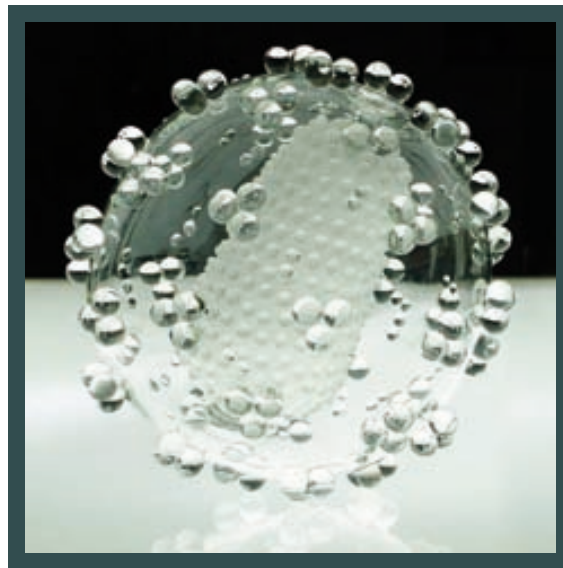




Universitat Autònoma de Barcelona
Facultat de Medicina
Departament de Medicina

**ALTERACIONES DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL SECUNDARIAS
AL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES CON
INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA**



ADRIAN CURRAN
Tesis Doctoral
2012

DIRECTORES DE TESIS:
Prof. Albert Pahissa Berga
Dr. Esteve Ribera Pascuet



Albert Pahissa Berga, Profesor de la Facultad de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona y Jefe del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitari Vall d'Hebron

Y

Esteve Ribera Pascuet, Médico Adjunto del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitari Vall d'Hebron

Certifican que la tesis doctoral titulada

“Alteraciones de la Composición Corporal Secundarias al Tratamiento Antirretroviral en Pacientes con Infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana.”

que presenta el licenciado **Adrian Curran**, ha sido realizada bajo su dirección en el Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitari Vall d'Hebron, la consideran finalizada y autorizan su presentación para que sea defendida ante el tribunal que corresponda para obtener el grado de Doctor en Medicina.

Prof. Albert Pahissa Berga

Dr. Esteve Ribera Pascuet

Bellaterra, 04 de Noviembre de 2012

“Una buena medicina clínica es el casamiento del conocimiento científico y del cuidado humano”

Platón

“Half of the modern drugs could well be thrown out of the window, except that the birds might eat them”

Dr M Henry Fisher

AGRADECIMIENTOS

Los trabajos que componen esta tesis doctoral han sido llevados a cabo gracias a la colaboración de la Red Temática Cooperativa de Grupos de Investigación en SIDA del Fondo de Investigación Sanitaria (RIS G03/173, ISCIII-RETIC RD06/006) y FIPSE (36274/02).

MÁS AGRADECIMIENTOS

A los directores de la tesis. Al Profesor Albert Pahissa por creer y confiar en mí como profesional, apoyándome en estos momentos en que ejercer en la sanidad pública es tan complicado. Al Dr. Esteban Ribera, que me ha introducido en el fascinante mundo de la infección por el VIH, enseñándome medicina pero también una lección de superación y amor a la vida. A ellos les debo gran parte de lo que soy hoy en día como médico.

A todos los compañeros de trabajo en mis años de experiencia profesional. A mis colegas de residencia en el Hospital Vall d'Hebron, en especial a mi residente mayor y amigo. A aquellos con los que comparto los buenos momentos pero también las dudas y las incertidumbres en el Hospital de Día, a los que están y a los que se han ido, buscando una estabilidad que espero hayan encontrado. A todos los integrantes del Servicio de Enfermedades Infecciosas, de los que siempre aprendo cosas nuevas.

A los pacientes, que sufren esta temible enfermedad que es la infección por el VIH, que cada vez es menos terrible y más crónica. Por su espíritu de lucha y superación, su colaboración en nuestros proyectos que nos ayudan avanzar, pero sobretodo porque me han enseñado que no tratamos enfermedades sino a las personas que las sufren.

A mis amigos, que se que están ahí si los necesito a pesar de que no tenemos mucho tiempo para vernos.

A mi familia, a quien nunca podré agradecer suficientemente todo lo que han hecho por mí. Gracias a ellos soy quien soy. A mis padres, Anthony y Marta, que han sido un ejemplo de valores, amor, trabajo y sacrificio para dar lo mejor a sus hijos, enseñándonos a apreciar la vida en todas sus vertientes. A mis hermanos Ray,

Dani y Marta, junto con Esther, Ona y Bru, que aunque todos somos muy distintos y hemos vivido todo tipo de experiencias, con los años los vínculos sólo se han fortalecido. A Santi, María Teresa, Montse, Lluís, Genís y Martí, que desde hace unos años también forman parte de mi familia, y no puedo imaginarlo ya de otra forma.

Por último, a Anna. Porque compartimos inquietudes, aficiones, sueños, la forma de ver la vida. Porque nos planteamos constantemente nuevos retos y nos ayudamos mutuamente a superarlos. Porque nos complementamos perfectamente, con una complicidad muy difícil de encontrar. Porque me aguanta y me comprende. Porque me ha hecho crecer como persona. Por todo lo que no se puede decir con palabras. Sin ella esta tesis no habría sido posible.

PRESENTACIÓN

La tesis doctoral que aquí se presenta ha sido realizada en el Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitari Vall d'Hebron, adscrito a la Facultad de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, bajo la dirección del Profesor Albert Pahissa Berga y del Doctor Esteve Ribera Pascuet.

La tesis doctoral se presenta como un compendio de publicaciones según la normativa aprobada por la Comisión de Doctorado de la Universitat Autònoma de Barcelona.

El trabajo consta de los siguientes apartados: *Introducción, Justificación e Hipótesis, Objetivos, Resultados, Discusión, Conclusiones, Referencias Bibliográficas y Anexos*. En la *Introducción* se tratan los aspectos más relevantes sobre las alteraciones del tejido adiposo y óseo en el paciente VIH, describiendo la fisiopatología, el diagnóstico y los estudios más relevantes publicados al respecto en el momento de diseñar cada uno de los estudios que conforman la tesis doctoral. En este apartado se comentan los dos artículos (LIPOTEST y RECOMB) de la misma línea de investigación en los que el doctorando ha participado y figura como tercer autor y que están incluidos como anexos en la presente tesis doctoral. El apartado de *Resultados* consta de dos artículos originales y un artículo de revisión, que conforman esta tesis por compendio de publicaciones. En la *Discusión* se comentan los resultados obtenidos desde una óptica integradora analizándola con los conocimientos que tenemos hoy en día y finalmente, las *Conclusiones* recapitulan los aspectos y las aportaciones más relevantes de la tesis doctoral. En el apartado de *Referencias Bibliográficas* se detallan las citas bibliográficas de los apartados

Introducción y *Discusión*, mientras que cada trabajo incluido en los *Resultados* viene acompañado de su propia bibliografía citada.

La Ciencia avanza muy rápidamente, y en algunos campos como el de la infección por VIH todavía más. Esto comporta que algunas hipótesis formuladas al diseñar un estudio estén ya contestadas por otros investigadores a la publicación del mismo. No obstante, todo trabajo que aporte conocimientos nuevos y que además consolide los ya existentes, son y serán muy necesarios.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA:

Los resultados obtenidos durante el proceso de investigación que ha llevado a la elaboración de esta tesis doctoral han sido publicados previamente en revistas científicas indexadas:

• Artículos Originales

Adrian Curran, Esteban Martinez, Daniel Podzamczer, Montserrat Lonca, Patricia Barragan, Manuel Crespo, Vicenç Falco, Sergio Vidal-Sicart, Arkaitz Imaz, Maria Martinez, Jose Maria Gatell and Esteban Ribera. Changes in body composition and mitochondrial DNA in HIV-1-infected patients switching to fixed- dose abacavir/lamivudine or tenofovir/emtricitabine: a substudy of the BICOMBO Trial. *Antivir Ther.* 2012; 17(4): 711-8. PMID: 22374987 (Factor de Impacto 2011: 3.161).

Adrian Curran, Esteban Martinez, Maria Saumoy, Luis del Rio, Manuel Crespo, Maria Larrousse, Daniel Podzamczer, Joaquin Burgos, Montse Lonca, Pere Domingo, Jose Maria Gatell and Esteban Ribera. Body composition changes after switching from protease inhibitors to raltegravir: SPIRAL-LIP substudy. *AIDS.* 2012; 26(4): 475-81. PMID: 22112606 (Factor de Impacto 2011: 6.245).

• Artículo de Revisión

Curran A, Ribera E. From old to new nucleoside reverse transcriptase inhibitors: changes in body fat composition, metabolic parameters and mitochondrial toxicity after the switch from thymidine analogs to tenofovir or abacavir. *Expert Opin Drug Saf.* 2011; 10(3): 389-406. PMID: 21235431 (Factor de Impacto 2011: 3.015).

Otros resultados de la misma línea de Investigación en la que ha participado el doctorando (ANEXOS):

Ribera E, Paradiñeiro JC, Curran A, Sauleda S, García-Arumí E, Castella E, Puiggròs C, Crespo M, Feijoo M, Diaz M, Del Saz SV, Planas M, Sureda D, Falcó V, Ocaña I, Pahissa A. Improvements in subcutaneous fat, lipid profile, and parameters of mitochondrial toxicity in patients with peripheral lipoatrophy when stavudine is switched to tenofovir (LIPOTEST study). *HIV Clin Trials*. 2008; 9(6): 407-17. PMID: 19203906.

Esteban Ribera, María Larrouse, Adrian Curran, Eugenia Negro, Bonaventura Clotet, Vicente Estrada, Jesús Sanz, Juan Berenguer, Rafael Rubio, Federico Pulido, Pedro Ferrer, María Luisa Alvarez, Sarah Arterburn, Esteban Martínez. Impact of switching from zidovudine/lamivudine to tenofovir/emtricitabine on lipoatrophy, measured by limb fat DEXA: 72 weeks results of the RECOMB study. *HIV Med* 2012 (Under Review).

ÍNDICE

1	ÍNDICE DE ABREVIATURAS	17
2	INTRODUCCIÓN	19
2.1	Infeción por el VIH, Tratamiento Antirretroviral y Cambios en la Composición Corporal.....	19
2.2	Alteraciones en la Composición de la Grasa Corporal: Descripción y Mecanismos Patogénicos.....	21
2.2.1	<i>Estructura y Funciones de la Mitocondria.....</i>	<i>25</i>
2.2.2	<i>Estructura del Tejido Adiposo y Alteraciones en la Lipodistrofia.....</i>	<i>26</i>
2.2.3	<i>Papel del Propio VIH en las Alteraciones de la Grasa</i>	<i>31</i>
2.2.4	<i>Papel Etiopatogénico del Tratamiento Antirretroviral en las Alteraciones de la Grasa.....</i>	<i>33</i>
2.2.5	<i>Factores del Huésped que Influyen en las Alteraciones de la Grasa</i>	<i>43</i>
2.2.6	<i>Medición de las alteraciones de la grasa corporal.....</i>	<i>44</i>
2.2.7	<i>Estudios Sobre las Alteraciones de la Grasa Corporal con los Diferentes Antirretrovirales</i>	<i>51</i>
2.2.8	<i>Consecuencias de las Alteraciones en la Composición Grasa.....</i>	<i>58</i>
2.3	Alteraciones en la Composición Ósea Corporal	61
2.3.1	<i>Factores Relacionados con el Desarrollo de Osteopenia/ Osteoporosis en los Pacientes con Infección por el VIH.....</i>	<i>63</i>
2.3.2	<i>Papel del Tratamiento Antirretroviral en el Desarrollo de Osteopenia/Osteoporosis.....</i>	<i>65</i>
2.3.3	<i>Medición de las Alteraciones en la Composición Ósea Corporal</i>	<i>69</i>
2.3.4	<i>Consecuencias de las Alteraciones en la Composición Ósea.....</i>	<i>71</i>
3	JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO E HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	73
3.1	TOX-BICOMBO	73
3.2	SPIRAL-LIP	74
3.3	Artículo de Revisión.....	75
4	OBJETIVOS	77
4.1	TOX-BICOMBO	77
4.2	SPIRAL-LIP.....	77
4.3	Artículo de Revisión.....	78
5	MÉTODOS.....	79
5.1	TOX-BICOMBO	79
5.1.1	<i>Población de estudio.....</i>	<i>79</i>
5.1.2	<i>Diseño del estudio</i>	<i>79</i>
5.1.3	<i>Criterios de inclusión</i>	<i>80</i>
5.1.4	<i>Criterios de exclusión.....</i>	<i>80</i>
5.1.5	<i>Procedimientos.....</i>	<i>81</i>
5.1.6	<i>Análisis estadístico</i>	<i>82</i>
5.2	SPIRAL-LIP	83
5.2.1	<i>Población de estudio.....</i>	<i>83</i>
5.2.2	<i>Diseño del estudio</i>	<i>83</i>
5.2.3	<i>Criterios de inclusión</i>	<i>84</i>
5.2.4	<i>Criterios de exclusión.....</i>	<i>84</i>
5.2.5	<i>Procedimientos.....</i>	<i>85</i>
5.2.6	<i>Análisis estadístico</i>	<i>86</i>
5.3	Artículo de Revisión.....	87

6	RESULTADOS	89
6.1	TOX-BICOMBO	89
6.2	SPIRAL-LIP	98
6.3	Artículo de Revisión.....	106
7	DISCUSIÓN.....	125
7.1	TOX-BICOMBO	126
7.1.1	<i>Cambios de la grasa en extremidades.....</i>	<i>126</i>
7.1.2	<i>Cambios de la grasa total y en tronco.....</i>	<i>134</i>
7.1.3	<i>Cambios en el Fat Mass Ratio</i>	<i>136</i>
7.1.4	<i>Cambios en el ADNmt de PBMC</i>	<i>137</i>
7.1.5	<i>Cambios en la composición ósea.....</i>	<i>138</i>
7.2	SPIRAL-LIP	142
7.2.1	<i>Cambios en el área grasa visceral abdominal.....</i>	<i>142</i>
7.2.2	<i>Cambios en SAT, TAT y cociente SAT/VAT.....</i>	<i>150</i>
7.2.3	<i>Cambios en la composición ósea.....</i>	<i>154</i>
8	CONCLUSIONES.....	161
9	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	163
10	ANEXOS	179
10.1	LIPOTEST	179
10.2	RECOMB.....	190

1 ÍNDICE DE ABREVIATURAS

3TC:	Lamivudina
ABC:	Abacavir
ABC/3TC:	Combinación a dosis fijas de abacavir y lamivudina
ACTG:	AIDS Clinical Trials Group
ADN (DNA):	Ácido desoxirribonucleico
ADNmt (DNAmt):	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
ADNn:	Ácido desoxirribonucleico nuclear
ADP:	Adenosin difosfato
ARN:	Ácido Ribonucleico
ATP:	Adenosin trifosfato
ATV:	Atazanavir
ATV/r:	Atazanavir potenciado con ritonavir
AZT:	Zidovudina
BIA:	Bioimpedancia eléctrica
CDC:	Centers for Disease Control
C/EBP-α:	Proteína de unión al CCAAT/enhancer alfa
cm:	Centímetro
COX:	Citocromo C oxidasa
CTx:	Carboxy-terminal collagen crosslinks
d4T:	Estavudina
ddC:	Zalcitabina
ddl:	Didanosina
DE (SD):	Desviación estándar
DMO (BMD):	Densidad mineral ósea
DRV/r:	Darunavir potenciado con ritonavir
DXA (o DEXA):	Dual X-ray Absorptiometry
EFV:	Efavirenz
FMR:	Fat mass ratio
FPV/r:	Fosamprenavir potenciado con ritonavir
g:	Gramos
HBsAg:	Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B
IL-2:	Interleucina 2
IL-6:	Interleucina 6
IMC:	Índice de masa corporal
IQR:	Rango intercuartílico
ITIAN (NRTI):	Inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleósidos/nucleótidos
ITINAN (NNRTI):	Inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleósidos
IP (PI):	Inhibidor de la proteasa

IP/r (PI/r):	Inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir
Kg:	Kilogramo
LDCD:	Lipodystrophy Case Definition
LPV/r:	Lopinavir potenciado con ritonavir
MCP-1:	Proteína quimioatrayente de monocitos-1
M-CSF:	Factor estimulante de colonias de macrófagos
mg:	Miligramos
mL:	Mililitro
NADH:	Nicotinamida adenin dinucleótido
NFκB:	Factor nuclear pro-inflamatorio kappa B
NVP:	Nevirapina
OR:	Odds Ratio
PCR:	Polymerase chain reaction
PBMC:	Células mononucleares de sangre periférica
PPAR-γ:	Receptor activado por proliferadores peroxisomales gamma
RAL:	Raltegravir
RANKL:	Receptor para la activación del ligando del factor nuclear kB
RMN:	Resonancia magnética nuclear
ROS:	Especies reactivas de oxígeno
SAT:	Tejido adiposo subcutáneo
SIDA:	Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida
SK:	Sarcoma de Kaposi
SQV/r:	Saquinavir potenciado con ritonavir
SREBP-1c:	Proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides 1c
TAR:	Tratamiento antirretroviral
TARGA:	Tratamiento antirretroviral de gran actividad
TAT:	Tejido adiposo total
TC:	Tomografía computarizada
TDF:	Tenofovir
TDF/FTC:	Combinación a dosis fijas de tenofovir y emtricitabina
TLR-4:	Receptor tipo toll-4
TNF-α:	Factor tumoral alfa
VAT:	Tejido adiposo visceral
VHC:	Virus de la Hepatitis C
VIH:	Virus de la Inmunodeficiencia Humana

2 INTRODUCCIÓN

2.1 Infección por el VIH, Tratamiento Antirretroviral y Cambios en la Composición Corporal

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ha supuesto y todavía representa una de las epidemias más devastadoras del mundo moderno. También es una de las enfermedades en las que más se ha investigado y avanzado en las últimas décadas, habiéndose desarrollado nuevos medicamentos que han comportado un descenso importantísimo en la morbilidad y mortalidad. Un momento de inflexión tuvo lugar cuando se empezó a utilizar una combinación de fármacos para formar el llamado Tratamiento Antirretroviral de Gran Actividad (TARGA), con dos inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótidos (ITIAN) asociados a un inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleósidos (ITINAN) o un inhibidor de la proteasa (IP). Con el TARGA se consiguió controlar la replicación viral de forma eficaz y mantenida [1].

Sin embargo, la erradicación del virus no es posible hoy en día. La respuesta al tratamiento dura mientras se continúa con el mismo, lo que hace que el tratamiento antirretroviral (TAR) deba mantenerse de forma indefinida. La adherencia al TAR es esencial para mantener la eficacia a largo plazo, por lo que una de las prioridades ha sido disponer de pautas terapéuticas bien toleradas, lo más sencillas posibles, con el menor número de comprimidos y tomas al día. Esto se ha conseguido, entre otras estrategias, gracias a la co-formulación de distintos principios activos en una sola pastilla, lo que se conoce como combinaciones a dosis

fijas, que se han convertido en opciones preferentes de tratamiento en las diferentes guías de TAR [2-4].

Pero estos fármacos antirretrovirales que han salvado numerosas vidas también han comportado muchos efectos adversos. Algunos de éstos son específicos de fármacos concretos y otros son propios de cada familia de antirretrovirales.

Unos de los efectos adversos más temidos, tanto por los pacientes como por los médicos, son las alteraciones de la composición de la grasa corporal, conocidas como lipodistrofia. A finales de la década de los noventa, más de la mitad de los pacientes con infección por el VIH tenían lipodistrofia [5]. En la aparición de la misma pueden estar implicados el propio virus, factores del huésped y el TAR. Como veremos, no todos los fármacos antirretrovirales tienen la misma capacidad de producir lipodistrofia y será muy importante evitar el uso de aquellos fármacos que entrañen mayor riesgo. Al poder afectar de forma evidente y característica al aspecto del paciente, la lipodistrofia puede comprometer la adherencia al tratamiento y el éxito final del mismo, ya que para el paciente supone una estigmatización importante y lo relaciona claramente con el tratamiento [6]. Pero además de las implicaciones estéticas, la alteración en la composición de la grasa corporal también se ha asociado a una serie de cambios metabólicos y cardiovasculares, con mayor riesgo de dislipemia y de resistencia a la insulina [7] en unos pacientes que ya tienen un mayor riesgo cardiovascular por la propia infección crónica y porque a menudo coexisten muchos de los factores de riesgo clásicos [8, 9].

Con el aumento de la supervivencia gracias al TAR, los pacientes con infección por el VIH están envejeciendo e incluso se ha observado que presentan cambios propios de edades avanzadas de forma prematura. Esto ha obligado a

cambiar el enfoque en el manejo de estos pacientes, teniendo que pensar también en patologías a largo plazo [10]. Claros ejemplos serían el aumento de la enfermedad cardiovascular antes comentado o el aumento de la incidencia de neoplasias no relacionadas con el VIH (como por ejemplo de pulmón, de próstata o de colon). Otro ejemplo, que también se puede incluir dentro de los cambios en la composición corporal, es la afectación del hueso. En los pacientes con infección por el VIH se ha observado una prevalencia mayor que en la población general de osteopenia y osteoporosis [11]. En este grupo de pacientes también encontramos una prevalencia mayor de otras alteraciones óseas como la necrosis avascular o la osteomalacia. En la patología ósea pueden estar implicados la propia infección por el VIH, el TAR y una elevada prevalencia de los factores de riesgo clásicos, como el bajo peso, el sedentarismo, el tabaquismo o la co-infección por el virus de la hepatitis C (VHC) [12].

Hasta que la curación del VIH sea posible, nuestro deber como médicos es tratar a nuestros pacientes con combinaciones de fármacos que sean potentes y eficaces, pero a la vez con la menor toxicidad y la máxima comodidad, favoreciendo con todo ello el cumplimiento y el éxito del tratamiento a largo plazo.

2.2 Alteraciones en la Composición de la Grasa Corporal: Descripción y Mecanismos Patogénicos

Las alteraciones en la composición de la grasa corporal se conocen globalmente con el nombre de lipodistrofia, entidad que incluye dos alteraciones claramente diferenciadas desde el punto de vista morfológico:

- La pérdida de grasa o lipoatrofia, que se produce principalmente a nivel de la cara, las extremidades y las nalgas.

- El acúmulo de grasa o lipohipertrofia, que tiene lugar a nivel visceral, cervical anterior y/o posterior, mamas o en forma de lipomas subcutáneos.

Se ha investigado mucho sobre la lipoatrofia. En cambio, se sabe mucho menos sobre la lipohipertrofia debido a que es menos prevalente y su estudio más complejo, a pesar de que podría ser un componente esencial de las alteraciones metabólicas en los pacientes con infección por el VIH.

A finales del siglo pasado se empezaron a describir los primeros casos de lipodistrofia, con múltiples hipótesis para explicarla [5]. Predominaba la teoría de que los IP, fármacos que se habían introducido pocos años antes, provocaban una inhibición de la diferenciación y un aumento de la apoptosis de los adipocitos periféricos con pérdida de grasa a este nivel, generando una liberación de grasa que se depositaba a nivel central y que además provocaba dislipemia y resistencia a la insulina. Se consideraba por tanto que la lipoatrofia y la lipohipertrofia eran manifestaciones distintas de la misma enfermedad, la lipodistrofia, que podían o no coexistir en un paciente determinado [5, 7]. Pero empezaron a aparecer casos de lipodistrofia en pacientes *naive* a IP y hubo que buscar otras explicaciones, sospechando que los ITIAN podían jugar un papel fundamental en la aparición de la lipodistrofia [13]. Posteriormente se planteó que la lipoatrofia y la lipohipertrofia podían ser dos síndromes distintos, que compartían ciertos mecanismos y factores de riesgo [14]. Recientemente se ha postulado que podrían ser fases distintas de una misma patología, con distintos grados de expresión según el tipo de tejido adiposo al que afecten [15]. Pero lo que está claro es que es una ecuación compleja en la que intervienen tres factores fundamentales: el VIH, el TAR y el huésped.

Como veremos, el factor que probablemente tiene más importancia en la aparición de la lipodistrofia es el TAR, pero existen otros factores relacionados con el

virus y con el huésped que explican por qué no todos los pacientes expuestos a un determinado fármaco desarrollan lipodistrofia. Puede resultar difícil diferenciar la implicación de la infección por el VIH y del TAR en la patogenia de la lipodistrofia. En algunos estudios de cohortes se han comparado pacientes con infección por el VIH recibiendo TAR, pacientes con infección sin TAR y personas sin infección por el VIH. Por ejemplo en el FRAM Study (Fat Redistribution and Metabolic Changes in HIV) 38% y 40% de los pacientes con VIH presentaban lipoatrofia y lipohipertrofia respectivamente, comparado con el 5% y el 56% en los controles, lo que demuestra la elevada prevalencia de esta patología en los pacientes con infección por el VIH pero no permite diferenciar entre el virus o el TAR como responsables de la misma [16]. En el estudio WIHS (Women Interagency Health Study) se observó una mayor incidencia de lipoatrofia en las pacientes con infección por el VIH que recibían TAR que en las pacientes con infección sin TAR o sin infección, lo que sugería una implicación mayor del TAR que del virus en la aparición de lipoatrofia [17]. Probablemente la incidencia de lipodistrofia ha disminuido en los últimos años porque los datos de los que disponemos hoy en día han hecho que evitemos los fármacos más tóxicos. Pero la prevalencia continua siendo muy alta debido al efecto tóxico acumulado de los TAR previos, llegando prácticamente a la mitad de los pacientes en alguna cohorte reciente, aunque varía entre el 20 y el 80% según los estudios debido a la falta de una definición y un diagnóstico estandarizados y a la heterogeneidad de la población analizada [14, 18-21]. Se han descrito como factores de riesgo para lipodistrofia, aparte de los distintos antirretrovirales que se discutirán más adelante, el tiempo de exposición al TAR, la cifra de CD4 nadir, el diagnóstico de SIDA, la co-infección con el VHC o la edad avanzada [14, 18, 20, 22].

La lipodistrofia no es exclusiva de la infección por el VIH y del TAR. Se han observado varios síndromes hereditarios o adquiridos en pacientes sin infección por el VIH cuya principal manifestación clínica es la lipodistrofia, tanto parcial como generalizada [23]. Para intentar describir la patogenia de la lipodistrofia en el paciente infectado por el VIH se estudiaron estos síndromes, viendo que las causas eran diversas. Así, encontramos la lipodistrofia parcial familiar, que se asocia a alteraciones metabólicas como dislipemia e hiperglucemia, debida a alteraciones en el cromosoma 1q y en el gen LMNA, que codifica la lamina A/C (proteína involucrada en funciones estructurales y transcripcionales del núcleo celular). Existe una forma generalizada debida a mutaciones en los genes de seipina (una proteína del retículo endoplásmico involucrada en la formación de gotas lipídicas). También existe la lipomatosis múltiple simétrica (o enfermedad de Madelung o adenolipomatosis de Launois-Bensaude), asociada a mutaciones o deleciones en el ADN mitocondrial (ADNmt) que conllevan una actividad disminuida del complejo IV de la cadena respiratoria mitocondrial. No obstante, estas patologías son muy infrecuentes y de todas estas etiologías únicamente se han descrito las alteraciones en el ADNmt en el paciente con infección por el VIH. También encontramos lipodistrofia en pacientes con hipercortisolismo, que presentan lipohipertrofia troncular, cervical y facial y lipoatrofia en extremidades [23]. En los adipocitos centrales existe mayor cantidad de receptores para glucocorticoides, activando la diferenciación e hipertrofia de los adipocitos [24]. Es posible que en el paciente con infección por el VIH, la inflamación crónica por la infección o el TAR provoquen un aumento del cortisol que aumente la grasa visceral, aunque no hay estudios que lo determinen directamente [15].

Pero antes de empezar a hablar del tejido adiposo, sus alteraciones y las potenciales causas debemos recordar brevemente la estructura y la función de las

mitocondrias, pues se han visto implicadas en las alteraciones de la grasa en los pacientes con infección por el VIH.

2.2.1 Estructura y Funciones de la Mitocondria

Las mitocondrias son organelas intracelulares, presentes en todas las células excepto en los eritrocitos. Las mitocondrias replican independientemente de la célula, gracias a la enzima ADN polimerasa- γ . Tienen su propio ADN mitocondrial (ADNmt), que es una molécula circular de doble hélice que codifica la síntesis de componentes de la cadena respiratoria mitocondrial [25].

La principal función de las mitocondrias es la producción de energía, que se realiza sobre todo a través de la fosforilación oxidativa de glucosa o ácidos grasos, con la que se obtiene ATP. Este proceso tiene lugar gracias a la cadena de transporte de electrones de la mitocondria, que consta de 4 complejos enzimáticos (complejo I o NADH deshidrogenasa, complejo II o succinato deshidrogenasa, complejo III o citocromo reductasa y complejo IV o citocromo oxidasa), que generan un gradiente de energía que es utilizado por la ATP sintetasa (complejo V) para sintetizar ATP a partir de ADP y fosfato. Como consecuencia de la producción de energía se generan especies reactivas de oxígeno (“reactive oxygen species” o ROS por sus siglas en inglés), que son un producto normal del metabolismo celular pero que en concentraciones elevadas pueden ser tóxicas para la célula. La mitocondria también está implicada en la eliminación de las ROS.

Si existe una afectación del ADNmt por la causa que sea, que impide la síntesis de las proteínas de la fosforilación oxidativa, la generación de energía tiene lugar predominantemente por glicolisis citosólica, que tiene como consecuencias un

aumento del lactato y de protones (con riesgo de acidosis láctica). No obstante, es necesario que exista una depleción significativa del ADNmt para encontrar una traducción funcional. En la Figura 1 podemos observar un esquema de la producción energética de la mitocondria.

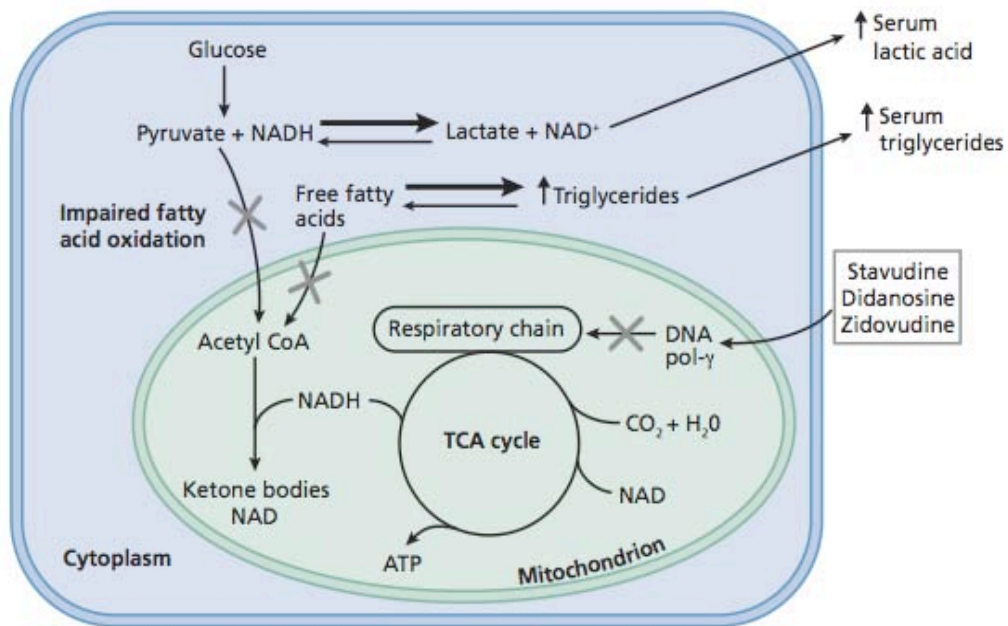


Figura 1. Esquema de la producción de energía a nivel de la mitocondria, mostrando la vía aeróbica en caso de función mitocondrial normal o anaeróbica cuando la función mitocondrial está alterada. Reproducido de la referencia [26].

Pero la mitocondria tiene muchas otras funciones, entre las que encontramos la producción de calor en el tejido graso marrón o la regulación de la diferenciación y de la apoptosis celular [27].

2.2.2 Estructura del Tejido Adiposo y Alteraciones en la Lipodistrofia

De cara a estudiar las alteraciones en la composición corporal, podemos diferenciar dos tipos de tejido adiposo, la grasa visceral y la grasa subcutánea (utilizaremos los acrónimos en inglés VAT y SAT puesto que es la terminología más

utilizada al hablar de la distribución de la grasa). En condiciones normales un 80% de la grasa corporal se encuentra a nivel de SAT y un 10-20% a nivel de VAT y con la edad aumenta la cantidad de VAT. Los adipocitos en cada uno de estos tejidos tienen una estructura, una función y una respuesta diferentes a las distintas hormonas.

La maduración de los pre-adipocitos tiene lugar en dos fases: diferenciación e hipertrofia. En la primera fase se necesita un elevado número de mitocondrias, encontrando adipocitos pequeños que son muy sensibles a la insulina, con gran avidéz para triglicéridos y ácidos grasos libres y que secretan gran cantidad de adiponectina. La adiponectina es una citocina sintetizada y secretada exclusivamente por los adipocitos que actúa en el tejido adiposo, el músculo y el hígado aumentando la sensibilidad a la insulina. Esto conlleva una reducción de la glucosa plasmática, una inhibición de la neoglucogénesis hepática y un aumento de la oxidación de ácidos grasos libres en el músculo [28]. En la diferenciación de los adipocitos intervienen factores de transcripción adipocitaria, como la proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides 1c (SREBP-1c), la proteína de unión al CCAAT/enhancer alfa (C/EBP- α) o el receptor activado por proliferadores peroxisomales gamma (PPAR- γ). El factor de transcripción SREBP-1c, además de jugar un papel en la diferenciación adipocitaria, modifica el metabolismo intracelular del colesterol y los ácidos grasos en respuesta a cambios en los niveles de esteroides; si disminuyen los niveles de esteroides, SREBP-1c da una señal al núcleo que transcribe genes de respuesta como PPAR- γ y C/EBP- α , que son los factores principales del proceso de diferenciación estimulando la recaptación de lípidos y la adipogénesis [29, 30]. Los adipocitos maduros se hipertrofian, tienen menos mitocondrias, secretan menos adiponectina, se vuelven más resistentes a la insulina

y tienen una actividad lipolítica mayor, liberando ácidos grasos libres. Esta liberación induce mayor resistencia a la insulina, conllevando a la larga hiperglucemia, hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia, con un mayor riesgo cardiovascular.

A parte de adipocitos y pre-adipocitos también encontramos tejido conectivo, vascular y células no adipocitarias, como células inflamatorias y fibroblastos, cuya composición también será diferente en VAT y SAT [31]. Además, VAT tiene una elevada concentración de receptores de glucocorticoides y de andrógenos, mientras que en SAT existe mayor unión a los receptores estrogénicos [24].

Hasta hace poco se consideraba al tejido adiposo únicamente como un depósito energético, donde se acumulaban lípidos tras la ingesta de alimentos que posteriormente se liberaban en forma de ácidos grasos según las necesidades de energía. Actualmente sabemos que el tejido adiposo es un órgano importante en el control metabólico. Como tal, juega un papel clave en la sensibilidad a la insulina, mediante la secreción de adipocitocinas como la leptina o la adiponectina. El tejido adiposo también interviene en el control de la presión arterial, puesto que los adipocitos tienen un sistema de renina-angiotensina. Los adipocitos también tienen capacidad de secretar citocinas pro-inflamatorias, como el factor tumoral alfa (TNF- α) o la interleucina 6 (IL-6), que tendrán importancia en la aparición de lipodistrofia como veremos más adelante [28, 32].

Al realizar biopsias de tejidos grasos en pacientes con lipoatrofia se han observado una serie de alteraciones características, entre las que destaca una baja expresión de factores de transcripción adipogénica involucrados en la diferenciación del adipocito, como el SREBP-1c, C/EBP- α o PPAR- γ [29, 30]. La baja expresión de estos factores comporta una regulación a la baja de los genes relacionados con la diferenciación adipogénica que dependen de ellos y un aumento de la apoptosis,

comportando una disminución de la capacidad de acumular grasa en SAT [33]. Esto supone por ejemplo una reducción del gen de la lipoprotein-lipasa (responsable de recaptar ácidos grasos), del transportador de glucosa sensible a insulina GLUT4 (que comporta una disminución de la recaptación de glucosa) o una reducción de la expresión de la adiponectina, que como ya se ha visto sensibiliza frente a la insulina en varios órganos y tejidos.

En estas biopsias también se ha observado una reducción del ADNmt, que comporta un descenso de la función mitocondrial que puede desembocar en una disminución de la capacidad oxidativa endógena del tejido adiposo. La cadena respiratoria mitocondrial genera ROS, que en condiciones fisiológicas están en cantidades bajas y estimulan la adipogénesis y la lipogénesis por activación de factores de transcripción como el SREBP-1c, entre otros mecanismos. Pequeños aumentos de ROS asociados a una disfunción mitocondrial leve-moderada tendrían el mismo efecto, asociándose a hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos (lipohipertrofia). Pero a mayores concentraciones de ROS, como las que encontraríamos con disfunciones mitocondriales más severas, observamos el efecto contrario, con una inhibición del PPAR- γ y una inducción de la apoptosis adipocitaria, resultando en lipoatrofia [34, 35]. En modelos murinos se ha observado que el contenido de mitocondrias es mucho mayor en VAT que en SAT, lo que podría explicar una mayor susceptibilidad del tejido subcutáneo a la toxicidad mitocondrial con aparición de lipoatrofia y en cambio menores aumentos de ROS a nivel visceral con tendencia a la lipohipertrofia [36].

También observamos en este tejido adiposo con lipodistrofia un ambiente pro-inflamatorio con aumento de TNF- α , de IL-6, de la proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1) y otras citocinas pro-inflamatorias liberadas por adipocitos,

pre-adipocitos, linfocitos, macrófagos y células endoteliales. Probablemente estas citocinas pro-inflamatorias inhiben la diferenciación adipocitaria mediante el bloqueo de la inducción de PPAR- γ y C/EBP α y promueven la lipólisis [37].

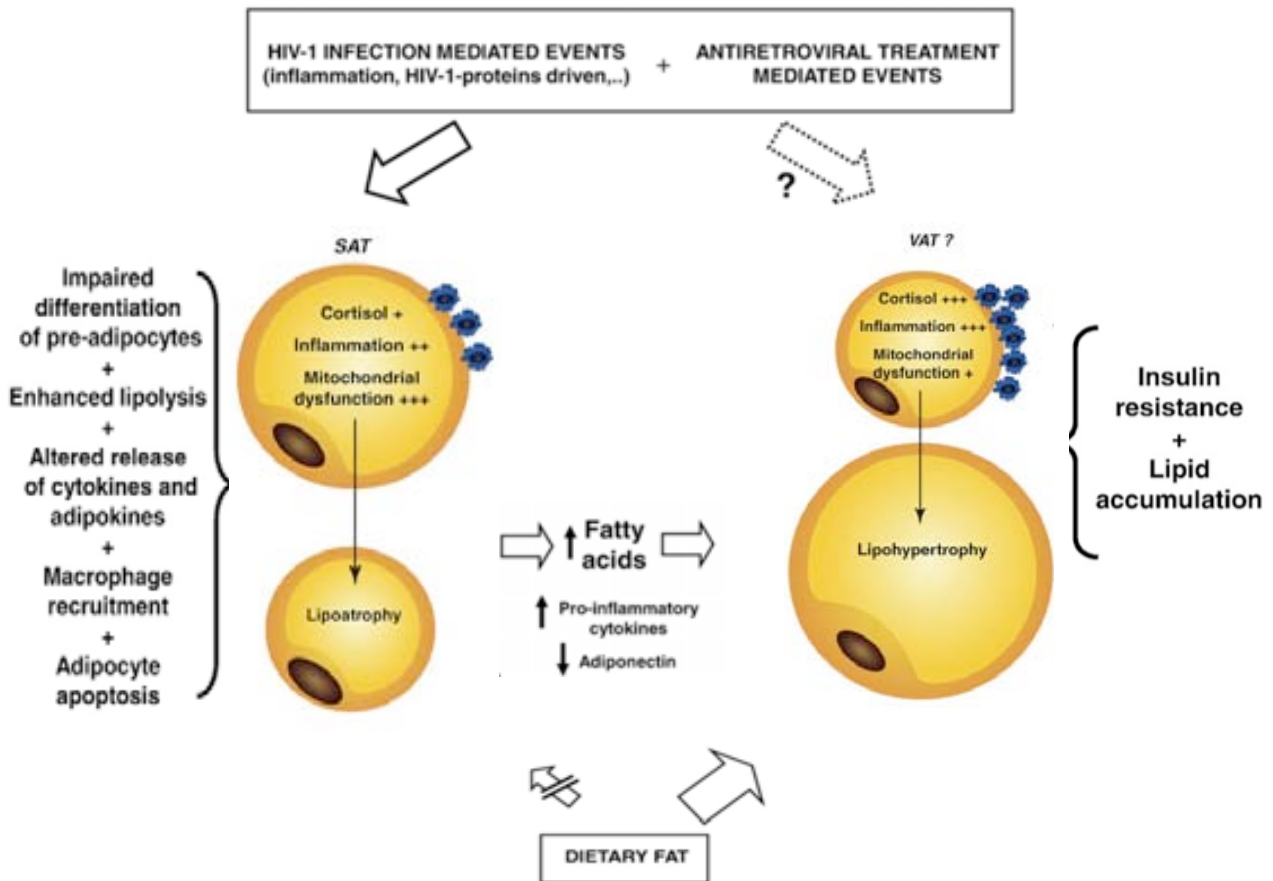


Figura 2. Fisiopatología de la lipodistrofia (adaptada de las referencias [15, 32]).

Por tanto, es posible que los distintos cambios que observamos en la lipoatrofia y la lipohipertrofia se deban a los mismos factores (VIH y TAR), que afectan de manera diferente a los dos tipos de tejido adiposo, modulados por factores del huésped. La lipoatrofia puede deberse a un aumento de la lipólisis junto con una capacidad disminuida de regenerar el tejido adiposo por un defecto en la diferenciación de los pre-adipocitos, con afectación mitocondrial en un tejido con

menor reserva mitocondrial, provocado por la inflamación secundaria a la infección y/o a efectos secundarios del TAR. Esto conlleva un aumento de los ácidos grasos libres, que se acumulan en la grasa visceral, un tejido con mayor cantidad de mitocondrias y receptores de cortisol, pudiendo comportar lipohipertrofia [15, 32]. Esta hipótesis se ilustra en la Figura 2.

2.2.3 Papel del Propio VIH en las Alteraciones de la Grasa

Antes del uso de fármacos antirretrovirales ya se describieron alteraciones de la grasa corporal en pacientes con infección por el VIH, que se siguen observando en pacientes *naive* a TAR [16, 38]. Asimismo, existen pacientes que presentaron lipodistrofia con el TAR, se paró éste y a pesar de ello las alteraciones en la grasa han continuado progresando. Por estos motivos se sospechó que el propio virus podía provocar *per se* alteraciones en el tejido adiposo.

La infección crónica por el VIH puede conllevar un estado pro-inflamatorio en todos los tejidos, incluyendo el adiposo. Esta inflamación puede alterar la relación entre adipocitos, pre-adipocitos y células inflamatorias (linfocitos y especialmente macrófagos). Algunas citocinas de los macrófagos (por ejemplo TNF- α e IL-6) activan al factor nuclear pro-inflamatorio kappa B (NF κ B) de los adipocitos, provocando un aumento de la producción de IL-6, IL-8 y ácidos grasos libres. Además, TNF- α disminuye en parte la diferenciación adipocitaria a través de la inhibición de la expresión de PPAR- γ , inhibe la lipoprotein-lipasa y también provoca resistencia a la insulina reduciendo la actividad de la cinasa del receptor de la insulina y de GLUT-4 [29, 39]. Los ácidos grasos libres saturados pueden activar a su vez el receptor tipo toll-4 (TLR-4) en macrófagos y adipocitos, provocando un círculo pro-inflamatorio [34].

La proteína Tat del virus activa a las células inflamatorias que secretan citocinas. Los macrófagos infectados también pueden liberar proteínas virales como Vpr y Nef, que pueden disminuir la actividad de PPAR- γ inhibiendo la adipogénesis [40, 41]. Esta inflamación en el tejido adiposo provocada por los macrófagos infectados (incluso en pacientes con infección controlada con el TAR) puede ser la responsable de la perpetuación de la lipodistrofia a pesar de haber retirado los fármacos responsables.

Se ha observado una disminución en el ADNmt en pacientes infectados por el VIH *naïve* a TAR, comparados con sujetos de la misma edad sin infección. Esto sugeriría un efecto del propio virus sobre la mitocondria, quizás por control de la apoptosis celular inducida por proteínas codificadas por el VIH, como Tat o Vpr, o por acción directa de citocinas inflamatorias como TNF- α [42-44]. Esta disminución en el ADNmt se traduce en un descenso en la actividad de los complejos III y IV de la cadena respiratoria mitocondrial. Pero también se ha observado un descenso de la actividad del complejo II, que depende del ADN nuclear, lo que sugiere una afectación más generalizada de la mitocondria por el VIH que únicamente a nivel del ADNmt [45]. Esta afectación mitocondrial por el VIH podría aumentar la potencial toxicidad del TAR en estos pacientes. Los distintos mecanismos por los que el virus puede provocar lipodistrofia están resumidos en la Figura 3.

Varios estudios han observado una correlación entre la duración y la severidad de la infección (manifestada como CD4 bajos y/o presencia de enfermedades definitorias de SIDA) y la presencia de lipodistrofia, probablemente debido a este mecanismo inflamatorio que acabamos de comentar [9, 14]. En múltiples estudios se ha observado un aumento de la grasa en extremidades al iniciar cualquier tipo de TAR, incluso con los análogos de timidina zidovudina (AZT) y

estavudina (d4T) [Dy:] Esto se ha atribuido a un fenómeno de retorno a la normalidad, que se podría deber en parte a la reversión de esta acción del VIH y la inflamación que provoca el virus sobre el tejido adiposo.

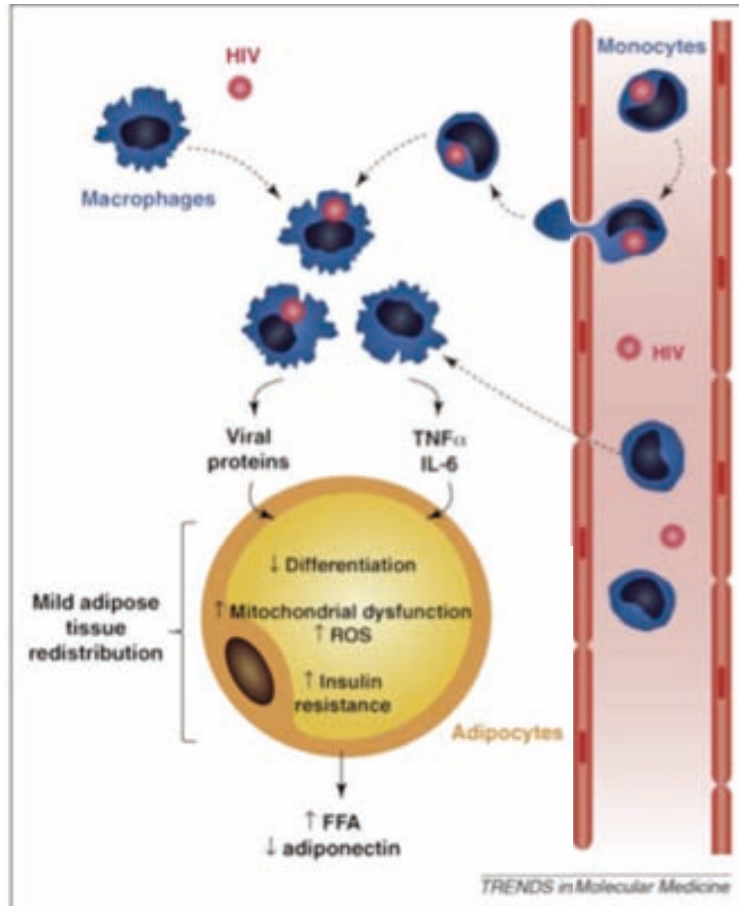


Figura 3. Efectos del VIH en el tejido adiposo. FFA: ácidos grasos libres. ROS: especies reactivas de oxígeno. Reproducido de la referencia [1]:

No obstante, la lipodistrofia provocada por el VIH es limitada comparada con el efecto de los fármacos antirretrovirales.

888 **U** **2VU** **2VDI** **BI** **2V** **21**. **22A** **2B2V** **2B2**. **22 VÓ**. **212** **2B22** **22**. **22IVB2** **222** **222**. **222**

Las primeras alteraciones en la composición corporal se observaron a

mediados-finales de los años noventa, cuando empezaron a utilizarse los IP asociados a los ITIAN para construir el TARGA. Esto llevó a que se considerara a los IP responsables de la lipodistrofia, puesto que habían sido los últimos fármacos en introducirse [5, 7]. Posteriormente se vio que pacientes que no habían recibido nunca IP presentaban también lipodistrofia, por lo que se pensó que la otra familia de TAR disponible, los ITIAN, jugaban un papel más relevante [49-51]. Recientemente también se ha relacionado a los ITINAN con alteraciones en la grasa corporal [52].

