; p<0,001	0,188; p=0,414
PCRus	-0,471; p<0,001	-0,289; p=0,229	0,445; p<0,001	0,137; p=0,576	0,557; p<0,001	0,254; p=0,293

Correlación de Pearson o Spearman en función de normalidad de las variables testadas. NA: No aplicable: a) Ausencia de datos a las 48 semanas para calcular IMC. b) Replicación viral indetectable en 23 de los 26 pacientes a las 48 semanas. IMC: Índice de Masa Corporal. Nadir CD4: Menor cifra de linfocitos CD4 + registrada. CD4: Linfocitos CD4 + circulantes. CD8: Linfocitos CD8+ circulantes. Col Total: Colesterol total.

Figura 2: Correlaciones entre sCD163 y ratio sCD163/sTWEAK con biomarcadores de disfunción endotelial (ADMA), activación endotelial (sVCAM-1) e inflamación (PCRus).



5.6.- Diferencias entre pacientes con infección VIH y controles sanos.

Realizamos una comparación de las características de riesgo vascular y los marcadores emergentes de los pacientes VIH con una cohorte de 23 sujetos controles sanos (tabla 9). La media de edad de los pacientes con infección VIH fue mayor que la del grupo control ($37,5 \pm 10,3$ vs $32,1 \pm 8$; $p=0,05$) en el análisis global, aunque no alcanzó la significación estadística en el análisis realizado al excluir los pacientes con coinfección VCH y/o replicación viral activa (tabla 10). Ninguno de los controles presentaba comorbilidad conocida de la esfera cardiovascular (hipertensión arterial o dislipemia), mientras que en grupo de pacientes VIH había 5 pacientes con diagnóstico de HTA y uno de dislipemia.

Los pacientes con infección VIH presentaron basalmente valores significativamente más elevados de glucemia, triglicéridos y del cociente cLDL/cHDL con niveles más bajos de cHDL que los controles sanos. Estas diferencias persistieron e incluso se incrementaron a las 48 semanas de tratamiento en el caso de la glucemia y los triglicéridos. Sin embargo, en el caso del cHDL y el cociente cLDL/cHDL, dos parámetros lipídicos característicamente asociados con inflamación, las diferencias entre sanos y VIH se redujeron con el tratamiento antirretroviral. Así, los niveles de cHDL persistieron significativamente reducidos en pacientes VIH a las 48 semanas respecto a controles, pero la diferencia del cociente cLDL/cHDL no alcanzó la significación estadística. No se hallaron diferencias en la concentración de colesterol total y cLDL entre sanos y VIH, basalmente ni a las 48 semanas (tabla 9).

Los pacientes con infección VIH presentaron un perfil desfavorable de los marcadores de inflamación, activación inmune y endotelial basalmente con niveles de sTweak significativamente más bajos y más elevados de sCD163, ratio CD163/tweak, sVCAM-1, ADMA y PCRus que los controles sanos. Hay que destacar que a las 48

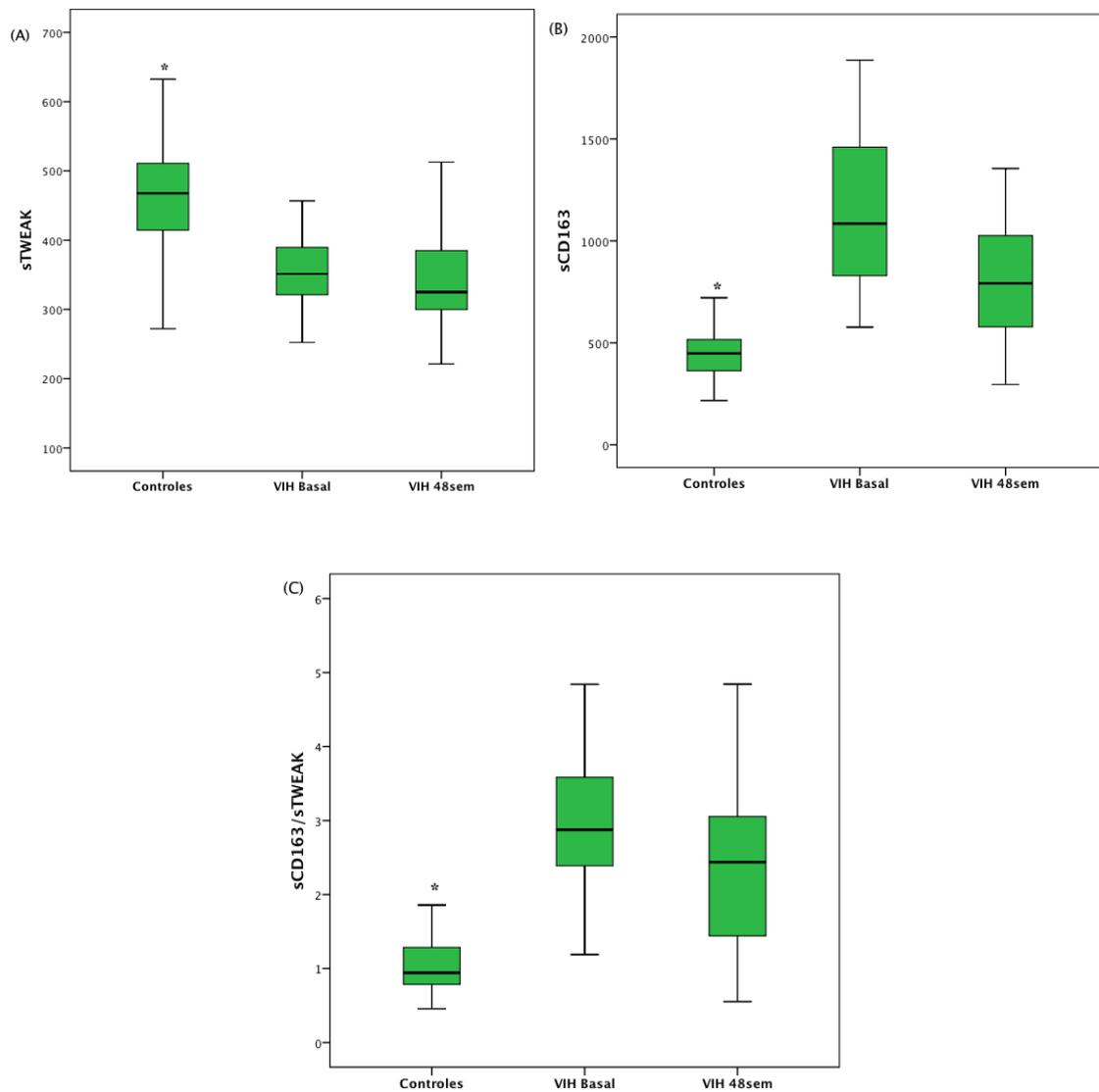
semanas a pesar de la mejoría de estos parámetros con el tratamiento antirretroviral (excepto sTWEAK) los pacientes VIH continuaron presentando peores resultados de inflamación, activación inmune y endotelial, salvo en el caso de sVCAM-1, que descendió con el tratamiento hasta igualarse con los niveles de los sujetos sanos (tabla 9).

Tabla 9: Factores riesgo vascular y marcadores inflamatorios/endoteliales en controles sanos vs pacientes VIH basal y a las 48 semanas (VIH = 26; Controles = 23)

	Controles	VIH basal	p^a	VIH 48 sem	p^b
Edad (años)	32,1 ± 8	37,5 ± 10,3	0,05	-	-
Varones	12/23	20/26	0,065	-	-
Tabaquismo	7/23	13/26	0,136	-	-
Glucemia (mg/dl)	83 ± 6,4	89,3 ± 10,7	0,025	93,1 ± 10	<0,001
Colesterol (mg/dl)					
- Total	185,7 ± 29,5	170,8 ± 45,3	NS	197,1 ± 43,1	NS
- cLDL	115,6 ± 31,7	103,3 ± 37,2	NS	109,6 ± 34,8	NS
- cHDL	62 (60-71)	42 (36-52)	<0,001	50 (41-68)	0,01
- cLDL/cHDL	1,72 ± 0,58	2,45 ± 0,95	0,02	2,19 ± 1,01	NS
Triglicéridos (mg/dl)	60 (50-91)	110 (75-142)	0,001	123 (89-197)	<0,001
Transaminasas (UI/l)					
- GPT	14 (9-22)	23 (18-34)	0,008	21 (16-47)	0,011
- GOT	21 (16-26)	22 (19-33)	NS	26 (16-30)	NS
Creatinina (mg/dl)	0,82 ± 0,11	0,79 ± 0,15	NS	0,83 ± 0,13	NS
sTweak (pg/ml)	468 (410-512)	351 (318-401)	0,001	325 (299-386)	<0,001
sCD163 (ng/ml)	448 (362-526)	1085 (828-1480)	<0,001	792 (562-1025)	<0,001
sCD163/sTWEAK	0,94 (0,78-1,29)	2,88 (2,37-3,85)	<0,001	2,44 (1,42-3,2)	<0,001
sVCAM-1 (ng/ml)	415 (307-601)	617 (424-832)	0,011	393 (318-519)	NS
ADMA (ng/ml)	79,5 (43-112)	210 (158-290)	<0,001	194 (166-256)	<0,001
PCRus (mg/l)	0,4 (0,21-1,33)	2,41 (1,62-5,43)	<0,001	1,16 (0,59-1,58)	0,025

Media (± DE) en variables simétricas. Mediana (IQR) en variables asimétricas. n/total en variables cualitativas. Valor de significación estadística p calculado por t de Student para muestras independientes en comparaciones de variables normales y U de Mann-Whitney en variables que no cumplieran distribución de normalidad. NS= No significativo. a) Significación estadística de la diferencias entre variables en controles vs VIH basal. b) Significación estadística de la diferencias entre variables en controles vs VIH 48 semanas.

Figura 3: Niveles de sTWEAK (A), sCD163 (B) y ratio sCD163/sTWEAK (C) en controles y VIH basalmente y a las 48 semanas de tratamiento. *p<0,05.



De nuevo asumiendo que la coinfección VHC y/o la replicación viral no controlada podrían estar influyendo en los resultados de los marcadores emergentes al ser estímulos que mantienen la activación inmune realizamos el análisis de los datos excluyendo a los pacientes con coinfección por VHC o replicación viral activa en la semana 48 de tratamiento. En este análisis se mantuvieron las diferencias entre VIH y controles observadas en el análisis global salvo en el caso de la PCRus. Aunque a nivel

basal la PCRus estuvo significativamente elevada en los pacientes VIH VHC-/CV- respecto a controles, tras 48 semanas de tratamiento los niveles de PCRus no fueron significativamente mayores que los presentes en los sujetos no VIH (tabla 10).