Dado que los fármacos antirretrovirales se dan habitualmente en combinación, es difícil atribuir la causalidad a un fármaco en concreto, aunque actualmente se considera que los antirretrovirales más implicados en el desarrollo de lipodistrofia son ciertos ITIAN. A continuación revisaremos las principales teorías y mecanismos que intentan explicar el papel de las distintas familias en la patogenia de la lipodistrofia.

2.2.4.1 Patogenia de la lipodistrofia causada por los Inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos de Nucleós(t)idos

A) Toxicidad mitocondrial:

Los ITIAN realizan su actividad antirretroviral en su forma activa tri-fosforilada a nivel intracelular gracias a su capacidad de incorporarse a la cadena de ADN en crecimiento por la acción de la transcriptasa inversa, provocando la terminación de la cadena al no tener grupo hidroxilo en la posición 3'. No obstante, estos ITIAN también pueden ser incorporados por otras enzimas encargadas de fabricar o reparar el ADN del huésped, como la ADN polimerasa- γ .

La principal vía de afectación de la funcionalidad mitocondrial es a través de la depleción del ADNmt por inhibición de la ADN polimerasa- γ [13]. Pero existen estudios en pacientes con lipoatrofia establecida en que no se observan depleciones significativas de ADNmt [42, 53, 54], por lo que se han buscado otras vías de afectación de la función mitocondrial sin depleción del ADNmt. Los diferentes mecanismos descritos para explicar la disfunción mitocondrial con los ITIAN son:

A.1) Inhibición de la ADN polimerasa- γ con depleción del ADNmt:

A nivel de la mitocondria, la ADN polimerasa- γ es la única enzima responsable de la replicación del ADNmt. Los ITIAN pueden inhibir fuertemente esta enzima encargada de reparar el ADN intracelular, provocando una depleción del ADNmt [13, 42, 53]. Dentro de las proteínas codificadas por el ADNmt están las subunidades de la cadena respiratoria mitocondrial (sistema de fosforilación oxidativa o OXPHOS) y si disminuye su síntesis puede conllevar una afectación en la producción energética de la célula. Esta afectación mitocondrial puede provocar un amplio espectro de manifestaciones clínicas (polineuropatía, miopatía, miocarditis, pancreatitis, esteatosis hepática, hiperlactatemia sintomática y acidosis láctica), que recuerdan a las enfermedades mitocondriales hereditarias, y que en el tejido adiposo pueden provocar un descenso del tamaño de los adipocitos y un aumento de la apoptosis adipocitaria [55].

El grado de afinidad de los antirretrovirales y sus metabolitos por la ADN polimerasa- γ de las mitocondrias puede explicar la diferencia en la toxicidad de cada fármaco [56, 57]. Los fármacos más implicados son los análogos de timidina (AZT y d4T), didanosina (ddI) y otros ITIAN que actualmente ya no se usan en el TAR como zalcitabina (ddC) o adefovir. Por su estructura química, d4T se une más fuertemente

a la ADN polimerasa- γ que AZT, teniendo un mayor efecto inhibitor y por tanto mayor riesgo de toxicidad [49]. Estas alteraciones pueden verse incrementadas cuando los ITIAN con mayor toxicidad son usados en combinación (como por ejemplo d4T+ddl) [58]. En cambio, otros ITIAN como la lamivudina (3TC) o emtricitabina (FTC) se unen de forma más débil y se eliminan de forma más eficiente, por lo que provocan mucha menos toxicidad [13, 59-61]. Tampoco se ha visto afectación importante por parte de tenofovir (TDF) [61] o abacavir (ABC) [25, 60, 61].

Los efectos de estos fármacos son dosis y tiempo-dependientes y variarán según la línea celular, con distinto grado de afectación en función del tejido. Esto puede explicar resultados divergentes en cuanto a la toxicidad de cada fármaco en función del tejido que analicemos. Algunos estudios sitúan a los dideoxinucleósidos ddl y ddC por delante de los análogos de timidina (d4T>AZT) en cuanto a toxicidad, pero están basados en líneas celulares de hepatocitos [25, 61-63]. En cambio, en estudios en pre-adipocitos y adipocitos d4T y AZT son los fármacos más tóxicos [42, 60]. Esto puede suponer una limitación a la hora de analizar la toxicidad en tejidos concretos, puesto que la información obtenida en uno (por ejemplo en células mononucleares de sangre periférica [PBMC por sus siglas en inglés] por su fácil obtención) no tiene por qué representar lo que pasa en otro (por ejemplo en tejido adiposo, músculo o hígado, que precisan de biopsias para obtener muestras) [64].

A.2) Mutaciones y Deleciones en el ADNmt:

Valorar la calidad del ADNmt es mucho más difícil que valorar la cantidad, pero la presencia de mutaciones o deleciones en el mismo pueden causar también disfunción mitocondrial. En algunos estudios en pacientes con lipodistrofia y/o

acidosis láctica se observaron múltiples deleciones en el ADNmt con una cantidad normal de ADNmt en todos los tejidos, de forma similar a lo que ocurre en la lipomatosis múltiple familiar, aunque es imposible saber si éstas ya existían antes de iniciar el TAR [65-67].

A.3) Inhibición de la producción de ARN mitocondrial (ARNmt):

El genoma mitocondrial codifica 13 polipéptidos, todos subunidades de la cadena respiratoria mitocondrial. En un estudio *in vitro* se observó un descenso cuantitativo y cualitativo del ARNmt con d4T, pero no con AZT o ddl, sin depleción del ADNmt. Esto podría deberse a una inhibición de la polimerasa del ARNmt o por afectación de co-factores necesarios para la transcripción del ARNmt. La consecuencia final sería la misma, la disfunción de la mitocondria [68].

A.4) Inhibición directa de enzimas mitocondriales:

Se ha observado que AZT inhibe directamente la adenilato-cinasa por fuerte afinidad a los sitios de unión ATP/ADP [69], la citocromo C oxidasa o la citrato-sintetasa [70, 71], de manera que afecta directamente a la cadena respiratoria mitocondrial por una vía distinta a la afectación del ADNmt, sin observar necesariamente depleción del mismo [71]. También se ha descrito por parte de AZT la inhibición de la fosforilación de la timidina por la timidin-kinasa tipo 2, conllevando una disminución de las reservas fisiológicas de trifosfato de timidina que provoca una disminución de la replicación del ADNmt [72].

Para determinar el grado de afectación mitocondrial según los mecanismos antes descritos se pueden utilizar diferentes parámetros:

- Análisis cuantitativo: número de copias de ADNmt por célula en una muestra determinada de cualquier tejido, normalmente en forma de cociente respecto las copias de ADN nuclear (ADNn). Se han utilizado *southern-blots*, PCR semi-cuantitativas o cuantitativas, pero la más utilizada es la PCR a tiempo real ya que es sensible, fiable y con una variabilidad intra e inter-ensayo muy baja. Son pruebas que no se realizan de forma rutinaria por su precio y laboriosidad y su utilidad ha quedado relegada a estudios clínicos dirigidos a dilucidar la fisiopatología de las alteraciones mitocondriales. Uno de los principales inconvenientes de la cuantificación del ADNmt es que no informa de la traducción funcional. Así, depleciones muy importantes pueden tener pocas consecuencias clínicas. En un estudio se demostró que el contenido de ADNmt no se correlacionaba con ningún otro parámetro mitocondrial y las funciones dependientes del ADNmt quedaban preservadas a pesar de depleciones severas del mismo [73]. No obstante, la cuantificación puede ser interesante para valorar la evolución tras un cambio de tratamiento dentro de ensayos clínicos, puesto que si se observa un aumento en la cantidad de ADNmt se puede presuponer cierto grado de recuperación en la funcionalidad mitocondrial.

- Análisis cualitativo: idealmente sería preferible medir la funcionalidad mitocondrial más que la cantidad de ADNmt, que no informa sobre la repercusión clínica. Se pueden medir de forma directa la actividad de los complejos de la cadena respiratoria que dependen del ADNmt (I, III o IV), la actividad de la citrato sintetasa o el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi$) con fluorocromos lipofílicos catiónicos o por citometría de flujo [74], pero son técnicas mucho más complejas que las cuantitativas y se reservan para ensayos clínicos.

- Análisis indirecto: aunque mucho menos sensible pero más asequible, se puede medir de forma indirecta la funcionalidad de las mitocondrias con los niveles de lactato en sangre, que se acumula cuando existe una disfunción de la fosforilación oxidativa mitocondrial. No obstante, cuando estos niveles aumentan nos encontramos en una fase muy avanzada de la disfunción de las mitocondrias.

B) Descenso de la diferenciación adipocitaria por disminución de la expresión de genes nucleares:

En un estudio *in vitro* se observó que tanto AZT como d4T, actuando directamente sobre la expresión de PPAR- γ y C/EBP- α , disminuían la diferenciación adipocitaria, disminuían el contenido lipídico de los adipocitos y promovían la apoptosis adipocitaria. Estos efectos deletéreos no se observaron con los otros ITIAN (ddl, 3TC, ABC y TDF) [60]. En un estudio *in vivo* en voluntarios sanos tratados con AZT o d4T y 3TC durante 6 semanas se observó un descenso significativo de la expresión del gen de PPAR- γ , con aumentos compensatorios de los genes de PPAR- α , lipoprotein-lipasa y leptina, sin depleción del ADNmt. En este estudio no se observaron diferencias significativas entre AZT y d4T, pero con tendencia a mayores cambios con este último [71]. En un estudio en pacientes con infección por el VIH *naïve* a TAR que empezaron tratamiento con TDF/FTC o AZT/3TC (asociado a efavirenz [EFV]) y en el que existía una rama de control de pacientes sin infección por el VIH, se observaron diferencias significativas en la expresión de genes involucrados en la diferenciación adipocitaria que comportaron lipoacumulación a nivel visceral con AZT y cambios menores con TDF, además de una alteración significativa de la cadena respiratoria mitocondrial con AZT pero no con TDF, por lo que distintos mecanismos pueden coexistir [75].

C) Alteración en la producción de citocinas y adiponectina en el tejido adiposo:

En un estudio *in vitro* con adipocitos humanos se observó que tras 48 horas de exposición a análogos de timidina hubo un incremento de citocinas inflamatorias (MCP-1, TNF- α e IL-6) y una reducción de la liberación de adiponectina y leptina, con disminución del contenido lipídico de los adipocitos. Estas alteraciones podrían ser debidas a toxicidad directa de estos ITIAN sobre el adipocito [76].

Cualquiera de los citados mecanismos o una mezcla de los mismos puede dar lugar a una disminución de la diferenciación adipocitaria y un aumento de la lipólisis. Como consecuencia podemos encontrar un aumento de los niveles de ácidos grasos libres circulantes, que pueden provocar resistencia a la insulina y a nivel del tejido adiposo un efecto lipotóxico local promoviendo la inflamación con liberación de citocinas como TNF- α o IL-6, provocando un círculo vicioso que puede empeorar la lipodistrofia.

2.2.4.2 Patogenia de la lipodistrofia causada por los Inhibidores de la Transcriptasa Inversa No Análogos de Nucleósidos

El papel de los ITINAN en las alteraciones de la distribución de la grasa corporal es menos importante y mucho menos conocido que el de los ITIAN.

Se ha observado que EFV posee un potente efecto anti-adipogénico. En un estudio *in vitro* con adipocitos humanos expuestos a dosis crecientes de EFV, se observó que éste inhibía la diferenciación adipocitaria, sobre todo a dosis elevadas (muy por encima de las concentraciones terapéuticas habituales) y con un efecto dosis-dependiente, por una disminución en la expresión de SREBP-1c [77, 78]. En otro estudio *in vitro* en cultivos de adipocitos con EFV o lopinavir potenciado con

ritonavir (LPV/r) se observó una reducción de la expresión de genes de diferenciación adipocitaria, con disminución de adiponectina, lipoprotein-lipasa, leptina y disminución de PPAR- γ y c/EBP α con ambos fármacos, pero mayor con EFV. También se observó un mayor incremento de citocinas pro-inflamatorias con EFV. En cambio no se observó ningún cambio en el ADNmt [79].

Existe mucha menos información con los otros fármacos de la familia de los ITINAN. En principio no se han visto asociados a alteraciones en la grasa corporal. Existe un estudio *in vitro* con nevirapina (NVP) en que se observó incluso un aumento de la diferenciación adipocitaria, con un aumento modesto pero significativo en la expresión de SREBP-1c, PPAR- γ y C/EBP α [78]. Existe también un estudio *in vitro* con adipocitos expuestos a rilpivirina, en que se observó una inhibición de la expresión de SREBP-1c, PPAR- γ y C/EBP α , y a altas concentraciones también un aumento de la liberación de citocinas pro-inflamatorias. Esto es parecido a lo que sucede con EFV, pero de menor intensidad y son necesarias concentraciones más elevadas de rilpivirina para que tenga lugar [80].

Pero en la práctica clínica, los ITINAN son fármacos ampliamente utilizados desde hace muchos años y sólo se ha observado en un estudio una mayor incidencia de lipoatrofia con EFV, por lo que serán necesarios más datos respecto al riesgo de alteraciones en la composición de la grasa corporal antes de poder realizar recomendaciones sobre su (no) utilización.

2.2.4.3 Patogenia de la lipodistrofia causada por los Inhibidores de la Proteasa

La proteasa del VIH tiene cierta homología con proteínas implicadas en el metabolismo lipídico, como el receptor de lipoproteína de baja densidad. Esto llevó a

Carr y colaboradores afirmaron en 1998 que la lipodistrofia estaba provocada por los IP al inhibir estas proteínas, provocando apoptosis de los adipocitos periféricos seguidos de hiperlipidemia [5].

No obstante, los mecanismos por los que los IP pueden provocar toxicidad en el tejido adiposo son múltiples y complejos (Figura 4). Los IP inhiben la diferenciación celular de los adipocitos a través de la activación del NFκB [81, 82], especialmente en SAT, pero también por efecto inhibitorio sobre factores de transcripción como el SREBP-1c (inhibiendo el paso a su forma activa), C/EBPα o PPAR-γ y por reducción en la expresión génica y la secreción de adiponectina [29, 33, 83]. También se ha observado en cultivos celulares de adipocitos que los IP pueden activar la lipólisis por aumento de la apoptosis [84].

Los IP pueden aumentar de forma directa la resistencia a la insulina a nivel del músculo y del adipocito, limitando la capacidad de almacenaje energético del tejido adiposo. Esto sucede sobre todo por la inhibición directa del transportador de glucosa GLUT4 en músculo y tejido adiposo, pero también por la disminución en la secreción de hormonas adipocitarias como la leptina o la adiponectina [81, 85].

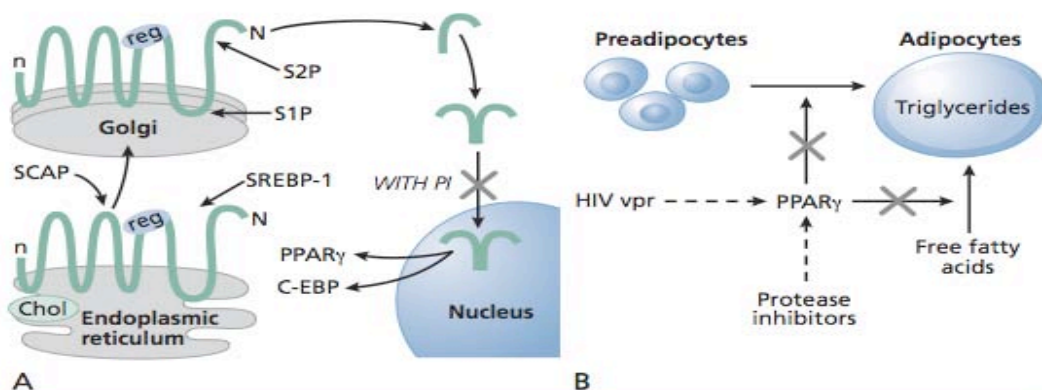


Figura 4. Potenciales efectos de los IP en el metabolismo lipídico. El SREBP actúa como factor de transcripción de numerosos genes, incluido PPAR-γ, y se activa cuando disminuyen los niveles de esteroides intracelulares. Los IP pueden inhibir esta transcripción o pueden inhibir directamente PPAR-γ, como se muestra en la figura B, necesario para la diferenciación adipocitaria. Reproducido de [26].

A parte de su acción directa, se ha postulado que los IP pueden amplificar el efecto de los ITIAN para producir lipodistrofia. Esto probablemente sería debido a una toxicidad aditiva. Como se ha comentado los IP disminuyen la expresión de PPAR- γ por inhibición de SREBP-1c y esto conlleva disfunción adipocitaria. Los ITIAN también se han visto relacionados con una disminución de la expresión de PPAR- γ por distintos mecanismos y a su vez también pueden disminuir la oxidación de los ácidos grasos, que empeora aún más esta disfunción adipocitaria provocando acumulación de lípidos en otros tejidos, que pueden comportar resistencia a la insulina [82, 86].

2.2.5 Factores del Huésped que Influyen en las Alteraciones de la Grasa

Existen otros factores que influyen en las alteraciones de la grasa, que podríamos considerar los propios del huésped. Esto explicaría por qué algunos individuos presentan lipodistrofia y otros no recibiendo los mismos fármacos.

El género es uno de ellos: en estudios longitudinales se ha observado que las mujeres tienen más tendencia a presentar lipohipertrofia y los hombres más lipoatrofia [14, 18, 52]. Esto dependerá en parte de hormonas sexuales, pero también de factores como la grasa basal tanto a nivel central como periférico. En una cohorte italiana se observó un mayor riesgo de lipodistrofia en las mujeres, con un predominio de lipoacumulación en tronco [87]. En cambio, esto no se observó en la cohorte FRAM americana, en que las pacientes con VIH tenían más lipoatrofia que las mujeres control sin VIH pero en cambio la incidencia de lipohipertrofia era parecida en ambos grupos [88].

También se han asociado a mayor incidencia de lipodistrofia ciertos determinantes genéticos, como polimorfismos en el gen de TNF- α (posiciones 308 y 238), de ApoC3-455, del locus HFE 187 o del alelo HLA-B100*4001[89-92].

Otro factor importante es la edad. En muchos estudios de cohortes se ha observado que una mayor edad se asocia a mayor riesgo de lipodistrofia [18, 38, 93]. En condiciones fisiológicas, la edad se asocia a una redistribución de la grasa, un descenso de la función mitocondrial y un aumento de las citocinas pro-inflamatorias, lo que podría potenciar la aparición o empeoramiento de la lipodistrofia debida al VIH y el TAR.

2.2.6 Medición de las alteraciones de la grasa corporal

Es muy importante realizar un diagnóstico precoz de las alteraciones de la grasa corporal, puesto que cuando éstas son evidentes en la exploración física la pérdida de grasa ya es importante (habitualmente superior al 30%) [94] y difícilmente será reversible con cualquier tratamiento no quirúrgico. Además, el diagnóstico basado en la exploración física es muy subjetivo, difícil de cuantificar y seguir prospectivamente. Por estos motivos es muy importante disponer de herramientas de diagnóstico sensibles, fiables, reproducibles y accesibles. El problema radica en que no existen unos valores de referencia para diagnosticar la lipodistrofia y la cantidad de grasa en extremidades y en tronco varía significativamente entre individuos, tanto en la población con infección por el VIH como sin ella, presenten o no lipodistrofia, y esto dificulta establecer unos puntos de corte para el diagnóstico.

Carr y colaboradores fueron los primeros en intentar definir la lipodistrofia con criterios más objetivos y para este fin crearon la *Lipodystrophy Case Definition* (LDCD), que incluía en un modelo múltiples variables: edad, sexo, duración de la infección y estadio de la misma, cociente cintura/cadera, cociente grasa tronco/extremidades, porcentaje de grasa en piernas, cociente SAT/VAT abdominal, anion-gap y colesterol HDL. Este modelo tiene una buena sensibilidad (79%) y especificidad (80%) para el diagnóstico de lipodistrofia, pero su cálculo es poco práctico en la rutina diaria puesto que precisa de una densitometría axial de rayos X de doble energía (DXA) y una tomografía computarizada (TC), además de los datos antropométricos y analíticos [95]. Por este motivo se desarrolló a partir del LDCD una escala de gradación basada en datos de la exploración física, valorando la pérdida de grasa (en cara, brazos, nalgas y piernas) y/o el aumento de grasa (en abdomen, cuello y mamas) como ausente, leve, moderada o severa, obteniendo una puntuación que puede ser comparada o seguida en el tiempo, aunque probablemente infra-estimando la prevalencia real del problema [96].

También se han definido escalas de severidad de la lipoatrofia específicas para la cara, puesto que las técnicas de imagen para realizar el diagnóstico o el seguimiento en esta localización (TC o resonancia magnética nuclear [RMN]) no se suelen realizar fuera de ensayos clínicos por una cuestión de precio y disponibilidad. Una de las más utilizadas es la de Fontdevila y colaboradores (Figura 5), que divide la lipoatrofia facial en tres grados según los hallazgos de la exploración física, y nos permite el seguimiento del paciente y tomar decisiones terapéuticas [97].



Figura 5. Clasificación de la lipoatrofía facial en adultos infectados por el VIH. Grado 1: pérdida del conducto cigomaticofacial con aplanamiento del relieve malar. Grado 2: mismos signos que en grado 1, pero con hundimiento de la piel bajo el arco cigomático. Grado 3: todos los signos del grado 1 y 2 con manifestación de la musculatura superficial del rostro (músculo cigomático mayor). Reproducido de la referencia [97].

Existen también una serie de exploraciones que nos permiten medir de forma objetiva la grasa corporal, con unas diferencias claras entre ellas que determinarán en que situaciones se usa cada una. Estas exploraciones, con sus ventajas e inconvenientes, están resumidas en la Tabla 1.

- **Antropometría:**

Se basa en la medición simple en unos puntos predefinidos de perímetros (cintura, cadera, extremidades) con una cinta métrica y pliegues cutáneos (escapular, bicipital, tricipital, suprailíaco) con un plicómetro, junto con el peso, talla e índice de masa corporal, para poder comparar los resultados con unos valores de referencia. A través de ecuaciones de regresión múltiple se han desarrollado modelos que permiten predecir la densidad corporal y el contenido de tejido graso y magro con estas medidas [98].

Las ventajas son evidentes: se puede realizar en cualquier sitio, con un mínimo de adiestramiento para estandarizar las medidas. Es fácil, barata, rápida y

accesible. En algunos estudios se ha visto buena correlación con los resultados obtenidos por DXA [99-101].

Pero también tiene múltiples inconvenientes: está muy sujeta a variabilidad inter-observador y no permite diferenciar entre SAT, VAT y masa magra. No obstante, se puede aumentar su rendimiento y limitar los inconvenientes combinando la antropometría con otras pruebas de fácil realización, como puede ser la ecografía [102].

- **Bioimpedancia eléctrica:**

La bioimpedancia eléctrica estima la cantidad corporal total de agua y subsecuentemente la masa grasa y la masa magra corporal basándose en la conductividad eléctrica. Es fácil, no-invasiva, portátil, rápida y barata. También ha mostrado en estudios buena correlación con la DXA [99-101].

Pero presenta inconvenientes importantes: debemos contar con el instrumental y el personal adiestrado necesario, se puede alterar en el contexto de enfermedades agudas, no permite discriminar la localización de la grasa o de si se trata de SAT o VAT (únicamente nos indica la cantidad total).

- **Ecografía de partes blandas:**

La ecografía de partes blandas nos informa del grosor del SAT y puede ser útil en localizaciones donde otras exploraciones no nos dan información, como a nivel facial. En cambio es menos útil para valorar VAT [103, 104].

Es una prueba barata, rápida, inocua y accesible, pero explorador-dependiente (puede ser poco reproducible) y no está validada en grandes estudios, por lo que no disponemos de valores de referencia.

- **Densitometría axial de rayos X de doble energía (DXA):**

La DXA (por las siglas de *Dual-energy X-ray Absorptiometry* en inglés) es hoy en día el patrón de oro para la medición de la composición de grasa corporal. Se basa en una fuente de rayos X de doble energía que realiza cortes transversales de la cabeza a los pies del paciente, determinando la cantidad de hueso y tejido blando según la densidad de los tejidos [105].

La DXA permite diferenciar entre tejido magro y tejido graso y permite calcular de forma total o compartimentalizada la cantidad de cada uno de ellos. Esto es muy útil para diferenciar entre la grasa de extremidades y la del tronco. También permite diferenciar entre una distribución androide o ginecoide de la grasa.

En los últimos años han aparecido algunos índices para diagnosticar la lipodistrofia basados en resultados de la DXA. Uno de ellos es el *Fat Mass Ratio* (FMR), que se calcula como el cociente entre el porcentaje de grasa en tronco (un 80% de la cual se encuentra a nivel visceral en condiciones normales) dividido por el porcentaje de grasa en piernas (prácticamente el 98% se encuentra a nivel subcutáneo), siendo sugestivo de lipodistrofia cuando es superior a 1.96 en hombres y 1.33 en mujeres [106, 107]. El inconveniente del FMR es que diagnostica adecuadamente la lipodistrofia, pero no permite diferenciar entre lipoatrofia o lipohipertrofia. También se utilizan otros cocientes, como el cociente entre la grasa en extremidades y en tronco, aunque no existen valores de referencia bien establecidos como en el FMR.

Otras ventajas de la DXA son el precio (mucho menor que la TC o la RMN), la inocuidad (la irradiación es similar a la de una radiografía simple y no precisa contraste), la rapidez (la exploración dura entre 10-20 minutos), la disponibilidad (es

el mismo aparato con el que se realizan las densitometrías óseas), la precisión y la reproducibilidad.

Sus máximos inconvenientes son que no permite diferenciar entre SAT y VAT a nivel del abdomen y que no permite cuantificar la grasa a nivel facial, una de las localizaciones más frecuentes y estigmatizadoras de la lipoatrofia. Tampoco existen valores bien definidos de normalidad de la distribución de la grasa en la población sana. Otro inconveniente de la DXA es que los resultados pueden variar según el fabricante, el operador y las versiones de hardware y software usadas, por lo que resultados obtenidos en diferentes centros deben ser analizados con cautela e idealmente en estudios multicéntricos se debería centralizar la realización y lectura de los resultados, para reducir al mínimo la variabilidad [108].

- **Tomografía Computarizada (TC):**

La TC es muy precisa y reproducible a la hora de medir la cantidad de grasa, diferenciando entre los distintos compartimentos, incluso a nivel facial [95]. Los resultados se suelen expresar en forma de área en cm^2 . Esta exploración también permite calcular índices además de los valores absolutos, como SAT/VAT o VAT/TAT (tejido adiposo total a nivel abdominal). No obstante, es una técnica cara, no está disponible en todos los centros y tiene el inconveniente añadido respecto a la RMN de la elevada irradiación del paciente.

Para poder diferenciar la superficie de SAT y VAT a nivel abdominal, con menor precio e irradiación, se puede realizar un único corte de TC abdominal, normalmente a nivel de L4, junto con una DXA. También puede ser útil realizar un corte a nivel del muslo, para valorar SAT en extremidades inferiores [109].

- Resonancia Magnética Nuclear (RMN):

La RMN permite medir de forma muy precisa y reproducible la cantidad de tejido graso y magro en cualquier localización, incluyendo la cara, y diferenciando entre SAT y VAT. Probablemente es más sensible e irradia menos que la TC, aunque más cara. También nos permite, como la TC, calcular valores absolutos y distintos índices.

Los inconvenientes son el precio (por lo que se usa en estudios clínicos, pero no de forma rutinaria y menos aún para seguimiento evolutivo), la duración de la exploración y la disponibilidad [110].

Tabla 1. Resumen de las principales exploraciones para medir la composición corporal de grasa.

	Antropometría	BIA	Eco	DXA	TC	RMN
Precio	+	++	++	++	+++	++++
Disponibilidad	++++	++	+++	++	++	+
Dificultad	+	++	++	++	+++	+++
Rapidez	++++	++	++	+++	++	+
Portabilidad	++++	+++	++	+	+	+
Inocuidad	++++	++++	++++	+++	+	+++
Precisión	+	+	++	+++	++++	++++
Reproducible	+	+	++	+++	++++	++++
Explorador dependiente	++++	+++	++++	++	+	+
Diferencia localización	+	No	++	+++	++++	++++
Diferencia SAT-VAT	+	No	+	No	++++	++++
Útil en cara	No	No	++	No	+++	+++
Valores referencia	+	+	+	+++	++	++

2.2.7 Estudios Sobre las Alteraciones de la Grasa Corporal con los Diferentes Antirretrovirales

Existe abundante información en ensayos clínicos donde se analizan los cambios en la composición de la grasa corporal con tratamientos concretos. Es importante diferenciar entre aquellos estudios realizados en pacientes *naive*, en que el paciente no ha recibido previamente ningún TAR, de aquellos estudios realizados en pacientes pre-tratados con carga viral del VIH indetectable a los que se substituye un fármaco que se cree que ha provocado o puede provocar alteraciones de la composición corporal por otro con menor riesgo de toxicidad (estudios de simplificación/cambios por toxicidad), ya que en estos últimos podemos encontrar toxicidades acumuladas a lo largo del tiempo producidas por distintos fármacos. En la Introducción sólo se analizarán los estudios realizados antes de empezar los trabajos que forman parte de la presente tesis doctoral, y los estudios que han sido publicados posteriormente se comentarán en la Discusión.

Comparaciones de ITIAN

- Estudios que comparan los análogos de timidina en pacientes que inician

TAR:

- Van der Valk y colaboradores [111] demostraron en 28 pacientes que tras 50 meses de exposición a un régimen basado en d4T o AZT, los pacientes recibiendo d4T tenían una incidencia significativamente mayor de lipoatrofia (82% vs 9%, $p=0.0001$).
- Estudio NOVAVIR [112]: en un subgrupo de 101 pacientes se observó que los que recibieron d4T+3TC+indinavir presentaron una mayor incidencia de lipoatrofia que los que recibieron AZT+3TC+indinavir.

- **Estudios que comparan un análogo de timidina vs. ABC o TDF en pacientes que inician TAR:**

- Estudio 903 [46]: comparó d4T y TDF (ambos asociados a 3TC y EFV) en 602 pacientes. Como objetivo secundario se analizó la incidencia de lipodistrofia reportada por el investigador, observando diferencias significativas (3% con TDF vs. 19% con d4T, $p < 0.01$). Se realizaron también DXAs en un subgrupo de 262 pacientes, pero a las 96 y 144 semanas sin una determinación basal, lo que supone una limitación importante. Se observó una menor cantidad de grasa en extremidades en la rama de d4T, tanto a las 96 semanas (7.9 kg vs. 5 kg, $p < 0.01$) como a las 144 semanas (8.6 kg vs. 4.5 kg, $p < 0.001$).
- Estudio 934 [47]: comparó TDF/FTC y AZT/3TC (asociados a EFV), con un sub-análisis de composición corporal en 100 pacientes. Se observó una menor cantidad de grasa en extremidades al final del seguimiento en la rama de AZT/3TC que en la de TDF/FTC (6.9 kg vs. 8.9 kg, $p = 0.03$).
- Estudio ABCDE [113]: Se compararon ABC y d4T (asociados a 3TC y EFV) en 237 pacientes. Se realizó una valoración clínica subjetiva de lipoatrofia, observando diferencias significativas entre ramas (desarrollaron uno o más signos clínicos de lipoatrofia 4.8% de los pacientes con ABC y 38.3% con d4T). También se realizaron DXAs en un subgrupo de 57 pacientes, en los que tras 96 semanas se vio una ganancia de grasa en extremidades con ABC de 0.9 kg comparado con una pérdida de 1.6 kg en la rama de d4T ($p < 0.001$).
- Shlay y colaboradores [114] compararon ABC y d4T en 96 pacientes, demostrando mejor comportamiento del primero en la distribución de la grasa corporal. No obstante, ABC se acompañaba de 3TC y d4T iba acompañado de ddI,

lo que muy probablemente haya influido en los resultados al tener ddl un mayor riesgo de alteraciones en la grasa corporal que 3TC.

- **Estudios de cambio de análogos de timidina a ABC como estrategia de simplificación:**

- Estudio MITOX [115]: 106 pacientes con TAR que incluía AZT (15%) o d4T (85%) y que presentaban lipoatrofia moderada o severa fueron aleatorizados a continuar con el mismo TAR o cambiar el análogo de timidina por ABC. Se observaron ganancias significativas en la grasa de extremidades en los pacientes que cambiaron el TAR tras 24 semanas (11% vs. 2% en los que continuaron con AZT o d4T).
- Estudio TARHEEL [116]: 118 pacientes que recibían d4T fueron aleatorizados a cambiarlo por ABC (86) o AZT (32). Tras 48 semanas, se observaron por DXA aumentos significativos de la grasa en todas las localizaciones, con mayor incremento de grasa en extremidades en aquellos pacientes aleatorizados a recibir ABC (incrementos con AZT y ABC de 17% vs. 38% en brazos y de 7% vs. 15% en piernas, respectivamente). También se realizó una TC que mostró aumento del SAT (25% con AZT y 35% con ABC) y disminución del VAT (-3% con AZT y -4% con ABC) en los pacientes que cambiaron el tratamiento.
- Estudio ACTG A5110 [117]: se comparó cambiar los análogos de timidina a ABC o bien todo el TAR a una pauta sin ITIAN con LPV/r y NVP en 101 pacientes. Se observó una ganancia de SAT tanto en abdomen (29% con ABC vs. 33% con LPV/r+NVP) como en muslos (18% con ABC vs. 17% con LPV/r+NVP) y un descenso de VAT (-15% con ABC vs. -4% con LPV/r+NVP) con ambas estrategias tras 48 semanas, sin diferencias entre ellas.

- **Estudios de cambio de análogos de timidina a TDF como estrategia de simplificación:**

- Extensión del estudio 903 [118]: a los pacientes aleatorizados a recibir d4T se les ofreció cambiar a TDF tras 144 semanas, manteniendo 3TC y EFV. Se observó un incremento de grasa en extremidades de 0.6 kg a las 48 semanas del cambio y de 1.3 kg a las 144 semanas del cambio (basalmente 4.5 kg). A pesar de este aumento, la cantidad de grasa en extremidades fue menor que la que tenían los pacientes inicialmente aleatorizados a la rama de TDF (8.2 kg a las 144 semanas).
- Estudio STACCATO [119]: se evaluaba una interrupción del TAR guiada por la cifra de CD4 y se empezó con un tratamiento con d4T+ddl+saquinavir (SQV)/r, que posteriormente se cambió a TDF+FTC+SQV/r siguiendo las recomendaciones de las guías. En un subgrupo de 35 pacientes se realizó una DXA en el momento del cambio y tras 48 semanas y se observó un incremento significativo de la grasa total y en extremidades (de 0.7 y 0.4 kg, respectivamente).
- Milinkovic y colaboradores [120] seleccionaron 58 pacientes que estaban recibiendo un tratamiento que contenía d4T 40 mg cada 12 horas y los aleatorizaron a seguir igual, disminuir la dosis de d4T a 30 mg cada 12 horas o cambiar d4T por TDF, con un seguimiento de 24 semanas. Se observó una mejoría en la grasa corporal en las dos ramas de cambio, aunque únicamente fueron significativas las diferencias entre d4T40 y TDF (diferencias de 0.5 kg en extremidades y 0.7 kg en grasa total).
- Estudio LIPOTEST [103]: 62 pacientes cambiaron de d4T a TDF sin una rama de control, con seguimiento a 96 semanas. Se evaluaron los cambios en la grasa con ecografías malaras y bioimpedancia, con mejorías significativas dentro del

primer año tras el cambio (incremento de 0.8 mm en grasa malar y de 3.9 kg en grasa total).

- Los estudios RECOMB [121] y SWEET [122] tenían un diseño muy similar: pacientes en TAR con AZT/3TC y un tercer fármaco (en el SWEET todos EFV) eran aleatorizados a seguir igual o cambiar los ITIAN a TDF/FTC, con un seguimiento de 72 semanas en el primer estudio y 48 semanas en el segundo. En los dos estudios se observó una mejoría significativa en la grasa de extremidades tras el cambio: en el RECOMB la diferencia entre las dos ramas fue de 0.6 kg a las 48 semanas y 0.9 kg a las 72 semanas y en el SWEET fue de 0.4 kg a las 48 semanas. En el estudio RECOMB esta ganancia era mayor en aquellos pacientes con menor contenido basal de grasa o más de 5 años en tratamiento con AZT, mientras que en el SWEET esta ganancia fue mayor en los pacientes que llevaban poco tiempo recibiendo AZT o en los que tenían mayor cantidad de grasa basal.

Comparación de ITIAN con IPs

- Estudio ACTG 5142 [52]: tenía como objetivo primario comparar tras 96 semanas la prevalencia de lipoatrofia (definida como pérdida de más del 20% de la grasa en extremidades respecto al basal) en 753 pacientes *naive* recibiendo dos ITIAN (TDF, AZT o d4T asociado a 3TC) y LPV/r, dos de los mismos ITIAN y EFV o una tercera rama de LPV/r y EFV sin ITIAN. La presencia de lipoatrofia fue significativamente mayor con dos ITIAN más EFV (32% vs. 17% y 9% en las ramas de LPV/r con y sin ITIAN respectivamente, $p < 0.023$). Los pacientes recibiendo d4T presentaron más lipoatrofia que los que recibían AZT o TDF (42%, 27% y 9%, respectivamente). La prevalencia seguía siendo mayor con EFV que con LPV/r tras ajustar por la pauta de ITIAN cuando se utilizaba d4T o AZT pero no con TDF. Esta

diferencia entre EFV y LPV/r seguía estando presente si se utilizaba como punto de corte para definir la lipoatrofia pérdidas superiores al 10%, 20%, 30% y 40% de la grasa en extremidades respecto al basal.

- Estudio M03-613 [123]: comparaba la monoterapia con LPV/r (tras una fase de inducción con AZT/3TC+LPV/r) y un TAR compuesto por AZT/3TC+EFV en 155 pacientes. Se observó una mayor incidencia de lipoatrofia en la rama de EFV (34% vs. 5% con LPV/r). Probablemente el resultado está muy influido por la presencia de AZT, dado que las diferencias fueron más marcadas a partir de la semana 24, cuando el AZT se discontinuaba en la rama de LPV/r.
- Sub-estudio del BMS034 [124]: se analizaron cambios en la composición corporal en 211 pacientes *naive* con EFV o atazanavir (ATV) 400 mg al día sin ritonavir asociados a AZT/3TC. No se observaron diferencias ni en grasa medida por DXA ni en SAT o VAT a nivel abdominal medidos por TAC entre las dos ramas.
- Estudio A5005s [48]: se comparó EFV con nelfinavir asociados a AZT/3TC o d4T+ddl en 157 pacientes *naive*. Los pacientes con nelfinavir presentaron una mayor incidencia de lipoatrofia que los que recibieron EFV, aunque los ITIAN utilizados podrían haber influido en el resultado.

Estudios con los Nuevos Antirretrovirales

Existe muy poca información respecto al impacto en la composición corporal de los nuevos antirretrovirales (inhibidores de la integrasa, inhibidores de la entrada y antagonistas del CCR5).

- En el estudio STARTMRK [125] se analizó en 477 pacientes la eficacia de raltegravir como tratamiento de inicio comparado con EFV, asociados a TDF/FTC. Además se realizó un sub-análisis del perfil metabólico y de composición corporal

mediante DXA durante 96 semanas en 75 pacientes. No se observaron diferencias significativas en el contenido de grasa entre las dos ramas, y la mayoría de pacientes en los dos grupos presentó ganancia de grasa (media de 18% vs. 17% en extremidades y 22% vs. 26% en tronco, con raltegravir y EFV respectivamente). Presentaron lipoatrofia (definida como una pérdida de la grasa en extremidades del 20% o más) únicamente 8% de los pacientes con raltegravir y 5% con EFV.

- Pérez-Matute y colaboradores [126] realizaron un estudio *in vitro* con adipocitos y concentraciones terapéuticas de raltegravir, observándose un efecto neutro de este fármaco, con una mínima inhibición de la lipólisis. En otro estudio con adipocitos realizado por Minami y colaboradores [127], raltegravir no mostró efectos significativos sobre la acumulación de lípidos en los adipocitos, en la expresión de genes lipogénicos (SRBEP-1c, PPAR- γ o C/EBP α) o sobre el estrés oxidativo de los adipocitos.
- En los estudios TORO se comparaba en pacientes con fracaso virológico y múltiples mutaciones de resistencia una rama de tratamiento optimizado más el inhibidor de la fusión enfuvirtide vs. una rama de tratamiento optimizado. Se realizó un sub-estudio de composición corporal [128] en 155 pacientes, realizando DXA y TC basalmente, a las 24 y a las 48 semanas. Se observaron aumentos de la grasa en tronco (419 g), brazos (179 g) y piernas (56 g) en la rama de enfuvirtide y pérdidas en la rama de control. También se observaron aumentos significativos de la grasa total abdominal (VAT+SAT) por TC. Es probable que los cambios en la grasa fueran debidos al menos en parte a la mejoría de la situación inmunológica con el nuevo tratamiento y que las diferencias con la rama de control fueran debidas al tratamiento optimizado de base acompañante, que era elegido por el médico responsable del paciente.

En cuanto al antagonista del CCR5 maraviroc, no existen datos en la literatura sobre composición corporal.

No obstante, estos nuevos fármacos llevan mucho menos tiempo en el mercado y se han utilizado en un número menor de pacientes, por lo que será necesario tener un seguimiento mayor para confirmar su efecto neutro sobre la grasa.

2.2.8 Consecuencias de las Alteraciones en la Composición Grasa

La disminución en la capacidad almacenadora de grasa en el SAT debido a la lipoatrofia comporta un aumento de los ácidos grasos libres circulantes y un descenso de la adiponectina. El acúmulo de estos ácidos grasos libres fuera del SAT y sus consecuencias se conocen hoy en día como lipotoxicidad [32].

Al disminuir la capacidad de almacenar grasas en SAT, existe una acumulación de grasa a nivel de VAT que se asocia, igual que en la población general, a alteraciones metabólicas como dislipemia, resistencia a la insulina e hipertensión.

Pero estas alteraciones también tienen implicaciones en tejidos distintos al adiposo. En el músculo esquelético, la lipoacumulación debida a la incapacidad de almacenar los lípidos en el tejido adiposo comporta resistencia a la insulina [129]. A nivel hepático, la resistencia a la insulina y la liberación de ácidos grasos libres pueden conllevar esteatosis hepática. El aumento de ácidos grasos libres y el estado pro-inflamatorio también puede afectar a las células beta del páncreas, disminuyendo la secreción de insulina [130]. En la Figura 6 observamos de forma esquemática la afectación de los distintos órganos en la lipodistrofia.

Por tanto, la lipotoxicidad comporta alteraciones metabólicas como dislipemia (especialmente hipertrigliceridemia) y resistencia a la insulina, con aumento de la grasa visceral y esteatosis hepática. Estas alteraciones son las mismas que definen el síndrome metabólico, que se ha asociado con un incremento en el riesgo cardiovascular ^{TK, BMC}

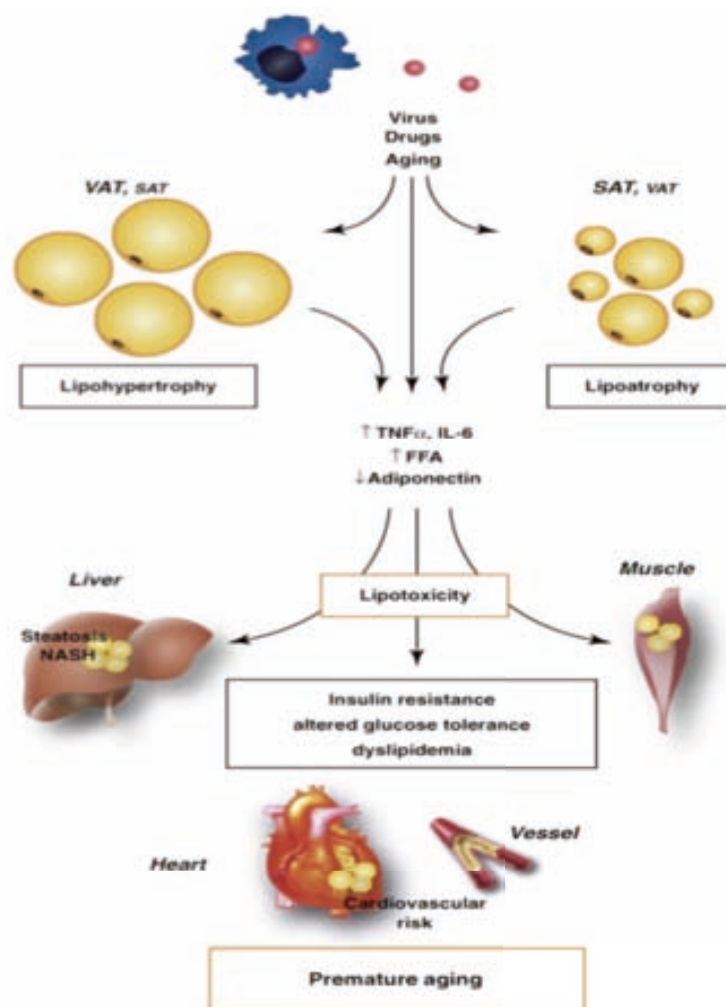


Figura 6. Consecuencias de la lipodistrofia (reproducido de la referencia ^{TK, BMC}).

Pero aparte de las implicaciones metabólicas, las alteraciones en la composición de la grasa corporal conllevan una serie de cambios en la imagen física que también comportan un impacto significativo y evidente a nivel psicológico y en la

calidad de vida del paciente, que incluso pueden poner en riesgo la adherencia al TAR.

2.3 Alteraciones en la Composición Ósea Corporal

En los pacientes con infección por el VIH se han descrito fundamentalmente tres patologías que pueden afectar al hueso:

- la pérdida de densidad mineral ósea (DMO) con alteración de la arquitectura del hueso y aumento del riesgo de fractura por fragilidad, que incluye la osteopenia y la osteoporosis
- la alteración en la estructura del hueso por mineralización anómala pero sin alteración de la arquitectura del hueso, conocida como osteomalacia
- la destrucción del hueso por vascularización inadecuada, la necrosis avascular.

En esta tesis doctoral nos centraremos únicamente en la osteopenia y la osteoporosis, considerándolas también alteraciones de la composición corporal. Al igual que en las alteraciones de la grasa, estos pacientes presentan ciertas particularidades, y en la aparición de la pérdida de DMO están implicados también los mismos tres factores: el huésped, el virus y el TAR.

La osteopenia y la osteoporosis son una misma patología, difiriendo en la severidad de la pérdida de DMO. Así, se define la osteopenia como una pérdida de DMO entre 1 y 2.5 desviaciones estándar (DE) respecto a la media de una población sana joven (25-35 años) agrupada por género, lo que se conoce como T-score. La osteoporosis es una pérdida de DMO superior a 2.5 DE (T-score inferior a -2.5 DE) respecto a esta misma población. El T-score sólo debería ser utilizado en mujeres post-menopáusicas. En hombres y en mujeres pre-menopáusicas se debería utilizar el Z-score (definiendo osteoporosis como Z-score ≤ -2), que utiliza como referencia la media de una población sana ajustada por género y edad. No obstante, se acepta

que en hombres de más de 50 años con algún factor de riesgo mayor de osteoporosis también se pueda utilizar el T-score TRé:.

Dentro del hueso encontramos una matriz y células, de las que destacamos los osteoblastos o células formadoras de hueso y los osteoclastos o células resorptivas. Los osteoblastos sintetizan moléculas tales como la osteocalcina, los proteoglicanos o el receptor para la activación del ligando del factor nuclear kB (RANKL por sus siglas en inglés), que estimulan la formación de hueso y regulan la actividad de los osteoclastos. Los osteoclastos proliferan y se diferencian gracias a la actividad de moléculas como el factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) o RANKL y realizan la resorción ósea mediante una inducción de un ambiente ácido y por secreción de enzimas líticos. El equilibrio entre osteoblastos y osteoclastos determinará la DMO [132]. En la Figura 7 observamos el proceso de formación/resorción ósea.

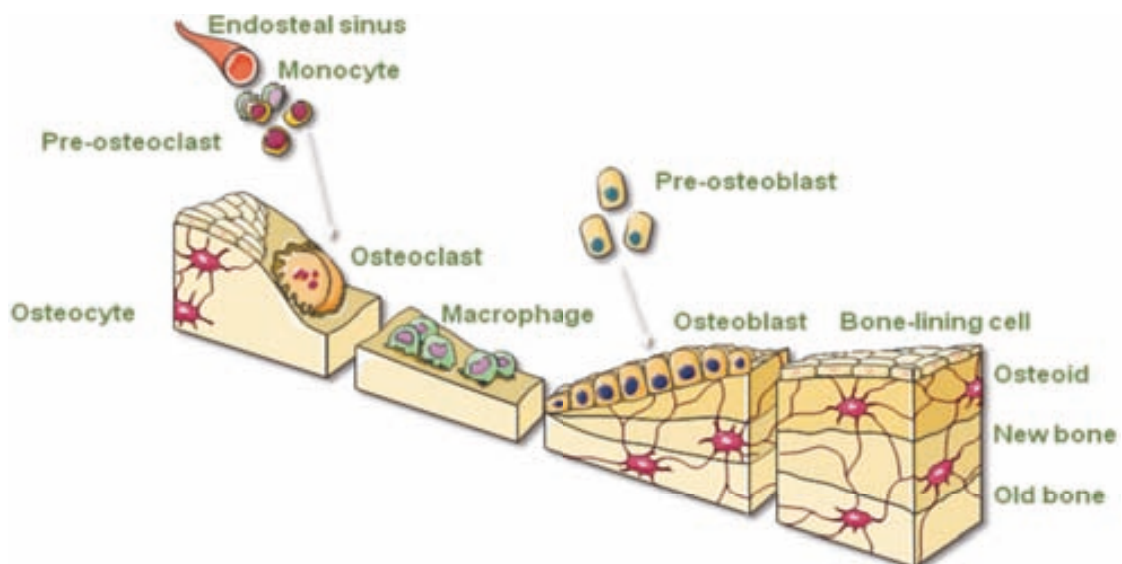


Figura 7. Proceso de formación y resorción ósea. Imagen cortesía de E. Jódar.