Tabla 10: Factores riesgo vascular y marcadores inflamatorios/endoteliales en controles sanos vs pacientes VIH basal y a las 48 semanas excluyendo coinfección VHC y carga viral positiva a las 48 semanas (VIH = 21; Controles = 23)

	Controles	VIH basal	<i>p</i> ^a	VIH 48 sem	<i>p</i> ^b
Edad (años)	32,1 ± 8	36 ± 10,6	0,055	-	-
Varones	12/23	16/21	0,09	-	-
Tabaquismo	7/23	9/21	NS	-	-
Glucemia (mg/dl)	83 ± 6,4	90,4 ± 10,5	0,01	91,6 ± 8,9	0,001
Colesterol (mg/dl)					
- Total	185,7 ± 29,5	164,4 ± 40	0,057	196,7 ± 46	NS
- cLDL	115,6 ± 31,7	100 ± 35	0NS	110,8 ± 34,9	NS
- cHDL	62 (60-71)	39 (36-48)	<0,001	50 (39-60)	0,001
- cLDL/cHDL	1,79 ± 0,5	2,51 ± 0,99	0,017	2,3 ± 0,98	0,07
Triglicéridos (mg/dl)	60 (50-91)	99 (63-135)	0,004	126 (96-223)	<0,001
Transaminasas (UI/l)					
- GPT	14 (9-22)	21 (14-35)	0,023	20 (14-44)	0,047
- GOT	21 (16-26)	21 (19-30)	NS	21 (16-28)	NS
Creatinina (mg/dl)	0,82 ± 0,11	0,79 ± 0,15	NS	0,85 ± 0,14	NS
sTweak (pg/ml)	468 (410-512)	354 (329-447)	0,01	328 (301-401)	0,001
sCD163 (ng/ml)	448 (362-526)	1079 (865-1416)	<0,001	776 (501-951)	0,001
sCD163/sTWEAK	0,94 (0,78-1,29)	2,87 (2,47-3,36)	<0,001	2,15 (1,3-2,71)	<0,001
sVCAM-1 (ng/ml)	415 (307-601)	556 (397-832)	0,035	393 (311-519)	1
ADMA (ng/ml)	79,5 (43-112)	209 (157-314)	<0,001	195 (150-260)	<0,001
PCRus (mg/l)	0,4 (0,21-1,33)	2,18 (1,23-3,65)	<0,001	0,99 (0,48-1,53)	NS

Media (± DE) en variables simétricas. Mediana (IQR) en variables asimétricas. n/total en variables cualitativas. Valor de significación estadística *p* calculado por *t* de Student para muestras independientes en comparaciones de variables normales y U de Mann-Whitney en variables que no cumplieran distribución de normalidad. NS= No significativo. a) Significación estadística de la diferencias entre variables en controles vs VIH basal. b) Significación estadística de la diferencias entre variables en controles vs VIH 48 semanas.

6.- DISCUSIÓN

En nuestro estudio investigamos el impacto del tratamiento antirretroviral (TAR) sobre las concentraciones séricas de dos nuevos biomarcadores asociados con enfermedad cardiovascular arteriosclerótica, sCD163 (activación de monocitos-macrófagos), sTWEAK (citocina multifuncional relacionada con inflamación y activación inmune a través de su interacción con CD163), y su ratio sCD163/sTWEAK, en pacientes VIH previamente no expuestos a fármacos antirretrovirales. Paralelamente estudiamos la evolución de biomarcadores de inflamación, activación y disfunción endotelial (PCRus, sVCAM-1 y ADMA) con el TAR y analizamos el comportamiento de los distintos biomarcadores en sujetos VIH versus controles no infectados. A las 48 semanas de tratamiento observamos un descenso de los niveles de sCD163, sCD163/sTWEAK, PCRus y sVCAM-1, reflejando una reducción de la activación macrofágica, el estado inflamatorio y la activación endotelial con el tratamiento antirretroviral, aunque no encontramos diferencias en las concentraciones séricas de sTWEAK ni ADMA. Describimos por primera vez que los pacientes con infección VIH, en comparación con controles no infectados, presentan niveles reducidos de sTWEAK y valores elevados del ratio sCD163/sTWEAK (ambas circunstancias relacionadas con enfermedad cardiovascular en población general^{185, 187, 206}).

En nuestros pacientes con infección VIH previamente no expuestos a fármacos antirretrovirales encontramos concentraciones séricas significativamente más bajas de sTWEAK y más elevadas de sCD163, ratio sCD163/sTWEAK, sVCAM-1, ADMA y PCRus en comparación con los controles no-VIH de similar rango de edad. Este perfil desfavorable de biomarcadores de activación inmune, disfunción endotelial e inflamación, se acompañó de un peor perfil metabólico con glucemia, triglicéridos y cLDL/cHDL elevados y cHDL reducido con respecto a los controles.

Múltiples estudios previos respaldan el hecho de que en pacientes con infección VIH existen niveles elevados de diversos marcadores de inflamación, activación y disfunción endotelial como PCRus, IL-6, sVCAM-1, sICAM-1, P-selectina, E-selectina o ADMA^{163,174,209}. Además, estos biomarcadores se han relacionado con la presencia de enfermedad vascular subclínica y/o el riesgo futuro de padecer un evento cardiovascular en estos sujetos. En pacientes VIH, la PCRus predice el riesgo de enfermedad cardiovascular y mortalidad por cualquier causa^{54,151}. Los niveles de sVCAM-1 se han asociado con el grosor íntima-media¹⁶⁴ y ADMA con el score de calcio coronario¹⁷⁵, ambos marcadores surrogados de arteriosclerosis.

Igualmente, en concordancia con nuestros resultados, varios estudios recientes han descrito que los pacientes con infección VIH no tratados presentan niveles elevados de sCD163 en comparación con controles no infectados. En 38 varones jóvenes con infección VIH y replicación viral activa *Hearps et al.* encontraron niveles elevados de sCD163 en comparación con controles no infectados del mismo rango de edad¹⁷⁸. En la misma línea, *Burdo et al.* comunicaron que en 30 pacientes con infección VIH crónica y 14 con infección temprana (< 1 año desde primoinfección) no tratados, los niveles de sCD163 eran significativamente mayores que en 29 individuos VIH seronegativos¹⁸⁹. También en mujeres con infección VIH se han comunicado concentraciones séricas de sCD163 con respecto a controles no infectadas²¹⁰. En contraste, un único estudio previo en el que se compararon 11 voluntarios no infectados y 38 pacientes infectados por el VIH, no se encontraron diferencias en los niveles de sCD163, aunque 23 de los 38 pacientes VIH estaban recibiendo tratamiento antirretroviral²¹¹. En nuestro conocimiento nuestro trabajo supone la primera comunicación hasta la fecha en relación a sTWEAK en población VIH.

El tratamiento antirretroviral redujo los niveles de sCD163, sCD163/sTWEAK (éste último tras excluir los pacientes con coinfección VHC y/o replicación viral persistente), PCRus y sVCAM-1 a las 48 semanas. No encontramos, sin embargo, un cambio significativo en ADMA ni sTWEAK. En contraposición al efecto beneficioso sobre la activación inmune, inflamación y activación endotelial, a las 48 semanas de tratamiento observamos un aumento de la glucemia y concentraciones de triglicéridos aumentaron, lo cuál era previsible teniendo en cuenta la comentada asociación de algunos fármacos antirretrovirales con el desarrollo de resistencia a la insulina e hipertrigliceridemia.

El descenso de marcadores inflamatorios y de activación endotelial como PCRus, IL-6, sVCAM-1 o sICAM-1 en sujetos VIH naive tras iniciar tratamiento antirretroviral ya se ha descrito en estudios previos^{209,212}. Kristoffersen et al. describieron un descenso de sVCAM-1, sICAM-1, E-selectina y PCRus a los 2 y 14 meses de tratamiento antirretroviral en 115 pacientes VIH²¹². En un trabajo reciente en el que se incluyeron 250 pacientes del estudio SMART, a los 12 meses de tratamiento antirretroviral se observó un mínimo descenso de los niveles de ADMA (mediana del cambio -4 ng/ml) sin que se alcanzase significación estadística en uno de los brazos del estudio (asignado a tratamiento antirretroviral inmediato) mientras que no se modificaron los niveles de ADMA en el otro brazo del estudio (pacientes asignados a tratamiento diferido en función de sus niveles de linfocitos CD4)²¹³. Estos hallazgos distan mucho de ser concluyentes por lo que el posible impacto del TAR sobre las concentraciones séricas de ADMA está aún en entredicho.

En el caso del sCD163, Burdo et al. en un estudio de diseño similar al nuestro, aunque con menor tiempo de seguimiento, que tras 3 meses de tratamiento

antirretroviral los niveles de sCD163 se reducían tanto en pacientes con infección VIH crónica como en aquellos con infección temprana (< 1 año desde primoinfección)¹⁸⁹.

Por tanto, en conjunto, estos resultados apoyan que el tratamiento antirretroviral reduce los niveles de marcadores de activación del sistema monocítico-macrofágico (sCD163 y sCD163/sTWEAK), inflamación (PCRus) y activación endotelial (sVCAM-1). Sin embargo, no está claro el posible efecto del TAR sobre las concentraciones de ADMA y nuestros resultados apuntan a que no modificaría los niveles de sTWEAK, aunque no hay más datos al respecto hasta el momento. El descenso de estos biomarcadores, pone de manifiesto que a pesar de los posibles efectos metabólicos deletéreos de los antirretrovirales (elevación de glucemia y triglicéridos en nuestra muestra), el TAR tiene un efecto neto favorable sobre el estado proinflamatorio y de activación inmune, ambos procesos que han mostrado ser de gran relevancia en la arteriosclerosis de los pacientes con infección VIH. En este sentido, nuestros resultados, refuerzan la hipótesis de que el tratamiento antirretroviral, probablemente mediante la supresión de la replicación viral permite controlar la activación inmune y de vías inflamatorias deletéreas para el árbol vascular. Por tanto, instaurar un TAR eficaz debe ser uno de los pilares en la prevención de la enfermedad cardiovascular arteriosclerótica en pacientes con infección VIH, como ya se recoge en las recomendaciones de tratamiento de pacientes con infección VIH⁷⁶.

A pesar del descenso observado en los parámetros de activación inmune, endotelial e inflamación con el tratamiento antirretroviral (excepto sTWEAK y ADMA) a las 48 semanas los niveles de sCD163, el ratio sCD163/sTWEAK y PCRus persistieron significativamente por encima de los observados en los controles. No fue así en el caso de sVCAM-1, que descendió hasta equipararse a los niveles de los sujetos sanos. Los niveles de ADMA y sTWEAK, que no se modificaron con el TAR, se

mantuvieron elevados y descendidos respectivamente con respecto a los controles al igual que a nivel basal. Estos resultados se mantuvieron tanto en el análisis global como tras excluir los pacientes con coinfección VHC y/o replicación viral activa, es decir al analizar únicamente los 21 pacientes sin coinfección VHC y con supresión completa de la replicación viral.