Es importante diferenciar entre dos tipos de hueso que nos encontramos en el esqueleto humano:

- hueso trabecular: involucrado en el mantenimiento de la homeostasis del hueso, es el que encontramos por ejemplo en las vértebras.
- hueso cortical: involucrado en tareas de soporte de estructuras, supone el 80% del hueso del cuerpo, y lo encontramos por ejemplo en los huesos largos de las extremidades.

En estados de recambio óseo aumentado, como los que observamos en el paciente con infección por el VIH, el hueso trabecular se afecta más precozmente y de forma más severa que el cortical, ya que tiene un remodelado más rápido [132].

En múltiples estudios de cohortes se ha observado que la incidencia y la prevalencia de osteopenia y osteoporosis son significativamente mayores en los pacientes con infección por el VIH que en la población general. En un metaanálisis de los distintos estudios comparando la prevalencia de osteoporosis entre sujetos con y sin infección por el VIH, se observó en los primeros una prevalencia de osteopenia del 67%, con un odds ratio (OR) de 6.43 (IC95% 3.68-11.26) respecto a los sujetos sin VIH y una prevalencia de osteoporosis del 15%, con un OR de 3.68 (IC95% 2.31-5.84) respecto a los pacientes sin VIH [12]. Estas prevalencias de pacientes con disminución de la DMO superiores al 50% se han confirmado en otras cohortes [133-136].

2.3.1 Factores Relacionados con el Desarrollo de Osteopenia/ Osteoporosis en los Pacientes con Infección por el VIH

La elevada incidencia y prevalencia de osteopenia y osteoporosis en los pacientes con infección por el VIH puede ser debida a múltiples factores. En estos

pacientes suelen encontrarse con frecuencia factores de riesgo clásicos, pero también se ha descrito un papel directo del propio virus y de la inflamación provocada por la infección crónica y algunos fármacos antirretrovirales se han asociado a mayor pérdida de DMO que otros.

Tanto el pico de DMO que se consigue en la juventud como la pérdida de DMO a lo largo de la vida vienen influidos por factores ambientales, pero también dependen en gran parte de factores genéticos. Así, será importante conocer si existen antecedentes familiares de osteoporosis y/o fracturas. Otros factores sobre los que no podremos actuar pero debemos tener en cuenta son la edad y el género, con mayor riesgo de patología a mayor edad y en mujeres [137].

En cambio, existen muchos otros factores sobre los que sí podemos influir. Los factores de riesgo clásicos de osteopenia/osteoporosis son tabaquismo, alcohol, opiáceos, corticoides, sedentarismo, bajo índice de masa corporal (IMC), hepatopatía, hipogonadismo o malabsorción, muchos de ellos presentes a menudo en combinación en el paciente con infección por el VIH [132, 137]. La lipodistrofia también puede provocar pérdida de DMO, por mediación de hormonas secretadas por los adipocitos [138].

Un factor que cada vez está cogiendo mayor protagonismo en las alteraciones de la composición ósea en el paciente con infección por el VIH es la vitamina D, que es fundamental en el metabolismo fosfo-cálcico que afectará a la formación y resorción de hueso. Esta vitamina ejerce su acción a través de la forma activa calcitriol (1-25-dihidroxitamina D), que se obtiene tras la activación a nivel del hígado por la 25-hidroxilasa seguido de una activación renal por la 1 α -hidroxilasa. Se ha observado que los pacientes con infección por el VIH tienen

niveles más bajos de vitamina D [139], especialmente los que reciben TAR, lo que puede condicionar una disminución de la mineralización ósea.

La infección por el VIH *per se* puede dar alteraciones óseas mediante dos mecanismos:

- Algunas proteínas virales, como gp120 o Vpr, provocan un descenso de la actividad y apoptosis de los osteoblastos y aumentan la actividad de los osteoclastos [140].
- El estado pro-inflamatorio, con aumento de citocinas como TNF- α e IL-6, induce la apoptosis de los osteoblastos e incrementa la diferenciación y actividad de los osteoclastos. Otros mediadores inflamatorios aumentados, como RANKL o M-CSF, también aumentan la actividad osteoclástica [140].

Se ha observado que la cifra nadir de CD4 se relaciona de forma inversa y la duración de la infección por el VIH de forma directa con la pérdida de DMO tras el inicio del TAR, quizás traduciendo el papel del VIH y la inflamación en la patología ósea [135].

2.3.2 Papel del Tratamiento Antirretroviral en el Desarrollo de Osteopenia/Osteoporosis

El TAR se ha asociado en varios estudios a una pérdida de DMO de entre el 2 y el 6%, especialmente en los dos primeros años con una estabilización posterior [46, 141-143], aunque estos datos difieren de otros trabajos que no encuentran dicha asociación [133, 134]. En el estudio SMART, en que se valoraba la estrategia de interrumpir y reintroducir de forma estructurada el TAR guiado por la cifra de CD4, se observó un descenso progresivo de la DMO con el TAR continuo, con diferencias significativas respecto al tratamiento intermitente, y con mayor incidencia de

fracturas en la rama del TAR continuo [144]. Un factor a tener en cuenta es que en algunos de los estudios en que se compara la prevalencia de osteopenia y osteoporosis entre pacientes con o sin TAR, no se ajusta por factores de confusión relevantes como pueden ser la edad, la duración o la severidad de la infección [12]. Otro factor importante a considerar es que en el TAR se utiliza una combinación de varios medicamentos y por tanto es difícil atribuir a una familia o un fármaco en concreto la causalidad de la pérdida de DMO.

Se ha observado que el AZT aumenta la osteoclastogénesis al estimular la actividad de RANKL [145]. En un estudio en pacientes *naïve* en que se comparaba una pauta con AZT/3TC+LPV/r y una pauta con LPV/r+NVP, se observó una mayor pérdida de DMO con AZT tanto en cuello de fémur como en columna lumbar [146].

Existe un estudio no aleatorizado comparando cambios en la DMO tras 48 semanas con AZT/3TC/ABC vs. AZT/3TC+LPV/r. En este estudio se observó una pérdida de DMO en ambas ramas, que fue significativamente mayor a nivel de columna en la rama con LPV/r que con ABC [147].

El TDF se elimina por secreción tubular y por filtración glomerular. Puede provocar disfunción tubular con aparición de hipofosfatemia, que puede provocar osteomalacia pero también alterar la DMO por afectación del metabolismo fosfocálcico. En caso de producir disfunción tubular, TDF también puede afectar al metabolismo de la vitamina D, puesto que la conversión a su forma activa a través de la 1α -hidroxilasa tiene lugar en el túbulo proximal [148]. En el estudio 903, a diferencia de lo que pasó con la grasa, sí disponemos de DXA basal midiendo DMO. Tras 144 semanas, se observaron mayores descensos de DMO en la columna lumbar con TDF que con d4T (-2.2% vs -1.0%, $p=0.001$), con cambios parecidos con los dos fármacos en el fémur (-2.8% vs -2.4%, $p=0.06$). En este estudio se observó

que los cambios en la DMO tenían lugar entre las 24 y 48 semanas y posteriormente se estabilizaban [46]. En la extensión de este estudio, algunos de los pacientes aleatorizados a d4T se cambiaron a TDF tras 144 semanas. En estos pacientes no se observaron cambios significativos en la DMO de columna lumbar pero sí presentaron descensos significativos en la DMO de fémur (-2.6%, $p < 0.001$) tras 144 semanas más, mientras que los pacientes que habían sido aleatorizados inicialmente a TDF se estabilizaron tras las pérdidas iniciales [118]. Un estudio reciente de profilaxis pre-exposición con TDF/FTC nos permite valorar el efecto sobre el hueso de TDF/FTC en pacientes sin infección por el VIH: en los pacientes aleatorizados a recibir TDF/FTC se observó un descenso de la DMO del 1%, que resultó ser significativo comparado con placebo a las 24 semanas, pero que se estabilizó posteriormente dejando de existir diferencias a las 72 semanas [149]. También se ha observado en una cohorte catalana una asociación entre la exposición a TDF y una mayor pérdida de DMO [136].

En distintos estudios se han observado descensos significativamente mayores en los niveles de vitamina D con aquellos regímenes de inicio basados en EFV que con otras combinaciones [150-152]. Esto puede ser debido a que EFV es un inductor del sistema enzimático citocromo p450, pudiendo provocar un aumento del metabolismo de la 25-hidroxi-vitamina D, disminuyendo los niveles de vitamina D activa. No obstante, este descenso en la vitamina D no se ha visto con otros ITINAN con efecto inductor, como NVP, etravirina o rilpivirina [153, 154]. Esto sugiere un efecto del EFV más que un efecto de familia.

Con los IP se ha descrito un descenso de la actividad osteoblástica y un aumento de la actividad osteoclástica. Ciertos IP, como ritonavir, pueden además inhibir la 25-hidroxilasa y la 1α -hidroxilasa, alterando el metabolismo de la vitamina D

con disminución de su forma activa [155]. En el metaanálisis de Brown y Qaqish, al comparar los pacientes que recibían IP vs. los que recibían otros fármacos, se observó una mayor prevalencia de osteopenia (OR 1.5, IC95% 1.1-2.0) y osteoporosis (OR 1.6, IC95% 1.1-2.3) en los pacientes con TAR basado en IP, aunque tampoco se ajustó por factores de confusión como la duración de la infección y con el añadido de la gran heterogeneidad de los grupos comparados [12]. Esta asociación entre pérdida de DMO y uso de IP también se ha visto en una cohorte catalana [136]. En otro estudio en que se medía la DMO durante 48 semanas en pacientes *naïve* que iniciaban regímenes basados en IP (LPV/r o indinavir/r) o ITINAN (EFV o NVP), se observó una pérdida de DMO en todos los pacientes, significativamente mayor en la columna lumbar con los IP en un análisis multivariante que incluía entre otras variables la edad, el sexo, el tiempo de infección, los CD4 nadir, el tabaquismo o el consumo de alcohol [143]. Pero en otros estudios no se ha observado esta asociación entre el uso de IP y un mayor descenso de la DMO [133, 134, 156].

No existen prácticamente datos publicados sobre el efecto de los nuevos antirretrovirales (inhibidores de la integrasa, inhibidores de la entrada o antagonistas del CCR5) sobre el hueso.

Existen más datos sobre composición ósea y TAR de estudios que han sido publicados durante la realización de los trabajos que componen la presente tesis doctoral, que se comentaran en el apartado de discusión.

2.3.3 Medición de las Alteraciones en la Composición Ósea Corporal

A pesar de la elevada incidencia de osteopenia y osteoporosis en la población con infección por el VIH, por el momento se siguen las mismas recomendaciones que en la población general en cuanto al diagnóstico y seguimiento de estas alteraciones óseas [157]. Posiblemente en un futuro próximo nos deberemos plantear si es necesario realizar el despistaje de patología ósea a edades más tempranas o más a menudo en los pacientes con infección por el VIH. En todo caso es importante interrogar e incidir sobre los factores de riesgo clásicos y también se debe interrogar por antecedentes familiares o personales de fracturas [132, 137].

De forma parecida a lo que existe para el riesgo cardiovascular con el Framingham o el Score, encontramos la herramienta FRAX que se puede consultar a través de internet y nos permite calcular el riesgo de fractura para un paciente concreto, ayudando en la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas [158]. Este cálculo se hace teniendo en cuenta el país, por lo que se ajusta por factores ambientales y puede realizarse con o sin los datos de una DXA.

Al igual que para las alteraciones de la grasa, la DXA se ha convertido en el patrón de oro para el diagnóstico de osteopenia y osteoporosis. Tiene las ventajas de ser relativamente barata, con poca irradiación, rápida y se encuentra disponible en muchos centros. Nos permite medir la DMO total y también en localizaciones específicas. Habitualmente se mide a nivel de la columna lumbar (L1-L4 o L2-L4) y a nivel de fémur (en el cuello, en la cabeza y/o en la cadera total). El resultado puede expresarse como superficie (cm^2), contenido mineral óseo (g), DMO (g/cm^2) o los ya comentados T-score y Z-score. El T-score nos da una idea del riesgo de fractura: por cada unidad de DE que disminuye, el riesgo de fractura aumenta dos veces [132].

La composición ósea también puede evaluarse con otras técnicas de imagen como la TC, la RMN o la gammagrafía, pero no se utilizan de forma rutinaria ya que son más caras, con mayor irradiación (excepto en la RMN), requieren de más medios, más tiempo de exploración y no existen valores de referencia tan bien establecidos comparado con la DXA, especialmente en pacientes con infección por el VIH.

Se pueden medir una serie de marcadores en sangre y/o orina que nos informan sobre la formación (fosfatasa alcalina del hueso y osteocalcina) y la resorción (fosfatasa ácida tartrato resistente, enlaces de colágeno o CTx y telopéptidos N terminales de colágeno tipo I o NTx) de hueso. Estos marcadores tienen ciertas ventajas, ya que dan una idea de la dinámica del metabolismo óseo a tiempo real y por tanto nos dan información de posibles patologías de forma mucho más precoz que los cambios que puedan aparecer en la DMO. Actualmente se utilizan básicamente para estudios clínicos (cada vez más frecuentemente) pero no de forma rutinaria en la práctica clínica [137].

En caso de encontrar osteopenia u osteoporosis, deberemos completar el estudio para descartar causas secundarias. Deberemos medir la vitamina D, la hormona paratiroidea, la testosterona en hombres y estrógenos y progestágenos en mujeres y el calcio y fosfato en sangre y orina. Es importante también analizar la función renal, estimándola mediante el filtrado glomerular y valorando también la función tubular [157].

2.3.4 Consecuencias de las Alteraciones en la Composición Ósea

La consecuencia final de la osteopenia y la osteoporosis es un aumento del riesgo de fracturas por fragilidad del hueso, que conllevan una mayor morbimortalidad para el paciente [159]. En algunos estudios de cohortes en pacientes con infección por el VIH se ha observado un aumento en la incidencia de fracturas [160, 161], pero no en otras cohortes [162]. No obstante, dado que la población de pacientes con infección por el VIH está envejeciendo, prolongando a la vez la exposición al TAR y a otros factores de riesgo en el tiempo, es muy probable que estas cifras sigan aumentando.

3 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO E HIPÓTESIS DE TRABAJO

3.1 TOX-BICOMBO

Justificación del Estudio

En el momento en que se diseñó el estudio TOX-BICOMBO se sabía que los ITIAN, particularmente los análogos de timidina, eran los principales causantes de la lipoatrofia. Había datos en TAR de inicio que confirmaban una mayor incidencia de lipodistrofia con los antiguos ITIAN y de múltiples estudios de simplificación cambiando de d4T o AZT a los nuevos ITIAN ABC o TDF con cierta recuperación de la grasa.

Lo que se planteó en el estudio BICOMBO era si una de las dos opciones de simplificación exploradas hasta el momento con buenos resultados, ABC o TDF, era mejor que la otra [163]. Dado que se comercializaron combinaciones a dosis fijas que incluían ABC/3TC o TDF/FTC en una pastilla una vez al día, se decidió comparar las dos combinaciones, que actualmente se han convertido en las únicas opciones preferentes respecto a la pareja de ITIAN en la mayoría de guías de TAR del mundo [2-4]. Así, en el estudio BICOMBO se compararon la eficacia y la seguridad de ambas combinaciones y en el sub-estudio TOX-BICOMBO se analizaron los cambios en la composición corporal, principalmente en el tejido adiposo, con el objetivo de evaluar si las dos combinaciones eran equivalentes o una demostraba alguna ventaja respecto a la otra. También se decidió valorar de forma exploratoria el hueso, puesto que empezaban a aparecer estudios describiendo

alteraciones óseas en el paciente con infección por el VIH, algunos relacionando al TDF con una mayor pérdida de DMO. Se planteó un seguimiento a 96 semanas, suficientemente largo para poder observar los cambios y su evolución en el tiempo.

Hipótesis de Trabajo

El cambio de ITIAN más antiguos a una combinación a dosis fijas de ABC/3TC o TDF/FTC supone una mejoría o al menos una estabilización en la distribución de la grasa corporal, sin diferencias significativas entre las dos combinaciones.

3.2 SPIRAL-LIP

Justificación del Estudio

La aparición del primer fármaco de la familia de los inhibidores de la integrasa, el raltegravir, supuso una opción de rescate muy útil para aquellos pacientes con múltiples fracasos terapéuticos previos. Posteriormente se vio que era un fármaco que además de su potencia presentaba un perfil de tolerabilidad muy bueno, y concretamente desde el punto de vista metabólico parecía tener un efecto neutro. En cambio, los IP/r se habían asociado con lipoacumulación sobretodo a nivel visceral y a alteraciones metabólicas como dislipemia y resistencia a la insulina. Además, en algunos estudios se había asociado a los IP con una mayor pérdida de DMO.

El estudio SPIRAL se diseñó para evaluar la mejoría en el perfil lipídico manteniendo la eficacia virológica al cambiar de un IP/r a raltegravir en pacientes con carga viral indetectable [164]. El sub-estudio SPIRAL-LIP se diseñó para

evaluar, mediante DXA y TC, los cambios en la grasa corporal, particularmente a nivel abdominal analizando SAT y VAT pero también a nivel de extremidades, al cambiar de un IP/r a raltegravir comparado con continuar con el régimen basado en un IP/r. También se pretendía evaluar los cambios en la DMO tras el cambio de un IP/r a raltegravir, ya que se desconocía por completo el efecto del raltegravir sobre el hueso, comparado con seguir con el mismo IP/r durante 48 semanas.

Hipótesis de Trabajo

El cambio de un IP/r por raltegravir supone una mejoría en la distribución de la grasa corporal, con reversión o estabilización del acúmulo de grasa a nivel visceral, además de una mejoría en la DMO.

3.3 Artículo de Revisión

Justificación del Estudio

La lipodistrofia es uno de los efectos secundarios más temidos del TAR y por tanto se ha investigado mucho sobre este tema. Existe abundante información publicada en la literatura, con el objetivo primario o secundario de analizar los cambios en la composición corporal y/o la toxicidad mitocondrial.

En este artículo de revisión se pretendía analizar de forma estructurada los datos disponibles sobre cambios en la composición de la grasa corporal, cambios en parámetros de toxicidad mitocondrial y cambios en el perfil lipídico de los distintos ITIAN en dos escenarios claramente diferenciados, los pacientes *naive* y las estrategias de cambio de TAR en pacientes con carga viral indetectable (simplificación).

4 OBJETIVOS

4.1 TOX-BICOMBO

- Objetivo Primario:

Evaluar los cambios absolutos y porcentuales de la grasa en extremidades, medidos por DXA, en pacientes que cambian su régimen basado en dos ITIAN (incluyendo 3TC) a ABC/3TC o TDF/FTC, manteniendo el tercer fármaco, tras 96 semanas.

- Objetivos Secundarios:

- Evaluar los cambios absolutos y porcentuales de la grasa en extremidades tras 48 semanas.
- Evaluar los cambios de la grasa en tronco y en la grasa total tras 48 y 96 semanas.
- Evaluar los cambios en el *Fat Mass Ratio* tras 48 y 96 semanas.
- Evaluar los cambios en el ADNmt de PBMC tras 48 y 96 semanas.
- Evaluar los cambios en la composición ósea medida como DMO y T-scores a nivel corporal total, de columna y fémur tras 48 y 96 semanas.

4.2 SPIRAL-LIP

- Objetivo Primario:

Evaluar los cambios absolutos en el área grasa visceral abdominal (VAT), medida por TC a nivel de L4, en pacientes que cambian el IP/r de su TAR por raltegravir vs. continuar con el IP/r, tras 48 semanas.

- Objetivos Secundarios:

- Evaluar los cambios en el área grasa subcutánea (SAT) y total (TAT) y en el cociente SAT/VAT a nivel abdominal tras 48 semanas.
- Evaluar los cambios en la grasa de extremidades, tronco y grasa total tras 48 semanas.
- Evaluar los cambios en la composición ósea medida como DMO y T-scores a nivel de columna (L1-L4), fémur (cadera total y cuello de fémur) y corporal total tras 48 semanas.

4.3 Artículo de Revisión

Los **objetivos globales** del artículo de revisión son:

- Describir la fisiopatología de la lipodistrofia y el papel que puede jugar el TAR.
- Describir los datos que existen sobre el TAR de inicio en el paciente *naive*, centrándose en las alteraciones de la composición corporal.
- Analizar las opciones de manejo en aquellos pacientes recibiendo análogos de timidina, basados en los estudios con distintas estrategias de simplificación.
- Interpretación de los resultados y recomendaciones.

5 MÉTODOS

5.1 TOX-BICOMBO

5.1.1 Población de estudio

Pacientes con infección por el VIH-1 de edad igual o superior a 18 años, en tratamiento con una pauta de TAR que incluyera 3TC y otro ITIAN asociados a un ITINAN o un IP/r, con la carga viral del VIH-1 indetectable.

Se ofreció participar en el sub-estudio de composición corporal de forma consecutiva a los pacientes de tres centros de la provincia de Barcelona, para facilitar la logística de centralizar ciertos parámetros de laboratorio y la DXA. Participaron en el sub-estudio el Hospital Vall d'Hebron, el Hospital Clinic y el Hospital de Bellvitge.

Los pacientes se incluyeron de Junio del 2005 a Febrero del 2006.

5.1.2 Diseño del estudio

Estudio prospectivo, comparando dos grupos paralelos, aleatorizado 1:1 (con aleatorización centralizada), abierto y multicéntrico.

El sub-estudio fue diseñado a la vez que el estudio principal, antes del inicio del mismo.

El sub-estudio fue aprobado por el Comité Ético de cada centro y todos los participantes leyeron la hoja de información y firmaron el consentimiento informado por escrito específico del sub-estudio.

5.1.3 Criterios de inclusión

- Infección por el VIH-1.
- Edad igual o superior a 18 años.
- En tratamiento estable con TAR que incluya 3TC en los últimos 3 meses.
- Carga viral VIH-1 < 200 copias/mL en los últimos 2 controles (últimos 4 meses como mínimo).

5.1.4 Criterios de exclusión

- Mujeres gestantes, periodo de lactancia o que pretendan quedar embarazadas.
- Infección oportunista activa que requiera tratamiento parenteral.
- Creatinina superior a 2 mg/dL.
- Tratamiento con fármacos nefrotóxicos (anfotericina B, aminoglicósidos, cidofovir, foscarnet,...).
- Tratamiento con adefovir, IL-2, probenecid, corticoides sistémicos o productos en fase de investigación.
- Quimioterapia antineoplásica sistémica.
- Antecedentes de fracaso virológico con combinaciones que incluían ABC o TDF o con mutaciones de resistencia a alguno de estos fármacos.

5.1.5 Procedimientos

Los pacientes incluidos en el estudio cambiaron la pareja de ITIAN, siendo aleatorizados a recibir ABC/3TC 600/300 mg o TDF/FTC 300/200 mg una vez al día en combinación a dosis fijas, sin modificar el resto del TAR.

A los pacientes incluidos en el sub-estudio se les realizó, a parte de las visitas y las exploraciones del estudio principal [163], los siguientes procedimientos en la visita basal, a las 48 y 96 semanas:

- **Extracción de una muestra extra de sangre para cuantificar ADNmt:**

Se obtuvieron 2 tubos CPT de sangre para aislar PBMC. Posteriormente se extrajo el ADN total (nuclear y mitocondrial) de los PBMC y se conservó este ADN congelado a -80°C hasta su procesamiento.

Para cuantificar el número de copias de ADNmt se midieron las copias de ADNmt y ADNn, utilizando una PCR a tiempo real con un detector de secuencias ABIPRISM 7700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Se midieron todas las muestras por duplicado y se utilizó el valor medio. La cuantificación relativa de ADNmt/ADNn se calculó mediante la fórmula " $2^{-\text{EXP}(\text{CtmtADN}-\text{CtnADN})}$ ", donde CtmtADN y CtnADN son los ciclos umbral para los objetivos mitocondrial y nuclear, respectivamente.

- **DXA:**

Se realizó una DXA de partes blandas para determinar la composición de la grasa corporal y una DXA ósea para determinar la composición ósea corporal total, a nivel de columna lumbar y de cadera total, expresado en forma de DMO (g/cm^2) y T-scores (DE).

El FMR se calculó como el cociente entre el porcentaje de grasa en tronco dividido por el porcentaje de grasa en piernas.

Se utilizó un densitómetro Lunar DPXL (Madison, WI, USA).

Se realizó de forma centralizada en el Hospital Clinic. Todas las exploraciones fueron realizadas con el mismo densitómetro e informadas por el mismo radiólogo, que desconocía la rama de tratamiento a la que había sido asignado el paciente.

5.1.6 Análisis estadístico

Para detectar una diferencia a nivel de grasa de extremidades de -200 g a +200 g (con una desviación estándar de 500 g), con un poder del 80% y un nivel de significación bilateral de 0.05, se calculó que era necesaria una muestra de 25 pacientes por rama de tratamiento.

Para describir las variables cuantitativas, se han utilizado como medidas de tendencia central y dispersión la mediana y el rango intercuartílico (percentil 25-75). Las variables cualitativas se han expresado como números absolutos y porcentajes. Los cambios desde la visita basal se compararon con la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para variables cuantitativas apareadas y el test de McNemar o el test de Chi cuadrado para variables cualitativas, con la corrección de continuidad para el Chi cuadrado cuando un subgrupo contenía 5 sujetos o menos. Las variables cuantitativas no apareadas se compararon con el test U de Mann–Whitney. Las correlaciones entre variables se analizaron con el test de Spearman.

Todas las pruebas se realizaron con un nivel de significación estadística bilateral inferior a 0.05. Se utilizó el programa SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

5.2 SPIRAL-LIP

5.2.1 Población de estudio

Pacientes con infección por el VIH-1 de edad igual o superior a 18 años, en tratamiento con una pauta de TAR basada en un IP/r asociado al menos a dos fármacos antirretrovirales más, con carga viral del VIH-1 indetectable.

Se ofreció participar en el sub-estudio de composición corporal de forma consecutiva a los pacientes de cuatro centros de la provincia de Barcelona, para facilitar la logística de centralizar la DXA y la TC. Participaron en el sub-estudio el Hospital Vall d'Hebron, el Hospital Clinic, el Hospital de Bellvitge y el Hospital de Sant Pau.

Los pacientes se incluyeron de Junio a Diciembre de 2008.

5.2.2 Diseño del estudio

Estudio prospectivo, comparando dos grupos paralelos, aleatorizado 1:1 (con aleatorización centralizada), abierto y multicéntrico.

El sub-estudio fue diseñado a la vez que el estudio principal, antes del inicio del mismo.

El sub-estudio fue aprobado por el Comité Ético de cada centro y todos los participantes leyeron la hoja de información y firmaron el consentimiento informado por escrito específico del sub-estudio.

5.2.3 Criterios de inclusión

- Infección por el VIH-1.
- Edad igual o superior a 18 años. Las mujeres fértiles debían tener una prueba de embarazo negativa en los 10 días previos a la aleatorización y debían utilizar medidas contraceptivas adecuadas.
- Carga viral VIH-1 < 50 copias/mL en dos determinaciones en los últimos 180 días previos a la aleatorización.
- TAR continuo compuesto de un IP/r y al menos dos antirretrovirales más durante al menos 6 meses antes de ser aleatorizados. Los IPs potenciados podían ser indinavir, fosamprenavir, saquinavir, lopinavir, atazanavir, tipranavir o darunavir.
- Pacientes clínicamente estables en opinión del investigador.
- Analítica sin alteraciones significativas dentro de las 2-4 semanas previas a la aleatorización (Hemoglobina > 8,0 g/dL, neutrófilos $\geq 750/\text{mm}^3$, plaquetas $\geq 50.000/\text{mm}^3$, Creatinina < 2,0 mg/dL, transaminasas < 5 x límite superior normalidad).

5.2.4 Criterios de exclusión

- Embarazo, lactancia o previsión de embarazo durante el periodo de estudio.
- Pacientes con TAR que se prevea no van a mantenerse durante todo el estudio.
- Utilización previa de inhibidores de la integrasa del VIH.
- Utilización de fármacos en investigación (excepto antirretrovirales en programas de acceso expandido) en los 90 días previos a la aleatorización.

- Abuso de alcohol o drogas que, en opinión del investigador, pudiera interferir con el cumplimiento del paciente o con su seguridad.
- Pacientes con infección oportunista o neoplasia activas. Los pacientes con una infección oportunista crónica estable podrán incluirse en el estudio.
- Cualquier enfermedad o antecedente patológico que, en opinión del investigador, pudiera confundir los resultados del estudio o suponer un riesgo adicional al tratamiento del paciente.
- Pacientes con diagnóstico de sarcoma de Kaposi (SK) visceral. También deben excluirse los pacientes con linfedema secundario a SK cutáneo o SK cutáneo o palatino que haya sido tratado con inmunosupresores sistémicos.
- Pacientes con hepatitis aguda de cualquier causa. Los pacientes con hepatitis crónica incluida la hepatitis B con HBsAg positivo y la hepatitis C crónica pueden incluirse siempre que las pruebas de función hepática sean estables y cumplan todos los criterios de inclusión.

5.2.5 Procedimientos

Los pacientes incluidos en el estudio fueron aleatorizados a continuar con el mismo TAR basado en IP/r o cambiar el IP/r por raltegravir 400 mg dos veces al día, sin modificar el resto del TAR.

A los pacientes incluidos en el sub-estudio se les realizó, a parte de las visitas y las exploraciones del estudio principal [164], los siguientes procedimientos en el mismo día en la visita basal y a las 48 semanas:

- DXA:

Se realizó una DXA de partes blandas para determinar la composición de la grasa corporal y una DXA ósea para determinar la composición ósea corporal total, a nivel de columna (L1-L4) y fémur (cadera total y cuello), expresado en forma de DMO (g/cm^2) y T-scores (DE).

Se utilizó un densitómetro Lunar DPXL (Madison, WI, USA).

- TC:

Se realizó una TC con un único corte de 5 mm a nivel abdominal, a la altura de L4, para medir el área de SAT, VAT y TAT, expresadas en cm^2 .

Tanto la DXA como la TC se realizaron de forma centralizada en el centro CETIR de Barcelona. Todas las exploraciones fueron realizadas e informadas por el mismo radiólogo, que desconocía la rama de tratamiento a la que había sido asignado el paciente.

Los resultados de dichas exploraciones fueron entregadas a los investigadores a cargo de los pacientes una vez finalizado el estudio, por lo que no se deriva de los resultados ninguna actitud diagnóstica o terapéutica que haya podido influir en la evolución de los pacientes.

No se recomendó ninguna pauta dietética o de ejercicio específica dentro del sub-estudio.

5.2.6 Análisis estadístico

Para detectar una diferencia a nivel de VAT de 7.6 cm^2 (basado en los resultados del estudio ACTG 5224 [165]), con un poder del 80% y un nivel de

significación bilateral de 0.05, se calculó que era necesaria una muestra de 74 pacientes.

Para describir las variables cuantitativas, se han utilizado como medidas de tendencia central y dispersión la mediana y el rango intercuartílico. Las variables cualitativas se han expresado como números absolutos y porcentajes. Los cambios desde la visita basal se compararon con la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para variables cuantitativas apareadas y el test de McNemar o el test de Chi cuadrado para variables cualitativas, con la corrección de continuidad para el Chi cuadrado cuando un subgrupo contenía 5 sujetos o menos. Las variables cuantitativas no apareadas se compararon con el test U de Mann–Whitney. Las correlaciones entre variables se analizaron con el test de Spearman.

Todas las pruebas se realizaron con un nivel de significación estadística bilateral inferior a 0.05. Se utilizó el programa SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

5.3 Artículo de Revisión

A través de una búsqueda utilizando PubMed se identificaron los artículos relevantes publicados hasta Junio de 2010. La búsqueda incluyó los siguientes términos: 'thymidine analogs', 'stavudine', 'zidovudine', 'd4T', 'AZT', 'ZDV', 'treatment switch'. Los artículos originales en los que d4T o AZT se habían cambiado por TDF o ABC como estrategias de simplificación (con supresión virológica) fueron revisados para obtener toda la información disponible sobre distribución de grasa, contenido o funcionalidad mitocondrial y/o parámetros lipídicos. Las referencias bibliográficas

relevantes de dichos artículos también fueron consideradas. Sólo se incluyeron estudios realizados en pacientes adultos (edad igual o superior a 18 años).

6 RESULTADOS

6.1 TOX-BICOMBO

Adrian Curran, Esteban Martinez, Daniel Podzamczar, Montserrat Lonca, Patricia Barragan, Manuel Crespo, Vicenç Falco, Sergio Vidal-Sicart, Arkaitz Imaz, Maria Martinez, Jose Maria Gatell and Esteban Ribera.

Changes in body composition and mitochondrial DNA in HIV-1-infected patients switching to fixed- dose abacavir/lamivudine or tenofovir/emtricitabine: a substudy of the BICOMBO Trial.

Antivir Ther. 2012; 17 (4): 711-8. PMID: 22374987

Resumen:

Introducción: La distribución de la grasa, la densidad mineral ósea (DMO) y el ADN mitocondrial (ADNmt) pueden mejorar, a largo plazo, tras cambiar de ciertos ITIAN a una combinación a dosis fijas de abacavir (ABC)/lamivudina (3TC) o tenofovir (TDF)/emtricitabina (FTC).

Métodos: sub-estudio prospectivo, aleatorizado, abierto, multicéntrico del estudio BICOMBO, en el que pacientes con supresión virológica mantenida cambiaban los ITIAN a ABC/3TC o TDF/FTC. Se realizó una DXA de cuerpo total para medir la grasa en extremidades, tronco y total y la DMO total. Se realizaron DXA de cadera y lumbar para medir la DMO en estas localizaciones. Se utilizó el *Fat mass ratio* (FMR: porcentaje de grasa en tronco/porcentaje de grasa en piernas por DXA) para analizar la distribución de grasa. Se midió el ADNmt en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs). Se midieron los parámetros de interés basalmente, a las 48 y 96 semanas, y se compararon entre ramas de tratamiento.

Resultados: de 56 pacientes incluidos, 45 (20 ABC/3TC y 25 TDF/FTC) completaron el sub-estudio. Tras 96 semanas, ABC/3TC (+756 g, +12.1%) y TDF/FTC (+337 g, +7.6%) provocaron cambios en la grasa de extremidades aunque sin diferencias significativas entre ramas ($p=0.60$). En cambio, la grasa en tronco aumentó significativamente ($p=0.04$) con ABC/3TC (+1.184 g, +10.6%) comparado con TDF/FTC (-370 g, -4.2%). La mediana (IQR) de FMR no cambió con ABC/3TC (-0.01 [-0.16–0.06]; $p=0.23$), pero disminuyó significativamente con TDF/FTC (-0.13 [-0.30–0.00]; $p=0.007$). La DMO total y el ADNmt aumentaron significativamente tras 96 semanas en los dos grupos, sin diferencias significativas entre ramas de tratamiento.

Conclusiones: Al cambiar de ciertos ITIAN con supresión virológica a ABC/3TC o TDF/FTC se observaron aumentos similares de la grasa en extremidades, DMO y ADNmt en PBMC tras 96 semanas.

Original article

Changes in body composition and mitochondrial DNA in HIV-1-infected patients switching to fixed-dose abacavir/lamivudine or tenofovir/emtricitabine: a substudy of the BICOMBO Trial

Adrian Curran^{1*}, Esteban Martínez², Daniel Podzamczar³, Montserrat Lonca², Patricia Barragan², Manuel Crespo⁴, Vicenç Falco⁴, Sergio Vidal-Sicart⁴, Arkaitz Imaz², Maria Martinez², Jose Maria Gatell², Esteban Ribera¹

¹Infectious Diseases Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

²Infectious Diseases Department, Hospital Clínic i Provincial, Barcelona, Spain

³Infectious Diseases Department, Hospital Universitari de Bellvitge, HIV Unit, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

⁴Nuclear Medicine Department, Hospital Clínic i Provincial, Barcelona, Spain

*Corresponding author e-mail: acurran@vhebron.net

Background: Fat distribution, bone mineral density (BMD) and mitochondrial DNA (mtDNA) may improve, in the long-term, after switching from nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) to fixed-dose abacavir (ABC)/lamivudine (3TC) or tenofovir (TDF)/emtricitabine (FTC). **Methods:** This was a prospective, randomized, open-label, multicentre substudy of the BICOMBO trial in which virologically suppressed patients had their NRTIs switched to ABC/3TC or TDF/FTC. Whole-body dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) was used to measure limb, trunk and total body fat and total BMD. Lumbar and hip DXA scans were used to measure lumbar and hip BMD. Fat mass ratio (FMR: % trunk fat/% leg fat by whole-body DXA) was used to assess fat distribution. mtDNA was measured in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). Parameters of interest were measured at

baseline, 48 and 96 weeks, and were compared between treatment groups.

Results: Of 56 patients included, 45 (20 ABC/3TC and 25 TDF/FTC) completed the substudy. After 96 weeks, ABC/3TC (+756 g, +12.1%) and TDF/FTC (+337 g, +7.6%) led to non-significantly different increases in limb fat ($P=0.60$). By contrast, trunk fat showed a significant increase ($P=0.04$) with ABC/3TC (+1,184 g, +10.6%) relative to TDF/FTC (-370 g, -4.2%). Median (IQR) FMR remained unchanged with ABC/3TC (-0.01 [-0.16-0.06]; $P=0.23$), but it decreased significantly with TDF/FTC (-0.13 [-0.30-0.00]; $P=0.007$). Total BMD and mtDNA significantly increased after 96 weeks, without differences between groups.

Conclusions: Switching from NRTIs to either ABC/3TC or TDF/FTC led to similar increases in limb fat, BMD and PBMC mtDNA after 96 weeks.

Introduction

Currently, most antiretroviral (ARV) therapy guidelines recommend a once-daily fixed-dose combination (FDC) of two nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), consisting of either abacavir (ABC)/lamivudine (3TC) or tenofovir (TDF)/emtricitabine (FTC), plus a third drug [1-3]. These combinations offer convenience (one pill once daily) and good tolerability, favouring adherence and long-term efficacy [4,5].

One of the main advantages of these two FDCs compared with older NRTIs, mainly thymidine analogues stavudine (d4T) and zidovudine (AZT), is the low potential for causing mitochondrial toxicity [6].

Probably the most feared side effect of long-term ARV therapy is lipoatrophy, a subcutaneous fat loss in face, limbs and buttocks. Lipoatrophy is multifactorial [7,8], but a key factor is the ARV regimen used, mostly thymidine NRTIs [8,9]. Several studies in treatment-naïve patients have reported significant increases in limb fat with TDF or ABC when compared with thymidine NRTIs [10-12]. There are also studies in which switching thymidine NRTIs to ABC [13,14], TDF [15-18] or any of them [19] has led to increases in limb and total fat. The STEAL study, switching NRTIs to either ABC/3TC or TDF/FTC,

has shown similar increases in limb and total fat at 96 weeks with both FDCs [20].

In order to establish a simple and objective measure to define lipodystrophy and improve its early recognition, the fat mass ratio (FMR) has been developed from dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) measurements [21]. The FMR is defined as the ratio of the trunk fat mass percentage divided by the lower limb fat mass percentage. After comparing with values of the HIV-negative control population, a cutoff value of ≥ 1.5 has been proposed to define lipodystrophy [21,22]. The normal values of FMR in the Caucasian US population have been reported to be ≤ 1 [23]. Although FMR has not yet been used to evaluate the outcomes of body fat changes in randomized studies, it may be more informative of body fat distribution than just reporting limb or total fat changes.

There are conflicting data regarding the long-term bone effects of TDF-containing therapy. Studies in treatment-naïve patients suggest that there is a small decrease in bone mineral density (BMD) in the first months of any ARV therapy that stabilizes later [10,24,25]. In the STEAL study, there were differential effects of ABC/3TC (increase) and TDF/FTC (decrease) in hip and spine T-scores after 96 weeks; however, BMD data was not reported in this study [20].

Mitochondrial DNA (mtDNA) in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) has been associated with the degree of lipodystrophy [26] and the improvement of lipodystrophy after switching NRTIs [15,16,27]. However, we are not aware of any comparison on mtDNA between ABC/3TC and TDF/FTC.

We have compared the effects of switching from NRTIs to either ABC/3TC or TDF/FTC on body fat distribution, BMD and mtDNA in a subgroup of patients from the BICOMBO trial.

Methods

Subjects and design

The BICOMBO trial is a prospective, randomized, open-label, multicentre study in which patients with suppressed HIV-1 infection on a 3TC-containing regimen were offered to change the NRTI backbone to one of two FDCs: ABC/3TC 600/300 mg once daily or TDF/FTC 300/200 mg once daily, without modifying the rest of the treatment. The details of the global study are described elsewhere [28].

The ToxBICOMBO substudy was planned prior to the initiation of the BICOMBO trial. This substudy aimed to analyse changes in body fat distribution, BMD and mtDNA in a subgroup of consecutive patients from three sites (Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; Hospital Clinic i Provincial, Barcelona, Spain; and Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona,

Spain). Patients were enrolled between June 2005 and February 2006 and were assessed using the same time points and visits as in the general study. The primary study end point was the median absolute and percentage change in limb fat mass measured by DXA at week 96. Secondary end points were median changes in total and trunk fat mass, FMR, BMD and mtDNA at weeks 48 and 96.

At baseline and at weeks 48 and 96, whole body and lumbar and hip DXA scans (Lunar DPXL, Madison, WI, USA) were performed to assess body and bone composition. FMR was calculated as the ratio of the percentage of trunk fat mass divided by the percentage of lower limbs fat mass [21]. Bone data (total body, hip and lumbar spine) were expressed as BMD (g/cm^2) and T-scores. Scans were centrally performed and read by a single radiologist (SV-S) unaware of the ARV treatment received.

In two of the sites (Hospital Universitari Vall d'Hebron and Hospital Universitari de Bellvitge) participating in the substudy, additional blood samples were obtained at each visit to determine mtDNA in PBMCs. Relative quantification of mtDNA versus nuclear DNA (nDNA) was performed by real-time PCR in an ABI PRISM 7700 sequence detector (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) as described previously [16]. All samples were tested in duplicate and the mean value was used. The relative quantification of mtDNA versus nDNA was calculated using the formula $2^{-\Delta\text{Ct}}$ ($\text{Ct}_{\text{mtDNA}} - \text{Ct}_{\text{nDNA}}$), where Ct_{mtDNA} and Ct_{nDNA} are the threshold cycles for the mitochondrial and nuclear targets, respectively. Cells were preserved at -80°C until analysed.

The protocol was approved by the Ethics Committee at each participating site and specific written informed consent for the substudy was obtained from all patients.

Statistical analysis

A sample size of 25 evaluable patients in each group was necessary to achieve 80% power to detect a difference from -200 g to $+200$ g, with an SD of 500 g, in mean limb fat at 96 weeks with a significance level of 0.05 using a two-sided test.

For quantitative variables, the medians and IQR (25th to 75th percentiles) were used as measures of central tendency and dispersion. The number of patients in each category and the corresponding percentages were given for qualitative variables. The changes from baseline were compared with the Wilcoxon signed-rank tests and the McNemar or χ^2 test for qualitative variables, with the continuity correction for the χ^2 when a subgroup included five or fewer subjects. Comparisons between quantitative non-paired variables were performed with the Mann-Whitney U test. Correlations were analysed by Spearman's rank test. All statistical tests were two-tailed and performed at a level of statistical significance

Table 1. Baseline characteristics

Characteristic	All (n=45)	TDF/FTC (n=25)	ABC/3TC (n=20)	P-value
Age, years	42 [36–46]	42 [36–52]	41 [36–46]	0.610
Male gender, n (%)	33 [73]	20 [80]	13 [65]	0.320
Previous NRTI ^a				
AZT, n (%)	11 [24]	7 [28]	4 [20]	0.729
d4T, n (%)	7 [16]	6 [24]	1 [5]	0.112
ddI, n (%)	16 [36]	5 [20]	11 [56]	0.027
TDF, n (%)	9 [20]	7 [28]	2 [10]	0.260
ABC, n (%)	2 [4]	0	2 [10]	0.192
Third drug,				0.642
NNRTI, n (%)	40 [89]	23 [92]	17 [85]	
PI, n (%)	5 [11]	2 [8]	3 [15]	
CD4 ⁺ T-cell count, cells/μl	460 [333–726]	441 [333–725]	402 [333–732]	0.732
Weight, kg	60.9 [60.1–78.8]	67.5 [59.8–76.1]	71.0 [65.0–80.0]	0.335
Limb fat, g	5,082 [3,386–6,434]	4,271 [2,861–6,148]	5,509 [3,774–7,734]	0.091
Limb fat, %	17 [13–25]	16 [13–23]	21 [12–31]	0.394
Trunk fat, g	9,063 [6,746–12,774]	8,485 [6,664–12,704]	11,034 [6,611–13,925]	0.465
Trunk fat, %	29 [22–36]	27 [20–33]	30 [22–42]	0.272
Total fat, g	14,619 [10,498–19,071]	12,434 [10,291–18,722]	15,523 [11,717–22,065]	0.263
Fat mass ratio	1.73 [1.19–2.39]	1.59 [1.29–2.39]	1.38 [1.13–2.40]	0.214
Total BMD, g/cm ³	0.99 [0.90–1.15]	0.93 [0.84–1.14]	1.06 [0.96–1.21]	0.015
mtDNA PBMC	59 [38–85]	66 [53–86]	53 [34–76]	0.260

Values are expressed as median (IQR) unless indicated otherwise. ^aAt study enrolment, other than lamivudine (3TC), ABC/3TC, abacavir/lamivudine fixed-dose combination; AZT, zidovudine; BMD, bone mineral density; ddI, didanosine; d4T, stavudine; mtDNA, mitochondrial DNA; NNRTI, non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor; NRTI, nucleoside reverse transcriptase inhibitor; PBMC, peripheral blood mononuclear cell; PI, protease inhibitor; TDF/FTC, tenofovir/emtricitabine fixed-dose combination.

of 0.05. SPSS 15.0 software for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for statistical analyses.

Results

A total of 56 patients were included in the study. Of them, 11 patients did not complete the 96 weeks: 7 were lost to follow-up, 2 withdrew consent, 1 changed ARV due to virological failure and 1 patient died due to non-medication-related cause. There were no significant differences in baseline characteristics between patients who did and did not complete 96 weeks of follow-up and losses were balanced between groups. In total, 45 patients had 96 weeks data and were analysed. Of them, 25 were randomized to TDF/FTC and 20 to ABC/3TC. Patient baseline characteristics are described in Table 1. Patients had a median limb fat of 5,082 g and a median FMR of 1.73, consistent with baseline lipodystrophy. All but five patients (three randomized to ABC/3TC and two to TDF/FTC) had received thymidine analogues at some point in their ARV therapies. There were no significant differences in the baseline characteristics of patients who did and patients who did not receive thymidine analogues (data not shown). There were some significant differences between groups at baseline: a higher proportion of patients randomized to ABC/3TC had been previously receiving didanosine (ddI) and had higher BMD than patients randomized to TDF/FTC (Table 1).

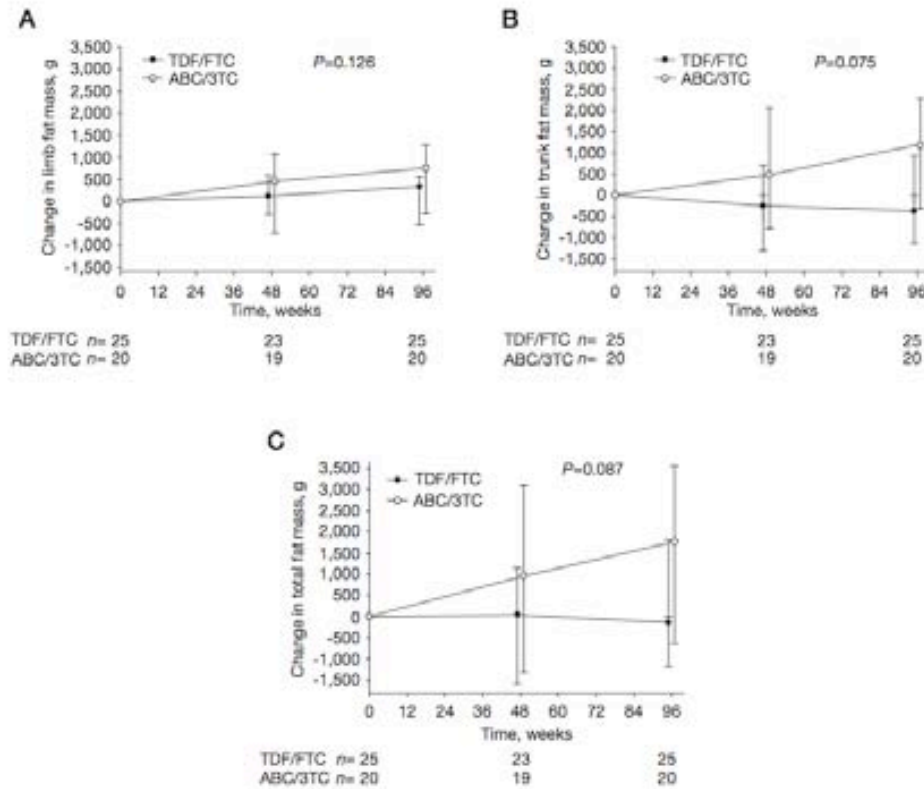
Body fat distribution

No significant differences were seen in body fat composition during the first 48 weeks, either within or between groups. After 96 weeks, limb fat increased a median of 337 g (+7.6%) in the TDF/FTC arm ($P=0.40$) and 756 g (+12.1%) in the ABC/3TC arm ($P=0.020$), without significant differences ($P=0.126$) between groups (Figure 1A). Regarding trunk fat, a median decrease of 370 g (-4.2%) in the TDF/FTC group ($P=0.580$) and an increase of 1,184 g (+10.6%) in the ABC/3TC group ($P=0.08$) was seen, this difference between groups being significant in percentage fat ($P=0.044$) and nearly significant ($P=0.075$) in trunk fat mass (Figure 1B). Similar results to trunk fat were observed in total fat, with a median decrease of 130 g (-0.7%) in the TDF/FTC group ($P=0.76$) and an increase of 1,779 g (+12.1%) in the ABC/3TC group ($P=0.04$), although differences did not reach significance ($P=0.087$) between groups (Figure 1C). Changes in body fat are described in Table 2.