Nuestros resultados están en la línea de estudios previos en los que se describe que a pesar de recibir un tratamiento antirretroviral eficaz, los pacientes VIH continúan presentando concentraciones elevadas de mediadores inflamatorios y endoteliales. Quizás el más significativo de estos trabajos fue el llevado a cabo en casi 800 pacientes del estudio SMART en comparación con más de 8500 pacientes controles sin infección VIH pertenecientes a dos cohortes de estudios del ámbito cardiovascular (MESA y CARDIA). En este estudio se observó que los pacientes VIH, en comparación con los no infectados, presentaron concentraciones más elevadas de PCRus, IL-6, dímeros D y cistatina C, que persistían incluso tras suprimir la replicación viral con el TAR²⁰⁹. En relación al sCD163 los datos son más escasos pero hay algún trabajo que aporta resultados concordantes con los nuestros. En el previamente citado estudio de *Burdo et al.* los pacientes con infección VIH crónica presentaron un descenso de los niveles de sCD163 a los 3 meses de TAR aunque persistieron elevados al compararlos con los controles no VIH. Por el contrario, en los pacientes con infección VIH temprana (< 1 año desde primoinfección), los niveles de sCD163 a los 3 meses de tratamiento se redujeron hasta equipararse con los de los controles. Estos datos sugieren que la disfunción y activación macrofágica persistente de los pacientes VIH podría no ser un resultado inmediato y que se requeriría al menos 1 año de infección para alcanzar un estado de activación mantenida que ya no sería posible revertir completamente con el TAR¹⁸⁹. En nuestro caso no encontramos diferencias en el comportamiento de sCD163

u otros biomarcadores según el tiempo desde el diagnóstico de la infección VIH mayor o menor de un año. Sin embargo, a diferencia del estudio de *Burdo et al.* en el nuestro no podemos hablar de infección temprana porque el momento en que se documentaba la infección VIH no era necesariamente en la fase de primoinfección pudiendo también haberse realizado el diagnóstico en la fase crónica de la infección VIH con un tiempo de latencia previo desconocido. Por tanto, en nuestro trabajo no pudimos testar adecuadamente esta hipótesis.

En cualquier caso, nuestros resultados y los de estudios previos, apoyan la hipótesis de que los pacientes VIH presentan un estado de activación inmune, disfunción endotelial e inflamación de bajo grado que el tratamiento antirretroviral puede revertir parcialmente, pero no solucionar por completo, manteniéndose un estado de activación inmune-endotelial-inflamación que participaría en el desarrollo de enfermedad cardiovascular en estos pacientes a pesar de un correcto tratamiento antirretroviral.

En este sentido, son de gran relevancia los hallazgos relativos a la persistencia de la activación monocítica-macrofágica a pesar del TAR y en ausencia “factores confundentes” (replicación viral activa y/o coinfección VHC). En este escenario de pacientes VIH estables bajo tratamiento antirretroviral y con replicación viral controlada (el objetivo deseable en la práctica clínica), los niveles de sCD163 han demostrado asociarse con la presencia de enfermedad vascular subclínica. En 102 hombres jóvenes asintomáticos infectados por el VIH y con carga viral baja o indetectable, sCD163 se asoció de forma independiente con el porcentaje de placas coronarias no calcificadas tanto en el análisis global como en los 69 pacientes con ARN viral indetectable¹⁹⁰. Además, en un escenario similar los niveles de sCD163 se correlacionaron con la inflamación aórtica medida por tomografía por emisión de

positrones¹⁹¹. En ambos casos, ni la presencia de placas coronarias ni la inflamación vascular se asociaron con otros biomarcadores de enfermedad cardiovascular, como la PCRus o los dímeros D. Esto sugiere que la activación de monocitos-macrófagos podría jugar un papel central en la arteriosclerosis coronaria y aórtica en pacientes VIH bajo tratamiento antirretroviral eficaz, de forma independiente a otras vías como la inflamación. En aparente contraposición a estos resultados, un trabajo publicado en este mismo año, con 60 pacientes infectados por el VIH en tratamiento y con replicación viral controlada, no encontró asociación entre el grosor de la íntima-media y la presencia de placas carotídeas con marcadores de la activación de monocitos-macrófagos como sCD163 y sCD14. Sin embargo, el grosor íntima-media se correlacionó con las concentraciones de fibrinógeno y sTNFR-I (receptor soluble del factor de necrosis tumoral) y los sujetos con placas carotídeas presentaron niveles más altos de sVCAM-1 y un mayor porcentaje de linfocitos CD8 + CD38 + HLA-DR + (marcador de la activación de linfocitos T CD8)²¹⁴. Estos resultados no son necesariamente opuestos y podrían reflejar un papel diferente de las distintas respuestas inmunes (monocitos-macrófagos vs linfocitos T CD8), la inflamación o la activación endotelial en el desarrollo de lesiones arterioscleróticas en sitios vasculares específicos. Así, en la enfermedad coronaria y aórtica podrían estar implicados mecanismos distintos a los que subyacen en la enfermedad carotídea. Para aclarar esta situación, son necesarios estudios que evalúen biomarcadores que midan estos procesos (activación inmune innata y adquirida, inflamación y función/activación endotelial) y su hipotética asociación con la presencia de enfermedad arteriosclerótica en distintos territorios vasculares.

Son de especial interés también los hallazgos relacionados con la influencia de la replicación viral y/o la coinfección por VHC en los parámetros de inflamación y

activación inmune. En el análisis global observamos una tendencia no significativa al descenso del ratio sCD163/sTWEAK a las 48 semanas. Sin embargo, al excluir del análisis los pacientes con coinfección por VHC o replicación viral persistente con tratamiento, las diferencias entre el ratio basal y postratamiento se ampliaron y se alcanzó la significación estadística. Esto nos hizo pensar que estos factores, cuando están presentes, podrían influir en el estado de activación inmune de nuestros pacientes. Al comparar aquellos pacientes con coinfección por VHC y/o replicación viral persistente (VHC+/CV+) frente a los que no estaban coinfectados y tenían la carga viral indetectable con tratamiento (VHC-/CV-), los primeros presentaron niveles de sCD163 y ratio sCD163/sTWEAK más elevados a las 48 semanas. Las concentraciones de sCD163 a las 48 semanas en el grupo de VHC+/CV+ prácticamente doblaban a las del grupo VHC-/CV- e incluso superaban las concentraciones basales de este grupo sin coinfección VHC antes de iniciar TAR (ver tabla 6). Estos resultados podrían indicar que el fallo del TAR en controlar la replicación viral o la existencia de coinfección VHC disminuirían el efecto beneficioso de éste en el control de la activación macrofágica lo cual podría tener consecuencias deletéreas favoreciendo el desarrollo de enfermedad cardiovascular arteriosclerótica. En este sentido, estos resultados son compatibles y complementarios con los obtenidos por *Sosner et al.* que recientemente comunicaron que la coinfección VHC es un factor independientemente asociado a la presencia de placas vasculares (carotídeas o femorales) en pacientes VIH, con una mayor prevalencia de las mismas en pacientes coinfectados respecto a VIH sin coinfección VHC¹²¹. Por tanto la presencia de coinfección VHC y/o la persistencia de replicación viral activa a pesar de tratamiento, podrían suponer factores que modulen al alza la estratificación del riesgo vascular de los pacientes VIH y justificar una vigilancia cardiovascular más estrecha.

Por otro lado, el descenso de sCD163 a las 48 semanas estuvo modulado por la clase de fármacos antirretrovirales usados, de forma que los pacientes que tomaron inhibidores de la proteasa (IPs), presentaron un menor descenso de las concentraciones de sCD163 en comparación con aquellos cuya pauta de tratamiento no incluyó un IP. No hubo diferencias en otros marcadores ni al analizar por el uso de otras clases farmacológicas. Este hallazgo, no descrito previamente, va en la línea de estudios previos que relacionan los IPs con efectos deletéreos cardiovasculares²¹⁵ y sugiere que el uso de inhibidores de la proteasa podría asociar un peor perfil de activación monocítica-macrofágica a pesar de su eficacia inmunoviológica. En este sentido, nuestros resultados son apoyados por la reconocida asociación entre la exposición a IPs y el desarrollo de enfermedad cardiovascular en pacientes VIH^{37,216} y apuntan en la dirección de un menor control de la activación del sistema monocítico-macrofágico como uno de los posibles mecanismos subyacentes en esta relación IPs-enfermedad cardiovascular.

Por último es interesante comentar que a nivel basal, tanto sCD163 como el ratio sCD163/sTWEAK se correlacionaron consistentemente con ADMA, sVCAM-1 y ADMA, situación que no se mantuvo a las 48 semanas. De forma similar, sTWEAK se correlacionó negativamente a nivel basal con la PCRus (no con el resto de biomarcadores) y esta relación no se mantuvo a las 48 semanas. Este hecho sugiere que el TAR influye de distinta forma sobre la activación de monocitos-macrófagos, la activación/disfunción endotelial y la inflamación, modificando la relación existente entre estos biomarcadores cuando está presente. Por otro lado, mientras los niveles de sCD163 se correlacionaron a nivel basal con el nadir de linfocitos CD4 (cifra más baja registrada en cualquier momento de la evolución del paciente) y con el recuento de CD4 y cociente CD4/CD8 a las 48 semanas, sTWEAK no mostró ninguna asociación

con parámetros inmunológicos. Ninguno de ellos se asoció con la carga viral en valor absoluto o transformada a logaritmo. Por el contrario sTWEAK se correlacionó con parámetros metabólicos, cHDL y glucosa a nivel basal y cHDL y triglicéridos a las 48 semanas. En estudios previos se han obtenido resultados variables en cuanto a sCD163 y su asociación con parámetros inmunoviroológicos comunicándose correlaciones con el recuento de CD4, el ratio CD4/CD8 y la carga viral que no se mantuvieron en los distintos trabajos^{189,190,211}.

Nuestro estudio presenta varias limitaciones. En primer lugar hay que tener en cuenta que el diseño y tamaño muestral no son adecuados para explorar correlaciones entre los diferentes biomarcadores emergentes siendo el objetivo principal estudiar la influencia del tratamiento antirretroviral sobre los mismos en pacientes VIH *naive* (no tratados previamente) y explorar las diferencias entre controles y pacientes VIH. Además, el escaso número de pacientes con coinfección por VHC y/o replicación viral no controlada nos hace ser cautos a la hora de extrapolar nuestros resultados al global de los pacientes VIH en cuanto a la posible influencia de estas dos circunstancias en la activación inmune. Otro escollo a tener en cuenta son las diferencias en las características basales entre el grupo control y el de pacientes VIH (menor edad, menos tabaquismo y menos factores de riesgo vascular metabólicos), lo cual podría haber influido en los resultados. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la magnitud de esta diferencia fue pequeña y no alcanzó la significación estadística ni para la edad ($32,1 \pm 8$ vs $36 \pm 10,6$; $p=0,055$) ni el tabaquismo ($7/23$ vs $9/21$; $p=0,29$) en la comparación excluyendo los casos con coinfección VHC y/o replicación viral activa. En este escenario se mantuvieron los resultados del análisis global e incluso se hicieron más patentes como en el caso del descenso del ratio sCD163/sTWEAK. En el caso de la mayor prevalencia de hipertensión arterial y dislipemia en el grupo VIH hay que

considerar que la propia infección VIH favorece el desarrollo de estas alteraciones por lo que esta mayor prevalencia podemos considerarla inherente a la misma. Por último, dado el escaso tamaño muestral y la amplia variabilidad de regímenes de tratamiento antirretroviral no pudimos estudiar diferencias en los biomarcadores en función del uso fármacos antirretrovirales concretos y realizamos el análisis por clases farmacológicas únicamente.

Algunas de estas limitaciones esperamos poder subsanarlas en una segunda fase encuadrada en el Proyecto de Excelencia financiado por el Instituto de Salud Carlos III “*Inmunosenescencia y multifuncionalidad de linfocitos T. Estudio de las variables predictivas de mortalidad, riesgo vascular y respuesta a vacunas en el anciano sano y en pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo1 (VIH-1) como modelo de inmunosenescencia prematura*”. En esta segunda fase se prevee evaluar de forma retrospectiva estos biomarcadores relacionados con enfermedad vascular, junto con marcadores de inmunosenescencia (grupo de inmunovirología Dr. Leal), en una muestra de mayor tamaño de pacientes VIH bajo tratamiento antirretroviral estable con el objetivo de estudiar mejor la relación entre estos biomarcadores, tipos de tratamiento, parámetros metabólicos e inmunoviroológicos y variables clínicas finales.

En resumen, nuestros resultados, en consonancia con comunicaciones previas, apoyan la hipótesis de que el tratamiento antirretroviral es capaz de reducir el estado de inflamación, activación endotelial y de monocítica-macrofágica implicado en el desarrollo de arteriosclerosis en pacientes con infección VIH, aunque sólo parcialmente, persistiendo un grado de activación mantenida a pesar de un tratamiento antirretroviral eficaz. Como novedad describimos por primera vez que los niveles de sTWEAK se encuentran reducidos en pacientes VIH respecto a controles sanos, y los

niveles de sCD163 y el ratio sCD163/sTWEAK elevados, tanto basalmente (sin tratamiento antirretroviral) como a las 48 semanas de tratamiento. Su consistente asociación con enfermedad vascular en población general, nos hace proponerlos como posibles marcadores de riesgo vascular en pacientes con infección VIH. Son necesarios estudios prospectivos en los que se evalúe la asociación de sTWEAK, sCD163 y su ratio sTWEAK/sCD163 con la incidencia de enfermedad vascular en población VIH con el objetivo de poder aplicarlos en la predicción del riesgo de padecer un evento vascular en estos pacientes en los que las escalas de estratificación de riesgo tradicionales muestran un comportamiento subóptimo. Por último, nuestro estudio pone de manifiesto que puede haber factores que modulen nuestra capacidad de controlar la activación inmune de los pacientes VIH con el TAR. Por un lado, la presencia de coinfección VHC y/o el fallo en el control de la replicación viral y por otro el uso de inhibidores de la proteasa pueden atenuar el efecto beneficioso del TAR en la reducción del estado de activación inmune persistente, lo cual podría tener consecuencias deletéreas sobre la arteriosclerosis en estos pacientes.

7.- CONCLUSIONES

Como conclusiones de nuestro trabajo y en relación a los objetivos propuestos podemos decir que:

1.- El tratamiento antirretroviral redujo la activación de los monocitos-macrófagos (sCD163, sCD163/sTWEAK), el estado de inflamación (PCRus) y la activación endotelial (sVCAM-1) en una cohorte de pacientes VIH previamente no tratados. A pesar de ello, los pacientes VIH bajo tratamiento antirretroviral eficaz, mantuvieron un estado de inflamación y activación inmune persistentes al compararlos con controles sin infección VIH.

2.- Describimos por primera vez que las concentraciones séricas de sTWEAK y los valores del ratio sCD163/sTWEAK, dos nuevos marcadores asociados consistentemente con enfermedad cardiovascular en población general, se encuentran reducidas y elevados respectivamente en pacientes VIH respecto a controles no infectados, tanto basalmente (sin tratamiento) como a las 48 semanas de tratamiento antirretroviral.

3.- En pacientes con infección VIH la presencia de coinfección VHC y/o fallo en el control de la replicación viral a pesar de recibir tratamiento antirretroviral podrían condicionar una mayor activación de los monocitos-macrófagos en relación a pacientes que no presentan coinfección VHC y tienen la replicación viral suprimida con el tratamiento.

8.- BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*. 1998 Mar 26;338(13):853-60.
- 2.- Mocroft A, Ledergerber B, Katlama C, Kirk O, Reiss P, d'Arminio-Monforte A, et al. Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: an observational study. *Lancet*. 2003 Jul 5;362(9377):22-9.
- 3.- Lima VD, Hogg RS, Harrigan PR, Moore D, Yip B, Wood E, et al. Continued improvement in survival among HIV-infected individuals with newer forms of highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2007 Mar 30;21(6):685-92.
- 4.- Phillips AN, Neaton J, Lundgren JD. The role of HIV in serious diseases other than AIDS. *AIDS*. 2008 Nov 30;22(18):2409-18.
- 5.- Palella FJ Jr, Baker RK, Moorman AC, Chmiel JS, Wood KC, Brooks JT, et al. Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006;43:27–34.
- 6.- Crum NF, Riffenburgh RH, Wegner S, Agan BK, Tasker SA, Spooner KM, et al. Comparisons of causes of death and mortality rates among HIV-infected persons: analysis of the pre-, early, and late HAART (highly active antiretroviral therapy) eras. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006;41:194–200.
- 7.- Cockerham L, Scherzer R, Zolopa A, Rimland D, Lewis CE, Bacchetti P, et al. Association of HIV infection, demographic and cardiovascular risk factors with all-cause mortality in the recent HAART era. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010;53:102–6.
- 8.- Zwahlen M, Harris R, May M, Hogg R, Costagliola D, de Wolf F, et al. Mortality of HIV-infected patients starting potent antiretroviral therapy: comparison with the general population in nine industrialized countries. *Int J Epidemiol*. 2009;38:1624–33.
- 9.- Berry SA, Fleishman JA, Moore RD, Gebo KA; for the HIV Research Network. Trends in Reasons for Hospitalization in a Multisite United States Cohort of Persons Living With HIV, 2001-2008. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012;59(4):368-375.
- 10.- Engsig FN, Hansen AB, Gerstoft J, Kronborg G, Larsen CS, Obel N. Inpatient admissions and outpatient visits in persons with and without HIV infection in Denmark, 1995–2007. *AIDS*. 2010;24:457–461.
- 11.- French AL, Gawel SH, Hershov R, Benning L, Hessol NA, Levine AM, et al. Trends in mortality and causes of death among women with HIV in the United States: a 10-year study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009;51(4):399-406.

- 12.- Krentz HB, Kliewer G, Gill MJ. Changing mortality rates and causes of death for HIV-infected individuals living in Southern Alberta, Canada from 1984 to 2003. *HIV Med.* 2005;6:99-106.
- 13.- Crum NF, Riffenburgh RH, Wegner S, Agan BK, Tasker SA, Spooner KM, et al. Comparisons of causes of death and mortality rates among HIV infected persons: analysis of the pre-, early, and late HAART (highly active antiretroviral therapy) eras. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006;41(2):194-200.
- 14.- Sackoff JE, Hanna DB, Pfeiffer MR, Torian LV. Causes of death among persons with AIDS in the era of highly active antiretroviral therapy: New York City. *Ann Intern Med.* 2006;145(6):397-406.
- 15.- Klein D, Hurley LB, Quesenberry CP Jr, Sidney S. Do protease inhibitors increase the risk for coronary heart disease in patients with HIV-1 infection? *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002;30(5):471-7.
- 16.- Currier JS, Taylor A, Boyd F, Dezii CM, Kawabata H, Burtcel B, et al. Coronary heart disease in HIV-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;33(4):506-12.
- 17.- 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(7):2506-12.
- 18.- Obel N, Thomsen HF, Kronborg G, Larsen CS, Hildebrandt PR, Sørensen HT, et al. Ischemic heart disease in HIV-infected and HIV-uninfected individuals: a population-based cohort study. *Clin Infect Dis.* 2007;44(12):1625-31.
- 19.- Islam F, Wu J, Jansson J, Wilson D. Relative risk of cardiovascular disease among people living with HIV: a systematic review and meta-analysis. *HIV Med.* 2012;13(8):453-68.
- 20.- Currier JS, Taylor A, Boyd F, Dezii CM, Kawabata H, Burtcel B, et al. Coronary heart disease in HIV-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;33: 506-12.
- 21.- Palacios R, Alonso I, Hidalgo A, Aguilar I, Sánchez MA, Valdivielso P, et al. Peripheral arterial disease in HIV patients older than 50 years of age. *AIDS Res Human Retroviruses.* 2008;8:1043-6.
- 22.- Lorenz MW, Stephan C, Harmjan A, Staszewski S, Buehler A, Bickel M, et al. Both long-term HIV infection and highly active antiretroviral therapy are independent risk factors for early carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2008;196:720-6.
- 23.- Hsue PY, Hunt PW, Scnell A, Kalapus SC, Hoh R, Ganz P, et al. Role of viral replication, antiretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. *AIDS.* 2009;23(9):1059-67.

- 24.- Kingsley LA, Cuervo-Rojas J, Muñoz J, Palella FJ, Post W, Witt MD, et al. Subclinical coronary atherosclerosis, HIV infection and antiretroviral therapy: Multicenter AIDS Cohort Study. *AIDS*. 2008;22:1589-99.
- 25.- Carr A, Grund B, Neuhaus J, El-Sadr WM, Grandits G, Gibert C, et al. Asymptomatic myocardial ischaemia in HIV-infected adults. *AIDS*. 2008; 22:257-67.
- 26.- Duong M, Cottin Y, Piroth L, Fargeot A, Lhuiller I, Bobillier M, et al. Exercise stress testing for detection of silent myocardial ischemia in human immunodeficiency virus-infected patients receiving antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2002; 34:523-8.
- 27.- Stein JH, Klein MA, Bellehumeur JL, McBride PE, Wiebe DA, Otvos JD, et al. Use of human immunodeficiency virus-1 protease inhibitors is associated with atherogenic lipoprotein changes and endothelial dysfunction. *Circulation*. 2001; 104:257-62.
- 28.- Nolan D, Watts GF, Herrmann SE, French MA, John M, Mallal S. Endothelial function in HIV-infected patients receiving protease inhibitor therapy: does immune competence affect cardiovascular risk? *QJM*. 2003;96:825-32.
- 29.- Blum A, Hadas V, Burke M, Yust I, Kessler A. Viral load of the human immunodeficiency virus could be an independent risk factor for endothelial dysfunction. *Clin Cardiol*. 2005;28:149-53.
- 30.- Solages A, Vita JA, Thornton DJ, Murray J, Heeren T, Craven DE, et al. Endothelial function in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis*. 2006;42:1325-32.
- 31.- Van Wijk JP, De Koning EJ, Cabezas MC, Joven J, Op'tRoodt J, Rabelink TJ, et al. Functional and structural markers of atherosclerosis in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Am CollCardiol*. 2006; 47:1117-23.
- 32.- Blanco JJ, García IS, Cerezo JG, De Rivera JM, Anaya PM, Raya PG, et al. Endothelial function in HIV-infected patients with low or mild cardiovascular risk. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 58:133-9.
- 33.- Andrade AC, Ladeia AM, Netto EM, Mascarenhas A, Cotter B, Benson CA, et al. Cross-sectional study of endothelial function in HIV-infected patients in Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008; 24:27-33.
- 34.- Sen S, Rabinstein AA, Elkind MS, Powers WJ. Recent Developments regarding Human Immunodeficiency Virus Infection and Stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2012;33(3):209-18.
- 35.- Cole JW, Pinto AN, Hebel JR, Buchholz DW, Earley CJ, Johnson CJ, et al. Acquired immunodeficiency syndrome and the risk of stroke. *Stroke* 2004; 35: 51–56.
- 36.- Ovbiagele B, Nath A: Increasing incidence of ischemic stroke in patients with HIV infection. *Neurology* 2011; 76: 444–450.