Changes in limb fat were more pronounced in those patients previously receiving a thymidine analogue (AZT [$n=11$] or d4T [$n=7$]) compared with those not receiving these drugs, irrespective of randomization group, both at 48 weeks ($P=0.044$) and 96 weeks ($P=0.039$). In patients with previous AZT or d4T use, a significant increase in limb fat was seen after 48 weeks (455 g, +11.7%; $P=0.022$) and after 96 weeks (587 g, +14.5%; $P=0.014$), without significant differences in

A Curran et al.

Figure 1. Median changes in body fat composition depending on randomization arm through 96 weeks of follow-up.



(A) Change in limb fat mass, (B) change in trunk fat mass and (C) change in total fat mass are shown. Error bars indicate IQR. The number of patients included at baseline and at 48 and 96 weeks in each group are indicated. Open circles indicate patients randomized to abacavir (ABC)/lamivudine (3TC). Filled circles indicate patients randomized to tenofovir (TDF)/emtricitabine (FTC).

trunk or total fat. No significant limb fat differences were seen after 48 weeks (-19 g, -0.4%) or 96 weeks (205 g, +3.7%) in those patients previously receiving TDF, ABC or ddI (Figure 2).

Regarding FMR, there was a significant decrease with TDF/FTC (-0.13 [-0.30-0.00]; P=0.007) and a non-significant decrease with ABC/3TC (-0.01 [-0.16-0.06]; P=0.227) after 96 weeks, independent of the prior NRTIs used. Differences between groups were not significant (P=0.139).

Bone mineral density

When analysing total BMD there were no significant differences after 48 weeks within or between treatment

groups. After 96 weeks, increases in total BMD were seen both with TDF/FTC (0.21 g/cm² [0.00-0.28]; P<0.001, an increase of 23.5% compared with baseline; Table 2) and ABC/3TC (0.08 g/cm² [0.01-0.22]; P=0.001, an increase of 7.9% compared to baseline; Table 2). However, small but significant decreases in hip BMD (-0.01 g/cm² [-0.03-0.18]; P=0.008) and hip T-score (-0.16 SD [-0.31--0.04]; P=0.007) were seen within the TDF/FTC arm, although these were non-significant when compared with the ABC/3TC arm. No changes were seen in lumbar spine.

Regarding prior NRTI treatment, significant differences were observed in BMD after 48 weeks between the 34 patients previously receiving AZT, d4T or ddI and

Table 2. Changes in primary and secondary endpoints after 96 weeks

Measurement	TDF/FTC	ABC/3TC	Differences between FDC	P-value between FDC
DXA				
Limb fat, g	337 (-532-552)	756 (-273-1285)	393 (-365-884)	0.126
Limb fat, %	7.6 (-10.2-16.9)	12.1 (-3.6-26.8)	8.0 (-6.6-22.9)	0.226
Trunk fat, g	-370 (-1,134-936)	1184 (-317-2284)	152 (-989-1,838)	0.075
Trunk fat, %	-4.2 (-12.5-7.9)	10.6 (-2.1-31.3)	2.4 (-10.2-18.3)	0.044
Total fat, g	-130 (-1,174-1,837)	1779 (-639-3,573)	1,126 (-1,044-2,492)	0.087
Total fat, %	-0.7 (-10.1-12.0)	12.1 (-3.2-35.5)	7.4 (-8.3-16.8)	0.075
FMR	-0.13 (-0.30-0.00)	-0.01 (-0.16-0.06)	-0.08 (-0.19-0.02)	0.139
BMD				
Total, g/cm ²	0.21 (0.00-0.28)	0.08 (0.01-0.22)	0.17 (0.01-0.24)	0.217
Total, %	23.5 (0.3-31.8)	7.9 (0.4-22.5)	17.2 (0.4-27.0)	0.150
Hip, g/cm ²	-0.01 (-0.03-0.18)	0.00 (-0.02-0.02)	0.00 (-0.02-0.02)	0.481
Hip, %	-0.35 (-3.86-1.75)	0.17 (-1.56-1.99)	0.05 (-2.84-1.99)	0.451
Spine, g/cm ²	0 (-0.04-0.01)	0.02 (-0.03-0.03)	0.00 (-0.03-0.02)	0.294
Spine, %	0.21 (-3.80-1.54)	1.29 (-2.18-2.34)	0.41 (-2.28-1.95)	0.451
mtDNA				
PBMC	142 (60-184)	148 (105-241)	143 (95-190)	0.605

Values are expressed as median (IQR). ABC/3TC, abacavir/lamivudine fixed-dose combination; BMD, bone mineral density; DXA, dual X-ray absorptiometry; FDC, fixed-dose combination; FMR, fat mass ratio; TDF/FTC, tenofovir/emtricitabine fixed-dose combination; mtDNA, mitochondrial DNA; PBMC, peripheral blood mononuclear cells.

the 11 patients with prior use of TDF or ABC ($P=0.011$), with small decreases with the former (-0.001 g/cm², -0.1% ; $P=0.189$) and increases with the latter (0.02 g/cm², $+1.5\%$; $P=0.037$). After 96 weeks, these differences, depending on prior NRTI groups, disappeared ($P=0.575$): observing an increase in BMD of 0.19 g/cm² ($+19.1\%$; $P<0.001$) in patients with prior AZT, d4T or ddI use (without significant differences between randomization arms) and an increase of 0.01 g/cm² ($+0.9\%$; $P=0.169$) in patients previously taking TDF or ABC.

Mitochondrial DNA

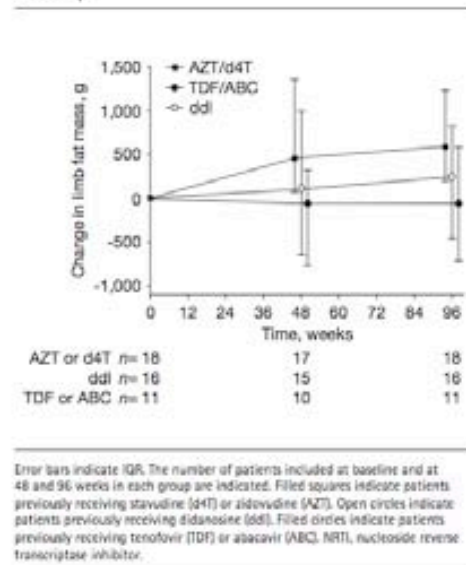
mtDNA in PBMCs was assessed in a subgroup of 26 patients (16 with TDF/FTC and 10 with ABC/3TC). There were no significant differences in mtDNA after 48 weeks within or between treatment groups. After 96 weeks, there were significant increases in mtDNA in the TDF/FTC arm (142 [60-184]; $P=0.008$) and in the ABC/3TC arm (148 [105-241]; $P=0.008$), with no significant differences between treatment arms (Table 2). There was no significant correlation between changes in mtDNA and changes in body fat composition (data not shown).

Discussion

With two FDCs that have similar efficacy as switch strategies [19,20,28], the decision of choosing one or the other could be influenced by other factors, such as changes in body fat composition or BMD.

In this study, patients had a median limb fat of 5.1 kg at baseline, higher than the mean content in lipotrophic HIV-infected patients (3.1 kg) but lower

Figure 2. Median changes in limb fat mass composition depending on prior NRTI treatment through 96 weeks of follow-up



than in non-HIV-infected adults (7.1 kg) [29]. FMR (1.73) was higher than the mean values in non-HIV-infected adults (≤ 1) [23] and in HIV-infected adults without lipodystrophy (<1.5) [21]. After 96 weeks,

both groups showed a limb fat increase, without significant differences between drugs (median increase of 337 g and 756 g with TDF/FTC and ABC/3TC, respectively). These changes are similar to those observed in prior switch studies from thymidine analogues to ABC or TDF [13–20,29]. A significant increase in limb and total fat and a nearly significant increase in trunk fat were seen within the ABC/3TC group. Higher increases in body fat with ABC/3TC compared with TDF/FTC, although without reaching statistical significance, have been seen in two recent studies: in treatment-naïve patients (limb fat 1.7 versus 1.1 kg [$P=0.12$] in intention-to-treat analysis and 2.1 versus 1.2 kg [$P=0.02$] in as-treated analysis) of the ACTG 5224s study [24] and in the Steal study [20], which compared both FDCs as switch strategies (limb fat 0.53 versus 0.42 kg and total fat 1.42 versus 1.12 kg; both $P=0.46$).

It is noteworthy that no significant changes were seen during the first year and fat recuperation took place in the second year. However, in patients previously receiving a thymidine analogue, significant increases in limb fat were seen as soon as 48 weeks after the switch and these differences, compared with patients previously receiving ABC, TDF or ddI, were seen at 48 and 96 weeks.

When using FMR as an objective measure of lipodystrophy there were no differences between FDC after 96 weeks. However, there is a significant decrease in FMR with TDF/FTC, as limb fat increases and trunk fat decreases. By contrast, there are no changes in FMR with ABC/3TC, as both limb fat and trunk fat increases. Theoretically, the aforementioned TDF/FTC fat change profile would be more desirable from the metabolic point of view. However, this is the first time, to our knowledge, that FMR has been used to compare body fat changes between drugs in a randomized clinical trial and larger studies with longer follow-up would be necessary to confirm this finding and its implications.

No changes in total BMD were seen in the first 48 weeks. After 96 weeks, slight although significant increases in total BMD were observed with both treatment groups. However, small decreases in hip BMD and T-score were seen with TDF/FTC, although non-significant when compared with ABC/3TC. In patients who had not previously received TDF or ABC, a decrease was seen during the first year, irrespective of randomization group, with significant increases during the second year, whereas patients previously receiving TDF or ABC did not show significant changes after 96 weeks. In prior studies, discordant results have been reported regarding BMD. Some studies have shown no significant changes in BMD after switching from a thymidine analogue to TDF or ABC [18,19]. In the STEAL

study [20], significant differences were seen after 96 weeks in lumbar and hip T-scores (decreases with TDF/FTC and increases with ABC/3TC), but BMD data were not available. In treatment-naïve patients, an initial decrease is seen with all NRTI-based treatments, which is more pronounced with TDF, stabilizing or even improving thereafter [10,24,25].

The usefulness of mtDNA determination in PBMCs as a marker of mitochondrial toxicity is controversial, with some studies finding [27,30] and others not finding [15,31] correlation between mtDNA levels and ARV switch. In our study, no changes were seen in the first 48 weeks, but significant increases in PBMC mtDNA were seen with both treatment groups after 96 weeks, without differences between them. This mtDNA recovery has also been seen in other studies, being related to lipotrophy reversal in some cases [32] and, as in our study, without correlation with body fat in others [14]. This lack of correlation could be explained by organ-specific drug toxicities, meaning that mitochondrial changes should be measured in the affected tissues and not in PBMCs [9,33].

Some limitations of our study must be highlighted. The first is the relatively low number of patients included. From the initial 56 patients, 11 did not complete the follow-up, although their baseline characteristics did not differ from the analysed patients and losses were balanced between treatment arms. Secondly, some patients were taking TDF or ABC before the switch, as the inclusion criteria for the study was a 3TC-containing regimen without other limitations. We have performed analyses excluding these patients observing benefits in fat, bone and mtDNA after the switch, but with a lower statistical power. We also do not have data on duration of prior exposure to thymidine analogues. Although this can be a confounding factor, baseline characteristics were well-balanced between treatment groups and the randomized design of the study minimizes the risk of selection bias. Another limitation is that an abdominal computed tomographic scan was not performed, which means that differentiation between changes in subcutaneous or visceral fat in the abdomen could not be made.

Most of the studies analysing body composition in HIV patients limit their follow-up to 48 weeks. A key issue is whether fat recovery persists over time after treatment switch or it achieves a plateau, as suggested in the few studies with a longer follow-up [14,20,34]. As seen in our study, significant changes can take place in body fat distribution, BMD and mtDNA after the first year with both FDCs, especially in those patients who were previously receiving thymidine analogues. Longer follow-up is warranted to obtain valuable information about the reversibility of some side effects, especially in fat and bone.

Acknowledgements

This study was supported, in part, by research grants from GlaxoSmithKline and Gilead Sciences, and grants from Red Temática Cooperativa de Investigación en SIDA (ISCIII-RETIC RD06/006) and FIPSE (grant 36274/02). Preliminary results of this work were presented in the 10th International Workshop on Adverse Drug Reactions and Lipodystrophy in HIV (6–8 November 2008, London, UK; abstract P-17). The registration number for this study is ISRCTN61891868 and the registry name is BICOMBO.

AC, EM, JMG and ER conceived the study, participated in its design, coordination and data analysis, and drafted the manuscript. SVS performed and analysed DXA scans. DP, ML, PB, MC, MM, AI and VF recruited patients, carried out the study protocol and supervised data integrity and analysis.

Disclosure statement

AC has received honoraria, speakers' fees and/or funds for research from Bristol-Myers Squibb, Abbott, Boehringer-Ingelheim, Gilead, Janssen-Cilag, MSD, ViiV, Roche Farma and GlaxoSmithKline. EM has received honoraria, speakers' fees, consultant fees and/or funds for research from Abbott, Boehringer-Ingelheim, Bristol-Myers Squibb, Gilead Sciences, GlaxoSmithKline, MSD, Theratechnologies, Tibotec and ViiV Healthcare. DP has received research grants and/or honoraria for advisories and/or conferences from Boehringer-Ingelheim, GlaxoSmithKline, ViiV, Pfizer, Bristol-Myers Squibb, Abbott, Gilead, Janssen and Merck. VF has received honoraria, speakers' fees and/or funds for research from Bristol-Myers Squibb, Abbott, Boehringer-Ingelheim, Gilead, Janssen-Cilag, MSD, ViiV, Roche Farma and GlaxoSmithKline. JMG has received honoraria, speakers' fees, consultant fees and/or funds for research from Abbott, Boehringer-Ingelheim, Bristol-Myers Squibb, Gilead Sciences, GlaxoSmithKline, MSD, Pfizer, Theratechnologies, Tibotec and ViiV Healthcare. ER has received honoraria, speakers' fees, consultant fees and/or funds for research from Bristol-Myers Squibb, Abbott, Boehringer-Ingelheim, Gilead, Janssen-Cilag, MSD, Pfizer, ViiV, Roche Farma, Schering Plough and GlaxoSmithKline. ML, MC, PB, AI, SVS and MM declare no competing interests.

References

1. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services (Updated 10 January 2001. Accessed 16 March 2011.) Available from <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>
2. Recomendaciones de GESIDA/Plan Nacional sobre el SIDA respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. (Updated January 2001. Accessed 16 March 2011.) Available from <http://www.gesida.seimc.org/index.asp>
3. European AIDS Clinical Society Guidelines. Clinical management and treatment of HIV infected adults in Europe. Version 5.3. (Updated November 2009. Accessed 16 March 2011.) Available from <http://www.eacs.eu/guide/index.htm>
4. Willig JH, Abrams S, Westfall AO, et al. Increased regimen durability in the era of once-daily fixed-dose combination antiretroviral therapy. *AIDS* 2008; **22**:1951–1960.
5. Parienti JJ, Bangsberg D, Verdon R, et al. Better adherence with once-daily antiretroviral regimens: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2009; **48**:484–488.
6. Birkus G, Hitchcock MJ, Ciblar T. Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46**:716–723.
7. Jacobson DL, Knox T, Spiegelman D, et al. Prevalence of, Evolution of, and Risk Factors for Fat Atrophy and Fat Deposition in a Cohort of HIV-Infected Men and Women. *Clin Infect Dis* 2005; **40**:1837–1845.
8. Hammond E, McKinnon E, Nolan D. Human immunodeficiency virus treatment-induced adipose tissue pathology and lipodystrophy: prevalence and metabolic consequences. *Clin Infect Dis* 2010; **51**:S91–S99.
9. Curran A, Ribera E. From old to new nucleoside reverse transcriptase inhibitors: changes in body fat composition, metabolic parameters and mitochondrial toxicity after the switch from thymidine analogs to tenofovir or abacavir. *Expert Opin Drug Saf* 2011; **10**:389–406.
10. Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL, et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naïve patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2004; **292**:191–201.
11. Gallant JE, DeJesus E, Arribas JB, et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006; **354**:251–260.
12. Podzamczak D, Ferrer E, Sanchez P, et al. Less lipodystrophy and better lipid profile with abacavir as compared to stavudine: 96-week results of a randomized study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; **44**:139–147.
13. McComsey GA, Ward DJ, Hesselthaler SM, et al. Improvement in lipodystrophy associated with highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-infected patients switched from stavudine to abacavir or zidovudine: the results of the TARHEEL study. *Clin Infect Dis* 2004; **38**:263–270.
14. Carr A, Workman C, Smith D, et al. Abacavir substitution for nucleoside analogs in patients with HIV lipodystrophy: a randomized trial. *JAMA* 2002; **288**:207–215.
15. Mlincovic A, Martinez E, López S, et al. The impact of reducing stavudine dose versus switching to tenofovir on plasma lipids, body composition and mitochondrial function in HIV-infected patients. *Antivir Ther* 2007; **12**:407–415.
16. Ribera E, Paradiseiro JC, Curran A, et al. Improvements in subcutaneous fat, lipid profile, and parameters of mitochondrial toxicity in patients with peripheral lipodystrophy when stavudine is switched to tenofovir (LIPOTEST study). *HIV Clin Trials* 2008; **9**:407–417.
17. Ribera E, Martínez E, Clotet B, et al. 72 Week outcomes following switch from AZT/3TC to FTC/TDF (TVD) vs Continuing on AZT/3TC. Final results of the RECOMB trial. 5th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. 19–22 July 2009, Cape Town, South Africa. Abstract CDB091.
18. Fisher M, Moyle GJ, Shahmanesh M, et al. A randomized comparative trial of continued zidovudine/lamivudine or replacement with tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine in efavirenz-treated HIV-1-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; **51**:562–568.

A Curran et al.

19. Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J, et al. A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipodystrophy. *AIDS* 2006; 20:2043–2050.
20. Martin A, Bloch M, Amin J, et al. Simplification of antiretroviral therapy with tenofovir-emtricitabine or abacavir-lamivudine: a randomized, 96-week trial. *Clin Infect Dis* 2009; 49:1591–1601.
21. Bonnet E, Delpierre C, Sommet A, et al. Total body composition by DXA of 241 HIV-negative men and 162 HIV-infected men: proposal of reference values for defining lipodystrophy. *J Clin Densitom* 2005; 8:287–292.
22. Degra E, Delpierre C, Sommet A, et al. Longitudinal study of body composition of 101 HIV men with lipodystrophy: dual-energy X-ray criteria for lipodystrophy evolution. *J Clin Densitom* 2010; 13:237–244.
23. Kelly TL, Wilson KE, Heymsfield SB. Dual energy X-Ray absorptiometry body composition reference values from NHANES. *PLoS ONE* 2009; 4:e7038.
24. McCormsey G, Kitch D, Daar E, et al. Bone and limb fat outcomes of ACTG A5224a, a Substudy of ACTG A5202: a prospective, randomized, partially blinded Phase III trial of ABC/3TC or TDF/FTC with EFV or ATV/r for initial treatment of HIV-1 infection. *17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*, 16–19 February 2010, San Francisco CA, USA. Abstract 106LB.
25. Stellbrink HJ, Orkin C, Arribas JR, et al. Comparison of changes in bone density and turnover with abacavir-lamivudine versus tenofovir-emtricitabine in HIV-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. *Clin Infect Dis* 2010; 51:963–972.
26. van der Valk M, Casula M, Weverling GJ, et al. Prevalence of lipodystrophy and mitochondrial DNA content of blood and subcutaneous fat in HIV-1-infected patients randomly allocated to zidovudine- or stavudine-based therapy. *Antivir Ther* 2004; 9:385–393.
27. McCormsey GA, Paulsen DM, Lonergan JT, et al. Improvements in lipodystrophy, mitochondrial DNA levels and fat apoptosis after replacing stavudine with abacavir or zidovudine. *AIDS* 2005; 19:15–23.
28. Martínez E, Arranz JA, Podzamczak D, et al. A simplification trial switching from nucleoside reverse transcriptase inhibitors to once-daily fixed-dose abacavir/lamivudine or tenofovir/emtricitabine in HIV-1-infected patients with virological suppression. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51:290–297.
29. Martínez E, Larrousse M, Podzamczak D, et al. Objective amount of limb fat in HIV-infected subjects with subjective diagnosis of lipodystrophy. *HIV Med* 2009; 10:257–261.
30. Côté HC, Beumme ZI, Craib KJ, et al. Changes In Mitochondrial DNA as a Marker Of Nucleoside Toxicity In HIV-Infected Patients. *N Engl J Med* 2002; 346:811–820.
31. Hoy JF, Gahan ME, Carr A, et al. Changes in Mitochondrial DNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells from HIV-Infected Patients with Lipodystrophy Randomized to Receive Abacavir. *J Infect Dis* 2004; 190:688–692.
32. Ananworanich J, Nuesch R, Côté HC, et al. Changes in metabolic toxicity after switching from stavudine/didanosine to tenofovir/lamivudine -a Staccato trial substudy. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:1340–1343.
33. Maagaard A, Holberg-Petersen M, Kollberg G, et al. Mitochondrial (mt)DNA changes in tissue may not be reflected by depletion of mtDNA in peripheral blood mononuclear cells in HIV-infected patients. *Antivir Ther* 2006; 11:601–608.
34. Madruga JR, Casetti I, Suleiman JM, et al. The Safety and Efficacy of Switching Stavudine to Tenofovir DF in Combination with Lamivudine and Efavirenz in HIV-1-Infected Patients: Three-Year Follow-up After Switching Therapy. *HIV Clin Trials* 2007; 8:381–390.

Accepted 3 September 2011; published online 28 February 2012

6.2 SPIRAL-LIP

Adrian Curran, Esteban Martinez, Maria Saumoy, Luis del Rio, Manuel Crespo, Maria Larrousse, Daniel Podzamczar, Joaquin Burgos, Montse Lonca, Pere Domingo, Jose Maria Gatell and Esteban Ribera.

Body composition changes after switching from protease inhibitors to raltegravir: SPIRAL-LIP substudy.

AIDS. 2012; 26 (4): 475-81. PMID: 22112606

Resumen:

Objetivo: Comparar los cambios en la distribución de la grasa corporal y la densidad mineral ósea (DMO) tras 48 semanas, entre pacientes con supresión virológica que cambian de un régimen basado en un inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir (IP/r) a raltegravir (RAL) y pacientes que continúan con el IP/r.

Diseño: Sub-estudio prospectivo, aleatorizado, abierto, multicéntrico del estudio SPIRAL.

Métodos: Los pacientes fueron aleatorizados (1:1) a continuar con el régimen basado en IP/r o cambiar a RAL, manteniendo el resto del tratamiento. Se realizaron una DXA y una TC basalmente y tras 48 semanas para medir la grasa corporal y la composición ósea, analizando las diferencias intragrupo e intergrupo.

Resultados: Se incluyeron 86 pacientes y 74 pacientes (39 RAL, 35 IP/r) completaron el sub-estudio. Se observaron aumentos significativos en la mediana (IQR) de tejido adiposo visceral (VAT) [20.7 (-2.4 a 45.6) cm², p=0.002] y de tejido adiposo total (TAT) [21.4 (-1.3 a 55.4) cm², p=0.013] en el grupo de IP/r tras 48 semanas. No se observaron cambios significativos en la grasa corporal con RAL o entre grupos. Respecto a la composición ósea, la DMO total [0.01 (0 a 0.02) g/cm², p=0.002], la DMO de cadera total [0.01 (0 a 0.03) g/cm², p= 0.015] y el T-score de cadera total [0.12 (-0.05 a 0.21) SD, p=0.004] aumentaron significativamente con RAL, sin diferencias significativas dentro del grupo de IP/r. Las diferencias entre ramas de tratamiento fueron significativas en la DMO del cuello femoral [0.01 (-0.02 a 0.02) g/cm², p=0.032] y el T-score del cuello femoral [0.01 (-0.18 a 0.18) SD, p=0.016].

Conclusiones: Aunque no se observaron diferencias significativas entre grupos respecto a la grasa corporal, mantener el régimen basado en IP/r se asoció con un aumento significativo de VAT y TAT. Cambiar a RAL en pacientes con supresión virológica conllevó aumentos significativos en la DMO del cuello femoral al comparar ambas ramas de tratamiento.

Body composition changes after switching from protease inhibitors to raltegravir: SPIRAL-LIP substudy

Adrian Curran^a, Esteban Martinez^b, Maria Saumoy^c, Luis del Rio^d,
Manuel Crespo^a, Maria Larrousse^b, Daniel Podzamczec^c,
Joaquin Burgos^a, Montse Lonca^b, Pere Domingo^c,
Jose Maria Gatell^b and Esteban Ribera^a

Objective: To compare 48-week changes in body fat distribution and bone mineral density (BMD) between patients switching from a ritonavir-boosted protease inhibitor (PI/r) to raltegravir (RAL) and patients continuing with PI/r.

Design: Substudy of the prospective, randomized, open-label, multicenter SPIRAL study.

Methods: Patients were randomized (1:1) to continue with the PI/r-based regimen or switch to RAL, maintaining the rest of the treatment unchanged. Dual-energy X-ray absorptiometry and computed tomography scans were performed at baseline and after 48 weeks to measure body fat and bone composition, analyzing intragroup and intergroup differences.

Results: Eighty-six patients were included and 74 patients (39 RAL, 35 PI/r) completed the substudy. Significant increases in median [interquartile range (IQR)] visceral adipose tissue (VAT) [20.7 (-2.4 to 45.6) cm², $P=0.002$] and total adipose tissue (TAT) [21.4 (-1.3 to 55.4) cm², $P=0.013$] were seen within the PI/r group. No significant changes in body fat were seen with RAL or between treatment groups. Regarding bone composition, total BMD [0.01 (0 to 0.02) g/cm², $P=0.002$], total hip BMD [0.01 (0 to 0.03) g/cm², $P=0.015$] and total hip T score [0.12 (-0.05 to 0.21) SD, $P=0.004$] significantly increased with RAL, with no significant changes within the PI/r group. Differences between treatment groups were significant in femoral neck BMD [0.01 (-0.02 to 0.02) g/cm², $P=0.032$] and T score [0.01 (-0.18 to 0.18) SD, $P=0.016$].

Conclusion: Although there were no significant changes in body fat between groups, maintaining a PI/r-based regimen was associated with a significant increase in VAT and TAT. Switching to RAL led to a significant increase in femoral neck BMD when comparing between groups. © 2012 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2012, **26**:475–481

Keywords: DXA, lipodystrophy, raltegravir, ritonavir-boosted protease inhibitor, treatment switch

^aHospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Infectious Diseases Department, ^bHospital Clinic i Provincial, Infectious Diseases Department, ^cHospital Universitari de Bellvitge, HIV Unit, Infectious Diseases Department, L'Hospitalet de Llobregat, ^dCETIR, Nuclear Medicine Department, and ^eHospital Universitari Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, Infectious Diseases Department, Barcelona, Spain.

Correspondence to Adrian Curran, MD, Infectious Diseases Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Passeig Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain.

Tel: +34 93274 6090; fax: +34 9348 94091; e-mail: acurran@vhebron.net

Received: 27 September 2011; revised: 9 November 2011; accepted: 14 November 2011.

DOI:10.1097/QAD.0b013e32834f3507

Introduction

Antiretroviral therapy (ART) has changed the evolution of HIV infection, decreasing overall and, particularly, AIDS-related morbidity and mortality. However, it has some drawbacks. One of the most feared adverse effects of ART is lipodystrophy, a body fat distribution alteration that includes lipoatrophy (fat loss in face, limbs and buttocks) and lipohypertrophy (fat accumulation in breasts, visceral and dorsocervical regions). It has been postulated that lipoatrophy and lipohypertrophy are two separate conditions with different risk factors [1,2]. Lipoatrophy has been related mainly to the duration of exposure to thymidine analogs (zidovudine and stavudine) [3–5], whereas lipohypertrophy pathogenesis is not so clearly established, although at least some protease inhibitors have been involved in its apparition [6]. Some studies have shown differences in visceral adipose tissue (VAT) in naive patients after starting different ritonavir-boosted protease inhibitor (PI/r)-based ART [7] and also after switching from one PI/r to another [8]. Other studies have compared body fat changes with PI/r versus non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), with discordant results [9–11].

Raltegravir (RAL) is the first integrase inhibitor clinically available in the ART armamentarium. RAL has shown a better lipid profile than efavirenz in naive patients in the STARTMRK trial [12], and switching from PI/r to RAL also has led to decreases in plasma lipids [13,14]. Regarding body fat distribution, the only available information is from the aforementioned STARTMRK study, in which RAL and efavirenz showed comparable fat gain at 96 weeks, both in trunk and arms [12]. There is no body composition data for RAL in patients with suppressed HIV infection or published studies comparing RAL with PI/r.

Decreased bone mineral density (BMD) is another growing concern for HIV-infected patients. The incidence of osteopenia/osteoporosis and bone fractures is higher in these patients compared to the general population [15,16]. Although HIV patients frequently have more classical risk factors for low BMD (e.g. low body mass index, smoking, sedentary lifestyle), both HIV infection and ART may also play a potential role. Tenofovir (TDF) has been associated with increased BMD loss in some studies [11,17] and there are conflicting data about decreased BMD and PI/r exposure [18–20]. There are no published data, to our knowledge, for RAL and BMD.

The aim of this study was to evaluate 48-week changes in body fat distribution and bone composition after switching from a PI/r to RAL compared to maintaining the PI/r.

Methods

Design

The SPIRAL trial (clinicaltrials.gov NCT00528892) is a prospective, randomized, open-label, multicenter study in which patients with suppressed HIV-1 infection on a PI/r regimen were randomized (1:1) to continue with the same treatment or change the PI/r to RAL 400 mg b.i.d., without modifying the rest of the ART. The details of the global study are described elsewhere [14].

The SPIRAL-LIP substudy was planned prior to the initiation of the SPIRAL study. Patients were enrolled consecutively from three sites in Barcelona, Spain, between June and December 2008. The primary endpoint was absolute change in VAT area. Secondary endpoints were changes in limb fat, trunk fat, total fat, total adipose tissue (TAT) area, subcutaneous adipose tissue (SAT) area and SAT/VAT ratios in body fat composition and changes in BMD and T scores in total body, spine (L1–L4) and hip (femoral neck and total hip) in bone composition.

The protocol was approved by the Ethics Committee at each participating site and a specific written informed consent for the substudy was obtained from all patients.

Procedures

At baseline and at week 48 whole body, lumbar and hip dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) scans (Lunar DPXL, Madison, Wisconsin, USA) were performed to assess body fat and bone composition. At the same time points, a computed tomography (CT) scan of the abdomen (single cut at L4, 5 mm thick) was performed to assess VAT, SAT and TAT areas. Tissue areas (cm²) were calculated by summing specific tissue pixels and then multiplying by individual pixel surface area. The DXA and CT scans were performed in a single center following a standardized protocol and read by a single radiologist unaware of the patient's ART. The results of the DXA and CT scans were given to the physicians in care of the patients after the study was ended, so no specific actions were immediately derived from the results of the scans. No specific dietary supplementation was given to the patients.

Statistical analysis

A sample size of 74 evaluable patients was considered necessary to detect a difference of 7.6 cm² in VAT (according to findings from ACTG 5224 study [11]) with an 80% power and a significance level- α of 0.05 using a two-sided test.

For quantitative variables, medians and interquartile ranges (IQRs) (25th–75th percentiles) were used as measures of central tendency and dispersion. The number of patients in each category and the corresponding

percentages were given for qualitative variables. The changes from baseline were compared with the Wilcoxon's signed-rank and the McNemar tests for quantitative variables and the chi-squared test for qualitative variables, with the continuity correction for the chi-square when a subgroup included five or fewer patients. Comparisons between quantitative nonpaired variables were performed with the Mann-Whitney *U* test. Correlations were analyzed by Spearman's rank test. All statistical tests were two-tailed and were performed at a level of statistical significance of 0.05. SPSS 15.0 software for Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) was used for statistical analyses.

Results

Population

Eighty-six patients were included in the study. Twelve patients (7 in the PI/r arm and 5 in the RAL arm) did not complete the substudy; 1 was lost to follow-up and 11 patients did not have the DXA and CT scans performed at 48 weeks. There were no significant differences in baseline characteristics between patients who did and did not complete 48 weeks of follow-up and losses were balanced between treatment arms. Finally, 74 patients

with 48 weeks data were analyzed. Of them, 39 had been randomized to switch to RAL and 35 to continue with the PI/r. Patient's baseline characteristics are described in Table 1. There were no significant differences in baseline characteristics between groups.

Body fat distribution

Body fat changes after 48 weeks are described in Table 2. No significant differences were seen within or between groups in weight or BMI (data not shown).

In the CT scans, a significant increase within the PI/r group was seen in median (IQR) VAT [20.7 (-2.4 to 45.6) cm², *P*=0.002] and TAT [21.4 (-1.3 to 55.4) cm², *P*=0.013], whereas no significant differences were seen within the RAL group [VAT 10.9 (-14.4 to 27.3) cm², *P*=0.083; TAT 3.4 (-42.2 to 36.0) cm², *P*=0.983] or between treatment arms (*P*=0.333 for VAT and *P*=0.107 for TAT). No significant differences were seen in SAT or SAT/VAT ratios within or between treatment groups (Table 2).

Regarding the DXA scans, there were small increases in limb fat with both regimens, whereas in trunk and total fat there was a nearly significant increase with PI/r (trunk fat 382 g, *P*=0.077; total fat 307 g, *P*=0.061) and a

Table 1. Baseline characteristics.

	Global (n=74)	PI/r (n=35)	RAL (n=39)
Age (years)	46 (41-52)	46 (41-53)	45 (41-50)
Sex, male	55 (74)	24 (69)	31 (80)
HIV infection (years)	13 (7-17)	12 (6-16)	13 (9-18)
Risk factor			
Homosexual	22 (30)	10 (29)	12 (31)
Heterosexual	28 (38)	16 (46)	12 (31)
Intravenous drug user	16 (22)	7 (20)	9 (23)
Hemophilia/blood transfusion	1 (1)	0	1 (3)
Others/unknown	7 (9)	2 (6)	5 (13)
HCV infection, positive	17 (23)	6 (17)	11 (28)
CDC stage			
A	39 (53)	20 (57)	19 (49)
B	7 (9)	5 (14)	2 (5)
C	28 (38)	10 (29)	18 (46)
Weight (kg)	68.8 (57.8-77.3)	68.5 (58.5-73.0)	70.0 (57.0-80.0)
BMI (kg/m ²)	23.5 (21.7-26.2)	23.6 (21.6-25.3)	23.4 (21.7-27.9)
NRTI			
TDF	48 (65)	24 (69)	24 (62)
ABC	21 (28)	8 (23)	13 (33)
ZDV	7 (9)	6 (17)	1 (3)
ddI	7 (9)	5 (14)	2 (5)
d4T	1 (1)	0 (0)	1 (3)
3TC/FTC	57 (77)	26 (74)	31 (79)
Previous PI/r			
ATV	32 (43)	12 (34)	20 (51)
FPV	1 (1)	0 (0)	1 (3)
LPV	33 (45)	16 (46)	17 (43)
SQV	8 (11)	7 (20)	1 (3)
Time on previous PI/r, months	32 (21-48.0)	30 (19-41)	35.7 (21.6-49.1)

P nonsignificant for all values. Results are expressed as median (interquartile range) or *n* (%). 3TC/FTC, lamivudine/emtricitabine; ABC, abacavir; ATV, atazanavir; ZDV, zidovudine; BMI, body mass index; d4T, stavudine; ddI, didanosine; FPV, fosamprenavir; HCV, hepatitis C virus; LPV, lopinavir; NRTI, nucleoside reverse transcriptase inhibitor; PI/r, ritonavir-boosted protease inhibitor; RAL, raltegravir; SQV, saquinavir; TDF, tenofovir disoproxil fumarate.

Table 2. Changes in body fat after 48 weeks.

	Baseline value, median (IQR)		PI/r		RAL		Difference (IQR)		P
	Change from baseline to week 48		Difference		Difference		PI/r vs. RAL		
	PI/r	RAL	Difference	P	Difference	P	Difference	P	
CT scan									
TAT (cm ²)	200.3 (185.7 to 215.9)	234.9 (189.1 to 405.5)	21.4 (-1.3 to 55.4)	0.013	3.7 (-42.2 to 56.0)	0.903	10.9 (-22.8 to 44.8)	0.107	
SAT (cm ²)	161.5 (136.0 to 200.5)	165.8 (109.4 to 283.0)	5.1 (-15.7 to 24.9)	0.433	-3.2 (-22.1 to 12.0)	0.396	2.1 (-18.0 to 18.5)	0.256	
VAT (%)	-	-	3.6 (-7.2 to 15.4)	-	-1.9 (-11.2 to 10.1)	-	-1.1 (-4.1 to 1.9)	0.496	
TAT (cm ²)	92.6 (64.8 to 144.4)	91.7 (61.1 to 145.9)	20.2 (-2.4 to 45.6)	0.002	10.9 (-14.4 to 27.2)	0.081	11.4 (-9.5 to 38.3)	0.333	
VAT (%)	-	-	11.9 (-2.8 to 39.2)	-	12.8 (-14.3 to 40.2)	-	1.6 (-3.4 to 4.5)	0.926	
SAT/VAT	2.0 (0.9 to 3.3)	2.2 (1.4 to 3.5)	-0.11 (-0.32 to 0.13)	0.272	-0.23 (-0.29 to 0.30)	0.060	-0.15 (-0.56 to 0.13)	0.273	
DXA scan									
Limb fat (g)	5973 (2534 to 7811)	5579 (4624 to 9006)	171 (-340 to 607)	0.189	32 (-427 to 865)	0.350	85 (-383 to 793)	0.294	
Trunk fat (g)	9683 (6713 to 13192)	9231 (6325 to 14423)	382 (-438 to 1357)	0.077	-28 (-1154 to 1790)	0.321	323 (-988 to 1760)	0.729	
Total fat (g)	16008 (11323 to 21072)	16309 (9727 to 24140)	307 (-894 to 1962)	0.061	-389 (-1475 to 715)	0.308	293 (-1304 to 2816)	0.628	
Fat mass ratio	1.3 (1.1 to 2.4)	1.4 (1.1 to 2.4)	-0.01 (-0.07 to 0.12)	0.457	-0.02 (-0.17 to 0.07)	0.482	-0.01 (-0.11 to 0.10)	0.264	
Limb/trunk ratio	0.6 (0.3 to 0.7)	0.6 (0.4 to 0.8)	-0.02 (-0.05 to 0.04)	0.369	0 (-0.05 to 0.05)	0.879	-0.01 (-0.05 to 0.03)	0.738	

Results are expressed as median (interquartile range). There were no significant differences in baseline characteristics between treatment groups. CT, computed tomography; DXA, dual X-ray absorptiometry; g, grams; IQR, interquartile range; SAT, subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue.

nonsignificant decrease with RAL (Table 2). None of the changes reached significance within or between groups.

There were no significant differences in body fat composition depending on the NRTI backbone used in the current treatment (data not shown).

Bone mineral density

There were no significant changes in BMD or T scores in any location with PI/r after 48 weeks. On the contrary, total BMD [0.01 (0 to 0.02) g/cm², P=0.002] and total hip BMD [0.01 (0 to 0.03) g/cm², P=0.015] increased significantly within the RAL group, as did the total hip T score [0.12 (-0.05 to 0.21) SD, P=0.004]. T scores in femoral neck and spine (L1-L4) had a nearly significant increase with RAL (Table 3). When we compared both treatment arms, there were significant differences favoring RAL in femoral neck BMD and T scores (Table 3), without differences in the other locations.

There were no significant differences in BMD or T scores in either group depending on TDF use (data not shown).

There was no correlation between changes in body fat (by CT or DXA) and changes in BMD or T scores in any location (data not shown).

Discussion

With current ART, sustained virological control is a feasible therapeutic goal, and physicians treating HIV-infected patients aim for treatments with small long-term toxicity. Nowadays, two of the main concerns regarding side effects, especially in our growing old population, are body fat (with its metabolic implications) and bone abnormalities.

Patients included in this substudy had relatively normal parameters of body fat composition, despite a median of 13 years of HIV infection and a median of 32 months of protease inhibitor use. They were not lipodystrophic, with a fat mass ratio under 1.5 [21] and nearly 6 kg of limb fat [22].

One of the most striking results is that despite long-term protease inhibitor use (median 32 months), patients continuing the same PI/r had a significant increase in VAT and TAT after 48 weeks, suggesting that fat changes probably continue over time with PI/r. The fact that there were no significant changes in limb fat according to DXA scans is not surprising because subcutaneous fat changes are related to the NRTI used and patients did not change their NRTI backbones. There were no significant changes in trunk and total fat in the PI/r arm by DXA scans, but the direction of these changes was in accordance with that seen by CT scans. Increases in

Table 3. Changes in bone composition after 48 weeks.

Variable	Change from baseline to week 48			
	Baseline value, median (IQR)		Difference (95% CI)	
	PI/r	RAL	PI/r	RAL
DXA scan				
Total BMD (g/cm ²)	1.12 (1.07 to 1.18)	1.13 (1.06 to 1.18)	0.379	0.01 (0 to 0.02)
Femoral neck BMD (g/cm ²)	0.93 (0.88 to 1.01)	0.89 (0.81 to 0.99)	0.085	0.199
Femoral neck T score, SD	-0.73 (-1.67 to -0.38)	-1.17 (-1.97 to -0.59)	0.080	0.078
Total hip BMD (g/cm ²)	0.95 (0.89 to 1.04)	0.91 (0.83 to 1.00)	0.166	0.015
Total hip T score, SD	-0.69 (-1.45 to -0.38)	-1.07 (-1.82 to -0.59)	0.112	0.004
L1-L4 BMD (g/cm ²)	1.11 (1.00 to 1.24)	1.07 (0.96 to 1.17)	0.118	0.202
L1-L4 T score, SD	-0.93 (-1.70 to -0.01)	-1.34 (-2.30 to -0.50)	0.170	0.038

Results are expressed as median (interquartile range). There were no significant differences in baseline characteristics between treatment groups. BMD, bone mineral density; DGA, dual X-ray absorptiometry; g, grams; IQR, interquartile range (25th–75th percentile); PI/r, protease-inhibitor; RAL, raltegravir.

trunk fat have been described with first-generation protease inhibitors [23] and with contemporary protease inhibitors in both naïve [7,11,24] and experienced [8] patients, suggesting a class effect of protease inhibitors on increasing abdominal fat. However, many of these studies used DXA scans and not CT scans, which does not allow to differentiate between SAT and VAT. Increases in VAT are less desirable, as they have been related to increased metabolic risk [25]. In our study, RAL showed a more neutral effect on body fat, in accordance with two recent in-vitro studies [26,27].

To our knowledge our study provides the first published data about the effects of RAL on bone composition. Patients switching from PI/r to RAL showed improvements in practically all locations. These improvements were significant in total BMD and in total hip (BMD and T score) within the RAL group and differences were significant favoring RAL in femoral neck (BMD and T score) when compared to the PI/r group. These data suggest a positive effect of RAL on bone. In accordance with our results, recently presented data from a randomized clinical trial in naïve patients also suggest a positive effect on BMD of RAL and LPV/r compared to TDF/emtricitabine and LPV/r [28]. As said before, there are conflicting data on the effect of PI/r on the bone [11,18–20]. Protease inhibitors might be involved in bone metabolism by increasing osteoclast differentiation [29] and altering vitamin D metabolism [30]. In our study, the fact that there was no significant negative effect on bone in any location within the PI/r arm could mean that either PI/r do not exert a negative effect on bone or that after more than 2 years of PI/r treatment, a plateau phase has been achieved. This plateau has been seen in prior studies with NRTIs, in which important bone loss was seen in the first year and stabilized thereafter [4,11]. This could also explain the lack of differences between patients receiving or not receiving TDF. However, the fact that there was an improvement in BMD after switching from PI/r to RAL supports that long-term PI/r-based ART still had a negative effect on bone that was evident after switching to RAL.

In a recent work by Mamputu et al. [31], an increase in bone turnover markers was seen after the administration of tesamorelin (a growth hormone-releasing factor analog) to patients with excessive abdominal fat. We analyzed if there was a correlation between the relatively neutral effect of RAL on VAT and the improvement in BMD and we found no association. However, we did not measure growth hormone levels or bone turnover markers in our study.

Our study has several limitations. One is the relative low number of patients included, which limits the statistical power when analyzing subgroups. Twelve patients did not complete the follow-up, but losses were well balanced between groups. Changes in body composition may have

been influenced by other factors not included in the analysis, such as antiretroviral drugs received in the past other than treatment at randomization. Patients had been on PI/r-based ART for years suggesting that they had not experienced serious side effects, including body composition abnormalities, associated with that therapy. This could entail a selection bias, although it is minimized by the randomized design of the trial. Furthermore, differences observed between treatment arms in our study could have been even greater in naïve patients.

In conclusion, switching from a PI/r to RAL showed improvements in bone composition, especially in femoral neck, whereas maintaining the PI/r showed an increase in VAT and TAT. Although these findings should be confirmed with larger studies with longer follow-up, RAL might be considered as a well tolerated treatment option in certain patients, especially in the HIV-infected aging population, because of its already known lipid effects and now because of its potential beneficial bone effects.

Acknowledgements

We thank Anna Sala for her critical reading of the manuscript and Anthony Curran for English language editing.

A.C., E.M., J.M.G. and E.R. conceived the study, participated in its design, coordination, data analysis and drafted the manuscript. L.dR. performed and analyzed DXA and CT scans. M.C., M.S., M.L., D.P., J.B., M.L. and P.D. recruited patients, carried out the study protocol and supervised data integrity and analysis.

Sources of support: Supported in part by research grants from Merck Sharp & Dohme, and Red Temática Cooperativa de Investigación en SIDA (RIS G03/173), Ministerio de Ciencia e Innovación (Spain).

Conflicts of interest

A.C. has received honoraria, speakers' fees, and/or funds for research from Bristol-Myers-Squibb, Abbott, Boehringer Ingelheim, Gilead, Janssen-Cilag, MSD, ViiV, Roche Farma and GlaxoSmithKline. E.M. has received honoraria, speakers' fees, consultant fees, and/or funds for research from Abbott, Boehringer-Ingelheim, Bristol-Myers-Squibb, Gilead Sciences, GSK, MSD, Theratechnologies, Tibotec, and ViiV Healthcare. D.P. has received research grants and/or honoraria for advisories and/or conferences from Boehringer Ingelheim, GSK, ViiV, Pfizer, BMS, Abbott, Gilead, Janssen and Merck. M.S., M.C., M.L., J.B., L.dR. and M.L. have no conflict of interests. P.D. has received honoraria, speakers' fees, and/or funds for research from Bristol-Myers-Squibb, Abbott, Boehringer Ingelheim, Gilead, Janssen-Cilag, MSD, ViiV, Roche Farma and GlaxoSmithKline. J.M.G. has received

honoraria, speakers' fees, consultant fees, and/or funds for research from Abbott, Boehringer-Ingelheim, Bristol-Myers-Squibb, Gilead Sciences, GlaxoSmithKline, Merck Sharp & Dohme, Pfizer, Theratechnologies, Tibotec, and ViiV Healthcare. E.R. has received honoraria, speakers' fees, consultant fees, and/or funds for research from Bristol-Myers-Squibb, Abbott, Boehringer Ingelheim, Gilead, Janssen-Cilag, MSD, Pfizer, ViiV, Roche Farma, Schering Plough and GlaxoSmithKline.