- 37.- Friis-Møller N, Reiss P, Sabin CA, Weber R, Monforte A, El-Sadr W, et al. for the DAD Study Group. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2007; 356: 1723-35.
- 38.- Mary-Krause M, Cotte L, Simon A, Partisani M, Costagliola D; Clinical Epidemiology Group from the French Hospital Database. Increased risk of myocardial infarction with duration of protease inhibitor therapy in HIV-infected men. *AIDS*. 2003;17(17):2479-86.
- 39.- Hasse B, Ledergerber B, Furrer H, Battegay M, Hirschel B, Cavassini M, et al. Swiss HIV Cohort Study. Morbidity and aging in HIV-infected persons: the Swiss HIV cohort study. *Clin Infect Dis*. 2011;53(11):1130-9.
- 40.- Deeks SG, Phillips AN. HIV infection, antiretroviral treatment, ageing, and non-AIDS related morbidity. *BMJ* 2009; 338:a3172.
- 41.- Deeks SG. HIV infection, inflammation, immunosenescence, and aging. *Annu Rev Med* 2011; 62:141–55.
- 42.- Effros RB, Fletcher CV, Gebo K, Halter JB, Hazzard WR, Horne FM, et al. Aging and infectious diseases: workshop on HIV infection and aging: what is known and future research directions. *Clin Infect Dis* 2008; 47:542–53.
- 43.- Guaraldi G, Orlando G, Zona S, Menozzi M, Carli F, Garlassi E, et al. Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared with the general population. *Clin Infect Dis*. 2011;53(11):1120-6.
- 44.- Deeks SG. Immune dysfunction, inflammation, and accelerated aging in patients on antiretroviral therapy. *Top HIV Med*. 2009; 17:118–23.
- 45.- Kirk JB, Goetz MB. Human immunodeficiency virus in an aging population, a complication of success. *J Am Geriatr Soc*. 2009; 57: 2129–38.
- 46.- Powderly WG. Non-AIDS-defining illnesses in the mature patient. The graying of an epidemic—Clinical considerations of HIV and aging. Vol 3, 2010.
- 47.- Goulet JL, Fultz SL, Rimland D, Butt A, Gibert C, Rodriguez-Barradas M, et al. Aging and infectious diseases: do patterns of comorbidity vary by HIV status, age, and HIV severity? *Clin Infect Dis* 2007; 45:1593–601.
- 48.- Henry K, Melroe H, Huebsch J, Hermundson J, Levine C, Swensen L, et al. Severe premature coronary artery disease with protease inhibitors. *Lancet*. 1998 May 2;351(9112):1328.
- 49.- Gallet B, Pulik M, Genet P, Chedin P, Hiltgen M. Vascular complications associated with use of HIV protease inhibitors. *Lancet*. 1998 Jun 27;351(9120):1958-9.

- 50.- El-Sadr WM, Lundgren JD, Neaton JD, Gordin F, Abrams D, Arduino RC, et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med.* 2006;355:2283-96.
- 51.- Fisher SD, Miller TL, Lipshultz SE. Impact of HIV and highly active antiretroviral therapy on leukocyte adhesion molecules, arterial inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2006;185:1-11.
- 52.- De Larrañaga GF, Petroni A, Deluchi G, Alonso BS, Benetucci JA. Viral load and disease progression as responsible for endothelial activation and/or injury in human immunodeficiency virus-1- infected patients. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2003;14: 15-8.
- 53.- 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;185:456-62.
- 54.- Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, et al; INSIGHT SMART Study Group. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.* 2008;5 (10):e203.
- 55.- Mu H, Chai H, Lin PH, Yao Q, Chen C. Current update on HIV-associated vascular disease and endothelial dysfunction. *World J Surg.* 2007;31:632-43.
- 56.- Eugenin EA, Morgello S, Klotman ME, Mosoian A, Lento PA, Berman JW, 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;172:1100-11.
- 57.- Oshima T, Flores SC, Vaitaitis G, Coe L, Joh T, Park JH, et al. HIV-1 Tat protein increases endothelial solute permeability through tyrosine kinase and mitogen activated protein kinase-dependent pathways. *AIDS.* 2000; 14:475-82.
- 58.- Jia H, Lohr M, Jezequel S, Davis D, Shaikh S, Selwood D, et al. Cysteine-rich and basic domain HIV1 Tat peptides inhibit angiogenesis and induce endothelial cell apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 284:469-79.
- 59.- Huang MB, Khan M, García-Barrio M, Powell M, Bond VC. Apoptotic effects in primary human umbilical vein endothelial cell culture caused by exposure to virion associated and cell-membrane-associated HIV-1 gp120. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2001;27:213-21.
- 60.- Westendorp MO, Shatrov VA, Schulze-Osthoff K, Frank R, Kraft M, Los M, et al. HIV-1 Tat potentiates TNF α -induced NF- κ B activation and cytotoxicity by altering the cellular redox state. *Embo J.* 1995;14:546-54.
- 61.- Stins MF, Pearce D, Di Cello F, Erdreich-Epstein A, Pardo CA, Sik Kim K. Induction of intercellular adhesion molecule-1 on human brain endothelial cells by

HIV-1 gp120: role of CD4 and chemokine coreceptors. *Lab Invest.* 2003;83(12):1787-98.

62.- Dhawan S, Puri RK, Kumar A, Duplan H, Masson JM, Aggarwal BB. Human immunodeficiency virus-1 tat protein induces the cell surface expression of endothelial leucocyte adhesion molecule-1, and intercellular adhesion molecule-1 in human endothelial cells. *Blood.* 1997;90:1535-44.

63.- Ren Z, Yao Q, Chen C. HIV-1 envelop glycoprotein 120 increases intercellular adhesion molecule-1 expression by human endothelial cells. *Lab Invest.* 2002;82:245-55.

64.- Aukrust P, Luna L, Ueland T, Johansen RF, Müller F, Froland SS, et al. Impaired base excision repair and accumulation of oxidative base lesions in CD4+ T cells of HIV infected patients. *Blood.* 2005;105:4730-5.

65.- Baza B, Pérez de Oteiza C, Carrió D, Salgueiro M, del Romero J. Perfil lipídico en pacientes VIH (+) no tratados. *Infección VIH: ¿factor de riesgo vascular? An Med Interna (Madrid)* 2007; 24: 160-167.

66.- Grunfeld, Pang M, Doerrle W, Shugenaba JK, Jensen P, Feingold KR. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metabol* 1992;74: 1045-52.

67.- Sàngrele R, Sardetti M, Gallati H, Reibnegger G, Waachter H, Duch D. Decreased plasma concentrations of HDL Cholesterol in HIV-infected individuals are associated with immuneactivation. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1994;7:11449-52.

68.- Rose H, Hoy J, Woolley I, Tchoua U, Bukrinsky M, Dart A, et al. HIV infection and high density lipoprotein metabolism. *Atherosclerosis.* 2008;199(1):79-86.

69.- Rose H, Woolley I, Hoy J, Dart A, Bryant B, Mijch A, et al. HIV infection and high-density lipoprotein: the effect of the disease vs the effect of treatment. *Metabolism.* 2006;55(1):90-5

70.- Phillips AN, Carr A, Neuhaus J, Visnegarwala F, Prineas R, Burman WJ, 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; 13:177-87.

71.- Baker JV, Neuhaus J, Duprez D, Cooper DA, Hoy J, Kuller L, et al; INSIGHT SMART Study Group. Inflammation predicts changes in high-density lipoprotein particles and apolipoprotein A1 following initiation of antiretroviral therapy. *AIDS.* 2011;25(17):2133-42.

72.- Norata GD, Pirillo A, Catapano AL. HDLs, immunity, and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2011;22 (5):410-6.

- 73.- Friis-Moller 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.
- 74.- Vaughn G, Detels R. Protease inhibitors and cardiovascular disease: analysis of the Los Angeles County adult spectrum of disease cohort. *AIDS Care.* 2007;19:492-9.
- 75.- Bozzette S, Ake C, Tam H, Chang SW, Louis TA. Cardiovascular and cerebrovascular events in patients treated for human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 2003;348:702-10.
- 76.- Pedrol PD, Polo R, Aguirrebengoa K, Estrada V, Rodero FG, Knobel H, et al. Panel de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el Sida. Consensus document of Gesida and Spanish Secretariat for the National Plan on AIDS regarding combined antiretroviral treatment in adults infected by the human immunodeficiency virus (January 2012). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30(6):e1-89.
- 77.- Kowalska JD, Reekie J, Mocroft A, Reiss P, Ledergerber B, Gatell J, et al; EuroSIDA study group. Long-term exposure to combination antiretroviral therapy and risk of death from specific causes: no evidence for any previously unidentified increased risk due to antiretroviral therapy. *AIDS.* 2012;26(3):315-23.
- 79.- Hadigan C, Meigs JB, Corcoran C, Rietschel P, Piecuch S, Basgoz N, et al. Metabolic abnormalities and cardiovascular disease risk factors in adults with human immunodeficiency virus infection and lipodystrophy. *Clin Infect Dis.* 2001;32:130-9.
- 80.- Dubé MP, Stein JH, Aberg JA, Fichtenbaum CJ, Gerber JG, Tashima KT, et al. Guidelines for the evaluation and management of dyslipidemia in human immunodeficiency virus (HIV)-infected adults receiving antiretroviral therapy: recommendations of the HIV Medical Association of the Infectious Disease Society of America and the Adult AIDS Clinical Trials Group. *Clin Infect Dis.* 2003;37:613-27.
- 80.- Squires K, Lazzarin A, Gatell JM, Powderly WG, Pokrovskiy V, Delfraissy JF, et al. Comparison of once-daily atazanavir to efavirenz each in combination with zidovudine and lamivudine, as initial therapy for patients infected with HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2004;36:1011-9.
- 81.- Malan DRN, Krantz E, David N, Wirtz V, Hammond J, McGrath D; 089 Study Group. Efficacy and safety of atazanavir, with or without ritonavir, as part of once-daily highly active antiretroviral therapy regimens in antiretroviral-naive patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2008;47:161-7.
- 82.- Smith KY, Weinberg WG, DeJesus E, Fischl MA, Liao Q, Ross L, et al. Fosamprenavir or atazanavir once daily boosted with ritonavir 100 mg, plus tenofovir/emtricitabine, for the initial treatment of HIV infection: 48-week results of ALERT. *AIDS Res Ther.* 2008;5:5.