References

- Jacobson DL, Knox T, Spiegelman D, Skinner S, Gorbach S, Wanke C. Prevalence of, evolution of, and risk factors for fat atrophy and fat deposition in a cohort of HIV-infected men and women. *Clin Infect Dis* 2005; **40**:1837-1845.
- Mulligan K, Parker RA, Komarow L, Grimspoon SK, Tebas P, Ruktans GK, et al. Mixed patterns of changes in central and peripheral fat following initiation of antiretroviral therapy in a randomized trial. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; **41**:590-597.
- Mallal SA, John M, Moore CB, James IR, McKinnon EJ. Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection. *AIDS* 2000; **14**:1309-1316.
- Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL, DeJesus E, Suleiman JM, Miller MD, et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs. stavudine in combination therapy in antiretroviral-naïve patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2006; **292**:191-201.
- Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, Pozniak AL, Gazzard B, Campo RL, et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006; **354**:251-260.
- Flint O, Noor M, Hruz P, Hylemon PB, Yarasheski K, Kotler DP, et al. The role of protease inhibitors in the pathogenesis of HIV-associated lipodystrophy: cellular mechanisms and clinical implications. *Toxicol Pathol* 2009; **37**:65-77.
- Moyle G, Yang R, Witz V, Farajallah A, Mancini M, DeGrosky M, et al. Body composition changes in treatment-naïve patients treated with boosted PI plus TDF/FTC: results from the CASTLE study through 96 weeks [Abstract]. *HIV Med* 2009; **10** (Suppl 2):31.
- Ferre E, Rio LD, Martínez E, Curto J, Domingo P, Ribera E, et al. Impact of switching from lopinavir/ritonavir to atazanavir/ritonavir on body fat redistribution in virologically suppressed HIV-infected adults. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011 [Epub ahead of print].
- Dubé MP, Komarow L, Mulligan K, Grimspoon SK, Parker RA, Robbins GK, et al. Long-term body fat outcomes in antiretroviral-naïve participants randomized to nevirapine or efavirenz both plus dual nucleosides. Dual X-ray absorptiometry results from A5005 s, a substudy of Adult Clinical Trials Group 384. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; **45**:508-514.
- Haubrich R, Riddler S, DiRienzo A, Komarow L, Powderly WG, Klingman K, et al. Metabolic outcomes in a randomized trial of nucleoside, nonnucleoside and protease inhibitor-sparing regimens for initial HIV treatment. *AIDS* 2009; **23**:1109-1118.
- McCormsey G, Kitch D, Sax P, Tebas P, Tierney C, Jabbod N, et al. Peripheral and central fat changes in subjects randomized to abacavir-lamivudine or tenofovir-emtricitabine with atazanavir-ritonavir or efavirenz: ACTG Study A5224 s. *Clin Infect Dis* 2011; **53**:185-196.
- Lennox JL, DeJesus E, Berger DS, Lazzarin A, Pollard RB, Ramalho Madruga JV, et al. Raltegravir versus efavirenz regimens in treatment-naïve HIV-1-infected patients: 96-week efficacy, durability, subgroup, safety, and metabolic analyses. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; **55**:39-48.
- Eron JJ, Young B, Cooper DA, Youle M, DeJesus E, Andrade-Villanueva J, et al. Switch to a raltegravir-based regimen versus continuation of a lopinavir-ritonavir-based regimen in stable HIV-infected patients with suppressed viraemia (SWITCHMRK 1 and 2): two multicentre, double-blind, randomised controlled trials. *Lancet* 2010; **375**:396-407.

14. Martínez E, Larrousse M, Llibre JM, Gutiérrez F, Saumoy M, Antela A, et al. Substitution of raltegravir for ritonavir-boosted protease inhibitors in HIV-infected patients: the SPIRAL study. *AIDS* 2010; **24**:1697-1707.
15. Brown TT, Qaqish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *AIDS* 2006; **20**:2165-2174.
16. Triant VA, Brown TT, Lee H, Grinspoon SK. Fracture prevalence among human immunodeficiency virus (HIV)-infected versus non-HIV-infected patients in a large U.S. healthcare system. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; **93**:3499-3504.
17. Stellbrink HJ, Orkin C, Aribas JR, Compston J, Gerstoft J, van Wijngaerden E, et al. Comparison of changes in bone density and turnover with abacavir-lamivudine versus tenofovir-emtricitabine in HIV-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. *Clin Infect Dis* 2010; **51**:963-972.
18. Duvivier C, Kolla S, Assoumou L, Chou J, Rozenberg S, Murphy RL, et al. Greater decrease in bone mineral density with protease inhibitor regimens compared with nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor regimens in HIV-1 infected naive patients. *AIDS* 2009; **23**:817-824.
19. Bonjoch A, Figueras M, Estany C, Perez-Alvarez N, Rosales J, del Rio L, et al. High prevalence of and progression to low bone mineral density in HIV-infected patients: a longitudinal cohort study. *AIDS* 2010; **24**:2827-2833.
20. Brown TT, McComsey GA, King MS, Qaqish RB, Bernstein BM, da Silva BA. Loss of bone mineral density after antiretroviral therapy initiation, independent of antiretroviral regimen. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; **51**:554-561.
21. Bonnet E, Delpeche C, Sommet A, Marion-Latard F, Hervé R, Aquilina C, et al. Total body composition by DXA of 241 HIV-negative men and 162 HIV-infected men: proposal of reference values for defining lipodystrophy. *J Clin Densitom* 2005; **8**:287-292.
22. Martínez E, Larrousse M, Podzamczak D, Gatell JM. Objective amount of limb fat in HIV-infected subjects with subjective diagnosis of lipodystrophy. *HIV Med* 2009; **10**:257-261.
23. Miller KD, Jones E, Yanovski JA, Shankar R, Fejerman I, Fallon J. Visceral abdominal-fat accumulation associated with use of indinavir. *Lancet* 1990; **351**:871-875.
24. Wolh D, DeJesus E, Sloan I, Sension M, Liao Q, Oie K, et al. Limb and trunk fat changes by total body DEXA after 96 weeks of treatment with once-daily (QD) fosamprenavir boosted with either 100 mg or 200 mg of ritonavir (r) plus abacavir (ABC)/ lamivudine (3TC): COL100758 [Abstract]. 48th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington DC, USA; October 2008.
25. Villanoya F, Domingo P, Giralt M. Drug-induced lipotoxicity: lipodystrophy associated with HIV-1 infection and antiretroviral treatment. *Biochim Biophys Acta* 2010; **1801**:392-399.
26. Minami R, Yamamoto M, Takahama S, Ando H, Miyamura T, Suematsu E. Comparison of the influence of four classes of HIV antiretrovirals on adipogenic differentiation: the minimal effect of raltegravir and atazanavir. *J Infect Chemother* 2011; **17**:183-186.
27. Pérez-Masadeu P, Pérez-Martínez L, Blanco JR, Oteo JA. Neutral actions of raltegravir on adipogenesis, glucose metabolism and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *Curr HIV Res* 2011; **9**:174-179.
28. Qaqish R, Trinh R, Tian M, Fredrick L, Podszadecki T, Norton M, et al. Bone mineral density analysis in antiretroviral-naïve patients taking lopinavir/ritonavir combined with raltegravir or tenofovir/emtricitabine for 96 weeks in the PROGRESS Study [Abstract]. 13th International Workshop on Adverse Drug Reactions and Co-Morbidities in HIV. Rome, Italy, July 2011.
29. Modarres R, Xiang Z, Yin M, Laurence J. WNT/beta-catenin signalling is involved in regulation of osteoclast differentiation by human immunodeficiency virus protease inhibitor ritonavir: relationship to human immunodeficiency virus-linked bone mineral loss. *Am J Pathol* 2009; **174**:123-135.
30. Cozzolino M, Vidal M, Arcidiacono MV, Tebas P, Yarasheski KE, Dusso AS. HIV-protease inhibitors impair vitamin D bioactivation to 1,25-dihydroxyvitamin D. *AIDS* 2003; **17**:513-520.
31. Mampuru JC, Souhban G, Falutz J, Pham MH, Marsolais C, Assaad H, et al. Effects of tesamorelin, a growth hormone-releasing factor (GRF) analogue, on bone turnover markers in HIV-infected patients with excess abdominal fat [Abstract]. 18th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections. Boston MA, USA, March 2011; **25**:1281-1288.

6.3 Artículo de Revisión

Curran A, Ribera E.

From old to new nucleoside reverse transcriptase inhibitors: changes in body fat composition, metabolic parameters and mitochondrial toxicity after the switch from thymidine analogs to tenofovir or abacavir.

Expert Opin Drug Saf. 2011; 10 (3): 389-406. PMID: 21235431

Resumen:

Introducción: Los análogos de timidina zidovudina (AZT) y estavudina (d4T) han sido muy utilizados por su gran actividad antiviral frente al VIH, pero a expensas de una alta toxicidad, especialmente debida a daño mitocondrial. Se han realizado múltiples estudios sustituyendo AZT o d4T por nuevos inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótidos (ITIAN) con menor toxicidad, como tenofovir (TDF) o abacavir (ABC), manteniendo la eficacia virológica.

Áreas revisadas: a través de una búsqueda utilizando PubMed se identificaron los artículos relevantes publicados hasta Junio 2010. La búsqueda incluyó los siguientes términos: 'thymidine analogs', 'stavudine', 'zidovudine', 'd4T', 'AZT', 'ZDV', 'treatment switch'. Los artículos originales en los que d4T o AZT se habían cambiado por TDF o ABC como estrategias de simplificación (con supresión virológica) fueron revisados para obtener toda la información disponible sobre distribución de grasa, contenido o funcionalidad mitocondrial y/o parámetros lipídicos. Las referencias bibliográficas relevantes de dichos artículos también fueron consideradas. Sólo se incluyeron estudios realizados en pacientes adultos (edad igual o superior a 18 años). Los lectores de esta revisión obtendrán un mayor conocimiento de la toxicidad secundaria a los análogos de timidina, las alternativas terapéuticas y los beneficios observados tras el cambio a ITIAN más nuevos.

Opinión del Experto: Los análogos de timidina AZT y d4T tienen una toxicidad considerable y el cambio pro-activo a ITIAN más nuevos y menos tóxicos, como TDF o ABC, es necesario para evitar, corregir o revertir parcialmente estos efectos secundarios.

Expert Opinion

1. Introduction
2. Starting antiretroviral therapy in naive patients
3. Options in patients receiving thymidine analogs
4. Switch studies to the newer NRTIs TDF or ABC
5. Expert opinion

informa
healthcare

From old to new nucleoside reverse transcriptase inhibitors: changes in body fat composition, metabolic parameters and mitochondrial toxicity after the switch from thymidine analogs to tenofovir or abacavir

Adrian Curran & Esteban Ribera

Hospital Vall d'Hebron, Infeccions Dintres Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

Introduction: Thymidine analogs zidovudine (AZT) and stavudine (d4T) have been widely used because of their antiviral activity against HIV, but at the expense of high toxicity, mainly related to mitochondrial damage. Many studies have been performed replacing AZT or d4T with newer nucleoside analogs reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) with less toxicity, such as tenofovir (TDF) or abacavir (ABC), maintaining virological efficacy.

Areas covered: Relevant literature was identified using a PubMed search of articles published up to June 2010. Search terms included: 'thymidine analogs', 'stavudine', 'zidovudine', 'd4T', 'AZT', 'ZDV', 'treatment switch'. Original articles in which d4T or AZT had been replaced by TDF or ABC as switch strategies (with undetectable viral load) were reviewed where information about body fat distribution, mitochondrial functionality and/or plasma lipid parameters were available. Relevant references from these articles were also considered. Only studies performed in adult patients (18 years or older) are included. The readers will gain a better understanding of the toxicity caused by thymidine analogs, the treatment alternatives and the benefits observed after treatment switch to newer NRTIs.

Expert opinion: Thymidine analogs AZT and d4T yield considerable toxicity and proactive switch to newer NRTIs such as TDF or ABC is necessary in order to avoid or partially reverse such side effects.

Keywords: abacavir, DDXA, lipodystrophy, mitochondrial toxicity, stavudine, tenofovir, thymidine analogs, zidovudine

Expert Opin. Drug Saf. (2011) 10(3);389-406

1. Introduction

Thymidine analogs such as zidovudine (AZT) and stavudine (d4T) have been widely used since the beginning of the HIV pandemic and until recently because of their efficacy against the virus leading to a change in the course of HIV infection. However, its use has significantly decreased in the last few years due to important side effects that can even jeopardize the patient's life.

Morphologic changes in HIV-infected patients were first described by Carr *et al.* in the late 1990s [1]. Lipodystrophy includes fat accumulation in breasts, visceral

From old to new NRTIs

Article highlights.

- Lipotrophy remains a frequent and highly stigmatizing complication of long-term antiretroviral therapy.
- Thymidine analogs are strongly related to lipotrophy.
- Lipotrophy can be caused by mitochondrial toxicity and adipose cell dysfunction.
- Switching from stavudine or zidovudine to abacavir (ABC) or tenofovir (TDF) is the strategy which has shown better results to prevent or partially revert lipotrophy.
- Both ABC and TDF provide similar increases in limb fat after treatment switch.

This box summarizes key points contained in the article.

and dorsocervical (buffalo hump) regions (lipohypertrophy) and fat loss in face, limbs and buttocks (lipotrophy). Physical changes can be accompanied by metabolic alterations, such as dislipidemia and insulin resistance [1,2]. The prevalence of alterations in body fat distribution ranges from 30 to 50%, depending on the studies [3-5]. It has become one of the most stigmatizing side effects of antiretroviral therapy and can entail a decrease in treatment adherence and diminish quality of life and in the long-term treatment efficacy.

At first, these body changes were related to protease inhibitors (PI) [1,6]. Later, it was seen that PI-naïve patients receiving nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) also had lipodystrophy, and it was suggested that these drugs played a primary role in lipotrophy [7-9]. Many factors have been associated with body fat alterations in multivariate analyses, such as longer duration of HIV disease, years on treatment, disease severity, low baseline body mass index, increased age, lower CD4 count, AIDS, being female or genetic factors [3,10-12], but treatment with thymidine analogs, especially d4T but also AZT, is one of the main causes of these alterations [7,8,14]. Nowadays, it is thought that lipotrophy and lipohypertrophy are two separate conditions with different risk factors [3,10,13,16].

Mitochondrial toxicity has been pointed as mainly responsible for lipotrophy. Brinkman *et al.* hypothesized that DNA γ -polymerase, the enzyme responsible for mitochondrial DNA (mtDNA) replication, was inhibited by NRTIs, leading to mtDNA depletion and mitochondrial dysfunction and, therefore, to the development of lipotrophy [17]. Studies of NRTIs involving enzyme assays and cell cultures have demonstrated that not all NRTIs have the same capacity to be included by γ -polymerase and inhibit it, d4T being the main inhibitor [18,19]; newer NRTIs such as abacavir (ABC), tenofovir (TDF), lamivudine (3TC) and emtricitabine (FTC) have shown *in vitro* a very low affinity for this enzyme [20-22]. In a study by Chaplain *et al.*, lipotrophy was associated with severe mitochondrial dysfunction in muscle (compared with non-lipodystrophic patients on highly active antiretroviral therapy (HAART)) and with longer NRTI exposure and d4T use [23]. In recent years, other

pathways that explain this toxicity apart from mtDNA depletion have been found related to other mitochondrial functions such as control of apoptosis, intracellular signaling or its role in oxidative stress [24]. For instance, a strong reversible reduction of mitochondrial membrane potential and inhibition of the ADP/ATP antiport have been described with AZT [25]. Adipose cell dysfunction with d4T and AZT has also been described, with an increase in cell apoptosis in cultures and impairment in adipose cell differentiation and increased lipolysis, which can also explain metabolic alterations related to lipodystrophy, mainly dyslipidemia and insulin resistance [26-29].

2. Starting antiretroviral therapy in naive patients

HIV infection by itself can be responsible for fat loss. When antiretroviral therapy is started, there is a recuperation of fat in all compartments, including limb fat. Months after starting the therapy, and depending on the drugs used, lipotrophy can take place, with selective subcutaneous fat loss in face, limbs and buttocks. In the clinical setting, numerous trials have shown the implication of thymidine analogs in the development of lipotrophy, mitochondrial toxicity and metabolic alterations. Although for years they have been used as first-line drugs, currently they have lost this status in treatment guidelines as initial therapy and are now alternatives seldom used in the developed world and even in resource-limited settings.

A hierarchy in lipodystrophy incidence depending on the NRTI used has been established, with a lower incidence of body fat alterations with newer NRTIs compared to thymidine analogs. van der Valk *et al.* showed that after 50 months exposure to a regimen containing d4T or AZT, lipotrophy was significantly greater in d4T recipients (82 vs 9%, $p = 0.0001$), although mtDNA in PBMCs decreased significantly in both groups (-73% for d4T and -67% for AZT, $p = 0.11$), with lower levels in patients with lipotrophy ($p = 0.007$) [30]. Also, in the Novavir trial, patients receiving d4T/3TC/indinavir had a greater rate of clinical lipotrophy than those treated with AZT/3TC/indinavir [31]. The 903 study compared TDF versus d4T combined with 3TC and efavirenz (EFV). Apart from demonstrating similar efficacy, in the TDF arm there was a significant improvement in lipids and less lipotrophy by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) than in the d4T arm (increase of 7.9 and 8.6 kg in limb fat with TDF at 96 and 144 weeks, respectively, while patients in the d4T arm gained 5 and 4.5 kg in the same time periods, all $p < 0.001$) [32]. In the 934 study, fixed-dose combinations (FDC) of TDF/FTC versus AZT/3TC together with EFV were compared, the former being non-inferior and even superior in efficacy, with better lipid profile (total cholesterol (TC) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C)) and significantly greater increases in limb fat after 48 weeks (8.9 vs 6.9 kg, $p = 0.03$) [33].

Boothby *et al.* also compared AZT/3TC versus TDF/FTC plus EFV in naive patients with an HIV-negative control group, finding significant changes in expression of genes involved in adipocyte differentiation contributing to visceral lipid accumulation with AZT and less pronounced changes with TDF, and significant disturbance in the mitochondrial electron transport chain with AZT but not with TDF [36]. In the ABCDE trial, d4T and ABC were compared, combined with 3TC and EFV. By clinical assessment, 4.8% patients in the ABC arm and 38.3% in the d4T arm developed one or more clinical signs of lipostrophy (difference of 33.5%, 95% CI: 22 – 45%; $p < 0.001$). By DXA (in a subgroup of 57 patients), during the first year of the study both treatment groups presented similar weight gains (3.1 kg with ABC and 3.2 kg with d4T), but after 96 weeks weight continued to increase with ABC (+4.7 kg), whereas it decreased with d4T (-2.3 from baseline). These differences were also seen in limb fat, with increases of 913 g with ABC and decreases of 1578 g with d4T ($p < 0.001$). Regarding lipid profile, both arms had significant increases in all lipid parameters, although with a better lipid profile for ABC (lower increases in triglycerides (TGs), higher increases in high-density lipoprotein (HDL) and apolipoprotein A1, and greater reduction in the TC:HDL ratio) [35]. There is another study comparing d4T versus ABC in naive patients, showing improvement in body fat and lipid profile with ABC, but in this case the latter was given with 3TC whereas d4T was given in combination with didanosine (ddI), which might have influenced the outcomes as ddI has a greater potential for mitochondrial toxicity compared to 3TC [36].

With all these data, newer NRTIs such as ABC and TDF have become preferred options in current guidelines when starting therapy in naive patients, having shown similar efficacy with better short- and long-term tolerability.

3. Options in patients receiving thymidine analogs

Patients receiving thymidine analogs with severe side effects have had their treatment changed, but there are still a considerable number of patients treated with these drugs with apparently good tolerability. In many of these patients, if a thorough clinical history and physical examination are performed, subcutaneous fat loss can be detected. In some patients, this fat loss can only be diagnosed after performing other tests (such as DXA), as sometimes lipostrophy is not clinically evident until it is advanced. For this reason, several strategies have been developed in order to diminish or prevent lipodystrophy or other side effects related to thymidine analogs.

3.1 Reduce thymidine analogs dose

The AZT dose was reduced years ago from 1200 or 1000 mg/day to the current 500 or 600 mg/day dose, with a significant decrease in its toxicity. More recently, in several

studies, this strategy with d4T has been shown to maintain virological efficacy improving lipid parameters, lactate levels and fat mtDNA [37-39].

3.2 Use of NRTI-sparing regimens

In naive patients, regimens containing lopinavir/ritonavir (LPV/r) + nevirapine (NVP) [40] or EFV [41-43] without NRTIs have been compared to standard HAART. These NRTI-sparing regimens have shown greater increases in total and limb fat, but with significant worsening in the lipid profile and other inconveniences. There are scarce data on the use of NRTI-sparing regimens in switch strategies, although studies with new drugs are ongoing. For the time being, with the new better tolerated NRTIs, this strategy is seldom used.

3.3 Switch to newer NRTIs, such as TDF or ABC

This is the most used strategy, with best available data in the literature, and it is thoroughly reviewed from here on in this article.

4. Switch studies to the newer NRTIs TDF or ABC

This review focuses on changes in body fat, mitochondrial and lipid parameters. The most relevant studies have been summarized in Table 1. The immunovirological efficacy is not mentioned, as in all of them at least the same virological efficacy has been proved. Furthermore, the efficacy of the new NRTIs has been widely demonstrated in naive patients [32-34].

The results are divided into body fat distribution changes, mitochondrial toxicity parameters (such as mtDNA or lactate levels) and lipid profile. In each subgroup, data are given following the same order: switch from thymidine analogs to ABC, switch to TDF and studies where ABC and TDF are compared as switch options replacing thymidine analogs.

4.1 Body fat distribution

Several trials have assessed changes in body fat after the switch. Some have used subjective measurements with lipodystrophy defined by the patient and/or the physician. Most have used objective tests, such as anthropometry, bioimpedance or DXA.

4.1.1 Switch to ABC

In the Mitox study [44] and its extension phase [45], patients with moderate or severe lipostrophy were switched from d4T (85%) or AZT (15%) to ABC or remained with the thymidine analog. Limb fat mass by DXA increased significantly in the ABC group, although without correlation with changes in the validated lipodystrophy case definition scoring system.

In the TARHEEL study [46] patients on d4T switched to either ABC (73%) or AZT (27%). Significant increases were seen by DXA in all locations, with more fat gained in arms and legs in those patients switched to ABC. The CT scans

From old to new NRTIs

Table 1. Main studies were thymidine analogs replaced by either TDF or ABC in HIV-infected patients with suppressed viral load and > 15 patients per arm.

Study/year	Design/setting	Body fat change*	Mitochondrial parameters*	Lipid profile*
Switch from thymidine analogs to ABC MITOX (44,45,58) 2002 2004	Lipidopathic patients Randomized 24 weeks Previous TA: Continue (n = 56) Switch to ABC (n = 50)	Lean fat: TA +80 g (+2%) ABC +390 g (+11%) [†] Diff ABC-TA +310 g (CI 60 to 570) [†] Trunk fat: TA +800 g (s.d. 3400) ABC +1400 g (s.d. 2700) Diff ABC-TA +600 g (CI -660 to 1460) Total fat: TA 400 g (s.d. 2000) ABC 1100 g (s.d. 1900) Diff ABC-TA +700 g (CI -1500 to 100)	mtDNA PSMC (change log ₂): TA -0.036 (s.d. 0.242) ABC 0.0076 (s.d. 0.208) Diff ABC-TA 0.040 (CI -0.56 to 0.14) Lactate levels (change, mmol/L): TA +0.1 (s.d. 0.8) ABC -0.2 (s.d. 0.9) Diff ABC-TA 0.3 (CI -0.1 to 0.6)	TC: TA -3.9 (s.d. 38.7) ABC +7.7 (s.d. 38.7) Diff ABC-TA -11.6 (CI -27.1 to 3.9) HDL: TA 0 (s.d. 11.6) ABC +3.9 (s.d. 11.6) Diff ABC-TA -3.9 (CI -7.7 to 0) LDL: TA -3.9 (s.d. 27.1) ABC 0 (s.d. 30.9) Diff ABC-TA -3.9 (CI -15.5 to 7.7) TG: TA 0 (s.d. 196) ABC 0 (s.d. 195) Diff ABC-TA 0 (CI -71 to 79.6) No significant changes (values not reported)
Tamneel (46,59) 2004 2005	Not randomized 48 weeks Previous ddt switch to: ABC (n = 66) AZT (n = 32)	Arms fat: AZT +17% (OR -46 to 132) ABC +38% (OR -37 to 174) [†] Legs fat: AZT +7 (OR -33 to 97) ABC +15% (OR -53 to 206) [†] Trunk fat: AZT +16% (OR -24 to 54) ABC +19% (OR -49 to 102) SAT: AZT +25% (OR -23 to 176) ABC +35% (OR -48 to 440) VAT: AZT -2.9% (OR -29 to 89) ABC -4% (OR -52 to 157)	mtDNA (copies/cell): PSMC: From 64 to 256 [†] Muscle: From 2105 to 3754 Fat: From 194 to 430 [†]	

3TC: Lamivudine; ABC: Abacavir; AZT: Zidovudine; ddt: Stavudine; ddI: Didanosine; ddt: Didanosine; Diff: Difference; DDA: Dual-nucleoside X-ray diffractometry; EV: Efavirenz; FDC: Fixed dose combination; FTC: Etravirine; HDL: High-density lipoprotein; IQE: Interquartile range; LDL: Low-density lipoprotein; LPMV: Lipid-protein-membrane; mtDNA: Mitochondrial DNA; NRTI: Nucleoside reverse transcriptase inhibitor; NVP: Nevirapine; SAT: Subcutaneous adipose tissue; TA: Thymidine analogs (ddI or AZT); TC: Total cholesterol; TG: Triglyceride; VAE: Visceral adipose tissue.
[†]Results are expressed as in the original article: mean, mean (s.d.), median, median (25th to 75th percentile) or median (95% CI).
[‡]p < 0.05.

From old to new NRTIs

Table 1. Main studies were thymidine analogs replaced by either TDF or ABC in HIV-infected patients with suppressed viral load and > 15 patients per arm (continued).

Study/year	Design/setting	Body fat change*	Mitochondrial parameters*	Lipid profile*
Switch from thymidine analogs to TDF vs ABC Nave [54] 2006	Randomized 48 weeks Previous TA switch to: TDF (n = 52) ABC (n = 53)	Limb fat: TDF +325 (s.d. 872) g ABC +483 (s.d. 759) g Difference TDF-ABC -154 (95 CI: -493 to 184) g Total fat: TDF +607 (s.d. 1361) g ABC +618 (s.d. 1104) g Diff TDF-ABC -11 (95 CI: -525 to 503) g Total fat: TDF +952 (s.d. 2141) g ABC +110 (s.d. 1701) g Diff TDF-ABC -153 (95 CI: -956 to 650) g	Not performed	TC: TDF -17.4 (s.d. 41) ABC +8.1 (s.d. 43.7) Diff TDF-ABC: -25.5 (CI -42.1 to -8.9) HDL: TDF -4.3 (s.d. 18.9) ABC +0.6 (s.d. 9.7) Diff TDF-ABC: -4.6 (CI -19.4 to 1.2) LDL: TDF -9.7 (s.d. 30.9) ABC +3.5 (s.d. 33.6) Diff TDF-ABC: -13.5 (CI -26.3 to -0.8) TG: TDF -39.2 (s.d. 163) ABC +6.2 (s.d. 2.20) Diff TDF-ABC: -35.3 (CI -110.6 to 35.4)
Ricombatoxibicombi [55,56] 2009	Randomized 48/56 weeks Previous NRTI + 3TC switch to: ABC/3TC (n = 157) TDF/3TC (n = 156)	Limb fat: TDF/3TC +337 (QR -532 to 552) g ABC/3TC +756 (QR -273 to 1285) g [†] Total fat: TDF/3TC -370 (QR -1134 to 938) g ABC/3TC +1184 (QR -317 to 2284) g Diff 1 DC [‡] Total fat: TDF/3TC -130 (QR -1174 to 1837) g	mtDNA Δ mtC (change, copies/cell): TDF/3TC +142 (QR 60 to 184) [§] ABC/3TC +148 (QR 105 to 241) [§] Diff TDF-ABC: -6 (QR -20 to 20)	TC: TDF -4 (QR -23 to 11) ABC +5 (QR -20 to 40) Diff TDF-ABC: -3 (QR -20 to 20) HDL: TDF 0 (QR -9 to 7) ABC -3 (QR -7 to 6) Diff TDF-ABC: -1 (QR -7 to 6) LDL: TDF -1 (QR -21 to 16) ABC +11 (QR -12 to 36) Diff TDF-ABC: -1 (QR -16 to 23) TG: TDF -11 (QR -57 to 5)

3TC, Lamivudine; ABC, Abacavir; AZT, Zalcitabine; ddI, Didanosine; dIT, Didemine; dMA, Didemine X-ray abrogation; dV, Didemine; dDC, Fixed-dose combination; dC, Emtricitabine; HDL, high-density lipoprotein; QR, interquartile range; LDL, low-density lipoprotein; LPA, lipoprotein(a); mtDNA, Mitochondrial DNA; NRTI, Nucleoside reverse transcriptase inhibitor; NVP, Nevirapine; SART, Subcutaneous adipose tissue; TA, Thymidine analogs; BAF or ALT, TC total cholesterol; TDF, Tenofovir; TG, triglyceride; VAT, Visceral adipose tissue.
[†]Results are expressed as in the original article: mean, mean (s.d.), mean (95% CI), median, median (25th to 75th percentile) or median (95% CI).
[‡]Results are expressed as in the original article: mean, mean (s.d.), mean (95% CI), median, median (25th to 75th percentile) or median (95% CI). Units have been all converted to mg/dL.
[§]p < 0.05.

Table 1. Main studies were thymidine analogs replaced by either TDF or ABC in HIV-infected patients with suppressed viral load and > 15 patients per arm (continued).

Study/year	Design/setting	Body fat change*	Mitochondrial parameters*	Lipid profile*
Stral [57] 2009	Randomized 96 weeks Previous ARTs switch to: ABC/ZTC (n = 179) TDF/ZTC (n = 178)	ABC/ZTC: +1779 (CI -639 to 3373) g [†] Limb fat TDF/ZTC: +420 g ABC/ZTC: +530 g Diff: +0.11 (CI -0.19 to 0.42) g Total fat TDF/ZTC: +1120 g ABC/ZTC: +1420 g Diff: +0.30 (CI -0.45 to 1.08) g	Lactate levels (change, mmol/l): TDF/ZTC: 0 ABC/ZTC: 0 Diff: 0 (CI -0.2 to 0.2)	ABC: -2 (CI -24 to 45) Diff TDF-ABC: -5 (CI -50 to 15) TC TDF: -3.9 ABC: +15.9 Diff TDF-ABC: +19.3 (CI 11.6 to 27.1) [§] HDL TDF: -3.9 ABC: 0 Diff TDF-ABC: +3.9 (CI 0 to 7.7) [§] LDL TDF: 0 ABC: +7.7 Diff TDF-ABC: +7.7 (CI 0 to 11.6) TG TDF: -17.7 ABC: +17.7 Diff TDF-ABC: +35.4 (CI 0 to 70.8)

ZTC: Zalcitabine; ABC: Abacavir; AZT: Zidovudine; ddI: Stavudine; ddC: Didanosine; DDI: Didanosine; D4T: Didanosine; DAA: Didanosine; X-ray absorptiometry (DXA): Hydroxy; FIC: Fingertone; HDL: High-density lipoprotein; LDL: Low-density lipoprotein; LMR: Lipid metabolism; mDNA: Mitochondrial DNA; NRTI: Nucleoside reverse transcriptase inhibitor; MTP: Methylglucosylceramide; SAG: Subcutaneous adipose tissue; TA: Thymidine analogs (dT or dT); TC: Total cholesterol; TDF: Tenofovir; TG: Triglyceride; VAI: Visceral adipose tissue.
*Results are expressed as in the original article: mean, mean (s.d.), mean (95% CI), median, median (25th to 75th percentile) or median (95% CI). Units have been all converted to mg/dl.
[†]p < 0.05.

also revealed increases in subcutaneous abdominal fat (SAT) and decreases in visceral abdominal fat in these patients.

The ACTG A5110 [47] compared switching the thymidine analogs to ABC or the full treatment to LPV/r + NVP. There were also two delayed switch arms, which were discontinued when the results of the MITOX study [46] were presented. Subcutaneous thigh fat and SAT increased significantly with both regimens, without differences between them. There was a significant improvement in self-perception of subcutaneous fat, but not correlated with objective changes measured by CT.

4.1.2 Switch to TDF

In the extension phase of the 903 study [46], patients switched at week 96 from d4T to TDF in an open-label design, with progressive increase in limb fat (from 4.5 to 5.8 kg 144 weeks after) although lower than the 8.2 kg of limb fat at the same time point in those patients of the 903 study initially randomized to TDF who never received d4T.

The Staccato trial [48] was designed to evaluate a CD4-guided treatment interruption and it was initially started with d4T + ddI + SQV/r in naive patients, but the NRTI component was later switched to TDF + FTC following changes in guidelines. In one Thai center, 35 consecutive patients in the continuous treatment arm who switched treatment after a median exposure to d4T + ddI of 86 weeks were followed for 48 weeks. Limb and total fat increased significantly by DXA, but without changes in the subjective questionnaire.

In the study by Milinkovic *et al.* [50], patients on d4T 40 mg twice daily were randomized to continue the same d4T dose (d4T40), to reduce the d4T dose to 30 mg twice daily (d4T30) or to switch to TDF. Increases in limb fat and total fat were seen in the d4T30 and TDF arms and decreases in the d4T40 arm, although only differences between d4T40 and TDF were significant.

In the Lipotest study [51], patients were switched from d4T to TDF. Changes in malar fat and total fat became significant at the first year and thereafter, with improvements in the subjective assessment, correlating with ultrasonography but not with bioimpedance findings.

The Recomb [52] and the Sweet [53] trials have very similar designs, in which patients taking AZT/3TC FDC were randomized to continue with the same treatment or to switch to TDF/FTC FDC. Both studies found significant increases in limb fat in the TDF/FTC arm, although it was irrespective of baseline limb fat content or previous years on AZT therapy in the Recomb and it was greater in patients with short exposure to AZT or lower baseline limb fat in the Sweet trial.

4.1.3 Switch to ABC compared to TDF

In the Rave study [54], patients on thymidine analogs were switched to TDF or ABC. There was an improvement in limb fat mass, without significant differences between arms

but with greater increases in those patients previously receiving d4T or with lower fat content at baseline.

The Bicombo [55] was a head-to-head comparison between two FDCs of two analogs (ABC/3TC vs TDF/FTC) as a switch strategy. There was a body composition substudy [56], in which limb fat increased similarly with both FDC, and trunk and total fat decreased with TDF/FTC and increased with ABC/3TC (although in total fat differences did not reach significance between groups). A greater limb fat gain was seen in patients previously receiving a thymidine analog, irrespective of randomization group.

In the Steal trial [57], with a similar design to the Bicombo, limb and total fat increased with both treatments, without significant differences between them.

4.2 Parameters of mitochondrial toxicity

Mitochondrial toxicity has been measured directly (activity of different mitochondrial enzymatic complexes) and indirectly (changes in mtDNA and ratios in mtDNA:nuclear DNA (nDNA), lactate levels) in different studies, although the degree of mitochondrial impairment necessary to give clinical manifestations is unclear.

There are controversial results regarding the usefulness of mtDNA quantification in PBMC as a marker of mitochondrial toxicity in lipodystrophy. Cote *et al.* [22] found that changes in mtDNA can be used as a marker of nucleoside toxicity in HIV-infected patients and that ratios of mtDNA:nDNA were significantly lower in patients receiving d4T, compared with patients not receiving this drug. As we will see, other studies reviewed in this manuscript showed different results.

4.2.1 Switch to ABC

There is a substudy of the Mitox [58] quantifying mtDNA in PBMCs. At baseline, there was no correlation between peripheral limb fat mass and quantification of mtDNA in PBMCs, suggesting that depletion of mtDNA in PBMCs is not a marker of subcutaneous limb fat mass loss severity. During follow-up, no differences were seen in mtDNA between patients on thymidine analogs or ABC and there was no correlation between quantity of mtDNA in PBMCs and improvement in limb fat mass or venous lactate levels.

There is also a substudy in only 16 patients of the TARHEEL [59] with fat and muscle biopsies and PBMC collection, with HIV-uninfected donors as controls. mtDNA quantification, adipocyte apoptosis, mitochondrial electron transport chain activities (complexes I – IV, citrate synthase) and cytokine expression levels were assessed. The mean baseline mtDNA:nDNA ratio rose in all locations. At baseline, mitochondrial dysfunction was evident. After 48 weeks, only significant increases in complex I activity were seen, without any other changes in enzyme activity.

In the ACTG A5110 [47], mtDNA in PBMC increased more with LPV/r + NVP than with ABC. No significant correlations between changes in subcutaneous fat and changes in mtDNA were seen.

From old to new NRTIs

4.2.2 Switch to TDF

In the study by Milinkovic *et al.* [50], mitochondrial function was assessed thoroughly: measurement of oxygen consumption in PBMCs, estimation of mitochondrial content by spectrophotometric measurement of the citrate synthase activity and the oxidative phosphorylation (Oxphos) activity and mtDNA quantification. However, although a slight trend to improvement with both strategies was observed, no significant differences were seen after 24 weeks among the d4T40, d4T30 and the TDF arms, except for the Oxphos activity, which increased significantly with d4T30 and TDF.

In the Lipotest study [51], mitochondrial toxicity was assessed by relative quantitation of mtDNA versus nDNA. Significant changes were seen as early as a month and 6 months after the switch, but became nonsignificant thereafter. The median lactate values decreased after 96 weeks (from 1.72 to 1.18 mmol/l, $p < 0.001$), especially in those patients with baseline hyperlactatemia.

In the Staccato substudy [49], significant increases in the mt:nDNA ratio and improvement in lactate levels were seen 48 weeks after the switch from d4T + ddI to TDF + FTC.

4.2.3 Switch to ABC vs TDF

In the Bicombo substudy [56], there was no improvement in mtDNA in PBMCs after 48 weeks, but significant increases were seen with both treatments after 96 weeks.

4.3 Lipid profile

Changes in lipid parameters have nearly always been secondary end points in switch studies, but give indirect information on the overall metabolic impact that older NRTIs can have.

4.3.1 Switch to ABC

No significant changes in lipid parameters were seen in the MITOX [44], the TARHEEL [46] or the ACTG A5110 [47] studies after switching from a thymidine analog to ABC. In the ACTG A5110, the LPV/r + NVP arm had a worse lipid profile compared to the ABC arm.

4.3.2 Switch to TDF

In the non-comparative studies 903 extension [48], Lipotest [51] and Staccato [49], significant improvements in the lipid profile were observed after switching from thymidine analogs to TDF, mainly decreases in TGs, total cholesterol and LDL-C. The Recover study [50] was a prospective, multicenter trial assessing changes in lipid profile in 352 patients after switching from d4T to TDF. All lipid parameters except HDL-C improved with the switch (TG -35 mg/dl, TC -17.5 mg/dl, LDL-C -8.1 mg/dl, all $p < 0.001$), especially in those patients with baseline hyperlipidemia. HDL-C significantly decreased, but there was an improvement in the TC:HDL ratio (from 4.89 to 4.56 $p < 0.01$). This change in lipid levels took place during the first weeks of the study, with greater decreases at 12 weeks.

In the study by Milinkovic *et al.* [50], significant differences were seen in total cholesterol and TGs when the TDF and the d4T40 mg arms were compared, but without differences in the other lipid parameters or when the two d4T doses or d4T30 and TDF were compared.

In the Recomb study [52], improvements in LDL were seen after the switch, without differences in the other lipid parameters. In the Sweet trial [53], decreases in total cholesterol and TGs were seen at all visits except at week 48, with greater changes during the first weeks.

There is another recently published study in which patients with abnormal lipid profile were randomized to switch the NRTIs to TDF/FTC ($n = 46$) or continue with the same antiretroviral therapy ($n = 45$). Half of the patients were taking AZT/3TC, followed in numbers by ABC + 3TC, ddI + 3TC and d4T + 3TC. Twelve weeks later, there were significant decreases in TG (-44 mg/dl, -25%) and LDL-C (-15 mg/dl, -9%) with TDF/FTC, although with a small but significant decrease in HDL-C (-4 mg/dl) [61].

4.3.3 Switch to ABC vs TDF

In the Rave study [54], significant decreases in total cholesterol and LDL favoring TDF were seen after the switch. In the Bicombo substudy [56], significant differences in total cholesterol were observed after 48 weeks favoring TDF/FTC, but these differences disappeared after 96 weeks. In the global Bicombo study [58], reductions in all lipid parameters in the TDF/FTC group compared with predominant increases in the ABC/3TC group, with significant differences between arms, were seen after 48 weeks.

In the Steal trial [57], TDF/FTC showed a more favorable lipid profile than ABC/3TC in total cholesterol, LDL-C, HDL-C and TG. The total:HDL-C ratio was significantly lower in the TDF/FTC group at week 48 but not at week 96.

5. Expert opinion

HIV-associated lipodystrophy remains a frequent and highly stigmatizing syndrome in patients with long-term antiretroviral therapy. Apart from being a cosmetic problem that can negatively impact on the patient's self-esteem, social relationships and treatment adherence, it is often associated with metabolic disorders that can increase cardiovascular risk.

Halting and/or reverting morphologic changes are a major concern in patients who have developed lipodystrophy. The toxic effects of thymidine analogs on mitochondria seem to contribute in peripheral fat loss. The potential for TDF or ABC to interfere with mitochondrial functions is low and many small studies, with different designs, have assessed the effects of replacing d4T or AZT with TDF or ABC (Table 1). In most of these studies, the switch to TDF or ABC leads to a significant improvement in peripheral lipodystrophy, without significant differences between both drugs.

Lipoatrophy reversion is very slow and does not become evident until at least 6 months after the switch. It is not known what happens in the long-term after stopping thymidine analogs; in some studies, fat gain continues during the second or the third year of follow-up, but there might be a plateau in fat recovery. Also, the magnitude of fat gain is small and lipoatrophy is still clinically evident in most patients 2 or 3 years after switching. In most studies reviewed here, which did not always include patients with clinically evident lipoatrophy, the baseline limb fat with thymidine analog treatment was around 3 - 5 kg, whereas in the general population it is > 7 kg. One to three years after switching from thymidine analogs to TDF or ABC, the mean/median limb fat increase was only 0.5 - 1.5 kg. Probably these changes, although they can be significant from the statistical point of view, may not be clinically significant or perceptible for the patient or the clinician. For this reason, it is important to proactively switch antiretroviral therapy before lipoatrophy becomes evident and not start toxic drugs in naive patients. Thus, thymidine analogs have been relegated to alternative options in current antiretroviral guidelines.

With the variety of antiretroviral drugs available in developed countries, probably thymidine analogs should never or only seldom be used. Even in the developing world, WHO guidelines recommend not using d4T as a first option [82]. However, due to price differences, availability and in some cases presence of resistance mutations, patients might not have other treatment options. In these cases, low d4T doses should be used, but always as the last option, until newer drugs become available [83].

The use of NRTI-sparing regimens may be a good option to prevent lipoatrophy or to partially reverse it if it has already appeared, but trials with EFV or NVP plus LPV/r have not yielded good results due to metabolic alterations and other inconveniences. However, this strategy is currently being investigated with attractive combinations including newer well tolerated and lipid friendly drugs possibly becoming very interesting options in the future [84].

Some questions arise from the data reviewed. The first is which technique is the best to assess body fat changes. Some tests are easy to perform and available, but probably less objective and reproducible. The most widely used technique is DXA, and it has become the gold standard to assess body fat distribution. It is objective, reproducible, reliable, non-invasive and safe. But it has some drawbacks, as it does not allow differentiating between subcutaneous and visceral fat, it is not available in limited-resource settings and it does not allow quantifying fat in face. In some studies, other techniques have been used (ultrasounds, CT scan, CT scan with tridimensional laser facial volume assessment, magnetic resonance) which allow differentiating between subcutaneous and visceral fat and/or quantify facial lipoatrophy, but they have some inconveniences that limit the widespread use in the setting of clinical practice, although they might be very useful in specific studies.

DXA is now widely used in the developed world. It might help earlier diagnosis of body fat alterations, but issues arise about what to do with this information. What is the best parameter to measure? What are the normal values for our HIV-infected patients? What degree of fat loss is attributable to ARV therapy, to HIV-infection or to ageing? What degree of lipoatrophy is necessary to become clinically evident?

Bonnet *et al.* [85] reported that the fat mass ratio (FMR = % of the trunk fat mass/% of the lower limbs fat mass) could be a good measurement for lipodystrophy. They compared HIV-infected and uninfected patients, defining lipodystrophy when FMR > 1.5 (mean value in the control group). The FMR was higher in treated HIV-infected men with or without clinical lipodystrophy and similar for naive HIV-infected men and controls. A clear inconvenience of FMR is that in the same equation it evaluates limb lipoatrophy and trunk lipohypertrophy, and as we have seen before they might be two completely different pathologies with different risk factors. In this study, they also found that FMR increased with age in both groups, especially in HIV-infected patients, and that FMR was not related to CDC stage, duration of infection, viral load or CD4 cell count, suggesting that HIV by itself does not play a role in FMR, whereas treatment with d4T, AZT and indinavir was significantly related to higher FMR.

The degree of limb fat loss measured by DXA that became clinically evident by subjective observation has been assessed in a recent study. The conclusion was that percentage changes and not absolute values correlated best with subjective findings and that probably a 30% change from baseline would be an appropriate cutoff value [86]. In some studies, cutoffs of 10 and 20% limb fat loss, which are not clinically evident, have been used to determine the impact of different drugs in limb fat changes [41,87].

Mitochondrial parameters that were studied improved with the switch strategy. Some studies demonstrated a progressive reduction in lactate levels after replacing d4T with TDF or ABC, especially in those patients with baseline hyperlactatemia. The analysis of PBMCs mtDNA in patients with lipoatrophy yielded contradictory results. Few studies showed a moderate increase in PBMC mtDNA, suggesting that this can be partly responsible for the recovery of mitochondrial function. In numerous studies, no correlation was seen between improvement in mitochondrial parameters and fat gain. Lipoatrophy pathogenesis is complex and it is probable that other mitochondrial effects of NRTIs besides γ -polymerase inhibition and mtDNA depletion play a role in the appearance of this side effect, such as mtDNA transcription inhibition or impairment in the adipocyte proliferative capacity secondary to downregulation of the nuclear transcription factor, PPAR- γ [88]. Besides, drug toxicities are probably organ-specific, and mitochondrial changes should not be measured in PBMCs but in the affected tissues [89].

Dyslipidemia is very common in patients with lipoatrophy receiving antiretroviral therapy including thymidine analogs,

From old to new NRTIs

especially d4T, even in the absence of PIs. After replacing d4T with TDF, a significant improvement in total cholesterol, LDL-C and TGs was observed in almost all switch studies, and the decrease was more pronounced in patients with baseline dyslipidemia. In the studies where AZT was substituted by TDF, the improvements in the lipid profile were smaller than in the case of d4T. In those switch studies where the thymidine analog, whether d4T or AZT, has been substituted by ABC, small and usually nonsignificant changes in the lipid profile have been seen. In the switch studies where ABC and TDF were directly compared, TDF showed a better lipid profile than ABC. This could be due to a lipid-lowering effect of TDF, demonstrated in a double-blind study where TDF or placebo was added to a suppressing HAART. TDF significantly improved non-HDL, LDL and total cholesterol compared to placebo [76]. Furthermore, in those patients in whom the switch is not enough to resolve dyslipidemia, it can become a good complement to other antiretroviral drugs replacement (e.g. some PIs) or to the lipid lowering agents' activity.

As fat recovery after treatment switch is usually slow and incomplete, other therapies to correct fat loss have been tried out. Thiazolidenediones or glitazones, selective agonists of the PPAR- γ , are approved as treatment of type 2 diabetes but also have shown to increase subcutaneous fat in congenital mitochondrial disorders and/or diabetic lipodystrophy [71]. In HIV-infected patients, glitazones have shown conflicting results, without significant changes in some studies [72,73] and significant increases in body fat in others, especially if combined with thymidine analog withdrawal [74,75]. In a meta-analysis, pioglitazone showed better results than rosiglitazone, both compared to placebo [77]. However, rosiglitazone can increase lipid parameters [72,78] and there are concerns that it can also increase cardiovascular disease. Another studied strategy has been uridine supplementation, a pyrimidine precursor that has shown to prevent and treat mtDNA depletion and prevent the onset of a lipodystrophic phenotype in *in vitro* adipocytes, possibly by competing with NRTIs at polymerase- γ or other enzymes [78]. However, in two recently published trials,

uridine has failed to demonstrate durable limb fat improvement [79,80]. The last option is surgical correction, and it can be performed with fat from the patient him/herself or with synthetic permanent or resorbable substances [81-83].

In summary, thymidine analog-associated lipodystrophy is a highly stigmatizing side effect difficult to solve. When it becomes clinically evident, there has already been an important amount of peripheral fat loss. Lipodystrophy reversion is very slow and usually incomplete. In most patients, it improves but is still clinically evident 2 or 3 years after switching. The switch to TDF or ABC leads to a progressive improvement in peripheral lipodystrophy. Both drugs provide similar increases in limb fat, but switching to TDF rather than to ABC may have some advantages in terms of improving the lipid profile. Other therapies are far from optimum and in those patients in whom lipodystrophy continues to be an important cosmetic problem plastic surgery should be the solution. Given the existing difficulties in halting or reverting morphologic changes, it is fundamental to prevent lipodystrophy by avoiding thymidine analogs or proactively switching them if the patient is already taking them. In patients reluctant to change their current regimen including thymidine analogs due to good tolerance, it could be useful to perform a DXA scan to see if the patient has lost peripheral fat, which would be an important argument in favor of the switch.

Acknowledgements

The authors thank Anthony Curran for English language editing.

Declaration of interest

This work has been supported by grant 36274/02 from FIPSE and by a grant from the Red Temática de Investigación en SIDA (RIS G03/173-RETIC RD06/006). The authors state no conflict of interest and have received no payment in preparation of this manuscript.

Bibliography

- Carr A, Samaras K, Burton S, et al. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS* 1998;12:F51-8
- Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular risk and body-fat abnormalities in HIV-infected adults. *N Engl J Med* 2005;352:48-62
- Bernasconi E, Boubuker K, Jarugula C, et al. Abnormalities of body fat distribution in HIV-infected persons treated with antiretroviral drugs. The Swiss HIV Cohort Study. *J AIDS* 2002;37:50-5
- Miller J, Carr A, Emery S, et al. HIV lipodystrophy: prevalence, severity and correlates of risk in Australia. *HIV Med* 2003;4:293-301
- Bacchuzzi P, Gröppelner B, Grafeld C, et al. Fat distribution in men with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40:121-31
- Carr A, Samaras K, Chisholm DJ, Cooper DA. Pathogenesis of HIV-1-protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia, and insulin resistance. *Lancet* 1998;351:1881-3
- Saini-Mac T, Partisani M, Poizat-Martin L, et al. A syndrome of peripheral fat wasting (lipodystrophy) in patients receiving long-term nucleoside analogue therapy. *AIDS* 1999;13:1659-67
- Mullal SA, John M, Moore CB, et al. Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection. *AIDS* 2000;14:1309-16
- Carr A, Miller J, Law M, et al. A syndrome of lipodystrophy, lactic acidemia and liver dysfunction associated with HIV nucleoside analogue therapy: contribution to protease inhibitor-related lipodystrophy syndrome. *AIDS* 2000;14:F25-32
- Jacobson DL, Kuz T, Spingelman D, et al. Prevalence, evolution, and risk factors for fat atrophy and fat deposition in a cohort of HIV-infected men and women. *Clin Infect Dis* 2005;40:1837-45
- Lichtenstein KA, Delaney KM, Aronson C, et al. Incidence of and risk factors for lipodystrophy (abnormal fat loss) in ambulatory HIV-1 patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;32:48-56
- Galli MC-LA, Ridolfo AL, Geravani C, et al. Incidence of adipose tissue alterations in first-line antiretroviral therapy. *Arch Intern Med* 2002;162:2621-8
- Chene G, Anglini E, Coste L, et al. Role of long-term nucleoside analogue therapy in lipodystrophy and metabolic disorders in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis* 2002;34:649-57
- Boegler JR, Vielhaus V, Beckmann RA, et al. Stavudine versus zidovudine and the development of lipodystrophy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;27:237-44
- Mulligan K, Parker RA, Komarow L, et al. Mixed patterns of changes in central and peripheral fat following initiation of antiretroviral therapy in a randomized trial. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;41:590-7
- Tien PC, Schneider MF, Cole SR, et al. Relation of stavudine discontinuation to anthropometric changes among HIV-infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;44:43-8
- Brickman K, Sereiskii JA, Ravnitz JA, et al. Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy. *Lancet* 1999;354:1112-15
- Kakuda TN. Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitor-induced mitochondrial toxicity. *Clin Ther* 2000;22:685-708
- Nolan D, Hammond E, James I, et al. Contribution of nucleoside-analogue reverse transcriptase inhibitor therapy to lipodystrophy from the population to the cellular level. *Antivir Ther* 2003;8:617-26
- Feng JY, Johnson AA, Johnson KA, Anderson KS. Insights into the molecular mechanism of mitochondrial toxicity by AIDS drugs. *J Biol Chem* 2001;276:23832-7
- Birkus G, Fitzhock MJ, Ciblar T. Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antiviral Agents Chemother* 2002;46:716-23
- Cote HC, Brumme ZL, Craib KJ, et al. Changes in mitochondrial DNA as a marker of nucleoside toxicity in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2002;346:811-20
- Chaplain JM, Beilert J, Bague JM, et al. Mitochondrial abnormalities in HIV-infected lipodystrophic patients treated with antiretroviral agents. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;37:1477-88
- Feeney ER, Mallon PWW. Impact of mitochondrial toxicity of HIV-1 antiretroviral drugs on lipodystrophy and metabolic dysregulation. *Curr Pharm Des* 2010. [Epub ahead of print]
- Cassatini O, Latte MC, Iamete L, et al. Early effects of AZT on mitochondrial functions in rat myotubes. *Biochem Pharmacol* 2001;62:893-902
- Caton M, Anzlar M, Lagathu C, et al. The HIV-1 nucleoside reverse transcriptase inhibitors stavudine and zidovudine alter adipocyte functions in vivo. *AIDS* 2004;18:2127-36
- Nolan D, Hammond E, Martin A, et al. Mitochondrial DNA depletion and morphologic changes in adipocytes associated with nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy. *AIDS* 2005;17:1529-38
- Villarroya F, Domingo P, Giralt M. Drug-induced lipotoxicity: lipodystrophy associated with HIV-1 infection and antiretroviral treatment. *Biochim Biophys Acta* 2010;1801:392-9
- Caton-Dehaule M, Baccata F, Lagathu C, et al. Adipose tissue as a target of HIV-1 antiretroviral drugs. Potential consequences on metabolic regulation. *Curr Pharm Des* 2010. [Epub ahead of print]

From old to new NRTIs

30. van der Valk M, Casals M, Weverling GJ, et al. Prevalence of lipotrophy and mitochondrial DNA content of blood and subcutaneous fat in HIV-1-infected patients randomly allocated to zidovudine- or stavudine-based therapy. *Antivir Ther* 2004;9:385-93
31. Joly V, Plaudre P, McElreedy V, et al. Increased risk of lipotrophy under stavudine in HIV-1-infected patients: results of a substudy from a comparative trial. *AIDS* 2002;16:2447-54
32. Gallant JE, Staszewski S, Puntiak AL, et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naïve patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2006;295:191-201
33. Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006;354:251-60
34. Boothby M, McGee KC, Tomlinson JW, et al. Adipocyte differentiation, mitochondrial gene expression and fat distribution: differences between zidovudine and tenofovir after 6 months. *Antivir Ther* 2009;14:1089-100
35. Podanecor D, Ferrer E, Sanchez P, et al. Less lipotrophy and better lipid profile with abacavir as compared to stavudine: 96-week results of a randomized study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;44:139-47
36. Shlay JC, Vinagarwalla F, Bartsh G, et al. Body composition and metabolic changes in antiretroviral-naïve patients randomized to didanosine and stavudine vs. abacavir and lamivudine. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;38:147-55
37. Hoffmann CJ, Charalambous S, Fielding KL, et al. HIV suppression with stavudine 30 mg versus 40 mg in adults over 60 kg on antiretroviral therapy in South Africa. *AIDS* 2009;23:1784-6
38. McCancey GA, Lu R, V, O'Riordan M, et al. Effect of reducing the dose of stavudine on body composition, bone density, and markers of mitochondrial toxicity in HIV-infected subjects: a randomized, controlled study. *Clin Infect Dis* 2008;46:1290-6
39. Sanchez-Conde M, de Mendaza C, Jimenez-Nacher I, et al. Reductions in stavudine dose might ameliorate mitochondrial-associated complications without compromising antiviral activity. *HIV Clin Trials* 2009;6:197-202
40. van Vonderen MG, van Agtassel MA, Hantink EA, et al. Zidovudine/lamivudine for HIV-1 infection contributes to limb fat loss. *PLoS One* 2009;4:e3647
41. Riddler SA, Haubrich R, DiRienzo AG, et al. Class-sparing regimens for initial treatment of HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2008;358:2095-106
42. Tebas P, Zhang J, Yanahski K, et al. Switching to a protease inhibitor-containing, nucleoside-sparing regimen (lopinavir/ritonavir plus efavirenz) increases limb fat but raises serum lipid levels: results of a prospective randomized trial (AIDS clinical trial group 5125). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;45:193-200
43. Davrier C, Ghosn J, Assoumou L, et al. Initial therapy with nucleoside reverse transcriptase inhibitor-containing regimens is more effective than with regimens that spare them with no difference in short-term fat distribution. *Hippocampe-ANRS 121 Trial*. *J Antimicrob Chemother* 2008;62:797-808
44. Carr A, Workman C, Smith DE, et al. Abacavir substitution for nucleoside analogs in patients with HIV lipotrophy: a randomized trial. *JAMA* 2002;288:207-15
45. Marin A, Smith DE, Carr A, et al. Reversibility of lipotrophy in HIV-infected patients 2 years after switching from a thymidine analogue to abacavir: the MITOX Extension Study. *AIDS* 2004;18:1029-36
46. McCancey GA, Ward DJ, Hosenchule SM, et al. Improvement in lipotrophy associated with highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-infected patients switched from stavudine to abacavir or zidovudine: the results of the TARIHEEL study. *Clin Infect Dis* 2004;38:263-70
47. Tebas P, Zhang J, Hafner R, et al. Peripheral and visceral fat changes following a treatment switch to a non-thymidine analogue or a nucleoside-sparing regimen in HIV-infected subjects with peripheral lipotrophy: results of ACTG A5110. *J Antimicrob Chemother* 2009;63:998-1005
48. Madruga JR, Caseri I, Salzman JM, et al. The safety and efficacy of switching stavudine to tenofovir DF in combination with lamivudine and efavirenz in HIV-1-infected patients: three-year follow-up after switching therapy. *HIV Clin Trials* 2007;8:381-90
49. Anarwanich J, Nuesch B, Cox HC, et al. Changes in metabolic toxicity after switching from stavudine/didanosine to tenofovir/lamivudine—a Staccato trial substudy. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:1340-3
50. Mirkovic A, Martinez E, Lopez S, et al. The impact of reducing stavudine dose versus switching to tenofovir on plasma lipids, body composition and mitochondrial function in HIV-infected patients. *Antivir Ther* 2007;12:407-15
51. Ribera E, Paradelo JC, Carran A, et al. Improvements in subcutaneous fat, lipid profile, and parameters of mitochondrial toxicity in patients with peripheral lipotrophy when stavudine is switched to tenofovir (LIPOTEST Study). *HIV Clin Trials* 2008;9:497-17
52. Ribera E, Martinez E, Clotet B, et al. 72 week outcomes following switch from AZT/3TC to FTC/TDF (TVD) vs continuing on AZT/3TC. Final results of the RECOMB trial (abstract CDB091). 5th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention; 19 - 22 July 2009; Cape Town, South Africa
53. Fisher M, Moyle GJ, Shahmanesh M, et al. A randomized comparative trial of continued zidovudine/lamivudine or replacement with tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine in efavirenz-treated HIV-1-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;51:562-8
54. Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J, et al. A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipotrophy. *AIDS* 2006;20:2043-50
55. Martinez E, Arana JA, Podanecor D, et al. A simplification trial switching from nucleoside reverse transcriptase inhibitors to once-daily fixed-dose

- abacavir/lamivudine or zidovudine/emtricitabine in HIV-1-infected patients with virological suppression. J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;51:290-7
56. Curran A, Barragan P, Lopez M, et al. Long-term changes in body fat and bone mass density after switching from nucleoside reverse transcriptase inhibitors to fixed-dose zidovudine/emtricitabine or abacavir/lamivudine [abstract 17]. 10th International Workshop on Adverse Drug Reactions and Lipodystrophy in HIV, 6 - 8 November 2008, London, UK
 57. Martin A, Bloch M, Amin J, et al. Simplification of antiretroviral therapy with zidovudine-emtricitabine or abacavir-lamivudine: a randomized, 96-week trial. *Clin Infect Dis* 2009;49(11):1591-601
 58. Hoy JF, Gahan ME, Carr A, et al. Changes in mitochondrial DNA in peripheral blood mononuclear cells from HIV-infected patients with lipodystrophy randomized to receive abacavir. *J Infect Dis* 2004;190:608-92
 59. McCoskey GA, Paulsen DM, Lantieri JT, et al. Improvements in lipodystrophy, mitochondrial DNA levels and fat apoptosis after replacing stavudine with abacavir or didanosine. *AIDS* 2005;19:15-23
 60. Llibre JM, Domingo P, Palacios R, et al. Sustained improvement of dyslipidaemia in HAART-treated patients replacing stavudine with zidovudine. *AIDS* 2006;20:1407-14
 61. Valantin MA, Bizet R, de Tranchis P, et al. Switching the nucleoside reverse transcriptase inhibitor backbone to tenofovir disoproxil fumarate + emtricitabine propepty improves triglycerides and low-density lipoprotein cholesterol in dyslipidaemic patients. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:556-61
 62. World Health Organization: antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents. Recommendations for a public health approach. 2010 revision. Geneva: World Health Organisation; 2010. Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599764_eng.pdf [Accessed at 27 August 2010]
 63. Hill A, Rasmussen K, Hovanich M, et al. Systematic review of clinical trials evaluating low doses of stavudine as part of antiretroviral treatment. *Expert Opin Pharmacother* 2007;8:679-88
 64. Motrono S, Lopez Aldaguer J, Arribas JR, et al. The future of antiretroviral therapy: challenges and needs. *J Antimicrob Chemother* 2010;65:827-35
 65. Bonnet E, Delpiere C, Sommer A, et al. Total body composition by DEXA of 241 HIV-negative men and 162 HIV-infected men. Proposal of reference values for defining lipodystrophy. *J Clin Densitom* 2005;8:287-92
 66. Podzamiec D, Ferrer E, Martinez E, et al. How much fat loss is needed for lipodystrophy to become clinically evident? *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009;25:563-7
 67. McCoskey G, Kitch D, Daar E, et al. Bone and limb fat outcomes of ACTG A5224, a substudy of ACTG A5202: a prospective, randomized, partially blinded phase III trial of ABC/3TC vs TDF/FTC with EFV or ATV/r for initial treatment of HIV-1 infection [abstract 1061B]. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections Feb 27 - March 2 2010, San Francisco, CA
 68. Vongchareun S, Carron M, Auclair M, et al. Mitochondrial toxicity of didanosine, stavudine and zidovudine involves multiple cellular targets in white and brown adipocytes. *Antivir Ther* 2007;12:919-29
 69. Maagaard A, Holberg-Petersen M, Kolberg G, et al. Mitochondrial (mt) DNA changes in tissue may not be reflected by depletion of mtDNA in peripheral blood mononuclear cells in HIV-infected patients. *Antivir Ther* 2006;11:601-8
 70. Tungviripat M, Kitch D, Globy MJ, et al. A pilot study to determine the impact on dyslipidemia of adding tenofovir to stable background antiretroviral therapy: ACTG 5206. *AIDS* 2010;24:1781-4
 71. Aitong E, Danson-Martin J, Seibing N, et al. Efficacy and safety of raltegravir in the treatment of lipodystrophy syndromes. *Ann Intern Med* 2006;135:263-74
 72. Carr A, Workman C, Carey D, et al. No effect of rosiglitazone for treatment of HIV-1 lipodystrophy: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2004;363:429-38
 73. Cavolani RB, Raboud J, Shen S, et al. A randomized, placebo-controlled trial of rosiglitazone for HIV-related lipodystrophy. *J Infect Dis* 2007;195:1754-61
 74. Hadjigeorgidis C, Yewens S, Thomas A, et al. Metabolic effects of rosiglitazone in HIV lipodystrophy: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 2004;140:786-94
 75. Shawa L, Lanoy E, Valantin MA, et al. Effect of pioglitazone on HIV-1-related lipodystrophy: a randomized double-blind placebo-controlled trial (ANRS 113). *Antivir Ther* 2008;13:67-76
 76. Tungviripat M, Bejani DE, Risk N, et al. Rosiglitazone improves lipodystrophy in patients receiving thymidine-sparing regimens. *AIDS* 2010;24:1291-8
 77. Raboud J, Dieng C, Carr A, et al. A meta-analysis of six placebo-controlled trials of thiazolidinedione therapy for HIV lipodystrophy. *HIV Clin Trials* 2010;11:39-50
 78. Walker UA, Vemhoff N. Uridine in the prevention and treatment of NRTI-related mitochondrial toxicity. *Antivir Ther* 2005;10(Suppl 2):M117-23
 79. Calvey A, Bloch M, Wand H, et al. No significant effect of uridine or prazavatin treatment for HIV lipodystrophy in men who have ceased thymidine analogue nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy: a randomized trial. *HIV Med* 2010;11:495-501
 80. McCoskey GA, Walker UA, Budharhali CB, et al. Uridine supplementation in the treatment of HIV lipodystrophy: results of ACTG 5229. *AIDS* 2010;24:2507-15
 81. Valantin MA, Aubron-Olivier C, Ghosn J, et al. Poly(lactic acid) implants (New-Fill) to correct facial lipodystrophy in HIV-infected patients: results of the open-label study VEGA. *AIDS* 2003;17:2471-7
 82. Mayle GJ, Lysakov I, Brown S, et al. A randomized open-label study of immediate versus delayed poly(lactic acid)

From old to new NRTIs

injections for the cosmetic management of facial lipotrophy in persons with HIV infection. HIV Med 2004;5:82-7

83. Guaraldi G, Orlando G, De Fazio D, et al. Comparison of three different interventions for the correction of HIV-associated facial lipotrophy: a prospective study. *Antivir Ther* 2009;10:753-8

Affiliation

Adrian Carrón¹ MD & Esteban Ribera MD PhD
¹Author for correspondence
Infectious Diseases Department,
Hospital Universitari Vall d'Hebron,
Institut de Recerca (VHER),
Universitat Autònoma de Barcelona,
Passig Vall d'Hebron 119-129,
08035 Barcelona, Spain
Tel: +34 93274 6090; Fax: +34 93489 4091;
E-mail: acarran@vhebron.net

7 DISCUSIÓN

Los cambios en la composición corporal en el paciente con infección por el VIH pueden manifestarse de múltiples formas y en su aparición están implicados el virus, factores del huésped y el tratamiento antirretroviral. Son de los efectos adversos más temidos, por las importantes implicaciones estéticas (que pueden afectar seriamente a la calidad de vida del paciente e incluso la adherencia al tratamiento) y porque además pueden conllevar consecuencias a largo plazo como alteraciones metabólicas o un aumento de las fracturas que condicionan una importante morbi-mortalidad. La importante disminución de la mortalidad y la consiguiente longevidad que se ha logrado con el TAR ha condicionado la eclosión de nuevas patologías, tales como las alteraciones de la grasa corporal y óseas, agravadas por el efecto de la edad.

En los trabajos que conforman esta tesis doctoral se ha estudiado la implicación de fármacos de distintas familias en la aparición o reversión de alteraciones de la composición corporal, tanto en grasa como en hueso. En el artículo de revisión se analizan muchos de los estudios que se han descrito en la Introducción y otros que aparecen en la Discusión, dando una idea global de los datos disponibles sobre la lipodistrofia y recomendaciones sobre el manejo en la práctica clínica diaria del paciente con infección por el VIH y alteraciones de la composición corporal.

Para facilitar la discusión, se seguirá con la estructura propuesta en los objetivos de cada uno de los trabajos.

7.1 TOX-BICOMBO

En una serie de estudios tanto *in vitro* como *in vivo* que ya se han comentado en la Introducción y se han descrito en detalle en el artículo de revisión incluido en esta tesis [166], se observó que los antiguos ITIAN (incluyendo ddl y los análogos de timidina AZT y d4T) presentaban una mayor toxicidad sobre la grasa que fármacos más nuevos, con mayor incidencia y prevalencia de lipodistrofia, básicamente de lipoatrofia en extremidades. Esto se vio en pacientes *naïve* comparando directamente AZT o d4T con ABC [113] o con TDF [46, 47]. También se observó en pacientes pre-tratados, en que se cambiaban los ITIAN más tóxicos a ABC [115-117] o TDF [103, 118-122], con reversión parcial de la lipodistrofia o al menos deteniendo la progresión de la misma. En este escenario se incluyen el estudio LIPOTEST [103], de cambio de d4T a TDF, y el estudio RECOMB [121], cambiando AZT/3TC por TDF/FTC, en los que el doctorando ha participado activamente dentro de la misma línea de investigación de toxicidad del TAR y por tanto se adjuntan como anexos a la presente tesis doctoral.

Gracias a la menor toxicidad y a la mejor posología, ABC y TDF pasaron a convertirse en los ITIAN de primera elección, asociados a 3TC o FTC en co-formulación. No obstante, quedaba por definir si existían diferencias entre ABC y TDF respecto a los cambios en la composición corporal, a parte de tener en cuenta la eficacia o la seguridad.

7.1.1 Cambios de la grasa en extremidades

Respecto al objetivo principal de este sub-estudio, el análisis de los cambios de la grasa en extremidades comparando ABC/3TC y TDF/FTC, no se observaron diferencias significativas entre ambas combinaciones.

El estudio se diseñó a 96 semanas para dar tiempo a la recuperación del tejido adiposo tras el cambio de ITIAN, y este es un punto fuerte del estudio. Además, como objetivo secundario del estudio también se analizaban los cambios a las 48 semanas, para valorar si la recuperación de la grasa era más o menos precoz. Muchos de los estudios previos realizaban un seguimiento a 48 semanas, que puede haber sido insuficiente. En los estudios en que se alargó el seguimiento, como el MITOX [167] o la extensión del 903 [118], se observó que los cambios en la grasa continuaban tras el primer año.

En nuestro estudio, tras 48 semanas no se observaron cambios significativos en la grasa de extremidades ni dentro de cada rama ni entre ramas de tratamiento. A las 96 semanas se observó un incremento de la grasa en extremidades de +337 g (+7.6%) con TDF/FTC, que no llegó a alcanzar significación estadística, y de +756 g (+12.1%) con ABC/3TC ($p=0.02$), sin diferencias significativas entre grupos.

Los pacientes incluidos en el estudio cumplían inicialmente la definición de lipodistrofia, con 5.1 kg de grasa de mediana en extremidades (muy por debajo de los 7.2 kg que se considera la media “normal” de los pacientes sin infección por VIH [168]) y un FMR de 1.73 (por encima de 1.5 según la definición de Bonnet y colaboradores [106]). Aunque las diferencias en el momento de inclusión no fueron estadísticamente significativas entre grupos, los pacientes aleatorizados a ABC/3TC tenían mayor contenido de grasa en extremidades que los de TDF/FTC (5.5 Kg vs 4.3 Kg, $p=0.091$). Esto podría traducir reservas de tejido adiposo menos deplecionadas y con mayor capacidad de recuperación en el grupo de ABC/3TC. En

el estudio RECOMB [121] la cantidad de grasa en extremidades en el momento basal (< o > a 7.2 kg) se relacionó con la ganancia de grasa, siendo significativamente mayor en los pacientes con menor cantidad de grasa. En cambio, en el estudio SWEET [122] los pacientes con menor cantidad de grasa presentaban menores ganancias, de forma parecida a lo que encontramos en nuestro estudio. La combinación de ITIAN que el paciente estaba tomando en el momento de la inclusión también puede jugar un papel importante y estar relacionada con la cantidad de grasa basal. A pesar de la aleatorización, más pacientes del grupo de TDF/FTC estaban recibiendo análogos de timidina basalmente y más pacientes del grupo de ABC/3TC provenían de una pauta con ddl+3TC. Como se ha comentado en la Introducción, la toxicidad de los distintos ITIAN es tejido-específica: con los análogos de timidina la toxicidad es predominantemente sobre el tejido adiposo [42, 60], mientras que con el ddl es mayor sobre los hepatocitos [25, 61-63]. Esto también podría explicar una menor recuperación de grasa en el grupo de TDF/FTC, porque los adipocitos estuvieran más afectados por AZT o d4T.

Al analizar los cambios en la grasa de extremidades en los pacientes que tomaban previamente análogos de timidina (respecto a los que no los tomaban), se vio que ya presentaban un incremento significativo a las 48 semanas, independientemente del tratamiento asignado, y que ésta seguía aumentando a las 96 semanas. En cambio, los pacientes que recibían previamente ABC, TDF o ddl no presentaron incremento significativo de grasa a las 48 o 96 semanas (lo que apoyaría la menor toxicidad del ddl sobre el adipocito). Por tanto, los cambios observados en nuestro estudio son fundamentalmente debidos al aumento de la grasa al pasar de un análogo de timidina a ABC o TDF, sin diferencias entre estos dos fármacos en el resultado final.

Si comparamos los resultados del objetivo principal de nuestro estudio con los de otros estudios recientes en pacientes pre-tratados, vemos que son concordantes y parecidos en magnitud. En el estudio RAVE [169] se sustituía de forma aleatorizada d4T o AZT por ABC o TDF (sin utilizar combinaciones a dosis fijas) en pacientes con lipodistrofia clínicamente evidente. La recuperación de grasa en extremidades tras 48 semanas fue de 329 g en la rama de TDF y 483 g en la de ABC. Los incrementos fueron significativos con los dos fármacos, mayores en los pacientes que tomaban previamente d4T, mientras que no hubo diferencias entre ABC o TDF. El estudio STEAL [170] tenía un diseño muy parecido al BICOMBO, aleatorizando pacientes que estaban recibiendo un tercer fármaco y dos ITIAN (que incluían TDF o ABC en un 50% de los pacientes) a cambiar los dos ITIAN por una combinación a dosis fijas de ABC/3TC o TDF/FTC, con un seguimiento a 96 semanas. A las 48 y 96 semanas se observaron unas ganancias de grasa en extremidades (que basalmente era de unos 5.5 Kg) de 300 y 530 g con ABC/3TC y de 190 y 420 g con TDF/FTC, sin diferencias entre grupos.

Posteriormente han aparecido estudios que comparan las combinaciones a dosis fijas de ABC/3TC y TDF/FTC en pacientes *naive* [171, 172], pero el único que analiza la composición corporal es el ACTG 5224s (sub-estudio del ACTG 5202) [165]. Este sub-estudio además de comparar las dos combinaciones a dosis fijas de ITIAN también comparaba el tercer fármaco, en este caso EFV y ATV/r. Uno de los dos objetivos primarios era la prevalencia de lipoatrofia (definida como pérdida de grasa superior al 10% respecto al basal en extremidades) y como objetivos secundarios también se analizaban los cambios en la cantidad de grasa de extremidades y el VAT tras 96 semanas. La incidencia de lipoatrofia tras 96 semanas fue de 17.6% con ABC/3TC y 14.9% con TDF/FTC, sin diferencias significativas

entre tratamientos. Esta elevada cifra es debida al punto de corte del 10% escogido por los investigadores y disminuía al 4.9% en ambos grupos si se establecía un punto de corte del 20% respecto al basal. Al analizar los cambios en la grasa de extremidades, se vio un incremento significativo en todas las ramas, lo que denota una recuperación de tejido adiposo al detener la replicación del VIH (al realizar un estudio multivariante se vio que la carga viral basal más elevada se relacionaba con una mayor recuperación de grasa). No se observaron diferencias significativas según la pareja de ITIAN mediante un análisis por intención de tratar (incremento de 1.66 kg [24.9%] con ABC/3TC y 1.11 kg [20.9%] con TDF/FTC) pero sí en un análisis por tratamiento, en que el incremento absoluto de grasa en extremidades fue mayor con ABC/3TC (diferencia de 0.88 kg [IC95% 0.14–1.61; p=0.019] respecto TDF/FTC).

Así pues, en el RAVE y el STEAL se observan los mismos hallazgos que en el TOX-BICOMBO: cierta recuperación de grasa en extremidades tras el cambio, sin diferencias entre ambas combinaciones a dosis fijas pero con una tendencia a un mayor incremento con ABC/3TC. El ACTG 5224s muestra que en pacientes *naive* se producen cambios en el mismo sentido, pero de mayor magnitud. En los estudios de simplificación los pacientes modifican el TAR con supresión virológica, por lo que en los cambios que observamos apenas juega ningún papel el VIH. Los factores inherentes al huésped tampoco cambian significativamente, por lo que se evalúa principalmente el impacto de los distintos antirretrovirales (los inmediatamente previos y la exposición acumulada en el tiempo). En cambio, en los estudios en pacientes *naive* también están implicados factores del huésped y de la replicación del VIH y no hay exposición acumulada a fármacos antirretrovirales, por lo que los cambios que medimos son debidos a ABC/3TC o TDF/FTC. Además, los ITIAN van acompañados de un tercer fármaco, que puede también estar implicado en cambios

de la composición corporal (que discutiremos más adelante, con el estudio SPIRAL-LIP). Evaluar la implicación del tercer fármaco en la aparición de lipoatrofia es muy difícil en el estudio TOX-BICOMBO, puesto que el 89% de los pacientes estaba con un ITINAN y por tanto el subgrupo de pacientes con IP/r es muy pequeño para hacer comparaciones. Además, la heterogeneidad de las combinaciones de TAR hace que la comparación esté afectada por múltiples factores de confusión. No obstante, éste no era uno de los objetivos de nuestro estudio, puesto que el tercer fármaco no se modificó y por tanto no era esperable que los cambios observados en la grasa de extremidades fueran debidos a éste.

Una de las limitaciones del TOX-BICOMBO, que comparte con el STEAL, es que el paciente podía estar tomando ABC o TDF en el momento de inclusión. Esto puede haber minimizado la recuperación de grasa, y así se evidencia al excluir del análisis los pacientes que recibían previamente alguno de estos dos ITIAN. Otra limitación, de la que adolecen los tres estudios de simplificación comentados, es que se tiene en cuenta el TAR inmediatamente anterior al cambio pero no la exposición acumulada a los distintos antirretrovirales, lo que puede suponer un sesgo, aunque minimizado en parte gracias al diseño aleatorizado. Todos los pacientes que participaron en el estudio TOX-BICOMBO excepto 5 (3 de ABC/3TC y 2 de TDF/FTC) habían recibido análogos de timidina en algún momento de su historial terapéutico, aunque no está recogido ni cuándo ni durante cuánto tiempo. Tampoco se ajusta el análisis por variables que podrían afectar a la composición corporal, como pueden ser la dieta o el ejercicio, pero al tratarse de estudios longitudinales en que se sigue a los mismos pacientes sin haber realizado ninguna acción a parte de modificar la pareja de ITIAN, no es esperable que estos factores influyan significativamente en el resultado final.

Otra limitación es el número relativamente pequeño de pacientes incluidos, además de los 11 que no finalizan el estudio (que supone un 19% del total). No obstante, no hay diferencias significativas en las características basales entre los pacientes que completan y los que no completan el estudio y las pérdidas están bien distribuidas entre los dos grupos. Sin pretender que sirva de justificación, la tasa de abandonos en otros estudios comentados era incluso más elevada (25% en el ACTG 5224s y 28% en el ASSERT) [165, 171]. Esto da una idea de la dificultad de seguir durante tanto tiempo a estos pacientes, especialmente si el seguimiento precisa realizar exploraciones complementarias como DXAs o TCs.

El manejo del paciente que presenta pérdida de grasa en extremidades es complejo. En el paciente *naive*, con los conocimientos que tenemos hoy en día, queda claro que debemos evitar los análogos de timidina. Las opciones de ITIAN se deberían reducir a ABC/3TC o TDF/FTC.

En caso de que el paciente esté recibiendo un TAR que contenga un análogo de timidina y no presente lipoatrofia clínicamente evidente, debemos realizar un cambio de los fármacos potencialmente tóxicos de forma pro-activa. Cuando la lipoatrofia se hace evidente ya se ha perdido al menos un 30% de la grasa [94] y es muy difícil recuperarla, por lo que debemos actuar antes. A veces al paciente es reacio a cambiar un tratamiento que ha tomado durante años con buena eficacia terapéutica y sin efectos secundarios aparentes. En estos casos puede ayudar realizar una prueba de imagen como por ejemplo una DXA para cuantificar la grasa en extremidades, siendo útil para tomar decisiones y para el seguimiento posterior. En caso de que el paciente presente lipoatrofia franca, probablemente la recuperación sólo será parcial. Tanto si existe lipoatrofia evidente como si no, es importante suspender el análogo de timidina. Con los resultados de los distintos

estudios, incluido el nuestro, podemos concluir que desde el punto de vista de la composición grasa es probablemente indistinto cambiar a cualquiera de las dos opciones (ABC/3TC o TDF/FTC). En ocasiones no es posible este cambio, por ejemplo por resistencia a 3TC/FTC. La reducción de dosis de d4T, que se había investigado en un pasado no muy lejano de forma parecida a lo que se había hecho con AZT para disminuir la toxicidad manteniendo la eficacia [120, 173, 174], es totalmente indefendible con las opciones terapéuticas de que disponemos hoy en día, incluso en países en vías de desarrollo. Se podría administrar conjuntamente ABC y TDF como pareja de ITIAN, pero no hay estudios satisfactorios con esta combinación. También se pueden construir regímenes de tres fármacos con TDF o ABC y algunas de las nuevas opciones de que disponemos actualmente. Finalmente cada vez tenemos más datos con terapias libres de análogos, tanto en monoterapia como biterapia. La simplificación a monoterapia con darunavir (DRV)/r o LPV/r ha demostrado eficacia virológica, aunque únicamente están recomendados como alternativa en ciertas guías [2, 3]. Los datos referentes a composición corporal con monoterapia se reducen al estudio MONOI, observando un mayor aumento de grasa en extremidades con la monoterapia con DRV/r comparado con TDF/FTC+DRV/r durante el primer año, pero sin diferencias significativas al final del segundo año [175]. Respecto a la biterapia, existen datos de eficacia con combinaciones de LPV/r con EFV o NVP, observando un mayor aumento de la grasa total y en extremidades que con las pautas comparadoras estándar, pero con un peor perfil lipídico [172, 176, 177]. Más recientemente han aparecido estudios combinando IP/r con fármacos de nuevas familias como inhibidores de la integrasa o antagonistas del CCR5, con resultados dispares en cuanto a eficacia y seguridad [178, 179].

A parte de modificar el TAR, se han estudiado otros fármacos que puedan ser útiles en la lipoatrofia, como las tiazolidinodionas [180, 181], la metformina [182, 183] o la uridina [184, 185], con resultados discordantes y a menudo con efectos secundarios notables. Como última opción tenemos la cirugía. La más frecuente es la cirugía reparadora a nivel facial, con infiltración de grasa autóloga o de materiales sintéticos reabsorbibles (ácido poliláctico-Sculptra[®], hidroxiapatita-Radiesse[®]) o permanentes (derivados poliacrilamídicos-Aquamid[®]). Se trata de cirugía ambulatoria con escasas complicaciones, entre las que se encuentran la hiperemia local, la infección o la formación de nódulos [186]. También se ha realizado corrección quirúrgica de la lipoatrofia a nivel de nalgas, con colocación de implantes de silicona. Es mucho más complicado corregir la lipoatrofia de las extremidades mediante cirugía, infiltrando material sintético permanente, con malos resultados y mayor morbilidad [187]. No obstante, debemos remarcar que con la cirugía se corrige parcialmente el aspecto físico del paciente pero no las otras complicaciones asociadas a la lipodistrofia.

7.1.2 Cambios de la grasa total y en tronco

Con TDF/FTC se observó una pérdida de grasa total de 130 g (-0.7%) y una pérdida de grasa truncal de 370 g (-4.2%). Por el contrario, con ABC/3TC se observaron incrementos de grasa en ambos compartimentos (grasa total: 1779 g [+12.1%] y grasa en tronco: 1184 g [+10.6%]). En el tronco, las diferencias entre ABC/3TC y TDF/FTC fueron estadísticamente significativas en cuanto al porcentaje de cambio ($p=0.044$) y casi significativas en la diferencia de valores absolutos ($p=0.075$). En cambio, las diferencias en la grasa total entre tratamientos no fueron significativas.

Nos podemos plantear si la mayor acumulación de grasa a nivel de tronco con ABC/3TC, estadísticamente significativa, tiene un efecto positivo o negativo. En nuestro estudio no se realizó una TC abdominal, puesto que al modificar sólo los ITIAN se esperaban encontrar cambios a nivel de la grasa de extremidades pero no a nivel de tronco, y por tanto no podemos saber si este aumento de grasa truncal es a expensas de SAT o VAT. Si se tratara de un aumento de SAT podría ser positivo, al traducir una recuperación de los depósitos de grasa a nivel subcutáneo de forma global (como también se observa a nivel de extremidades). En cambio, si el aumento de grasa en tronco fuese sobre todo a expensas de VAT podría tener un efecto deletéreo. Los cambios en el VAT y sus implicaciones metabólicas se discutirán más extensamente con el estudio SPIRAL-LIP (puesto que era el objetivo principal de dicho estudio), pero como resumen podemos apuntar que el aumento de VAT se ha asociado a un incremento del riesgo cardiovascular [9]. En el estudio RAVE, en el que sí se realizó una TC, se observó que los cambios de la grasa de tronco tuvieron lugar predominantemente a nivel de SAT, sin cambios significativos en VAT. En ese estudio la grasa de tronco aumentó a las 48 semanas de forma parecida con ABC (618 g) y TDF (607 g) [169]. En el estudio STEAL no informan sobre cambios de la grasa en tronco. Respecto a la grasa total, se observaron a las 48 y 96 semanas unas ganancias de 640 g y 1420 g con ABC/3TC y 430 g y 1120 g con TDF/FTC, sin diferencias entre grupos [170]. En el estudio ACTG 5224s también se observó un aumento significativo de la grasa en tronco en todas las ramas de tratamiento, sin diferencias entre las parejas de ITIAN [165].

7.1.3 Cambios en el *Fat Mass Ratio*

El TOX-BICOMBO es el primer estudio aleatorizado que utiliza el FMR para comparar dos opciones terapéuticas. El FMR se desarrolló para disponer de una herramienta simple y objetiva para definir la lipodistrofia, facilitando su diagnóstico precoz. Al poderse cuantificar permite establecer valores de referencia y realizar el seguimiento evolutivo de los pacientes [106]. El inconveniente principal del FMR es que no permite diferenciar entre lipoatrofia y lipohipertrofia cuando está alterado, puesto que para su cálculo se utiliza el cociente entre el porcentaje de grasa de tronco y el de las piernas. Otro inconveniente es que los valores de referencia tanto para la población general como para los pacientes con infección por VIH no están validados [107].

En el momento de inclusión, el FMR era de 1.38 en los pacientes aleatorizados a ABC/3TC y de 1.99 en los pacientes aleatorizados a TDF/FTC. Tras 96 semanas se observó un descenso significativo del FMR en la rama de TDF/FTC, mientras que no hubo prácticamente cambios con ABC/3TC. Esto es debido a que con ABC/3TC aumentó la grasa en tronco y extremidades, por lo que el FMR no se alteró, mientras que con TDF/FTC disminuyó la grasa en tronco y aumentó en extremidades, disminuyendo por tanto el FMR. Las diferencias entre ABC/3TC y TDF/FTC no fueron significativas. Posiblemente este patrón de redistribución de la grasa con TDF/FTC es más deseable desde el punto de vista metabólico, pero nuestro estudio no está diseñado para contestar a esta cuestión.

De cara a conocer la utilidad real de este parámetro o saber si existe algún otro cociente con mejor capacidad diagnóstica o predictiva serán necesarios más estudios, con mayor número de pacientes y seguimiento a más largo plazo.

7.1.4 Cambios en el ADNmt de PBMC

El TOX-BICOMBO es el primer estudio *in vivo* en que se analiza la evolución del ADNmt comparando ABC/3TC y TDF/FTC. Dado el bajo perfil de toxicidad mitocondrial de estos fármacos [61] era de esperar no encontrar diferencias significativas entre ellos.

No se observaron cambios significativos en la cantidad de ADNmt en PBMC (expresado como el cociente entre ADNmt/ADNn) tras 48 semanas. En cambio a las 96 semanas se observaron aumentos significativos de ADNmt en las dos ramas de tratamiento, sin diferencias entre ellas. En la rama de ABC/3TC el cociente aumentó 148 (respecto un basal de 53) y en la rama de TDF/FTC aumentó 142 (partiendo de 66). Estos incrementos son similares a los observados tras el cambio de d4T a ABC en el estudio TARHEEL [188] y mayores que los observados en otros estudios [103, 117, 119, 120, 189], aunque en la mayoría de estudios de simplificación no se valoraron parámetros mitocondriales o se hizo de forma indirecta midiendo el lactato.

Los cambios observados en el ADNmt no se correlacionaron con cambios en la composición corporal de grasa. Esto concuerda con lo descrito en otros estudios y puede ser explicado por el hecho de haber medido el ADNmt en PBMC [117, 119-121, 188, 189]. Actualmente sabemos que la toxicidad es órgano-específica y que por tanto si deseamos analizar los cambios en el ADNmt en pacientes con lipoatrofia debemos obtener muestras de adipocitos en los tejidos afectados [190]. No obstante, esto es mucho más invasivo ya que precisa de biopsias. Lo que se pretendía en este estudio (como en otros con resultados parecidos al nuestro) era disponer de un marcador alternativo de toxicidad fácil de obtener (con una extracción de sangre) que permitiera el diagnóstico y el seguimiento. A la vista de los

resultados, probablemente no es útil medir parámetros mitocondriales en PBMC para estudiar la lipodistrofia.

7.1.5 Cambios en la composición ósea

A las 48 semanas no se observaron cambios significativos en la DMO total. En cambio a las 96 semanas se observaron aumentos significativos de la DMO total tanto con TDF/FTC (+0.21 g/cm² [0.00–0.28]; p<0.001, +23.5%) como con ABC/3TC (+0.08 g/cm² [0.01–0.22]; p=0.001,+7.9%). Al analizar las localizaciones con mayor riesgo de fractura, con TDF/FTC se observó un pequeño pero significativo descenso de la DMO (-0.01 g/cm² [-0.03–0.18]; p=0.008) y del T-score (-0.16 SD [-0.31– -0.04]; p=0.007) a nivel de fémur, aunque sin diferencias significativas al compararlo con ABC/3TC. En cambio, a nivel de columna lumbar no se observaron diferencias significativas ni entre fármacos ni respecto a los valores basales.

No se observaron diferencias significativas en la DMO tras 96 semanas dependiendo de los ITIAN previos.

Basalmente existían diferencias significativas en la DMO total, con mayores valores en los pacientes aleatorizados a ABC/3TC (1.06 vs 0.93 g/cm², p=0.015). Esto no se explica por el resto de características basales, en las que no se observan diferencias significativas (edad, sexo, TAR previo, peso, cifra de CD4), pero existen muchas otras variables no recogidas en el estudio que pueden haber influido en los valores basales de la DMO y la evolución posterior (como los CD4 nadir, enfermedades definatorias de SIDA previas, años de infección, factores dietéticos, tabaquismo, ejercicio u otros).

Los resultados de nuestro estudio, con un aumento de la DMO total con ambos tratamientos, no concuerdan con los de otros trabajos. En el estudio RAVE

[169] no se observaron diferencias significativas en la DMO total en ninguno de los grupos o entre ABC o TDF. En otros estudios, en cambio, se ha relacionado el TDF con mayores pérdidas de DMO que con otros ITIAN, tanto en pacientes *naive* al compararlo con d4T [46] o con ABC [165, 171] como en estudios de simplificación [170].

En pacientes *naive*, el estudio ASSERT mostró un descenso de la DMO en ambas ramas de tratamiento pero significativamente mayores con TDF/FTC, tanto en fémur (-3.6% vs -1.9%) como en columna lumbar (-2.4% vs -1.6%). Tras 24 semanas las pérdidas continuaron aunque menos marcadas en fémur, mientras que revirtieron parcialmente a nivel de columna. También se midieron marcadores óseos, tanto de formación como de resorción, observándose un incremento de todos los marcadores en ambas ramas de tratamiento, pero significativamente mayor con TDF/FTC, con un máximo en la semana 24 y posteriormente descendieron o se estabilizaron [171]. El estudio ACTG 5224s tenía como objetivo primario comparar los cambios en la DMO entre ABC/3TC y TDF/FTC [191]. A nivel de columna, a las 96 semanas se observó un mayor descenso de la DMO con TDF/FTC que con ABC/3TC (-3.3% vs. -1.3%), y estas diferencias significativas entre ramas ya se observaban a las 48 semanas. Los cambios fueron más marcados cuando TDF/FTC se combinaba con ATV/r que con EFV. A nivel de fémur también se observó a las 96 semanas un mayor descenso de la DMO con TDF/FTC que con ABC/3TC (-4% vs. -2.6%), y estas diferencias significativas entre ramas ya se observaban también a las 48 semanas. A este nivel no hubo diferencias entre ambas parejas de ITIAN según el tercer fármaco recibido (EFV vs ATV/r).

En pacientes pre-tratados, el estudio STEAL [170] observó descensos en el T-score significativamente mayores con TDF/FTC comparado con ABC/3TC tanto a

las 48 (-0.11 vs +0.05 en columna y -0.11 vs +0.08 en fémur) como a las 96 semanas (-0.04 vs +0.07 en columna y -0.07 vs +0.09 en fémur). Por tanto los descensos con TDF/FTC tuvieron lugar en el primer año y durante el segundo año revertieron parcialmente. En cambio con ABC/3TC se observaron aumentos del T-score en las dos localizaciones, tanto a las 48 como a las 96 semanas. Recientemente se ha publicado un sub-análisis del STEAL con marcadores de metabolismo óseo que confirmó los hallazgos del estudio principal, con pérdidas pequeñas pero significativas de DMO total, en fémur y columna con TDF/FTC asociados a un aumento de los marcadores de formación/resorción. En cambio no se observaron diferencias entre grupos respecto al riesgo de fracturas medido por FRAX, que había sido del 1% en ambos grupos en el estudio principal [192].

Los resultados de nuestro estudio también difieren de la evolución de la DMO en el tiempo que hemos visto en otros estudios, donde la mayoría de cambios tienen lugar durante el primer-segundo año y posteriormente la DMO se estabiliza o incluso aumenta discretamente [46, 165, 170, 171]. El hecho de que en nuestro estudio no se observen apenas cambios durante el primer año y en cambio la DMO aumente significativamente durante el segundo año podría llevarnos a pensar que estamos analizando esta segunda fase de estabilización o aumento de la DMO, que en el primer año no es suficientemente importante para ser significativo pero que en el segundo año sí lo es. No obstante, sorprende que si este aumento es progresivo las diferencias durante el segundo año sean del 23.5% ($p < 0.001$) con TDF/FTC y en cambio las diferencias durante el primer año sean tan pequeñas. Otra posible explicación es que el aumento de la DMO en nuestros pacientes esté relacionado en parte con la recuperación de tejido graso. Se ha observado una asociación entre la lipoatrofia y un descenso de la DMO [193], por lo que la recuperación de la

lipoatrofia podría conllevar recíprocamente un aumento de la DMO y esto explicaría mayores cambios durante el segundo año coincidiendo con una mayor recuperación de la grasa, aunque en este caso deberíamos encontrar mayores ganancias de DMO con ABC/3TC, por lo que seguro que existen más factores implicados.

No obstante, la causa más probable es que las diferencias observadas en nuestro estudio sean fruto de la combinación de múltiples variables, puesto que el análisis de la DMO no era el objetivo primario del estudio y por tanto no estaba diseñado para este fin. Existen numerosos factores de riesgo que no se han recogido en este estudio (como el tabaquismo, el ejercicio o la historia ginecológica en las mujeres) que pueden haber influido en los cambios observados, pero el diseño aleatorizado minimiza los potenciales sesgos que se hayan podido producir. También es posible que el hecho de haber participado en un ensayo clínico haya motivado a los pacientes incluidos a llevar un estilo de vida más saludable (por ejemplo disminuyendo el consumo de tabaco, vigilando con la dieta, haciendo más ejercicio), que haya comportado el aumento de la DMO observado en ambas ramas de tratamiento al final del seguimiento.

Se puede plantear cual es la repercusión clínica de estos cambios en la DMO, puesto que en varios estudios no se han asociado con un aumento del riesgo de fracturas [46, 170, 191]. Pero en estos ensayos clínicos normalmente los pacientes son más jóvenes, con menos patología concomitante y el tiempo de seguimiento es más corto, por lo que probablemente es mejor utilizar los datos de los estudios de cohortes para evaluar el riesgo de fracturas [160-162].

7.2 SPIRAL-LIP

En el estudio SPIRAL-LIP se comparan los cambios en el VAT medidos por TC durante 48 semanas en un grupo de pacientes que continúan con el mismo TAR basado en un IP/r (familia que se ha relacionado con la lipohipertrofia en algunos estudios [5, 48, 82, 165] pero no en otros [52, 124]), y un grupo de pacientes que cambia el IP/r por raltegravir, fármaco que ha demostrado un perfil metabólico prácticamente neutro pero del que se tienen escasos datos de composición corporal [125, 194].

También se miden los cambios en la composición ósea, puesto que en algunos estudios también se ha relacionado a los IP/r con una mayor pérdida de DMO [12, 136, 143], mientras que no se disponen de datos del efecto del raltegravir sobre el hueso.

7.2.1 Cambios en el área grasa visceral abdominal

En los pacientes que continuaron con el mismo TAR basado en un IP/r se observó un incremento significativo del VAT (mediana +20.7 [IQR -2.4 a +45.6] cm², p=0.002) a las 48 semanas, mientras que no se observaron cambios significativos en los pacientes que cambiaron el IP/r por raltegravir (+10.9 [-14.4 a +27.3] cm², p=0.083). Las diferencias observadas entre ramas de tratamiento no fueron significativas (+11.4 [-9.5 a +38.2] cm², p=0.333).