- 83.- Eron J Jr, Yeni P, Gathe J Jr, Estrada V, DeJesus E, Staszewski S, et al. The KLEAN study of fosamprenavir/ritonavir versus lopinavir-ritonavir, each in combination with abacavir/lamivudine, for initial treatment of HIV infection over 48 weeks: a randomised non-inferiority trial. *Lancet*. 2006;368:476-82.
- 84.- Molina JM, Andrade-Villanueva J, Echevarria J, Chetchotisakd P, Corral J, David N, et al. Once-daily atazanavir/ritonavir versus twice-daily lopinavir/ritonavir, each in combination with tenofovir and emtricitabine, for management of antiretroviral-naive HIV-1-infected patients: 48 week efficacy and safety results of the CASTLE study. *Lancet*. 2008;372:646-55.
- 85.- Ortiz R, Dejesus E, Khanlou H, Voronin E, Van Lunzen J, Andrade-Villanueva J, et al. Efficacy and safety of once-daily darunavir/ritonavir versus lopinavir/ritonavir in treatment-naive HIV-1-infected patients at week 48. *AIDS*. 2008;22:1389-97.
- 86.- Shikuma CM, Yang Y, Glesby MJ, Meyer WA 3rd, Tashima KT, Ribaud HJ, et al. Metabolic effects of protease inhibitor-sparing antiretroviral regimens given as initial treatment of HIV-1 infection (AIDS Clinical Trials Group Study A5095). *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;44:540-50.
- 87.- Van Leth F, Phanuphak P, Stroes E, Gazzard B, Cahn P, Raffi F, 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.
- 88.- Kumar PN, Rodriguez-French A, Thompson MA, Tashima KT, Averitt D, Wannamaker PG, et al. A prospective, 96-week study of the impact of Trizivir, Combivir/nelfinavir, and lamivudine/stavudine/nelfinavir on lipids, metabolic parameters and efficacy in antiretroviral-naive patients: effect of sex and ethnicity. *HIV Med*. 2006;7:85-98.
- 89.- Lazzaretti RK, Kuhmmer R, Sprinz E, Polanczyk CA, Ribeiro JP. Dietary intervention prevents dyslipidemia associated with highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected individuals: a randomized trial. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59(11):979-88.
- 90.- Stein JH, Klein MA, Bellehumeur JL, McBride PE, Wiebe DA, Otvos JD, et al. Use of human immunodeficiency virus-1 protease inhibitors is associated with atherogenic lipoprotein changes and endothelial dysfunction. *Circulation*. 2001;104:257-62.
- 91.- Conklin B, Fu W, Lin P, Lundsén A, Yao Q, Chen C. HIV protease inhibitor ritonavir induces endothelial dysfunction in porcine arteries. *J Surg Res*. 2003;114: 249.
- 92.- Shankar SS, Dubé MP, Gorski JC, Klaunig JE, Steinberg HO. Indinavir impairs endothelial function in healthy HIV-negative men. *Am Heart J*. 2005;150:933.

- 93.- Jiang B, Khandelwal AR, Rogers LK, Hebert VY, Kleinedler JJ, Zavec JH, et al. Antiretrovirals induce endothelial dysfunction via an oxidant-dependent pathway and promote neointimal hyperplasia. *Toxicol Sci.* 2010;117(2):524-36.
- 94.- Weakley SM, Jiang J, Lü J, Wang X, Lin PH, Yao Q, et al. Natural antioxidant dihydroxybenzyl alcohol blocks ritonavir-induced endothelial dysfunction in porcine pulmonary arteries and human endothelial cells. *Med Sci Monit.* 2011;17(9):BR235-41.
- 95.- Manda KR, Banerjee A, Banks WA, Ercal N. Highly active antiretroviral therapy drug combination induces oxidative stress and mitochondrial dysfunction in immortalized human blood-brain barrier endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* 2011;50(7):801-10.
- 96.- Lagathu C, Eustace B, Prot M, Frantz D, Gu Y, Bastard JP, et al. Some HIV antiretrovirals increase oxidative stress and alter chemokine, cytokine or adiponectin production in human adipocytes and macrophages. *Antivir Ther.* 2007;12(4):489-500.
- 97.- Lefèvre C, Auclair M, Boccard F, Bastard JP, Capeau J, Vigouroux C, et al. Premature senescence of vascular cells is induced by HIV protease inhibitors: implication of prelamin A and reversion by statin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(12):2611-20.
- 98.- Touzet O, Philips A. Resveratrol protects against protease inhibitor-induced reactive oxygen species production, reticulum stress and lipid raft perturbation. *AIDS.* 2010;24(10):1437-47.
- 99.- Savès M, Chêne G, Ducimetière P, Leport C, Le Moal G, Amouyel P, et al. Risk factors for coronary heart disease in patients treated for human immunodeficiency virus infection compared with the general population. *Clin Infect Dis.* 2003;37(2):292-26.
- 100.- Currier JS, Lundgren JD, Carr A, Klein D, Sabin CA, Sax PE, Schouten JT, Smieja M. Epidemiological evidence for cardiovascular disease in HIV-infected patients and relationship to highly active antiretroviral therapy. *Circulation.* 2008;118(2):e2935.
- 101.- Brown TT, Cole SR, Li X, Kingsley LA, Palella FJ, Riddler SA, et al. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study. *Arch Intern Med* 2005;165:1179–1184.
- 102.- Friis-Møller N, Weber R, Reiss P, Thiébaud R, Kirk O, d'Arminio Monforte A, et al; DAD study group. Cardiovascular disease risk factors in HIV patients—association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study. *AIDS* 2003;17:1179–1193.
- 103.- Smith CJ, Levy I, Sabin CA, Kaya E, Johnson MA, Lipman MC. Cardiovascular risk factors and antiretroviral therapy in an HIV UK population. *HIV Med.* 2004;5:88-92.

- 104.- Santos J, Palacios R, González M, Ruiz J, Márquez M. Atherogenic lipid profile and cardiovascular risk factors in HIV-infected patients (Netar Study). In *J STD AIDS*. 2005;16:677-80.
- 105.- Glass TR, Ungsedhapand C, Wolbers M, Weber R, Vernazza PL, Rickenbach M, et al. Prevalence of risk factors for cardiovascular disease in HIV-infected patients over time: the Swiss HIV Cohort Study. *HIV Med*. 2006;7:404-10.
- 106.- Kaplan RC, Kingsley LA, Sharrett AR, Li X, Lazar J, Tien PC, et al. Ten-year predicted coronary heart disease risk in HIV-infected men and women. *Clin Infect Dis*. 2007;45:1074-81.
- 107.- Masiá M, Pérez-Cachafeiro S, Leyes M, López-Aldeguer J, López M, Segura F, et al; Grupo de estudio de riesgo cardiovascular de CoRIS. Cardiovascular risk in human immunodeficiency virus-infected patients in Spain. CoRIS cohort, 2011. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(9):517-27.
- 108.- Joy T, Keogh HM, Hadigan C, Lee H, Dolan SE, Fitch K, et al. Dietary fat intake and relationship to serum lipid levels in HIV-infected patients with metabolic abnormalities in the HAART era. *AIDS*. 2007;21:1591-600.
- 109.- Oh J, Hegele RA. HIV-associated dyslipidemia: pathogenesis and treatment. *Lancet Inf Dis*. 2007;7:787-96.
- 110.- Brown TT, Cole SR, Li X, Kingsley LA, Palella FJ, Riddler SA, 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.
- 111.- National Institutes of Health. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Publication No. 02-5215: 2002
- 112.- Mondy K, Overton ET, Grubb J, Tong S, Seyfried W, Powderly W, Yarasheski K. Metabolic syndrome in HIV-infected patients from an urban, midwestern US outpatient population. *Clin Infect Dis*. 2007;44(5):726-34.
- 113.- Alvarez C, Salazar R, Galindez J, Rangel F, Castañeda ML, Lopardo G, Cuhna CA, Roldan Y, Sussman O, Gutierrez G, Cure-Bolt N, Seas C, Carcamo C, Castrillo M. Metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy in Latin America. *Braz J Infect Dis*. 2010;14(3):256-63.
- 114.- Palacios R, Santos J, González M, Ruiz J, Márquez M. Incidence and prevalence of the metabolic syndrome in a cohort of naive HIV-infected patients: prospective analysis at 48 weeks of highly active antiretroviral therapy. *M. Int J STD AIDS*. 2007;18(3):184-7.

- 115.- Khalsa A, Karim R, Mack WJ, Minkoff H, Cohen M, Young M, et al. Correlates of prevalent hypertension in a large cohort of HIV-infected women: Women's Interagency HIV Study. *AIDS*. 2007;21:2539-41.
- 116.- Bedimo R, Westfall A, Mugavero M, Drechsler H, Khanna N, Saag M. HCV co-infection and risk of acute myocardial and cerebrovascular disease among HIV-infected patients in the pre-HAART and HAART eras. XVII International AIDS Conference. Mexico City, 3-8 August 2008. [THAB0205].
- 117.- Ishizaka N, Ishizaka Y, Takahashi E, Tooda E, Hashimoto H, Nagai R, et al. Association between hepatitis C virus seropositivity, carotid-artery plaque, and intima media thickening. *Lancet*. 2002;359:133-5.
- 118.- Alyan O, Kacmaz F, Ozdemir O, Deveci B, Astan R, Celebi AS, et al. Hepatitis C infection is associated with increased coronary artery atherosclerosis defined by modified Reardon severity score system. *Circ J*. 2008;72:1960-5.
- 119.- Vassalle C, Masini S, Bianchi F, Zucchelli GC. Evidence for association between hepatitis C virus seropositivity and coronary artery disease. *Heart*. 2004;90:565-6.
- 120.- Aslam F, Alam M, Lakkis NM. Hepatitis C and carotid atherosclerosis: a retrospective analysis. *Atherosclerosis* 2010;209:340-3.
- 121.- Sosner P, Wangermez M, Chagneau-Derrode C, Le Moal G, Silvain C. Atherosclerosis risk in HIV-infected patients: The influence of hepatitis C virus co-infection. *Atherosclerosis*. 2012;222(1):274-7.
- 122.- Weber R, Sabin C, Reiss P, De Wit S, Worm S, Law M, et al, and The D:A:D Study Group. Hepatitis Virus Co-infections and Risk of Diabetes Mellitus and Myocardial Infarction in HIV-infected Persons: The D:A:D Study. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, 3-6 February 2008. Abstract 1082.
- 123.- Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, Voitot H, Boyer N, Ripault MP, et al. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2008;134:416-23.
- 124.- Visnegarwala F, Chen L, Raghavan S, Tedaldi E. Prevalence of diabetes mellitus and dyslipidemia among antiretroviral naive patients co-infected with hepatitis C virus (HCV) and HIV-1 compared to patients without co-infection. *J Infect* 2005; 50:331-7.
- 125.- Serfaty L, Capeau J. Hepatitis C, insulin resistance and diabetes: clinical and pathogenic data. *Liver Int*. 2009; 29 Suppl 2:13-25.
- 126.- Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, Carulli N, Ruggiero G, Day CP. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology* 2004;126:586-97.