Cuando analizamos las características basales, hay algunos aspectos que conviene remarcar. El primero es que se trataba de pacientes con muchos años de infección por el VIH (mediana de 13 años), con supresión virológica, con un régimen

basado en un IP/r durante un periodo de tiempo también largo (mediana con el IP/r antes del estudio de 32 meses). No era un requisito presentar lipodistrofia y la mediana de grasa en extremidades era de 5.8 kg y el FMR de 1.35, sin diferencias significativas entre ramas. El contenido de VAT en el momento de la inclusión era parecido en ambos grupos (92.6 cm² con IP/r y 91.7 cm² con raltegravir). Un 23% de los pacientes estaba co-infectado con VHC, más en la rama de raltegravir (28% vs. el 17% con IP/r). También más pacientes en la rama de raltegravir tenían un estadio C de la clasificación del CDC (46% vs. 29% con IP/r), lo que traduce un mayor grado de inmunosupresión en algún momento de la infección (pero no necesariamente en el momento de la inclusión). El antecedente de enfermedades definitorias de SIDA o la co-infección con VHC, así como el nadir de CD4 bajo, se han asociado con la lipodistrofia [14, 18].

Al analizar la pareja de análogos acompañantes tampoco había grandes diferencias. En la gran mayoría de pacientes se trataba de 3TC o FTC asociado a otro ITIAN, TDF o ABC predominantemente, pero también AZT (17% con IP/r vs. 3% con raltegravir), ddl (14% con IP/r vs. 5% con raltegravir) o d4T (en una paciente, de la rama de raltegravir). Tal como ya se ha comentado, los ITIAN se han asociado en mayor medida a cambios en grasa de extremidades o en SAT, pero mucho menos con cambios en el VAT. Por último y probablemente lo más importante, debemos analizar el IP/r en el momento de la inclusión: ATV/r en 43% (34% con IP/r vs. 51% con raltegravir), fosamprenavir/r en 1% (0% con IP/r vs. 3% con raltegravir), LPV/r en 45% (46% con IP/r vs. 43% con raltegravir) y SQV/r en 11% (20% con IP/r vs. 3% con raltegravir). Es posible que el tipo de IP/r en el momento de la inclusión haya influido en los resultados, pero los dos más utilizados (ATV/r y LPV/r) estaban repartidos de forma similar entre los dos grupos.

El resultado más sorprendente de este estudio es que los pacientes que continúan con el mismo IP/r, a pesar de una mediana de 32 meses con ese TAR, presentan un aumento significativo del VAT a las 48 semanas, aunque las diferencias no fueron significativas al compararlas con la rama de raltegravir. Esto puede indicar que los cambios en la grasa visceral continúan en el tiempo con los IP/r a pesar de un tratamiento estable prolongado.

En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas en función del IP/r en el momento de aleatorización, ni entre los pacientes que continuaban con el IP/r ni en los que cambiaban a raltegravir. No obstante, al dividir en subgrupos se pierde poder estadístico siendo posible no detectar diferencias que existan realmente.

Los IP como familia se han asociado con la lipohipertrofia desde el inicio de su uso, ya con los primeros IP sin potenciar. Así, la lipoacumulación a nivel de tronco se había llegado a conocer como “barriga del Crixivan[®]” o “crixibelly”, al describirse los primeros aumentos de VAT con el uso de indinavir [195]. Más recientemente también se ha descrito esta asociación con distintos IP/r, tanto en pacientes *naive* [165, 196, 197] como en pre-tratados [198], sugiriendo un efecto de familia. Se han descrito diferencias entre los distintos IP/r en cuanto al perfil metabólico, la mayoría de estudios comparando LPV/r (el IP/r patrón de oro hasta hace unos años) con ATV/r, considerado el IP/r con mejor perfil metabólico hasta la fecha [199-202]. Pero existen muchos menos datos comparando IP/r respecto a la lipoacumulación abdominal, con el inconveniente añadido que muchos de los estudios que evalúan la grasa abdominal lo hacen con DXA, midiendo la grasa de tronco, pero no realizan una TC que permitiría diferenciar entre SAT y VAT.

En pacientes *naive* encontramos múltiples estudios donde se evalúa VAT. En un estudio se compararon EFV y ATV sin potenciar asociados a AZT/3TC, sin encontrar diferencias significativas entre ambos grupos en ningún parámetro de composición corporal, incluyendo VAT (con incrementos de 21.5 cm² con ATV y 12.7 cm² con EFV tras 48 semanas, similares a los observados en nuestro estudio en la rama de IP/r y raltegravir) [124]. En el estudio ACTG 5224s tampoco se observaron diferencias significativas en VAT entre EFV y ATV/r a las 96 semanas (diferencia de 7.6 cm² a favor de ATV/r, p=0.14, aunque porcentualmente las diferencias eran de 14.2%, p=0.09) [165]. Hubiese sido interesante en este estudio disponer también de los valores a las 48 semanas, para poder ver si existe con el tiempo un aumento progresivo del VAT como el observado en nuestro estudio. En un sub-estudio de composición corporal del CASTLE [197], donde se comparaban ATV/r y LPV/r en pacientes *naive*, se observaron incrementos del VAT con ambos IP/r, discretamente mayores con ATV/r. Estas diferencias entre fármacos sólo eran significativas en los pacientes con un IMC<22. En otro estudio en pacientes *naive* en que se comparaba ATV/r con SQV/r, asociados a TDF/FTC, se observaron ganancias de grasa en todas las localizaciones a las 48 semanas de TAR. El incremento fue significativo dentro de la rama de ATV/r en VAT, TAT y SAT, pero no en la rama de SQV/r, siendo las diferencias entre ATV/r y SQV/r significativas en SAT [203]. En otro estudio en que se comparaba ATV/r y ATV (asociados a d4T+3TC), se observaron incrementos en VAT de magnitud similar a la del grupo de IP/r de nuestro estudio a las 48 semanas, pero posteriormente las cifras de VAT se estabilizaron de las 48 a las 96 semanas, lo que iría en contra de una lipoacumulación visceral continuada con los IP/r como la observada en nuestro estudio [204].

En pacientes pre-tratados encontramos resultados divergentes respecto al VAT entre IP/r. Un estudio con 15 pacientes analizó los cambios en VAT junto con el metabolismo de la glucosa en el músculo tras cambiar de LPV/r a ATV/r, observando 6 meses después del cambio una disminución significativa de VAT (-31 cm²) [205]. Otro estudio comparó cambiar LPV/r por ATV/r vs. continuar con LPV/r en pacientes con supresión virológica, observando un aumento significativo en VAT (+27.5%) tras el cambio de LPV/r a ATV/r, acompañado también de cambios significativos en SAT (+42.3%) [198]. En otro estudio se aleatorizó a los pacientes a continuar con un IP/r dos veces al día (LPV/r en 72% de los casos, SQV/r 10%, FPV/r e indinavir 9%) o cambiar a ATV/r, sin observar diferencias significativas en VAT entre ramas [206]. Cabe señalar que en este estudio era criterio de selección tener acumulación de grasa abdominal en la exploración (VAT basal de 150 cm²), lo que impide la generalización de los resultados ya que como hemos visto en otros trabajos el contenido basal de grasa influye en los cambios posteriores. En un estudio publicado recientemente y con posterioridad al SPIRAL-LIP, se compara el cambio del componente IP/r o ITINAN a raltegravir vs. continuar con el mismo TAR en mujeres con lipoacumulación central y supresión virológica. Tras 24 semanas no se observan diferencias significativas entre grupos en ningún parámetro de composición corporal, aunque se observa un descenso en el VAT en las pacientes que cambian a raltegravir (de -6.6 cm²) y un aumento con las que continúan con el mismo TAR (de 1.8 cm²), sin diferenciar entre las que reciben ITINAN o IP/r. Este estudio, al ser sólo en mujeres y con lipoacumulación central basal, tampoco sería generalizable, pero muestra unos cambios concordantes con los encontrados en nuestro estudio [207].

Por tanto, en la literatura encontramos datos comparando IP con IP/r, IP/r entre ellos e IP/r con EFV con resultados dispares. Así como en la lipoatrofia están

bien definidas las pautas más seguras y aquellas estrategias de cambio de TAR que aportan un beneficio, con la lipohipertrofia no disponemos de datos concluyentes y no se pueden hacer recomendaciones al respecto, pero nuestros resultados hacen plantear dudas sobre los cambios que puedan aparecer en VAT a largo plazo en pacientes recibiendo IP/r.

Evidentemente los resultados de nuestro estudio pueden ser debidos al IP/r o por otros factores que no se han controlado en el estudio, como la dieta o el ejercicio. No es esperable que la infección por VIH juegue ningún papel en los cambios, puesto que los pacientes estaban con supresión virológica durante meses antes de ser incluidos y continuaron igual durante todo el estudio. Los ITIAN es poco probable que estén implicados, puesto que no se modificaron y la mayoría estaba con combinaciones sin fármacos lipotóxicos. En el estudio TOX-BICOMBO habíamos observado un mayor aumento de grasa en tronco con ABC, sin poder diferenciar entre SAT y VAT al no disponer de TC, pero en el SPIRAL-LIP hay más pacientes con ABC en la rama de raltegravir que en la de IP/r, por lo que esto tampoco explicaría el incremento de VAT en la rama de IP/r.

El hecho que el VAT también aumente, aunque mucho menos, con raltegravir, hace sospechar de la existencia de otros factores no controlados por el estudio. Pero este incremento se podría explicar también por el efecto acumulado de meses de exposición a IP/r (más de 36 meses) antes de cambiar a raltegravir. Para descartar esta hipótesis hubiera sido necesario alargar el seguimiento, para ver si con el tiempo revertía el aumento de VAT con raltegravir. Se planteó la opción de ampliar el seguimiento en los pacientes del sub-estudio, para ver cambios en la grasa o el hueso a largo plazo con raltegravir y también para ver si el aumento de VAT con el IP/r seguía al mismo ritmo durante el segundo año, pero se desestimó ya que el

raltegravir fue retirado en muchos casos al terminar el estudio por una cuestión de precio y comodidad, puesto que debe administrarse dos veces al día.

Otra limitación de nuestro estudio es la pérdida de 12 pacientes (14%) en el seguimiento, aunque los pacientes que no completaron el estudio estaban bien distribuidos entre ambos grupos y sus características basales no presentaban diferencias significativas respecto a los pacientes que sí completaron las 48 semanas. En 11 de estos 12 pacientes el motivo para no incluirlos fue que no se realizaron la DXA+TC a las 48 semanas a pesar de completar las visitas del estudio, y no por efectos adversos o abandonos (el otro paciente fue una pérdida de seguimiento). Como se ha comentado anteriormente, esta limitación es común a la mayoría de estudios que evalúan los cambios en la composición corporal.

La implicación práctica de un aumento o una reducción del VAT es a nivel metabólico. En la población general está bien establecido que un mayor VAT se asocia a un mayor riesgo cardiovascular y en los pacientes con infección por VIH se ha descrito lo mismo [9]. El uso de algunos IP/r se ha asociado con un mayor riesgo de infarto de miocardio incluso después de corregir por la cifra de lípidos en la cohorte DAD [208], y quizás podría estar relacionado con este aumento continuado del VAT observado en nuestro estudio. No se ha medido el riesgo cardiovascular en nuestro estudio, puesto que no se recogieron factores clave como el tabaquismo, la diabetes o la hipertensión ni se analizaron las cifras de lípidos. No obstante, en el estudio SPIRAL sí se analizaron los cambios en el perfil lipídico entre continuar con el IP/r o cambiar a raltegravir y se observaron diferencias significativas en todos los parámetros lipídicos a favor de raltegravir [164].

A parte de realizar cambios en el TAR, o para aquellos casos en que el TAR no se puede modificar por motivos de resistencia, existen otros tratamientos que

pueden mejorar el VAT, pero con numerosos inconvenientes que limitan su uso. Se ha probado la leptina, una hormona que puede mejorar los parámetros de lípidos y glucosa, consiguiendo una reducción del VAT del 30% sin modificar significativamente el SAT, pero con administración subcutánea dos veces al día [209]. El tratamiento con hormona de crecimiento recombinante se asocia a un aumento del tejido magro y una disminución del VAT, que en algunos estudios es del 21-24%. Pero también provoca un descenso de SAT (en tronco y extremidades), resistencia a la insulina y otros efectos adversos como retención de líquidos, artromialgias o síndrome del túnel carpiano. Además, los cambios obtenidos revierten cuando se para el fármaco, que es muy caro [210]. El tesamorelin, un análogo de la hormona liberadora de hormona de crecimiento, aumenta los niveles de IGF-1 incrementando el tejido magro, disminuyendo el VAT (15-20%) y mejorando el FMR, sin cambios significativos en la sensibilidad a la insulina o los niveles de glucosa y en algunos estudios incluso se ha observado una mejoría en el perfil lipídico. No obstante, también tiene los inconvenientes que los beneficios desaparecen en cuanto se deja de administrar el fármaco, es caro y se administra por vía subcutánea [211, 212]. Mucho más asequible es la metformina, muy útil en pacientes en los que predomine la lipohipertrofia visceral y la resistencia a la insulina, aunque se ha objetivado pérdida de grasa en extremidades en algunos estudios [182, 183, 213, 214]. Se puede realizar corrección quirúrgica de la lipohipertrofia localizada (lipomas, mamas, a nivel cervical anterior y/o posterior), sobre todo si provoca limitación funcional. A nivel abdominal se puede extraer SAT, pero no se puede corregir el aumento de VAT. No es infrecuente la recidiva de la lipohipertrofia tras la intervención [187] y al igual que con la lipoatrofia, la cirugía no

soluciona las alteraciones metabólicas asociadas al aumento de VAT. Por todos estos motivos la mejor estrategia es la prevención.

7.2.2 Cambios en SAT, TAT y cociente SAT/VAT

A nivel del SAT se observó un aumento de 5.1 cm² con el IP/r (p=0.433) y un descenso de 3.2 cm² con raltegravir (p=0.396). Las diferencias entre IP/r y raltegravir no fueron significativas (2.1 cm², p=0.256).

En el TAT se observó un aumento significativo con el IP/r respecto al valor basal (21.4 cm², p=0.013) y un aumento más discreto con raltegravir (3.4 cm², p=0.983), sin diferencias significativas entre grupos (p=0.107).

El cociente SAT/VAT mostró un descenso de 0.11 con el IP/r y un descenso de 0.25 con raltegravir. Las diferencias respecto a los valores basales en ambos grupos o entre grupos de tratamiento no fueron significativas.

Estos resultados en el TAT indican que en el grupo de IP/r tiene lugar un aumento de la grasa abdominal global, tanto de VAT como de SAT (pero más marcado en VAT). En cambio con raltegravir tenemos un menor aumento de TAT porque el incremento de VAT es más modesto que con el IP/r e incluso se observa un pequeño descenso no significativo de SAT.

En el otro estudio del que se dispone de información de composición corporal con raltegravir, el STARTMRK, se observaba un aumento de la grasa con raltegravir tanto en extremidades como en tronco, similares a los aumentos con EFV [125]. Pero ambos estudios no son comparables, puesto que en el STARTMRK se trataba de pacientes *naive* y ya se ha comentado que al iniciar el TAR se puede ver un mayor aumento de grasa por un efecto de “retorno a la normalidad” al suprimir la

replicación viral. Además, en el STARTMRK se analizaban los cambios en la grasa sólo por DXA, por lo que no sabemos si el aumento de grasa a nivel de tronco era a expensas de SAT, VAT o ambos.

No encontramos diferencias significativas respecto al SAT y al cociente SAT/VAT entre los distintos IP/r en el momento de inclusión, ni entre los que continuaban con el IP/r ni en los que cambiaban a raltegravir. En el sub-estudio de composición corporal del CASTLE [197], se observaron incrementos en SAT tanto con LPV/r como con ATV/r, pero mayores con ATV/r en los pacientes con menos de 50 CD4/mm³ y en los pacientes con un IMC<22. Dado que ambas ramas utilizaban la misma combinación de ITIAN, TDF/FTC, es poco probable que éstos hayan influido en las diferencias. Puede ser que existan diferencias entre ATV/r y LPV/r en la distribución de SAT, pero el hecho que sólo se vean en los pacientes con menor peso y más inmunodeprimidos hace pensar que ha influido más la infección por el VIH que los fármacos en sí.

Por tanto, en nuestro estudio no se observan cambios significativos en SAT al sustituir el IP/r por raltegravir sin haber modificado la pareja de ITIAN. Los cambios en TAT se producen predominantemente por las modificaciones en el VAT.

6.2.3. Cambios en la grasa de extremidades, de tronco y grasa total

Los datos obtenidos por DXA muestran un aumento de la grasa en todas las localizaciones con el IP/r, que aunque no llegan a ser significativas presentan una clara tendencia a nivel de tronco y de grasa total (de +382 g, p=0.077 y de +307 g, p=0.061, respectivamente) y menos marcado a nivel de extremidades (+171 g, p=0.189). En cambio, con raltegravir encontramos un discreto aumento a nivel de

extremidades (+32 g, $p=0.350$) y pérdidas a nivel de tronco y grasa total (-28 g, $p=0.321$ y -389, $p=0.388$, respectivamente). La ausencia de cambios significativos a nivel de extremidades era esperable al no modificar la pareja de ITIAN.

A nivel de tronco, los datos obtenidos por DXA son un reflejo de lo que hemos observado con la TC: con el IP/r aumenta de forma casi significativa la grasa (porque aumenta tanto VAT como SAT) y en cambio apenas se modifica con raltegravir, ya que existen menores aumentos de VAT y ligeras pérdidas de SAT. Los hallazgos de nuestro estudio son interesantes en este punto: si sólo hubiésemos realizado la DXA, al ser más barata y accesible, veríamos a nivel de tronco un aumento de grasa con el IP/r y un descenso con raltegravir. Podríamos entonces haber sacado la conclusión errónea que, al tener el raltegravir un perfil metabólico más neutro, esta pérdida de grasa se había producido sobretodo a expensas de una pérdida del VAT, cuando en realidad se han observado pequeños aumentos de VAT y pérdidas en SAT. Esto demuestra que para valorar los cambios de grasa a nivel abdominal no podemos extrapolar de los resultados de la DXA sino que necesitamos una exploración que nos permita diferenciar entre SAT y VAT (TC o RMN).

Esta acumulación de grasa en tronco con los IP/r ya se había observado en multitud de estudios previamente, algunos de ellos descritos con detalle en el apartado de cambios en VAT, tanto en pacientes *naive* como en pre-tratados, sugiriendo un efecto de familia de los IP/r de aumento de grasa en tronco [124, 153, 165, 197, 198, 203]. En el ACTG 5224s se observó un aumento de grasa en tronco significativamente mayor con ATV/r que con EFV a las 96 semanas (2.42 kg vs 1.33 kg, $p=0.023$) [165]. Interesantemente, la diferencia entre ambos fármacos no era significativa a las 48 semanas, lo que apoyaría los hallazgos de nuestro estudio sobre el aumento continuado de la grasa abdominal en los pacientes con IP/r.

Con raltegravir, los únicos datos de composición corporal son los que hemos comentado anteriormente del estudio STARTMRK, en que se observaban ganancias de grasa en tronco y extremidades comparables a las observadas con EFV [125]. Las diferencias en los resultados respecto al SPIRAL-LIP probablemente son debidas a las diferencias entre los estudios ya comentadas.

En nuestro estudio tampoco encontramos diferencias significativas en la grasa total, de tronco o extremidades en función del IP/r en el momento de inclusión en ninguna de las dos ramas de tratamiento o al compararlas entre ellas. En otros estudios publicados, en cambio, sí se han visto diferencias en función del IP/r utilizado, aunque en la mayoría de los estudios de simplificación no disponemos de datos de composición corporal [199, 201, 202, 215]. Así, en el sub-estudio de composición corporal del CASTLE [197] se observaron ganancias en la grasa de extremidades tanto con ATV/r como con LPV/r, sobre todo en los pacientes con un IMC<22, aunque las diferencias entre IP/r sólo fueron significativas a favor de ATV/r en los pacientes con menos de 50 CD4/mm³ (como ocurría en el SAT en el mismo estudio). En el estudio de Ferrer y colaboradores se observaron mayores incrementos de grasa total, truncal y en extremidades al cambiar de LPV/r a ATV/r comparado con seguir con LPV/r, siendo las diferencias en tronco significativas tanto a expensas de SAT como de VAT y siendo con ATV/r el incremento de grasa en tronco proporcionalmente mucho mayor que en extremidades [198]. Con estos resultados se podría plantear que quizás ATV/r tiene mayor capacidad de acumulación de grasa que LPV/r, pero esta hipótesis no puede ser confirmada o descartada en nuestro estudio por la pérdida de poder estadístico al dividir los pacientes en subgrupos.

7.2.3 Cambios en la composición ósea

A nivel de DMO total, los pacientes que continúan con el IP/r no muestran cambios (diferencia respecto el basal de 0 g/cm^2 , $p=0.379$) mientras que los pacientes que cambian a raltegravir presentan un pequeño pero significativo aumento (diferencia respecto el basal de $+0.01 \text{ g/cm}^2$, $p=0.002$). La diferencia observada entre ambos grupos (0.01 g/cm^2 , $p=0.079$) no alcanza la significación estadística.

A nivel del cuello femoral, los pacientes que continúan con el IP/r presentan pérdidas tanto a nivel de la DMO (-0.01 g/cm^2 , $p=0.085$), como del T-score (-0.1 SD , $p=0.08$), que como observamos no llegan a ser significativas pero muestran una tendencia. En cambio, con raltegravir la DMO no se modifica (0 g/cm^2 , $p=0.199$) y el T-score aumenta ($+0.04 \text{ SD}$, $p=0.078$), por lo que al comparar las dos ramas observamos una diferencia significativa favorable a raltegravir tanto en DMO como en T-score ($+0.01 \text{ g/cm}^2$, $p=0.032$ y $+0.01 \text{ SD}$, $p=0.016$, respectivamente).

A nivel de la cadera total observamos un pequeño aumento no significativo en el T-score ($+0.01 \text{ SD}$, $p=0.112$) en los pacientes que continúan con el IP/r, sin cambios en la DMO (0 g/cm^2 , $p=0.166$). En cambio, observamos cambios mayores y estadísticamente significativos tanto en la DMO como en el T-score en los pacientes que cambian a raltegravir ($+0.01 \text{ g/cm}^2$, $p=0.015$ y $+0.12 \text{ SD}$, $p=0.004$, respectivamente), aunque las diferencias entre grupos de tratamiento no son significativas.

A nivel de columna (L1-L4) se observan discretos aumentos tanto en la DMO como en el T-score en ambas ramas, que no son significativas ni al comparar respecto al valor basal ni entre grupos de tratamiento.

En nuestro estudio no observamos descensos significativos de la DMO con IP/r en ninguna localización. Como ya hemos comentado en la Introducción, existen datos discordantes sobre la implicación de los IP en la pérdida de DMO. Algunos estudios en pacientes *naïve* [143], estudios de cohortes [136] y un metaanálisis [12] han mostrado esta asociación, mientras que no se ha demostrado en otros [133, 134, 156]. Recientemente se han publicado nuevos estudios dando más información sobre el efecto de los IP/r sobre el hueso. En el estudio ACTG 5224s [191] en pacientes *naïve* se observó una mayor pérdida de DMO a nivel de columna con ATV/r que con EFV a las 96 semanas (-3.1% vs. -1.7%, $p=0.035$). En cambio esta diferencia no era significativa a las 48 semanas (-3.5% vs. -2.6%, $p=0.11$). A nivel de fémur no hubo diferencias significativas en el porcentaje de cambio de DMO entre los dos fármacos ni a las 48 ni a las 96 semanas. No se observaron diferencias en la incidencia de fracturas en función del tercer fármaco, y este estudio incluía más de 250 pacientes con un seguimiento relativamente largo (en algunos pacientes de 192 semanas). En el estudio ACTG 5142 [216] se observó una tendencia a una mayor pérdida de DMO total con LPV/r que con EFV (diferencia de -0.5%, $p=0.08$), pero en este estudio existen múltiples factores de confusión, entre ellos las parejas de ITIAN utilizadas. Por el contrario, en otros estudios no se ha confirmado la asociación entre tratamiento con IP/r y mayor pérdida de DMO [142, 217, 218]. También nos planteamos si existían diferencias entre los distintos IP/r en el comportamiento sobre el hueso, al igual que ocurre en el perfil metabólico, y no encontramos diferencias significativas según el IP/r en el momento de inclusión, pero con la consabida pérdida de poder estadístico con los subgrupos. Tampoco encontramos diferencias en nuestro estudio según si el paciente recibía TDF o no en la pareja de ITIAN. La ausencia de cambios significativos en nuestro estudio en la rama de IP/r puede ser

debida a que realmente esta familia no sea responsable de descensos de la DMO, como apuntan algunos de los citados estudios, o que al tratarse de pacientes que llevaban con el IP/r más de dos años, las pérdidas se hubiesen producido inicialmente y que durante la realización del estudio se encontraran en fase de *plateau*. Esta hipótesis también podría explicar la ausencia de diferencias en función del uso o no de TDF.

Nuestro estudio es el primero en publicar datos sobre el efecto de raltegravir sobre el hueso. Posteriormente han aparecido más datos al respecto en otros estudios, pero en todos ellos se utiliza el raltegravir en combinación con un IP/r en biterapia como estrategias libres de ITIAN [219, 220], por lo que no permite analizar el papel del raltegravir sobre el hueso sin el factor de confusión del IP/r.

Además de los antirretrovirales, otros factores pueden haber jugado algún papel en los cambios de la composición ósea observados en nuestro estudio. Todos los pacientes tenían carga viral del VIH indetectable en el momento de aleatorización y todos continuaron con supresión virológica, por lo que es poco probable que el VIH tenga relación con los cambios observados. Tampoco había diferencias significativas en las características basales de los pacientes entre ambos grupos. Los cambios observados en la grasa, con aumentos significativos de VAT en la rama de IP/r, pueden haber influido en los cambios en el hueso. En un estudio publicado en 2001, se asociaba un aumento de VAT con una reducción de la DMO a nivel de la columna, después de ajustar por edad, IMC, uso de IP/r y grasa de extremidades. En cambio no se observó asociación entre SAT y DMO. La hipótesis de los autores es que la alteración en el tejido adiposo comportaba un aumento de grasa en la médula ósea, alterando la osteogénesis [221]. Posteriormente Brown también encontró una asociación entre aumento de la adiposidad central y reducción de la

DMO, con un aumento de la resorción ósea en estos pacientes [222]. En un estudio más reciente de Mamputu y colaboradores, se observó un aumento de los marcadores de formación/resorción ósea tras la administración de tesamorelin a pacientes con lipohipertrofia abdominal, sugiriendo que la hormona de crecimiento e IGF-1 podrían explicar la correlación entre grasa visceral y DMO [223]. En nuestro estudio analizamos si las diferencias observadas en la composición ósea podían tener relación con los cambios en la composición de la grasa, especialmente con los cambios del VAT, y no encontramos una correlación significativa, aunque en nuestro estudio no se midieron marcadores óseos, que serían mucho más sensibles y quizás se alterarían de forma más precoz que la DMO.

Llama la atención que los mayores cambios tienen lugar a nivel de fémur, con diferencias significativas entre grupos en el cuello de fémur, y que en cambio no hay grandes cambios a nivel de columna. Habíamos comentado que el hueso trabecular, como el de la columna, tiene mayor tasa de remodelación [132] por lo que esperaríamos mayores cambios a este nivel. No obstante, si analizamos los resultados del ACTG 5224s, en el que se realizaban DXAs cada 24 semanas, vemos que efectivamente los cambios tienen lugar antes a nivel de columna, alcanzando el máximo de pérdida a las 24 semanas y con cierta recuperación posterior, mientras que a nivel de cadera se observa un descenso más lento de la DMO pero de mayor magnitud, alcanzando el máximo de pérdida a las 48 semanas y estabilizándose posteriormente [191]. Lo mismo podría haber pasado en nuestro estudio, lo que explicaría las diferencias a nivel de fémur y en cambio pequeños aumentos en ambos grupos a nivel de columna, pero al tener sólo un DXA de control a las 48 semanas no podemos saberlo.

La magnitud de los cambios observados en nuestro estudio es pequeña y esto hace plantear si son clínicamente significativos, aparte de que sean o no estadísticamente significativos. En nuestro estudio no hubo ninguna fractura, pero serán necesarios estudios de mayor tamaño y seguimiento a largo plazo que incluyan a un número importante de pacientes recibiendo raltegravir para contestar a esta pregunta. Respecto a la magnitud de los cambios, debemos tener en cuenta que el seguimiento es solo de un año. Además es un estudio de simplificación, por lo que los cambios en la DMO son menores que en los estudios en pacientes *naive*, donde hemos visto que los descensos más importantes tienen lugar al principio del tratamiento y posteriormente se estabilizan. Pero el pequeño aumento visto tanto en fémur/cadera como en columna lumbar con raltegravir puede llegar a ser clínicamente relevante al cabo de los años, especialmente en pacientes que tienen muchos otros factores de riesgo de osteoporosis que no se pueden modificar y que cada vez consiguen esperanzas de vida más altas. En este contexto, disponer de un fármaco que si no aumenta la DMO al menos provoca menores pérdidas puede ser muy importante. A esto se unen más ventajas del raltegravir frente otras opciones, como puede ser la ausencia de interacciones significativas, pocos efectos adversos o un buen perfil lipídico, que lo convierten en una opción atractiva en una población de pacientes con VIH que está envejeciendo. Además, su mayor inconveniente, la administración dos veces al día, está relativizado en esta población polimedificada que con frecuencia ya reciben otros tratamientos con esta posología.

Nuestro estudio tiene limitaciones que deben señalarse. La primera es el tamaño muestral relativamente pequeño, al que se une la pérdida de 12 pacientes durante el seguimiento, aunque las características de los pacientes que se perdieron no eran significativamente distintas de los que completaron el seguimiento y

estuvieron bien distribuidas entre los dos grupos de tratamiento. Además, el objetivo primario del estudio eran los cambios en el VAT y el tamaño de la muestra estaba calculado en relación a este objetivo, por lo que el análisis de los cambios en el hueso tiene una naturaleza totalmente exploratoria. Tampoco se midieron los niveles de vitamina D, que podría ser responsable, al menos en parte, de las diferencias observadas, o marcadores de formación/resorción ósea, que podrían habernos dado información relevante. La limitación más importante es que el estudio no controlaba factores de riesgo importantes asociados a cambios en la composición ósea, como pueden ser el tabaquismo, el consumo de alcohol u opiáceos, el ejercicio, la dieta, la historia ginecológica, el uso de ciertos fármacos (como estrógenos, esteroides o suplementos de vitamina D o calcio) o ciertas patologías (como la hepatopatía o nefropatía) y por tanto los resultados no están ajustados por estos factores. No obstante, según los criterios de inclusión del estudio el paciente no podía consumir activamente drogas o cantidades importantes de alcohol y también eran excluidos si presentaban patologías crónicas avanzadas. Además, el diseño aleatorizado del estudio minimizaba en parte el riesgo de que las características basales de los pacientes hayan influido en el resultado final.

Por tanto, es posible que raltegravir tenga un impacto neutro sobre el hueso, de forma parecida a lo que pasa a nivel metabólico. Estudios con mayor número de pacientes y seguimiento a más largo plazo, a poder ser sin la interferencia de otros antirretrovirales potencialmente implicados en la pérdida de DMO como TDF o IP/r, serán necesarios para confirmar estos hallazgos que hemos observado en nuestro estudio, con una naturaleza totalmente exploratoria en lo que respecta al hueso.

8 CONCLUSIONES

Analizando los resultados de los trabajos que conforman esta tesis doctoral, podemos concluir que:

- 1) La lipodistrofia es un problema prevalente en los pacientes con infección por el VIH.
- 2) Modificar el TAR puede revertir parcialmente la lipodistrofia.
- 3) Respecto a la lipoatrofia, sustituir los análogos de timidina por ABC/3TC o TDF/FTC produce un incremento significativo de la grasa en extremidades, sin diferencias entre ambas combinaciones a dosis fijas. Por tanto, se debe realizar un cambio pro-activo en los pacientes que están recibiendo análogos de timidina a cualquiera de las dos combinaciones.
- 4) Mantener un IP/r o cambiar a raltegravir sin modificar la pareja de ITIAN no produce cambios significativos de la grasa en extremidades.
- 5) Cambiar los dos ITIAN por TDF/FTC produce un descenso significativo del *Fat Mass Ratio*, sin diferencias significativas al comparar con ABC/3TC.
- 6) A pesar de que a las 96 semanas tienen lugar en PBMC aumentos significativos del ADNmt con ABC/3TC y con TDF/FTC, éstos no se correlacionan con los cambios en la grasa corporal. Por tanto, no es útil medir parámetros mitocondriales en PBMC para estudiar alteraciones en el tejido adiposo.
- 7) Respecto a la lipohipertrofia, se produce un aumento significativo de VAT en los pacientes que continúan con un IP/r, mientras que en los pacientes que

cambian a raltegravir no se modifica el VAT. No obstante, las diferencias entre ambos grupos no son significativas.

- 8)** A nivel del hueso, en pacientes con carga viral del VIH suprimida los fármacos antirretrovirales han demostrado efectos distintos. A nivel de DMO total hemos observado aumentos significativos con ABC/3TC y TDF/FTC en el estudio TOX-BICOMBO y con raltegravir pero no con el IP/r en el estudio SPIRAL-LIP. A nivel de fémur hemos objetivado un descenso significativo de la DMO con TDF/FTC, sin diferencias respecto a ABC/3TC, y un aumento significativo con raltegravir comparado con mantener el IP/r. A nivel de columna lumbar no se han producido cambios relevantes en ninguno de los grupos.
- 9)** Son necesarios más datos para conocer el impacto de raltegravir a largo plazo sobre la composición corporal de grasa y hueso.

9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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,**338**:853-860.
2. GeSIDA. Documento de consenso de Gesida/ Secretaría del Plan Nacional sobre el Sida sobre el tratamiento antirretroviral del adulto (Actualización enero 2012) Editado por GeSIDA; 2012. Accesible en: www.gesida-seimc.org/pcientifica/fuentes/DcyRc/gesidadcyrc2012-Documentoconsenso-TAR-adulto.pdf
3. EACS. Clinical Management and Treatment of HIV Infected Adults in Europe. Version 6.0. Octubre 2011. Accesible en: www.europeanaidscinicalsociety.org/index.php?option=com_content&view=article&id=59&Itemid=41.
4. DHHS. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. 2012. Accesible en: <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>
5. Carr A, Samaras K, Chisholm DJ, Cooper DA. Pathogenesis of HIV-1-protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia, and insulin resistance. *Lancet* 1998,**351**:1881-1883.
6. Blanch J, Rousaud A, Martinez E, De Lazzari E, Milinkovic A, Peri JM, *et al.* Factors associated with severe impact of lipodystrophy on the quality of life of patients infected with HIV-1. *Clin Infect Dis* 2004,**38**:1464-1470.
7. Carr A, Samaras K, Burton S, Law M, Freund J, Chisholm DJ, *et al.* A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS* 1998,**12**:F51-58.
8. 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**:130-139.
9. Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular risk and body-fat abnormalities in HIV-infected adults. *N Engl J Med* 2005,**352**:48-62.
10. Hasse B, Ledergerber B, Furrer H, Battegay M, Hirschel B, Cavassini M, *et al.* Morbidity and aging in HIV-infected persons: the Swiss HIV cohort study. *Clin Infect Dis* 2011,**53**:1130-1139.
11. Grijssen ML, Vrouwenraets SM, Steingrover R, Lips P, Reiss P, Wit FW, *et al.* High prevalence of reduced bone mineral density in primary HIV-1-infected men. *AIDS* 2010,**24**:2233-2238.
12. Brown TT, Qaqish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *AIDS* 2006,**20**:2165-2174.
13. Brinkman K, Smeitink JA, Romijn JA, Reiss P. Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the

- pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy. *Lancet* 1999,**354**:1112-1115.
14. Jacobson DL, Knox T, Spiegelman D, Skinner S, Gorbach S, Wanke C. Prevalence of, evolution of, and risk factors for fat atrophy and fat deposition in a cohort of HIV-infected men and women. *Clin Infect Dis* 2005,**40**:1837-1845.
 15. Caron-Debarle M, Lagathu C, Boccara F, Vigouroux C, Capeau J. HIV-associated lipodystrophy: from fat injury to premature aging. *Trends Mol Med* 2010,**16**:218-229.
 16. Bacchetti P, Gripshover B, Grunfeld C, Heymsfield S, McCreath H, Osmond D, *et al*. Fat distribution in men with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005,**40**:121-131.
 17. Mulligan K, Anastos K, Justman J, Freeman R, Wichienkuer P, Robison E, *et al*. Fat distribution in HIV-infected women in the United States: DEXA substudy in the Women's Interagency HIV Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005,**38**:18-22.
 18. Lichtenstein KA, Delaney KM, Armon C, Ward DJ, Moorman AC, Wood KC, *et al*. Incidence of and risk factors for lipoatrophy (abnormal fat loss) in ambulatory HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003,**32**:48-56.
 19. Carr A, Samaras K, Thorisdottir A, Kaufmann GR, Chisholm DJ, Cooper DA. Diagnosis, prediction, and natural course of HIV-1 protease-inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia, and diabetes mellitus: a cohort study. *Lancet* 1999,**353**:2093-2099.
 20. Bernasconi E, Boubaker K, Junghans C, Flepp M, Furrer HJ, Haensel A, *et al*. Abnormalities of body fat distribution in HIV-infected persons treated with antiretroviral drugs: The Swiss HIV Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002,**31**:50-55.
 21. Heath KV, Hogg RS, Chan KJ, Harris M, Montessori V, O'Shaughnessy MV, *et al*. Lipodystrophy-associated morphological, cholesterol and triglyceride abnormalities in a population-based HIV/AIDS treatment database. *AIDS* 2001,**15**:231-239.
 22. Chene G, Angelini E, Cotte L, Lang JM, Morlat P, Rancinan C, *et al*. Role of long-term nucleoside-analogue therapy in lipodystrophy and metabolic disorders in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis* 2002,**34**:649-657.
 23. Vantuyghem MC, Balavoine AS, Douillard C, Defrance F, Dieudonne L, Mouton F, *et al*. How to diagnose a lipodystrophy syndrome. *Ann Endocrinol* 2012,**73**:170-189.
 24. Joyner JM, Hutley LJ, Cameron DP. Glucocorticoid receptors in human preadipocytes: regional and gender differences. *J Endocrinol* 2000,**166**:145-152.
 25. Kakuda TN. Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitor-induced mitochondrial toxicity. *Clin Ther* 2000,**22**:685-708.
 26. Sattler FR. Pathogenesis and treatment of lipodystrophy: what clinicians need to know. *Top HIV Med* 2008,**16**:127-133.
 27. Cossarizza A, Moyle G. Antiretroviral nucleoside and nucleotide analogues and mitochondria. *AIDS* 2004,**18**:137-151.
 28. Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 2006,**444**:847-853.
 29. Dowell P, Flexner C, Kwiterovich PO, Lane MD. Suppression of preadipocyte differentiation and promotion of adipocyte death by HIV protease inhibitors. *J Biol Chem* 2000,**275**:41325-41332.

30. Caron M, Auclair M, Vigouroux C, Glorian M, Forest C, Capeau J. The HIV protease inhibitor indinavir impairs sterol regulatory element-binding protein-1 intranuclear localization, inhibits preadipocyte differentiation, and induces insulin resistance. *Diabetes* 2001,**50**:1378-1388.
31. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2000,**21**:697-738.
32. Villarroya F, Domingo P, Giralt M. Drug-induced lipotoxicity: lipodystrophy associated with HIV-1 infection and antiretroviral treatment. *Biochim Biophys Acta* 2010,**1801**:392-399.
33. Bastard JP, Caron M, Vidal H, Jan V, Auclair M, Vigouroux C, *et al.* Association between altered expression of adipogenic factor SREBP1 in lipotrophic adipose tissue from HIV-1-infected patients and abnormal adipocyte differentiation and insulin resistance. *Lancet* 2002,**359**:1026-1031.
34. Villarroya J, Giralt M, Villarroya F. Mitochondrial DNA: an up-and-coming actor in white adipose tissue pathophysiology. *Obesity* 2009,**17**:1814-1820.
35. De Pauw A, Tejerina S, Raes M, Keijer J, Arnould T. Mitochondrial (dys)function in adipocyte (de)differentiation and systemic metabolic alterations. *Am J Pathol* 2009,**175**:927-939.
36. Deveaud C, Beauvoit B, Salin B, Schaeffer J, Rigoulet M. Regional differences in oxidative capacity of rat white adipose tissue are linked to the mitochondrial content of mature adipocytes. *Mol Cell Biochem* 2004,**267**:157-166.
37. Giralt M, Domingo P, Guallar JP, Rodriguez de la Concepcion ML, Alegre M, Domingo JC, *et al.* HIV-1 infection alters gene expression in adipose tissue, which contributes to HIV-1/HAART-associated lipodystrophy. *Antivir Ther* 2006,**11**:729-740.
38. Miller J, Carr A, Emery S, Law M, Mallal S, Baker D, *et al.* HIV lipodystrophy: prevalence, severity and correlates of risk in Australia. *HIV Med* 2003,**4**:293-301.
39. Ledru E, Christeff N, Patey O, de Truchis P, Melchior JC, Gougeon ML. Alteration of tumor necrosis factor-alpha T-cell homeostasis following potent antiretroviral therapy: contribution to the development of human immunodeficiency virus-associated lipodystrophy syndrome. *Blood* 2000,**95**:3191-3198.
40. Shrivastav S, Kino T, Cunningham T, Ichijo T, Schubert U, Heinklein P, *et al.* Human immunodeficiency virus (HIV)-1 viral protein R suppresses transcriptional activity of peroxisome proliferator-activated receptor {gamma} and inhibits adipocyte differentiation: implications for HIV-associated lipodystrophy. *Mol Endocrinol* 2008,**22**:234-247.
41. Otake K, Omoto S, Yamamoto T, Okuyama H, Okada H, Okada N, *et al.* HIV-1 Nef protein in the nucleus influences adipogenesis as well as viral transcription through the peroxisome proliferator-activated receptors. *AIDS* 2004,**18**:189-198.
42. Shikuma CM, Hu N, Milne C, Yost F, Waslien C, Shimizu S, *et al.* Mitochondrial DNA decrease in subcutaneous adipose tissue of HIV-infected individuals with peripheral lipotrophy. *AIDS* 2001,**15**:1801-1809.
43. Jacotot E, Ravagnan L, Loeffler M, Ferri KF, Vieira HL, Zamzami N, *et al.* The HIV-1 viral protein R induces apoptosis via a direct effect on the mitochondrial permeability transition pore. *J Exp Med* 2000,**191**:33-46.
44. Cote HC, Brumme ZL, Craib KJ, Alexander CS, Wynhoven B, Ting L, *et al.* Changes in mitochondrial DNA as a marker of nucleoside toxicity in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2002,**346**:811-820.

45. Miro O, Lopez S, Martinez E, Pedrol E, Milinkovic A, Deig E, *et al.* Mitochondrial effects of HIV infection on the peripheral blood mononuclear cells of HIV-infected patients who were never treated with antiretrovirals. *Clin Infect Dis* 2004,**39**:710-716.
46. Gallant JE, Staszewski S, Pozniak AL, DeJesus E, Suleiman JM, Miller MD, *et al.* Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naive patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2004,**292**:191-201.
47. Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, Pozniak AL, Gazzard B, Campo RE, *et al.* Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006,**354**:251-260.
48. Dube MP, Komarow L, Mulligan K, Grinspoon SK, Parker RA, Robbins GK, *et al.* Long-term body fat outcomes in antiretroviral-naive participants randomized to nelfinavir or efavirenz or both plus dual nucleosides. Dual X-ray absorptiometry results from A5005s, a substudy of Adult Clinical Trials Group 384. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007,**45**:508-514.
49. Saint-Marc T, Partisani M, Poizot-Martin I, Bruno F, Rouviere O, Lang JM, *et al.* A syndrome of peripheral fat wasting (lipodystrophy) in patients receiving long-term nucleoside analogue therapy. *AIDS* 1999,**13**:1659-1667.
50. Mallal SA, John M, Moore CB, James IR, McKinnon EJ. Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection. *AIDS* 2000,**14**:1309-1316.
51. Galli M, Cozzi-Lepri A, Ridolfo AL, Gervasoni C, Ravasio L, Corsico L, *et al.* Incidence of adipose tissue alterations in first-line antiretroviral therapy: the LipoCoNa Study. *Arch Intern Med* 2002,**162**:2621-2628.
52. Haubrich RH, Riddler SA, DiRienzo AG, Komarow L, Powderly WG, Klingman K, *et al.* Metabolic outcomes in a randomized trial of nucleoside, nonnucleoside and protease inhibitor-sparing regimens for initial HIV treatment. *AIDS* 2009,**23**:1109-1118.
53. Walker UA, Bickel M, Lutke Volksbeck SI, Ketelsen UP, Schofer H, Setzer B, *et al.* Evidence of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor--associated genetic and structural defects of mitochondria in adipose tissue of HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002,**29**:117-121.
54. McComsey G, Tan DJ, Lederman M, Wilson E, Wong LJ. Analysis of the mitochondrial DNA genome in the peripheral blood leukocytes of HIV-infected patients with or without lipoatrophy. *AIDS* 2002,**16**:513-518.
55. Hammond E, Nolan D, James I, Metcalf C, Mallal S. Reduction of mitochondrial DNA content and respiratory chain activity occurs in adipocytes within 6-12 months of commencing nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy. *AIDS* 2004,**18**:815-817.
56. Squires KE. An introduction to nucleoside and nucleotide analogues. *Antivir Ther* 2001,**6 Suppl 3**:1-14.
57. Johnson AA, Ray AS, Hanes J, Suo Z, Colacino JM, Anderson KS, *et al.* Toxicity of antiviral nucleoside analogs and the human mitochondrial DNA polymerase. *J Biol Chem* 2001,**276**:40847-40857.
58. Cote HC, Yip B, Asselin JJ, Chan JW, Hogg RS, Harrigan PR, *et al.* Mitochondrial:nuclear DNA ratios in peripheral blood cells from human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients who received selected HIV antiretroviral drug regimens. *J Infect Dis* 2003,**187**:1972-1976.

59. Lewis W, Kohler JJ, Hosseini SH, Haase CP, Copeland WC, Bienstock RJ, *et al*. Antiretroviral nucleosides, deoxynucleotide carrier and mitochondrial DNA: evidence supporting the DNA pol gamma hypothesis. *AIDS* 2006,**20**:675-684.
60. Caron M, Auclair M, Lagathu C, Lombes A, Walker UA, Kornprobst M, *et al*. The HIV-1 nucleoside reverse transcriptase inhibitors stavudine and zidovudine alter adipocyte functions in vitro. *AIDS* 2004,**18**:2127-2136.
61. Birkus G, Hitchcock MJ, Cihlar T. Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2002,**46**:716-723.
62. Walker UA, Setzer B, Venhoff N. Increased long-term mitochondrial toxicity in combinations of nucleoside analogue reverse-transcriptase inhibitors. *AIDS* 2002,**16**:2165-2173.
63. Walker UA, Bauerle J, Laguno M, Murillas J, Mauss S, Schmutz G, *et al*. Depletion of mitochondrial DNA in liver under antiretroviral therapy with didanosine, stavudine, or zalcitabine. *Hepatology* 2004,**39**:311-317.
64. Cherry CL, Nolan D, James IR, McKinnon EJ, Mallal SA, Gahan ME, *et al*. Tissue-specific associations between mitochondrial DNA levels and current treatment status in HIV-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006,**42**:435-440.
65. Miro O, Gomez M, Pedrol E, Cardellach F, Nunes V, Casademont J. Respiratory chain dysfunction associated with multiple mitochondrial DNA deletions in antiretroviral therapy-related lipodystrophy. *AIDS* 2000,**14**:1855-1857.
66. Bartley PB, Westacott L, Boots RJ, Lawson M, Potter JM, Hyland VJ, *et al*. Large hepatic mitochondrial DNA deletions associated with L-lactic acidosis and highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2001,**15**:419-420.
67. Walker UA, Venhoff N. Multiple mitochondrial DNA deletions and lactic acidosis in an HIV-infected patient under antiretroviral therapy. *AIDS* 2001,**15**:1449-1450.
68. Galluzzi L, Pinti M, Troiano L, Prada N, Nasi M, Ferraresi R, *et al*. Changes in mitochondrial RNA production in cells treated with nucleoside analogues. *Antivir Ther* 2005,**10**:191-195.
69. Barile M, Valenti D, Hobbs GA, Abruzzese MF, Keilbaugh SA, Passarella S, *et al*. Mechanisms of toxicity of 3'-azido-3'-deoxythymidine. Its interaction with adenylate kinase. *Biochem Pharmacol* 1994,**48**:1405-1412.
70. Pan-Zhou XR, Cui L, Zhou XJ, Sommadossi JP, Darley-Usmar VM. Differential effects of antiretroviral nucleoside analogs on mitochondrial function in HepG2 cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2000,**44**:496-503.
71. Mallon PW, Unemori P, Sedwell R, Morey A, Rafferty M, Williams K, *et al*. In vivo, nucleoside reverse-transcriptase inhibitors alter expression of both mitochondrial and lipid metabolism genes in the absence of depletion of mitochondrial DNA. *J Infect Dis* 2005,**191**:1686-1696.
72. Lynx MD, McKee EE. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) is a competitive inhibitor of thymidine phosphorylation in isolated rat heart and liver mitochondria. *Biochem Pharmacol* 2006,**72**:239-243.
73. Kim MJ, Jardel C, Barthelemy C, Jan V, Bastard JP, Fillaut-Chapin S, *et al*. Mitochondrial DNA content, an inaccurate biomarker of mitochondrial alteration in human immunodeficiency virus-related lipodystrophy. *Antimicrob Agents Chemother* 2008,**52**:1670-1676.
74. Poot M, Pierce RH. Analysis of mitochondria by flow cytometry. *Methods Cell Biol* 2001,**64**:117-128.