- 127.- Durante-Mangoni E, Zampino R, Marrone A, Tripodi MF, Rinaldi L, Restivo L, et al. Hepatic steatosis and insulin resistance are associated with serum imbalance of adiponectin/tumour necrosis factor-alpha in chronic hepatitis C patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24:1349-57.
- 128.- Adinolfi LE, Restivo L, Zampino R, Guerrera B, Lonardo A, Ruggiero L, et al. Chronic HCV infection is a risk of atherosclerosis. Role of HCV and HCV-related steatosis. *Atherosclerosis*. 2012;221(2):496-502.
- 129.- Kawaguchi Y, Mizuta T, Oza N, Takahashi H, Ario K, Yoshimura T, et al. Eradication of hepatitis C virus by interferon improves whole-body insulin resistance and hyperinsulinaemia in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int*. 2009;29:871-7.
- 130.- Rodríguez-Torres M, Govindarajan S, Solá R, Clumeck N, Lissen E, Pessôa M, et al. Hepatic steatosis in HIV/HCV co-infected patients: correlates, efficacy and outcomes of anti-HCV therapy: a paired liver biopsy study. *J Hepatol*. 2008;48:756-64.
- 131.-Muhlestein JB. Chronic infection and coronary artery disease. *Cardiol Rev*. 2000; 84:123-9.
- 132.- Ishizaka N, Ishizaka Y, Takahashi E, Toda EE, Hashimoto H, Ohno M, et al. Increased prevalence of carotid atherosclerosis in hepatitis B virus carriers. *Circulation*. 2002;105:1028-30.
- 133.-Völzke H, Schwahn C, Wolff B, Mentel R, Robinson DM, Kleine V, et al. Hepatitis B and C virus infection and the risk of atherosclerosis in a general population. *Atherosclerosis*. 2004;174:99-103.
- 134.- Momiyama Y, Ohmori R, Kato R, Taniguchi H, Nakamura H, Ohsuzu F. Lack of any association between persistent hepatitis B or C virus infection and coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2005;181:211-3.
- 135.- Tong DY, Wang XH, Xu CF, Yang YZ, Xiong SD. Hepatitis B virus infection and coronary atherosclerosis: results from a population with relatively high prevalence of hepatitis B virus. *World J Gastroenterol*. 2005;11:1292.
- 136.- Sutherland MR, Raynor CM, Leenknecht H, Wright JF, Pryzdial EL. Coagulation initiated on herpes viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:13510-13514
- 137.- Sun Y, Pei W, Wu Y, Jing Z, Zhang J, Wang G. Herpes simplex virus type 2 infection is a risk factor for hypertension. *Hypertens Res*. 2004;27:541-544.
- 138.- Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Blankenberg S, Bickel C, Kopp H, Rippin G, et al; AtheroGene Investigators. Impact of infectious burden on extent and long-term prognosis of atherosclerosis. *Circulation*, 2002;105:15-21.

- 139.- Hechter RC, Budoff M, Hodis HN, Rinaldo CR, Jenkins FJ, Jacobson LP, et al. Herpes simplex virus type 2 (HSV-2) as a coronary atherosclerosis risk factor in HIV-infected men: Multicenter AIDS Cohort Study. *Atherosclerosis*. 2012; 223(2):433-6.
- 140.- Islam FM, Wu J, Jansson J, Wilson DP. Relative risk of renal disease among people living with HIV: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2012;12(1):234.
- 141.- Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culeton B, Hamm LL, et al; American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2003;108(17):2154-69.
- 142.- Maggi P, Bartolozzi D, Bonfanti P, Calza L, Cherubini C, Di Biagio A, et al. Renal complications in HIV disease: between present and future. *AIDS Rev*. 2012;14(1):37-53.
- 143.- Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973–979.
- 144.- Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000;342:836–843.
- 145.- Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14719 initially healthy American women. *Circulation* 2003;107:391–397.
- 146.- Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Chambless LE, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high sensitivity C-reactive protein, and risk for incident ischemic stroke in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Arch Intern Med* 2005;165:2479–2484.
- 147.- Arinola OG, Adedapo KS, Kehinde AO, Olaniyi JA, Akiibinu MO. Acute phase proteins, trace elements in asymptomatic human immunodeficiency virus infection in Nigerians. *Afr J Med Med Sci* 2004;33:317–322.
- 148.- Noursadeghi M, Miller RF. Clinical value of C-reactive protein measurements in HIV-positive patients. *Int J STD AIDS* 2005; 16:438–441.
- 149.- Rodger AJ, Fox Z, Lundgren JD, Kuller LH, Boesecke C, Gey D, et al; INSIGHT Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group. Activation and coagulation biomarkers are independent predictors of the development

of opportunistic disease in patients with HIV infection. *J Infect Dis.* 2009;200(6):973-83.

150.- Ledwaba L, Tavel JA, Khabo P, Maja P, Qin J, Sangweni P, et al; Project Phidisa Biomarkers Team. Pre-ART levels of inflammation and coagulation markers are strong predictors of death in a South African cohort with advanced HIV disease. *PLoS One.* 2012;7(3):e24243.

151.- Triant VA, Meigs JB, Grinspoon SK. Association of C-reactive protein and HIV infection with acute myocardial infarction. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;51(3):268-73.

152.- Boger MS, Shintani A, Redhage LA, Mitchell V, Haas DW, Morrow JD, et al. Highly sensitive C-reactive protein, body mass index, and serum lipids in HIV-infected persons receiving antiretroviral therapy: a longitudinal study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;52(4):480-7.

153.- Mangili A, Polak JF, Quach LA, Gerrior J, Wanke CA. Markers of atherosclerosis and inflammation and mortality in patients with HIV infection. *Atherosclerosis.* 2011;214(2):468-73.

154.- Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM Jr, et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation* 1997; 96:4219–25.

155.- Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L, et al. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104:1336–42.

156.- Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, Pigott R, Woolf N, Katz D et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol* 1993; 171:223–9.

157.- Liu K, Chi DS, Li C, Hall HK, Milhorn DM, Krishnaswamy G. HIV-1 Tat protein-induced VCAM-1 expression in human pulmonary artery endothelial cells and its signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005;289(2):L252-60.

158.- Song HY, Ryu J, Ju SM, Park LJ, Lee JA, Choi SY, et al. Extracellular HIV-1 Tat enhances monocyte adhesion by up-regulation of ICAM-1 and VCAM-1 gene expression via ROS-dependent NF-kappaB activation in astrocytes. *Exp Mol Med.* 2007;39(1):27-37.

159.- Hag AM, Kristoffersen US, Pedersen SF, Gutte H, Lebech AM, Kjaer A. Regional gene expression of LOX-1, VCAM-1, and ICAM-1 in aorta of HIV-1 transgenic rats. *PLoSOne.* 2009;4(12):e8170.

- 160.- de Larrañaga GF, Bocassi AR, Puga LM, Alonso BS, Benetucci JA.. Endothelial markers and HIV infection in the era of highly active antiretroviral treatment. *Thromb Res.* 2003;110:93–98.
- 161.- de Gaetano Donati K, Rabagliati R, Tumbarello M, Tacconelli E, Amore C, Cauda R, et al. Increased soluble markers of endothelial dysfunction in HIV-positive patients under highly active antiretroviral therapy. *AIDS.* 2003;17:765–768.
- 162.- Melendez MM, McNurlan MA, Mynarcik DC, Khan S, Gelato MC. Endothelial adhesion molecules are associated with inflammation in subjects with HIV disease. *Clin Infect Dis.* 2008;46(5):775-80.
- 163.- Calza L, Pocaterra D, Pavoni M, Colangeli V, Manfredi R, Verucchi G, et al. Plasma levels of VCAM-1, ICAM-1, E-Selectin, and P-Selectin in 99 HIV-positive patients versus 51 HIV-negative healthy controls. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;50(4):430-2.
- 164.- Ross AC, Rizk N, O'Riordan MA, Dogra V, El-Bejjani D, Storer N, et al. Relationship between inflammatory markers, endothelial activation markers, and carotid intima-media thickness in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis.* 2009;49(7):1119-27.
- 165.- Calmy A, Gayet-Ageron A, Montecucco F, Nguyen A, Mach F, Burger F, et al; STACCATO Study Group. HIV increases markers of cardiovascular risk: results from a randomized, treatment interruption trial. *AIDS.* 2009;23(8):929-39.
- 166.- Pappasavvas E, Azzoni L, Pistilli M, Hancock A, Reynolds G, Gallo C, et al. Increased soluble vascular cell adhesion molecule- 1 plasma levels and soluble intercellular adhesion molecule-1 during antiretroviral therapy interruption and retention of elevated soluble vascular cellular adhesion molecule-1 levels following resumption of antiretroviral therapy. *AIDS.* 2008;22:1153–1161.
- 167.- Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2032–7.
- 168.- Ardigo D, Stuehlinger M, Franzini L, Valtuena S, Piatti PM, Pachinger O, et al. ADMA is independently related to flow-mediated vasodilation in subjects at low cardiovascular risk. *Eur J Clin Invest.* 2007; 37(4):263–9.
- 169.- Schnabel R, Blankenberg S, Lubos E, Lackner KJ, Rupprecht HJ, Espinola-Klein C, et al. Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from the AtheroGene Study. *Circ Res* 2005;97:e53–9.
- 170.- Leong T, Zylberstein D, Graham I, Lissner L, Ward D, Fogarty J, et al. Asymmetric dimethylarginine independently predicts fatal and nonfatal myocardial

infarction and stroke in women: 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2008; 28(5):961–7.

171.- Böger RH, Maas R, Schulze F, Schwedhelm E. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a prospective marker of cardiovascular disease and mortality--an update on patient populations with a wide range of cardiovascular risk. *Pharmacol Res*. 2009;60(6):481-7.

172.-Böger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. *Circulation*. 2009; 119(12):1592–600.

173. Solages A, Vita JA, Thornton DJ, Murray J, Heeren T, Craven DE, et al. Endothelial function in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis*. 2006; 42(9):1325–32.

174. Kurz K, Teerlink T, Sarcletti M, Weiss G, Zangerle R, Fuchs D. Plasma concentrations of the cardiovascular risk factor asymmetric dimethylarginine (ADMA) are increased in patients with HIV-1 infection and correlate with immune activation markers. *Pharmacol Res* 2009;60:508–14.

175. Jang JJ, Berkheimer SB, Merchant M, Krishnaswami A. Asymmetric dimethylarginine and coronary artery calcium scores are increased in patients infected with human immunodeficiency virus. *Atherosclerosis*. 2011;217(2):514-7.

176.- Crowe SM, Westhorpe CL, Mukhamedova N, Jaworowski A, Sviridov D, Bukrinsky M. The macrophage: the intersection between HIV infection and atherosclerosis. *J Leukoc Biol*. 2010;87(4):589-98.

177.- Mujawar Z, Rose H, Morrow M P, Pushkarsky T, Dubrovsky L, Mukhamedova, et al. Human Immunodeficiency Virus Impairs Reverse Cholesterol Transport from Macrophages. *PLoS Biol*. 2006;4:e365.

178.- Hearps AC, Maisa A, Cheng WJ, Angelovich TA, Lichtfuss GF, Palmer CS, et al. HIV infection induces age-related changes to monocytes and innate immune activation in young men that persist despite combination antiretroviral therapy. *AIDS*. 2012;26(7):843-53.

179.- Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, Sonne O, Hoffman HJ, Law SK, et al. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature* 2001;409:198–201.

180.- Boyle J J, Harrington H A, Piper E, Elderfield K, Stark J, Landis R C, et al. Coronary intraplaque hemorrhage evokes a novel atheroprotective macrophage phenotype. *Am J Pathol*. 2009;174:1097–1108.

181.- Yunoki K, Naruko T, Komatsu R, Ehara S, Shirai N, Sugioka K, et al. Enhanced expression of haemoglobin scavenger receptor in accumulated macrophages of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 2009;30:1844–1852.

- 182.- Moreno JA, Ortega-Gómez A, Delbosc S, Beaufort N, Sorbets E, Louedec L, et al. In vitro and in vivo evidence for the role of elastase shedding of CD163 in human atherothrombosis. *Eur Heart J*. 2012;33(2):252-63.
- 183.- Davis BH, Zarev PV. Human monocyte CD163 expression inversely correlates with soluble CD163 plasma levels. *Cytometry B Clin Cytom*. 2005;63(1):16-22.
- 184.- Levy AP, Purushothaman KR, Levy NS, Purushothaman M, Strauss M, Asleh R, et al. Downregulation of the hemoglobin scavenger receptor in individuals with diabetes and the Hp 2-2 genotype: implications for the response to intraplaque hemorrhage and plaque vulnerability. *Circ Res* 2007;101:106-110.
- 185.- Moreno JA, Munoz-Garcia B, Martin-Ventura JL, Madrigal-Matute J, Orbe J, Paramo JA, et al. The CD163-expressing macrophages recognize and internalize TWEAK Potential consequences in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2009;207:103-110.
- 186.- Aristoteli LP, Moller HJ, Bailey B, Moestrup SK, Kritharides L. The monocytic lineage specific soluble CD163 is a plasma marker of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2006; 184:342-7.
- 187.- Moreno JA, Dejouvencel T, Labreuche J, Smadja DM, Dussiot M, Martin-Ventura JL, et al. Peripheral artery disease is associated with a high CD163/TWEAK plasma ratio. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30:1253-62.
- 188.- Burdo TH, Soulas C, Orzechowski K, Button J, Krishnan A, Sugimoto C, et al. Increased monocyte turnover from bone marrow correlates with severity of SIV encephalitis and CD163 levels in plasma. *PLoS Pathog* 2010; 6:e1000842.
- 189.- Burdo TH, Lentz MR, Autissier P, Krishnan A, Halpern E, Letendre S, et al. Soluble CD163 made by monocyte/macrophages is a novel marker of HIV activity in early and chronic infection prior to and after anti-retroviral therapy. *J Infect Dis*. 2011; 204(1):154-63.
- 190.- Burdo TH, Lo J, Abbara S, Wei J, DeLelys ME, Preffer F, et al. Soluble CD163, a novel marker of activated macrophages, is elevated and associated with noncalcified coronary plaque in HIV-infected patients. *J Infect Dis*. 2011; 204(8):1227-36.
- 191.- Subramanian S, Tawakol A, Burdo TH, Abbara S, Wei J, Vijayakumar J, et al. Arterial inflammation in patients with HIV. *JAMA*. 2012;308(4):379-86.
- 192.- Ortiz A, Sanz AB, Muñoz García B, Moreno JA, Sánchez Niño MD, Martín-Ventura JL, et al. Considering TWEAK as a target for therapy in renal and vascular injury. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20: 251-8.
- 193.- Chicheportiche Y, Bourdon PR, Xu H, Hsu YM, Scott H, Hession C, et al. TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. *J Biol Chem* 1997;272:32401-10.

- 194.- Kim SH, Kang YJ, Kim WJ, Woo DK, Lee Y, Kim DI, et al. TWEAK can induce proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinase-9 in macrophages. *Circ J* 2004;68: 396–9.
- 195.- Muñoz-García B, Moreno JA, López-Franco O, Sanz AB, Martín-Ventura JL, Blanco J, et al. Tumor necrosis factor- like weak inducer of apoptosis (TWEAK) enhances vascular and renal damage induced by hyperlipidemic diet in ApoE-knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:2061–8.
- 196.- Donohue PJ, Richards CM, Brown SA, Hanscom HN, Buschman J, Thangada S, et al. TWEAK is an endothelial cell growth and chemotactic factor that also potentiates FGF-2 and VEGF-A mitogenic activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:594–600.
- 197.- Lynch CN, Wang YC, Lund JK, Chen YW, Leal JA, Wiley SR. TWEAK induces angiogenesis and proliferation of endothelial cells. *J Biol Chem* 1999;274:8455–9.
- 198.- Blanco-Colio LM, Martín-Ventura JL, Muñoz-García B, Orbe J, Páramo JA, Michel JB, et al. Identification of soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (sTWEAK) as a possible biomarker of subclinical atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:916–22.
- 199.- Kralisch S, Ziegelmeier M, Bachmann A, Seeger J, Lössner U, Blüher M, et al. Serum levels of the atherosclerosis biomarkers TWEAK are decreased in type 2 diabetes and end-stage renal disease. *Atherosclerosis* 2008;199:440–4.
- 200.- Llauradó G, González-Clemente JM, Maymó-Masip E, Subías D, Vendrell J, Chacón MR. Serum Levels of TWEAK and Scavenger Receptor CD163 in Type 1 Diabetes Mellitus: Relationship with Cardiovascular Risk Factors. A Case-Control Study. *PLoS One*. 2012;7(8):e43919.
- 201.- Carrero JJ, Ortiz A, Qureshi AR, Martín-Ventura JL, Bárány P, Heimbürger O, et al. Additive effects of soluble TWEAK and inflammation on mortality in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:110–8.
- 202.- Jelić-Ivanović Z, Bujisić N, Spasić S, Bogavac-Stanojević N, Spasojević-Kalimanovska V, Kotur-Stevuljević J. Circulating sTWEAK improves the prediction of coronary artery disease. *Clin Biochem* 2009;42: 1381–6.
- 203.- Yilmaz MI, Carrero JJ, Ortiz A, et al. Soluble TWEAK plasma levels as a novel biomarker of endothelial function in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1716–23.
- 204.- Yilmaz MI, Carrero JJ, Ortiz A, Martín-Ventura JL, Sonmez A, Saglam M, et al. Soluble TWEAK and PTX3 in non-dialysis CKD patients; Impact on endothelial dysfunction and cardiovascular outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:785–92.

- 205.- Chorianopoulos E, Rosenberg M, Zugck C, Wolf J, Katus HA, Frey N. Decreased soluble TWEAK levels predict an adverse prognosis in patients with chronic stable heart failure. *Eur J Heart Fail* 2009;11:1050–6.
- 206.- Urbonaviciene G, Martin-Ventura JL, Lindholt JS, Urbonavicius S, Moreno JA, Egido J, et al. Impact of soluble TWEAK and CD163/TWEAK ratio on long-term cardiovascular mortality in patients with peripheral arterial disease. *Atherosclerosis*. 2011;219(2):892-9.
- 207.- Bover LC, Cardó-Vila M, Kuniyasu A, Sun J, Rangel R, Takeya M, et al. A previously unrecognized protein-protein interaction between TWEAK and CD163: potential biological implications. *J Immunol* 2007;178:8183–94.
- 208.- Law MG, Friis-Møller N, El-Sadr WM, Weber R, Reiss P, D'Arminio Monforte A, et al. The use of the Framingham equation to predict myocardial infarctions in HIV infected patients: comparison with observed events in the D:A:D Study. *HIV Medicine*. 2006;7:218-30.
- 209.- Neuhaus J, Jacobs DR Jr, Baker JV, Calmy A, Duprez D, La Rosa A, et al. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis* 2010;201:1788–1795.
- 210.- Martin GE, Gouillou M, Hearps AC, Angelovich TA, Cheng AC, Lynch F, et al. Age-associated changes in monocyte and innate immune activation markers occur more rapidly in HIV infected women. *PLoS One*. 2013;8(1):e55279.
- 211.- Tippett E, Cheng WJ, Westhorpe C, Cameron PU, Brew BJ, Lewin SR, et al. Differential expression of CD163 on monocyte subsets in healthy and HIV-1 infected individuals. *PLoS One*. 2011;6(5):e19968.
- 212.- Kristoffersen US, Kofoed K, Kronborg G, Giger AK, Kjaer A, Lebech AM. Reduction in circulating markers of endothelial dysfunction in HIV-infected patients during antiretroviral therapy. *HIV Med*. 2009 Feb;10(2):79-87.
- 213.- Baker JV, Neuhaus J, Duprez D, Freiberg M, Bernardino JI, Badley AD, et al; INSIGHT SMART Study Group. HIV replication, inflammation, and the effect of starting antiretroviral therapy on plasma asymmetric dimethylarginine, a novel marker of endothelial dysfunction. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012;60(2):128-34.
- 214.- Longenecker C, Funderburg N, Jiang Y, Debanne S, Storer N, Labbato D, et al. Markers of inflammation and CD8 T-cell activation, but not monocyte activation, are associated with subclinical carotid artery disease in HIV-infected individuals. *HIV Med*. 2013 Jan 18. doi: 10.1111/hiv.12013. [Epub ahead of print].
- 215.- Dubé MP, Lipshultz SE, Fichtenbaum CJ, Greenberg R, Schecter AD, Fisher SD; Working Group 3. Effects of HIV infection and antiretroviral therapy on the heart and vasculature. *Circulation*. 2008;118(2):e36-40.

216.- Worm SW, Sabin C, Weber R, Reiss P, El-Sadr W, Dabis F, 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(3):318-30.

9.- AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Rafael Fernández Chacón quién me introdujo en el mundo de la investigación y me enseñó lo que es la pasión por descubrir.

Al equipo de la Unidad Clínico Experimental de Riesgo Vascular del Hospital Universitario Virgen del Rocío con quienes me inicié en la investigación clínica.

Al Director de esta tesis el Dr. Salvador García Morillo y al Tutor, el Profesor José Villar Ortiz, por su ayuda y apoyo para llevar a cabo este proyecto.

A Rocío Muñoz Hernández y María Domínguez Simeón que dedicaron mucho tiempo de sus investigaciones a ayudarme en las mías.

Al Dr. Manolo Leal y Dra. Sara Ferrando del Grupo de Investigación de Inmunovirología, por su total colaboración y disposición para llevar a cabo este proyecto.

A Juan Moreno por ofrecerme su experiencia y tiempo para poder comunicar estos resultados.

Al equipo de la Unidad Metabólico-Vascular del Hospital Universitario La Paz, con el Profesor Juan García Puig al frente, por brindarme todo el apoyo y facilidades para que completase esta tesis que se me empezaba a quedar “atragantada”.

A los de siempre, a mi familia y amigos, que día a día me van moldeando y me hacen mejorar.

Gracias.

Luis.