75. Boothby M, McGee KC, Tomlinson JW, Gathercole LL, McTernan PG, Shojaee-Moradie F, *et al.* Adipocyte differentiation, mitochondrial gene expression and fat distribution: differences between zidovudine and tenofovir after 6 months. *Antivir Ther* 2009,**14**:1089-1100.
76. Lagathu C, Eustace B, Prot M, Frantz D, Gu Y, Bastard JP, *et al.* Some HIV antiretrovirals increase oxidative stress and alter chemokine, cytokine or adiponectin production in human adipocytes and macrophages. *Antivir Ther* 2007,**12**:489-500.
77. El Hadri K, Glorian M, Monsempes C, Dieudonne MN, Pecquery R, Giudicelli Y, *et al.* In vitro suppression of the lipogenic pathway by the nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz in 3T3 and human preadipocytes or adipocytes. *J Biol Chem* 2004,**279**:15130-15141.
78. Diaz-Delfin J, del Mar Gutierrez M, Gallego-Escuredo JM, Domingo JC, Gracia Mateo M, Villarroya F, *et al.* Effects of nevirapine and efavirenz on human adipocyte differentiation, gene expression, and release of adipokines and cytokines. *Antiviral Res* 2011,**91**:112-119.
79. Gallego-Escuredo JM, Del Mar Gutierrez M, Diaz-Delfin J, Domingo JC, Mateo MG, Domingo P, *et al.* Differential effects of efavirenz and lopinavir/ritonavir on human adipocyte differentiation, gene expression and release of adipokines and pro-inflammatory cytokines. *Curr HIV Res* 2010,**8**:545-553.
80. Diaz-Delfin J, Domingo P, Mateo MG, Gutierrez Mdel M, Domingo JC, Giralt M, *et al.* Effects of rilpivirine on human adipocyte differentiation, gene expression, and release of adipokines and cytokines. *Antimicrob Agents Chemother* 2012,**56**:3369-3375.
81. Gougeon ML, Penicaud L, Fromenty B, Leclercq P, Viard JP, Capeau J. Adipocytes targets and actors in the pathogenesis of HIV-associated lipodystrophy and metabolic alterations. *Antivir Ther* 2004,**9**:161-177.
82. Flint OP, Noor MA, Hruz PW, Hylemon PB, Yarasheski K, Kotler DP, *et al.* The role of protease inhibitors in the pathogenesis of HIV-associated lipodystrophy: cellular mechanisms and clinical implications. *Toxicol Pathol* 2009,**37**:65-77.
83. Domingo P, Matias-Guiu X, Pujol RM, Francia E, Lagarda E, Sambat MA, *et al.* Subcutaneous adipocyte apoptosis in HIV-1 protease inhibitor-associated lipodystrophy. *AIDS* 1999,**13**:2261-2267.
84. Janneh O, Hoggard PG, Tjia JF, Jones SP, Khoo SH, Maher B, *et al.* Intracellular disposition and metabolic effects of zidovudine, stavudine and four protease inhibitors in cultured adipocytes. *Antivir Ther* 2003,**8**:417-426.
85. Murata H, Hruz PW, Mueckler M. The mechanism of insulin resistance caused by HIV protease inhibitor therapy. *J Biol Chem* 2000,**275**:20251-20254.
86. Dube MP, Parker RA, Tebas P, Grinspoon SK, Zackin RA, Robbins GK, *et al.* Glucose metabolism, lipid, and body fat changes in antiretroviral-naive subjects randomized to nelfinavir or efavirenz plus dual nucleosides. *AIDS* 2005,**19**:1807-1818.
87. Galli M, Veglia F, Angarano G, Santambrogio S, Meneghini E, Gritti F, *et al.* Gender differences in antiretroviral drug-related adipose tissue alterations. Women are at higher risk than men and develop particular lipodystrophy patterns. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003,**34**:58-61.
88. Fat distribution in women with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006,**42**:562-571.

89. Maher B, Alfirevic A, Vilar FJ, Wilkins EG, Park BK, Pirmohamed M. TNF-alpha promoter region gene polymorphisms in HIV-positive patients with lipodystrophy. *AIDS* 2002,**16**:2013-2018.
90. Hulgán T, Tebas P, Canter JA, Mulligan K, Haas DW, Dube M, *et al.* Hemochromatosis gene polymorphisms, mitochondrial haplogroups, and peripheral lipoatrophy during antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2008,**197**:858-866.
91. Tarr PE, Taffe P, Bleiber G, Furrer H, Rotger M, Martinez R, *et al.* Modeling the influence of APOC3, APOE, and TNF polymorphisms on the risk of antiretroviral therapy-associated lipid disorders. *J Infect Dis* 2005,**191**:1419-1426.
92. Wangsomboonsiri W, Mahasirimongkol S, Chantarangsu S, Kiertiburanakul S, Charoenyingwattana A, Komindr S, *et al.* Association between HLA-B*4001 and lipodystrophy among HIV-infected patients from Thailand who received a stavudine-containing antiretroviral regimen. *Clin Infect Dis* 2010,**50**:597-604.
93. Saves M, Raffi F, Capeau J, Rozenbaum W, Ragnaud JM, Perronne C, *et al.* Factors related to lipodystrophy and metabolic alterations in patients with human immunodeficiency virus infection receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2002,**34**:1396-1405.
94. Podzamczar D, Ferrer E, Martinez E, Del Rio L, Rosales J, Curto J, *et al.* How much fat loss is needed for lipoatrophy to become clinically evident? *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009,**25**:563-567.
95. Carr A, Emery S, Law M, Puls R, Lundgren JD, Powderly WG. An objective case definition of lipodystrophy in HIV-infected adults: a case-control study. *Lancet* 2003,**361**:726-735.
96. Carr A, Law M. An objective lipodystrophy severity grading scale derived from the lipodystrophy case definition score. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003,**33**:571-576.
97. Fontdevila J, Serra-Renom JM, Raigosa M, Berenguer J, Guisantes E, Prades E, *et al.* Assessing the long-term viability of facial fat grafts: an objective measure using computed tomography. *Aesthet Surg J* 2008,**28**:380-386.
98. Galli M, Ridolfo AL, Adorni F, Cappelletti A, Morelli P, Massetto B, *et al.* Correlates of risk of adipose tissue alterations and their modifications over time in HIV-1-infected women treated with antiretroviral therapy. *Antivir Ther* 2003,**8**:347-354.
99. Esposito JG, Thomas SG, Kingdon L, Ezzat S. Comparison of body composition assessment methods in patients with human immunodeficiency virus-associated wasting receiving growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2006,**91**:2952-2959.
100. Aghdassi E, Arendt B, Salit IE, Allard JP. Estimation of body fat mass using dual-energy x-ray absorptiometry, bioelectric impedance analysis, and anthropometry in HIV-positive male subjects receiving highly active antiretroviral therapy. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2007,**31**:135-141.
101. Paton NI, Macallan DC, Jebb SA, Noble C, Baldwin C, Pazianas M, *et al.* Longitudinal changes in body composition measured with a variety of methods in patients with AIDS. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997,**14**:119-127.
102. Padilla S, Gallego JA, Masia M, Ardoy F, Hernandez I, Gutierrez F. Ultrasonography and anthropometry for measuring regional body fat in HIV-infected patients. *Curr HIV Res* 2007,**5**:459-466.
103. Ribera E, Paradineiro JC, Curran A, Sauleda S, Garcia-Arumi E, Castella E, *et al.* Improvements in subcutaneous fat, lipid profile, and parameters of mitochondrial

- toxicity in patients with peripheral lipoatrophy when stavudine is switched to tenofovir (LIPOTEST study). *HIV Clin Trials* 2008,**9**:407-417.
104. Martinez E, Bianchi L, Garcia-Viejo MA, Bru C, Gatell JM. Sonographic assessment of regional fat in HIV-1-infected people. *Lancet* 2000,**356**:1412-1413.
 105. Mazess RB, Barden HS, Bisek JP, Hanson J. Dual-energy x-ray absorptiometry for total-body and regional bone-mineral and soft-tissue composition. *Am J Clin Nutr* 1990,**51**:1106-1112.
 106. Bonnet E, Delpierre C, Sommet A, Marion-Latard F, Herve R, Aquilina C, *et al.* Total body composition by DXA of 241 HIV-negative men and 162 HIV-infected men: proposal of reference values for defining lipodystrophy. *J Clin Densitom* 2005,**8**:287-292.
 107. Freitas P, Santos AC, Carvalho D, Pereira J, Marques R, Martinez E, *et al.* Fat mass ratio: an objective tool to define lipodystrophy in hiv-infected patients under antiretroviral therapy. *J Clin Densitom* 2010,**13**:197-203.
 108. Smith DE, Hudson J, Martin A, Freund J, Griffiths MR, Kalnins S, *et al.* Centralized assessment of dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) in multicenter studies of HIV-associated lipodystrophy. *HIV Clin Trials* 2003,**4**:45-49.
 109. Saint-Marc T, Partisani M, Poizot-Martin I, Rouviere O, Bruno F, Avellaneda R, *et al.* Fat distribution evaluated by computed tomography and metabolic abnormalities in patients undergoing antiretroviral therapy: preliminary results of the LIPOCO study. *AIDS* 2000,**14**:37-49.
 110. Grunfeld C, Saag M, Cofrancesco J, Jr., Lewis CE, Kronmal R, Heymsfield S, *et al.* Regional adipose tissue measured by MRI over 5 years in HIV-infected and control participants indicates persistence of HIV-associated lipoatrophy. *AIDS* 2010,**24**:1717-1726.
 111. van der Valk M, Casula M, Weverlingz GJ, van Kuijk K, van Eck-Smit B, Hulsebosch HJ, *et al.* Prevalence of lipoatrophy and mitochondrial DNA content of blood and subcutaneous fat in HIV-1-infected patients randomly allocated to zidovudine- or stavudine-based therapy. *Antivir Ther* 2004,**9**:385-393.
 112. Joly V, Flandre P, Meiffredy V, Leturque N, Harel M, Aboulker JP, *et al.* Increased risk of lipoatrophy under stavudine in HIV-1-infected patients: results of a substudy from a comparative trial. *AIDS* 2002,**16**:2447-2454.
 113. Podzamczar D, Ferrer E, Sanchez P, Gatell JM, Crespo M, Fisac C, *et al.* Less lipoatrophy and better lipid profile with abacavir as compared to stavudine: 96-week results of a randomized study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007,**44**:139-147.
 114. Shlay JC, Visnegarwala F, Bartsch G, Wang J, Peng G, El-Sadr WM, *et al.* Body composition and metabolic changes in antiretroviral-naive patients randomized to didanosine and stavudine vs. abacavir and lamivudine. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005,**38**:147-155.
 115. Carr A, Workman C, Smith DE, Hoy J, Hudson J, Doong N, *et al.* Abacavir substitution for nucleoside analogs in patients with HIV lipoatrophy: a randomized trial. *JAMA* 2002,**288**:207-215.
 116. McComsey GA, Ward DJ, Hesselthaler SM, Sension MG, Shalit P, Lonergan JT, *et al.* Improvement in lipoatrophy associated with highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-infected patients switched from stavudine to abacavir or zidovudine: the results of the TARHEEL study. *Clin Infect Dis* 2004,**38**:263-270.

117. Tebas P, Zhang J, Hafner R, Tashima K, Shevitz A, Yarasheski K, *et al.* Peripheral and visceral fat changes following a treatment switch to a non-thymidine analogue or a nucleoside-sparing regimen in HIV-infected subjects with peripheral lipoatrophy: results of ACTG A5110. *J Antimicrob Chemother* 2009,**63**:998-1005.
118. Madruga JR, Cassetti I, Suleiman JM, Etzel A, Zhong L, Holmes CB, *et al.* The safety and efficacy of switching stavudine to tenofovir df in combination with lamivudine and efavirenz in hiv-1-infected patients: three-year follow-up after switching therapy. *HIV Clin Trials* 2007,**8**:381-390.
119. Ananworanich J, Nuesch R, Cote HC, Kerr SJ, Hill A, Jupimai T, *et al.* Changes in metabolic toxicity after switching from stavudine/didanosine to tenofovir/lamivudine--a Staccato trial substudy. *J Antimicrob Chemother* 2008,**61**:1340-1343.
120. Milinkovic A, Martinez E, Lopez S, de Lazzari E, Miro O, Vidal S, *et al.* The impact of reducing stavudine dose versus switching to tenofovir on plasma lipids, body composition and mitochondrial function in HIV-infected patients. *Antivir Ther* 2007,**12**:407-415.
121. Ribera E, Clotet B, Martinez E, Estrada V, Sanz J, Berenguer J, *et al.* 72 Week Outcomes following switch from AZT/3TC to FTC/TDF (TVD) vs Continuing on AZT/3TC. Final Results of the RECOMB trial. In: *5th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention*. Cape Town, South Africa; 2009.
122. Fisher M, Moyle GJ, Shahmanesh M, Orkin C, Kingston M, Wilkins E, *et al.* A randomized comparative trial of continued zidovudine/lamivudine or replacement with tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine in efavirenz-treated HIV-1-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009,**51**:562-568.
123. Cameron DW, da Silva BA, Arribas JR, Myers RA, Bellos NC, Gilmore N, *et al.* A 96-week comparison of lopinavir-ritonavir combination therapy followed by lopinavir-ritonavir monotherapy versus efavirenz combination therapy. *J Infect Dis* 2008,**198**:234-240.
124. Jemsek JG, Arathoon E, Arlotti M, Perez C, Sosa N, Pokrovskiy V, *et al.* Body fat and other metabolic effects of atazanavir and efavirenz, each administered in combination with zidovudine plus lamivudine, in antiretroviral-naïve HIV-infected patients. *Clin Infect Dis* 2006,**42**:273-280.
125. Lennox JL, Dejesus E, Berger DS, Lazzarin A, Pollard RB, Ramalho Madruga JV, *et al.* Raltegravir versus Efavirenz regimens in treatment-naïve HIV-1-infected patients: 96-week efficacy, durability, subgroup, safety, and metabolic analyses. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010,**55**:39-48.
126. Perez-Matute P, Perez-Martinez L, Blanco JR, Oteo JA. Neutral actions of Raltegravir on adipogenesis, glucose metabolism and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *Curr HIV Res* 2011,**9**:174-179.
127. Minami R, Yamamoto M, Takahama S, Ando H, Miyamura T, Suematsu E. Comparison of the influence of four classes of HIV antiretrovirals on adipogenic differentiation: the minimal effect of raltegravir and atazanavir. *J Infect Chemother* 2011,**17**:183-188.
128. Cooper DA, Cordery DV, Reiss P, Henry K, Nelson M, O'Hearn M, *et al.* The effects of enfuvirtide therapy on body composition and metabolic parameters over 48 weeks in the TORO body imaging substudy. *HIV Med* 2011,**12**:31-39.

129. Luzi L, Perseghin G, Tambussi G, Meneghini E, Scifo P, Pagliato E, *et al.* Intramyocellular lipid accumulation and reduced whole body lipid oxidation in HIV lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003,**284**:E274-280.
130. Haugaard SB, Andersen O, Volund A, Hansen BR, Iversen J, Andersen UB, *et al.* Beta-cell dysfunction and low insulin clearance in insulin-resistant human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients with lipodystrophy. *Clin Endocrinol* 2005,**62**:354-361.
131. Guaraldi G, Zona S, Alexopoulos N, Orlando G, Carli F, Ligabue G, *et al.* Coronary aging in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis* 2009,**49**:1756-1762.
132. Sambrook P, Cooper C. Osteoporosis. *Lancet* 2006,**367**:2010-2018.
133. Cazanave C, Dupon M, Lavignolle-Aurillac V, Barthe N, Lawson-Ayayi S, Mehsen N, *et al.* Reduced bone mineral density in HIV-infected patients: prevalence and associated factors. *AIDS* 2008,**22**:395-402.
134. Bruera D, Luna N, David DO, Bergoglio LM, Zamudio J. Decreased bone mineral density in HIV-infected patients is independent of antiretroviral therapy. *AIDS* 2003,**17**:1917-1923.
135. Overton ET, Mondy K, Bush T, Conley L, Kojic E, Henry K, *et al.* Factors Associated with Low Bone Mineral Density in a Large Cohort of HIV-infected US Adults: Baseline Results from the SUN Study. In: *14th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections*. Los Angeles; 2007.
136. Bonjoch A, Figueras M, Estany C, Perez-Alvarez N, Rosales J, del Rio L, *et al.* High prevalence of and progression to low bone mineral density in HIV-infected patients: a longitudinal cohort study. *AIDS* 2010,**24**:2827-2833.
137. Mondy K, Yarasheski K, Powderly WG, Whyte M, Claxton S, DeMarco D, *et al.* Longitudinal evolution of bone mineral density and bone markers in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Clin Infect Dis* 2003,**36**:482-490.
138. Rosen CJ, Klibanski A. Bone, fat, and body composition: evolving concepts in the pathogenesis of osteoporosis. *Am J Med* 2009,**122**:409-414.
139. Rodriguez M, Daniels B, Gunawardene S, Robbins GK. High frequency of vitamin D deficiency in ambulatory HIV-Positive patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009,**25**:9-14.
140. Gibellini D, De Crignis E, Ponti C, Cimatti L, Borderi M, Tschon M, *et al.* HIV-1 triggers apoptosis in primary osteoblasts and HOBIT cells through TNFalpha activation. *J Med Virol* 2008,**80**:1507-1514.
141. Tebas P, Powderly WG, Claxton S, Marin D, Tantisiriwat W, Teitelbaum SL, *et al.* Accelerated bone mineral loss in HIV-infected patients receiving potent antiretroviral therapy. *AIDS* 2000,**14**:F63-67.
142. Brown TT, McComsey GA, King MS, Qaqish RB, Bernstein BM, da Silva BA. Loss of bone mineral density after antiretroviral therapy initiation, independent of antiretroviral regimen. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009,**51**:554-561.
143. Duvivier C, Kolta S, Assoumou L, Ghosn J, Rozenberg S, Murphy RL, *et al.* Greater decrease in bone mineral density with protease inhibitor regimens compared with nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor regimens in HIV-1 infected naive patients. *AIDS* 2009,**23**:817-824.
144. Grund B, Peng G, Gibert CL, Hoy JF, Isaksson RL, Shlay JC, *et al.* Continuous antiretroviral therapy decreases bone mineral density. *AIDS* 2009,**23**:1519-1529.
145. Pan G, Wu X, McKenna MA, Feng X, Nagy TR, McDonald JM. AZT enhances osteoclastogenesis and bone loss. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004,**20**:608-620.

146. van Vonderen MG, Lips P, van Agtmael MA, Hassink EA, Brinkman K, Geerlings SE, *et al.* First line zidovudine/lamivudine/lopinavir/ritonavir leads to greater bone loss compared to nevirapine/lopinavir/ritonavir. *AIDS* 2009,**23**:1367-1376.
147. Rivas P, Gorgolas M, Garcia-Delgado R, Diaz-Curiel M, Goyenechea A, Fernandez-Guerrero ML. Evolution of bone mineral density in AIDS patients on treatment with zidovudine/lamivudine plus abacavir or lopinavir/ritonavir. *HIV Med* 2008,**9**:89-95.
148. Labarga P, Barreiro P, Martin-Carbonero L, Rodriguez-Novoa S, Solera C, Medrano J, *et al.* Kidney tubular abnormalities in the absence of impaired glomerular function in HIV patients treated with tenofovir. *AIDS* 2009,**23**:689-696.
149. Mulligan K, Glidden D, Gonzales P, Ramirez-Cardich M, Liu A, Namwongprom S, *et al.* Effects of FTC/TDF on bone mineral density in seronegative men from 4 continents: DEXA results of the global iPrEx Study. In: *18th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections*. Boston; 2011.
150. Brown TT, McComsey GA. Association between initiation of antiretroviral therapy with efavirenz and decreases in 25-hydroxyvitamin D. *Antivir Ther* 2010,**15**:425-429.
151. Mueller NJ, Fux CA, Ledergerber B, Elzi L, Schmid P, Dang T, *et al.* High prevalence of severe vitamin D deficiency in combined antiretroviral therapy-naïve and successfully treated Swiss HIV patients. *AIDS* 2010,**24**:1127-1134.
152. Fabbriani G, De Socio GV. Efavirenz and bone health. *AIDS* 2009,**23**:1181.
153. Wohl D, Doroana M, Orkin C, Pilotto JH, Sungkanuparph S, Yeni P, *et al.* Change in vitamin D levels smaller and risk of development of severe vitamin D deficiency lower among HIV-1-infected, treatment-naïve adults receiving TMC278 compared with EFV: 48-week results from the phase III ECHO trial. In: *18th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections*. Boston; 2011.
154. Allavena C, Delpierre C, Cuzin L, Rey D, Viget N, Bernard J, *et al.* High frequency of vitamin D deficiency in HIV-infected patients: effects of HIV-related factors and antiretroviral drugs. *J Antimicrob Chemother* 2012,**67**:2222-2230.
155. Jain RG, Lenhard JM. Select HIV protease inhibitors alter bone and fat metabolism *ex vivo*. *J Biol Chem* 2002,**277**:19247-19250.
156. Knobel H, Guelar A, Vallecillo G, Nogues X, Diez A. Osteopenia in HIV-infected patients: is it the disease or is it the treatment? *AIDS* 2001,**15**:807-808.
157. Documento de consenso sobre las alteraciones osteoarticulares en la infección por el VIH. In: *Guías GeSIDA*; 2010. Accesible en www.gesida-seimc.org/pcientifica/fuentes/DcyRc/gesidadcyrc2010-altoseas.pdf
158. FRAX - WHO Fracture Risk Assessment Tool. 2012. Accesible en www.shef.ac.uk/FRAX/
159. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* 2001,**285**:785-795.
160. Young B, Dao CN, Buchacz K, Baker R, Brooks JT. Increased rates of bone fracture among HIV-infected persons in the HIV Outpatient Study (HOPS) compared with the US general population, 2000-2006. *Clin Infect Dis* 2011,**52**:1061-1068.
161. Triant VA, Brown TT, Lee H, Grinspoon SK. Fracture prevalence among human immunodeficiency virus (HIV)-infected versus non-HIV-infected patients in a large U.S. healthcare system. *J Clin Endocrinol Metab* 2008,**93**:3499-3504.
162. Womack JA, Goulet JL, Gibert C, Brandt C, Chang CC, Gulanski B, *et al.* Increased risk of fragility fractures among HIV infected compared to uninfected male veterans. *PLoS One* 2011,**6**:e17217.

163. Martinez E, Arranz JA, Podzamczar D, Lonca M, Sanz J, Barragan P, *et al.* A simplification trial switching from nucleoside reverse transcriptase inhibitors to once-daily fixed-dose abacavir/lamivudine or tenofovir/emtricitabine in HIV-1-infected patients with virological suppression. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009,**51**:290-297.
164. Martinez E, Larrousse M, Llibre JM, Gutierrez F, Saumoy M, Antela A, *et al.* Substitution of raltegravir for ritonavir-boosted protease inhibitors in HIV-infected patients: the SPIRAL study. *AIDS* 2010,**24**:1697-1707.
165. McComsey GA, Kitch D, Sax PE, Tebas P, Tierney C, Jahed NC, *et al.* Peripheral and central fat changes in subjects randomized to abacavir-lamivudine or tenofovir-emtricitabine with atazanavir-ritonavir or efavirenz: ACTG Study A5224s. *Clin Infect Dis* 2011,**53**:185-196.
166. Curran A, Ribera E. From old to new nucleoside reverse transcriptase inhibitors: changes in body fat composition, metabolic parameters and mitochondrial toxicity after the switch from thymidine analogs to tenofovir or abacavir. *Expert Opin Drug Saf* 2011,**10**:389-406.
167. Martin A, Smith DE, Carr A, Ringland C, Amin J, Emery S, *et al.* Reversibility of lipoatrophy in HIV-infected patients 2 years after switching from a thymidine analogue to abacavir: the MITOX Extension Study. *AIDS* 2004,**18**:1029-1036.
168. Martinez E, Larrousse M, Podzamczar D, Gatell JM. Objective amount of limb fat in HIV-infected subjects with subjective diagnosis of lipoatrophy. *HIV Med* 2009,**10**:257-261.
169. Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J, Johnson M, Wilkins E, Churchill D, *et al.* A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipoatrophy. *AIDS* 2006,**20**:2043-2050.
170. Martin A, Bloch M, Amin J, Baker D, Cooper DA, Emery S, *et al.* Simplification of antiretroviral therapy with tenofovir-emtricitabine or abacavir-Lamivudine: a randomized, 96-week trial. *Clin Infect Dis* 2009,**49**:1591-1601.
171. Stellbrink HJ, Orkin C, Arribas JR, Compston J, Gerstoft J, Van Wijngaerden E, *et al.* Comparison of changes in bone density and turnover with abacavir-lamivudine versus tenofovir-emtricitabine in HIV-infected adults: 48-week results from the ASSERT study. *Clin Infect Dis* 2010,**51**:963-972.
172. Duvivier C, Ghosn J, Assoumou L, Soulie C, Peytavin G, Calvez V, *et al.* Initial therapy with nucleoside reverse transcriptase inhibitor-containing regimens is more effective than with regimens that spare them with no difference in short-term fat distribution: Hippocampe-ANRS 121 Trial. *J Antimicrob Chemother* 2008,**62**:797-808.
173. McComsey GA, Lo Re V, 3rd, O'Riordan M, Walker UA, Lebrecht D, Baron E, *et al.* Effect of reducing the dose of stavudine on body composition, bone density, and markers of mitochondrial toxicity in HIV-infected subjects: a randomized, controlled study. *Clin Infect Dis* 2008,**46**:1290-1296.
174. Hoffmann CJ, Charalambous S, Fielding KL, Innes C, Chaisson RE, Grant AD, *et al.* HIV suppression with stavudine 30 mg versus 40 mg in adults over 60 kg on antiretroviral therapy in South Africa. *AIDS* 2009,**23**:1784-1786.
175. Valantin M, Kolta S, Flandre P, Algarte Genin M, Meynard J, Ponscarme D, *et al.* Body fat distribution in HIV-infected patients treated for 96 weeks with darunavir/ritonavir monotherapy versus darunavir/ritonavir plus nucleoside reverse transcriptase inhibitors: the MONOI-ANRS136 Substudy. *HIV Med* 2012,**13**:505-515.

176. Tebas P, Zhang J, Yarasheski K, Evans S, Fischl MA, Shevitz A, *et al.* Switching to a protease inhibitor-containing, nucleoside-sparing regimen (lopinavir/ritonavir plus efavirenz) increases limb fat but raises serum lipid levels: results of a prospective randomized trial (AIDS clinical trial group 5125s). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007,**45**:193-200.
177. Riddler SA, Haubrich R, DiRienzo AG, Peeples L, Powderly WG, Klingman KL, *et al.* Class-sparing regimens for initial treatment of HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2008,**358**:2095-2106.
178. Kozal MJ, Lupo S, DeJesus E, Molina JM, McDonald C, Raffi F, *et al.* A nucleoside- and ritonavir-sparing regimen containing atazanavir plus raltegravir in antiretroviral treatment-naive HIV-infected patients: SPARTAN study results. *HIV Clin Trials* 2012,**13**:119-130.
179. Reynes J, Lawal A, Pulido F, Soto-Malave R, Gathe J, Tian M, *et al.* Examination of noninferiority, safety, and tolerability of lopinavir/ritonavir and raltegravir compared with lopinavir/ritonavir and tenofovir/ emtricitabine in antiretroviral-naive subjects: the progress study, 48-week results. *HIV Clin Trials* 2011,**12**:255-267.
180. Sheth SH, Larson RJ. The efficacy and safety of insulin-sensitizing drugs in HIV-associated lipodystrophy syndrome: a meta-analysis of randomized trials. *BMC Infect Dis* 2010,**10**:183.
181. Raboud JM, Diong C, Carr A, Grinspoon S, Mulligan K, Sutinen J, *et al.* A meta-analysis of six placebo-controlled trials of thiazolidinedione therapy for HIV lipodystrophy. *HIV Clin Trials* 2010,**11**:39-50.
182. van Wijk JP, de Koning EJ, Cabezas MC, op't Roodt J, Joven J, Rabelink TJ, *et al.* Comparison of rosiglitazone and metformin for treating HIV lipodystrophy: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2005,**143**:337-346.
183. Martinez E, Domingo P, Ribera E, Milinkovic A, Arroyo JA, Conget I, *et al.* Effects of metformin or gemfibrozil on the lipodystrophy of HIV-infected patients receiving protease inhibitors. *Antivir Ther* 2003,**8**:403-410.
184. Sutinen J, Walker UA, Sevastianova K, Klinker H, Hakkinen AM, Ristola M, *et al.* Uridine supplementation for the treatment of antiretroviral therapy-associated lipodystrophy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Antivir Ther* 2007,**12**:97-105.
185. McComsey GA, Walker UA, Budhathoki CB, Su Z, Currier JS, Kosmiski L, *et al.* Uridine supplementation in the treatment of HIV lipodystrophy: results of ACTG 5229. *AIDS* 2010,**24**:2507-2515.
186. Guaraldi G, Fontdevila J, Christensen LH, Orlando G, Stentarelli C, Carli F, *et al.* Surgical correction of HIV-associated facial lipodystrophy. *AIDS* 2011,**25**:1-12.
187. Recomendaciones sobre alteraciones metabólicas en la infección por VIH. Grupo de expertos de GEAM/ GESIDA y PNS. 2009.
188. McComsey GA, Paulsen DM, Lonergan JT, Hessenthaler SM, Hoppel CL, Williams VC, *et al.* Improvements in lipodystrophy, mitochondrial DNA levels and fat apoptosis after replacing stavudine with abacavir or zidovudine. *AIDS* 2005,**19**:15-23.
189. Hoy JF, Gahan ME, Carr A, Smith D, Lewin SR, Wesselingh S, *et al.* Changes in mitochondrial DNA in peripheral blood mononuclear cells from HIV-infected patients with lipodystrophy randomized to receive abacavir. *J Infect Dis* 2004,**190**:688-692.

190. Maagaard A, Holberg-Petersen M, Kollberg G, Oldfors A, Sandvik L, Bruun JN. Mitochondrial (mt)DNA changes in tissue may not be reflected by depletion of mtDNA in peripheral blood mononuclear cells in HIV-infected patients. *Antivir Ther* 2006,**11**:601-608.
191. McComsey GA, Kitch D, Daar ES, Tierney C, Jahed NC, Tebas P, *et al.* Bone mineral density and fractures in antiretroviral-naive persons randomized to receive abacavir-lamivudine or tenofovir disoproxil fumarate-emtricitabine along with efavirenz or atazanavir-ritonavir: Aids Clinical Trials Group A5224s, a substudy of ACTG A5202. *J Infect Dis* 2011,**203**:1791-1801.
192. Haskelberg H, Hoy JF, Amin J, Ebeling PR, Emery S, Carr A, *et al.* Changes in bone turnover and bone loss in HIV-infected patients changing treatment to tenofovir-emtricitabine or abacavir-lamivudine. *PLoS One* 2012,**7**:e38377.
193. Falutz J, Martinez E, Belloso W, Rosenthal L. Association between peripheral lipotrophy and bone demineralization in treated HIV-positive males. In: *10th International Workshop on Adverse Drug Reactions and Lipodystrophy in HIV*. London; November 2008.
194. Eron JJ, Young B, Cooper DA, Youle M, Dejesus E, Andrade-Villanueva J, *et al.* Switch to a raltegravir-based regimen versus continuation of a lopinavir-ritonavir-based regimen in stable HIV-infected patients with suppressed viraemia (SWITCHMRK 1 and 2): two multicentre, double-blind, randomised controlled trials. *Lancet* 2010,**375**:396-407.
195. Miller KD, Jones E, Yanovski JA, Shankar R, Feuerstein I, Falloon J. Visceral abdominal-fat accumulation associated with use of indinavir. *Lancet* 1998,**351**:871-875.
196. Wohl D, deJesus E, Sloan L, Sension M, Liao Q, Oie K, *et al.* Limb and Trunk Fat Changes by Total Body DEXA After 96 Weeks of Treatment with Once-Daily (QD) Fosamprenavir Boosted with Either 100 mg or 200 mg of Ritonavir (/r) plus Abacavir (ABC)/lamivudine (3TC): COL100758 In: *48th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Washington DC, USA; 2008.
197. Moyle G YR, Wirtz V. Body composition changes in treatment-naive patients treated with boosted PIs plus TDF/FTC: results from the CASTLE study through 96 weeks. In: *12th European AIDS Conference*. Cologne, Germany; 2009.
198. Ferrer E, del Rio L, Martinez E, Curto J, Domingo P, Ribera E, *et al.* Impact of switching from lopinavir/ritonavir to atazanavir/ritonavir on body fat redistribution in virologically suppressed HIV-infected adults. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011,**27**:1061-1065.
199. Soriano V, Garcia-Gasco P, Vispo E, Ruiz-Sancho A, Blanco F, Martin-Carbonero L, *et al.* Efficacy and safety of replacing lopinavir with atazanavir in HIV-infected patients with undetectable plasma viraemia: final results of the SLOAT trial. *J Antimicrob Chemother* 2008,**61**:200-205.
200. Molina JM, Andrade-Villanueva J, Echevarria J, Chetchotisakd P, Corral J, David N, *et al.* Once-daily atazanavir/ritonavir compared with twice-daily lopinavir/ritonavir, each in combination with tenofovir and emtricitabine, for management of antiretroviral-naive HIV-1-infected patients: 96-week efficacy and safety results of the CASTLE study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010,**53**:323-332.
201. Mallolas J, Podzamczar D, Milinkovic A, Domingo P, Clotet B, Ribera E, *et al.* Efficacy and safety of switching from boosted lopinavir to boosted atazanavir in

- patients with virological suppression receiving a LPV/r-containing HAART: the ATAZIP study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009,**51**:29-36.
202. Gatell J, Salmon-Ceron D, Lazzarin A, Van Wijngaerden E, Antunes F, Leen C, *et al*. Efficacy and safety of atazanavir-based highly active antiretroviral therapy in patients with virologic suppression switched from a stable, boosted or unboosted protease inhibitor treatment regimen: the SWAN Study (AI424-097) 48-week results. *Clin Infect Dis* 2007,**44**:1484-1492.
 203. Vrouenraets SM, Wit FW, Fernandez Garcia E, Moyle GJ, Jackson AG, Allavena C, *et al*. Randomized comparison of metabolic and renal effects of saquinavir/r or atazanavir/r plus tenofovir/emtricitabine in treatment-naive HIV-1-infected patients. *HIV Med* 2011,**12**:620-631.
 204. McComsey G, Rightmire A, Wirtz V, Yang R, Mathew M, McGrath D. Changes in body composition with ritonavir-boosted and unboosted atazanavir treatment in combination with Lamivudine and Stavudine: a 96-week randomized, controlled study. *Clin Infect Dis* 2009,**48**:1323-1326.
 205. Stanley TL, Joy T, Hadigan CM, Liebaw JG, Makimura H, Chen CY, *et al*. Effects of switching from lopinavir/ritonavir to atazanavir/ritonavir on muscle glucose uptake and visceral fat in HIV-infected patients. *AIDS* 2009,**23**:1349-1357.
 206. Moyle GJ, Andrade-Villanueva J, Girard PM, Antinori A, Salvato P, Bogner JR, *et al*. A randomized comparative 96-week trial of boosted atazanavir versus continued boosted protease inhibitor in HIV-1 patients with abdominal adiposity. *Antivir Ther* 2012,**17**:689-700.
 207. Lake JE, McComsey GA, Hulgán TM, Wanke CA, Mangili A, Walmsley SL, *et al*. A Randomized Trial of Raltegravir Replacement for Protease Inhibitor or Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor in HIV-Infected Women with Lipohypertrophy. *AIDS Patient Care STDS* 2012,**26**:532-540.
 208. Friis-Moller N, Reiss P, Sabin CA, Weber R, Monforte A, El-Sadr W, *et al*. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2007,**356**:1723-1735.
 209. Mulligan K, Khatami H, Schwarz JM, Sakkas GK, DePaoli AM, Tai VW, *et al*. The effects of recombinant human leptin on visceral fat, dyslipidemia, and insulin resistance in patients with human immunodeficiency virus-associated lipotrophy and hypoleptinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2009,**94**:1137-1144.
 210. Grunfeld C, Thompson M, Brown SJ, Richmond G, Lee D, Muurahainen N, *et al*. Recombinant human growth hormone to treat HIV-associated adipose redistribution syndrome: 12 week induction and 24-week maintenance therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007,**45**:286-297.
 211. Falutz J, Allas S, Blot K, Potvin D, Kotler D, Somero M, *et al*. Metabolic effects of a growth hormone-releasing factor in patients with HIV. *N Engl J Med* 2007,**357**:2359-2370.
 212. Stanley TL, Falutz J, Marsolais C, Morin J, Soulban G, Mamputu JC, *et al*. Reduction in visceral adiposity is associated with an improved metabolic profile in HIV-infected patients receiving tesamorelin. *Clin Infect Dis* 2012,**54**:1642-1651.
 213. Mulligan K, Yang Y, Wininger DA, Koletar SL, Parker RA, Alston-Smith BL, *et al*. Effects of metformin and rosiglitazone in HIV-infected patients with hyperinsulinemia and elevated waist/hip ratio. *AIDS* 2007,**21**:47-57.
 214. Kohli R, Shevitz A, Gorbach S, Wanke C. A randomized placebo-controlled trial of metformin for the treatment of HIV lipodystrophy. *HIV Med* 2007,**8**:420-426.

215. Martinez E, Arnaiz JA, Podzamczar D, Dalmau D, Ribera E, Domingo P, *et al.* Substitution of nevirapine, efavirenz, or abacavir for protease inhibitors in patients with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 2003,**349**:1036-1046.
216. Huang J, Hughes M, Riddler S, Haubrich R. Effects of randomized regimen and nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) selection on 96 week bone mineral density (BMD): results from ACTG 5142. In: *XVIII International AIDS Conference*. Vienna, Austria; 2010, july.
217. Amiel C, Ostertag A, Slama L, Baudoin C, N'Guyen T, Lajeunie E, *et al.* BMD is reduced in HIV-infected men irrespective of treatment. *J Bone Miner Res* 2004,**19**:402-409.
218. Hansen AB, Obel N, Nielsen H, Pedersen C, Gerstoft J. Bone mineral density changes in protease inhibitor-sparing vs. nucleoside reverse transcriptase inhibitor-sparing highly active antiretroviral therapy: data from a randomized trial. *HIV Med* 2011,**12**:157-165.
219. Reynes J, Trinh R, Pulido F, Soto-Malave R, Gathe J, Qaqish R, *et al.* Lopinavir/Ritonavir Combined with Raltegravir or Tenofovir/Emtricitabine in Antiretroviral-Naive Subjects: 96-Week Results of the PROGRESS Study. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012.
220. Ofotokun I, Sheth AN, Sanford SE, Easley KA, Shenvi N, White K, *et al.* A Switch in Therapy to a Reverse Transcriptase Inhibitor Sparing Combination of Lopinavir/Ritonavir and Raltegravir in Virologically Suppressed HIV-Infected Patients: A Pilot Randomized Trial to Assess Efficacy and Safety Profile: The KITE Study. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012,**28**:1196-1206.
221. Huang JS, Rietschel P, Hadigan CM, Rosenthal DI, Grinspoon S. Increased abdominal visceral fat is associated with reduced bone density in HIV-infected men with lipodystrophy. *AIDS* 2001,**15**:975-982.
222. Brown TT, Ruppe MD, Kassner R, Kumar P, Kehoe T, Dobs AS, *et al.* Reduced bone mineral density in human immunodeficiency virus-infected patients and its association with increased central adiposity and postload hyperglycemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2004,**89**:1200-1206.
223. Mamputu J, Soulban G, Falutz J, Huong Pham M, Marsolais C, Assad H, *et al.* Effects of Tesamorelin, a Growth Hormone-Releasing Factor (GRF) Analogue, on Bone Turnover Markers in HIV-Infected Patients with Excess Abdominal Fat In: *18th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections*. Boston, MA, USA; 2011.

10 ANEXOS

10.1 LIPOTEST

Improvements in Subcutaneous Fat, Lipid Profile, and Parameters of Mitochondrial Toxicity in Patients with Peripheral Lipoatrophy When Stavudine is Switched to Tenofovir (LIPOTEST Study)

Esteban Ribera,¹ José Carlos Paradiñeiro,¹ Adria Curran,¹ Silvia Sauleda,² Elena García-Arumí,³ Eva Castella,⁴ Carolina Puiggròs,⁵ Manuel Crespo,¹ Maria Feijoo,¹ Marjorie Diaz,¹ Sara Villar del Saz,¹ Merçè Planas,³ Delia Sureda,⁴ Vicenç Falcó,¹ Imma Ocaña,¹ and Albert Pahissa¹

¹Departments of Infectious Diseases, ²Centre de Transfusió i Banc de Teixits, ³Centre d'Investigacions en Bioquímica i Biologia Molecular, ⁴Department of Radiology (Sonography Unit), and ⁵Nutritional Support Unit, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

Background: Lipoatrophy is the most stigmatizing side effect of stavudine therapy. We assessed the long-term effects of replacing stavudine with tenofovir in HIV-infected patients with lipoatrophy. **Method:** Prospective switch study. Sixty-two clinically stable patients with antiretroviral therapy (ART) containing stavudine, HIV-1 RNA <50 copies/mL, and lipoatrophy at least in the face on physical examination were included. All patients switched from stavudine to tenofovir without changing any other drug. Objective (malar ultrasonography, bioelectrical impedance analysis) and subjective measures of lipoatrophy were assessed. **Results:** Median age at baseline was 40 years, 44 patients (71%) were male, and median time on stavudine was 4.8 years. Median malar fat thickness increased 0.8 mm (25%) 24 months after switching. Total fat mass increased 3.9 kg (21%). Plasma lactate levels decreased significantly, mainly in patients with baseline hyperlactatemia (from 3.05 to 1.19 mmol/L). Significant improvement in total cholesterol (-12%), triglycerides (-31%), and total cholesterol/HDL cholesterol ratio (-11%) was observed at Month 24. **Conclusions:** In this study, switching from stavudine to tenofovir maintained durable virologic suppression when the HAART regimen included a protease inhibitor or a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, led to a slow improvement of lipoatrophy, and improved the lipid profile and lactate levels with excellent tolerability. These results support the proactive change of stavudine to tenofovir. **Key words:** HIV infection, lipodystrophy, mitochondrial toxicity, stavudine, switch study, tenofovir

Highly active antiretroviral therapy (HAART) has resulted in reduced morbidity and mortality among persons with HIV infection. However, several adverse effects associated with this therapy have impaired long-term clinical management of the disease.¹⁻³ One of the most important of these side effects is lipodystrophy syndrome, reported in 11% to 83% of patients receiving HAART and characterized by body fat redistribution consisting of peripheral fat wasting and/or central adiposity. Facial lipoatrophy is one of the most devastating and stigmatizing side effects of HAART and is an important obstacle to continued compliance with the treatment.⁴ Loss of subcutaneous fat is not only a cosmetic problem; it is often

associated with dyslipidemia and other alterations that increase the risk of accelerated atherosclerosis.² Initially assumed to be an effect of protease inhibitors (PIs), lipoatrophy has also been reported in PI-naïve patients. Recent studies have shown that long-term nucleoside reverse transcriptase in-

Address for correspondence: Dr. Esteban Ribera, Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitari Vall Hebron, Paseo Vall Hebron 119-129, 08035 Barcelona, Spain. Email: eribera@vhebron.net

HIV Clin Trials 2008;9(6):407-417
© 2008 Thomas Land Publishers, Inc.
www.thomasland.com

doi: 10.1310/hct0906-407

hibitor (NRTI)-related mitochondrial dysfunction plays a major role in lipoatrophy.⁵⁻⁷

Clinical trials have shown that stavudine is an active component of HAART regimens and the drug has been widely used in HIV-infected patients.⁸⁻¹⁰ However, stavudine has been associated with a higher incidence of lipoatrophy when compared to other NRTIs with a lower potential for inhibiting the DNA polymerase gamma.^{8,9,11-16} Halting and/or reversing morphologic changes is a major concern in patients who have developed lipoatrophy. A slow but continuous increase in subcutaneous fat mass has been demonstrated after replacing stavudine with abacavir in patients with HAART-associated lipoatrophy, with almost no changes in the lipid profile.¹⁷⁻²² Tenofovir is a well-tolerated drug; renal toxicity is the main concern when used. The potential for tenofovir to interfere with mitochondrial functions is low.²³ In a recent study, the combination of tenofovir, lamivudine, and efavirenz appeared to be associated with less lipodystrophy and better lipid profiles than stavudine, lamivudine, and efavirenz in antiretroviral-naïve patients.⁹ Modest increases in limb fat²⁴⁻²⁶ and significant improvement in the lipid profile²⁴⁻²⁸ have been observed after substituting stavudine for tenofovir.

This study was designed to examine, in a 2-year follow-up, the effects of replacing stavudine with tenofovir on facial and global fat distribution, lipid profile, and several mitochondrial markers in patients with lipoatrophy.

METHOD

Subjects and Design

This was a prospective, phase IV, open-label, one-arm, single-center switch study. The study protocol was approved by the institutional review board, and informed consent was obtained from each patient before screening. The patients, enrolled between November 1, 2003 and July 30, 2005, were eligible for the study if they satisfied all the following inclusion criteria: (a) age ≥ 18 years, (b) male or nonpregnant, nonlactating female, (c) stable antiretroviral therapy (ART) for at least 6 months containing stavudine at a standard dose (30 or 40 mg bid according to body weight $<$ or ≥ 60 kg), (d) HIV-1 RNA < 50 copies/mL at screening and for at least the preceding 6 months, and (e) lipoatrophy at least in the face on physical examination

(clinician and patient confirmed). Exclusion criteria were (a) previous therapy with tenofovir, (b) any contraindication to take tenofovir, including renal failure, (c) active AIDS-defining condition, and (d) treatment with androgenic agents, megestrol acetate, systemic glucocorticoids, human growth hormone, or lipid-lowering agents ≤ 3 months before screening.

On screening day, demographic characteristics, disease severity according to the Centers of Disease Control and Prevention (CDC) classification, HIV-associated conditions, and history of prior antiretroviral drug use were assessed, and a physical examination was performed.

Treatment Switch

All patients switched from stavudine to tenofovir, administered as one 300-mg tablet (Viread[®]; Gilead Sciences, Foster City, California, USA), without changing any other antiretroviral drug. During follow-up, patients were not allowed to start any medication that could modify the metabolic profile (e.g., lipid-lowering agents) or body fat distribution (e.g., hormone replacement therapy).

Efficacy and Safety Assessments

Study visits were conducted at baseline (Month 0) and at Months 1, 3, 6, 9, 12, 18, and 24. At each of these study visits, patients were asked about the occurrence of adverse events, appearance of HIV-associated diseases, and changes in concurrent medications, and they underwent an overnight fasting blood sampling to measure plasma HIV RNA levels (lower limit of quantitation of 50 copies/mL), blood cell count, CD4 lymphocyte count, liver enzymes, urea, creatinine, glucose, and lipid profile (total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol [HDL-C], low-density lipoprotein cholesterol [LDL-C], and triglycerides [TG]).

When HIV RNA levels were > 50 copies/mL, a second determination was performed a month later. Virologic failure was defined as plasma HIV RNA levels > 50 copies/mL on two consecutive measurements.

Assessment of Body Fat Changes

Objective and subjective measures of lipoatrophy were assessed at baseline and at Months 6, 12, 18, and 24. Changes in subcutaneous malar fat

thickness were measured by ultrasonography, as described by Martínez et al.²⁹ Subcutaneous malar fat thickness was measured twice on the right malar bone (mean value) with a high-frequency transducer (7.5–8.0 MHz) without pressing the underlying skin. All ultrasonography explorations were performed by one of the two radiologists participating in the study, who were unaware of the patient's treatment and had clear instructions not to discuss any issue related to the treatment or the subjective perception of fat changes with them.

Total body fat mass was estimated by multifrequency bioelectrical impedance analysis (BioScan[®] Spectrum tetrapolar multifrequency; Bio Logica, Spain), as described by Kyle et al.³⁰ Percentages of body fat, fat-free mass, and total body water were also calculated.

Anthropometric measurements by standard techniques included height, weight, body mass index (weight in kilograms divided by height in meters squared), and waist-to-hip ratio (waist circumference/hip circumference).

Subjective measures of lipatrophy were assessed by the patient. Patients completed a body image questionnaire, rating lipatrophy severity as 0 = *absent*, 1 = *mild* (noticeable on close inspection), 2 = *moderate* (readily noticeable by patient/physician), and 3 = *severe* (readily noticeable to a casual observer)³¹ and fat changes in their face, limbs (arms or legs) and buttocks as 0 = *lost a lot*, 1 = *lost some*, 2 = *no change*, 3 = *gained some*, and 4 = *gained a lot*, compared with baseline.

Assessment of Mitochondrial Toxicity

Relative quantitation of mitochondrial DNA (mtDNA) versus nuclear DNA (nDNA) was performed by real-time PCR in an ABI PRISM 7700 sequence detector (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) as described previously.³² All samples were tested in duplicate. The relative quantitation of mtDNA versus nDNA was calculated using the formula $2^{-\text{EXP}(\text{CtmtDNA}-\text{CtnDNA})}$, where CtmtDNA and CtnDNA are the threshold cycles for the mitochondrial and nuclear targets, respectively.

Statistical Analysis

SPSS software for Windows (Version 12.0; SPSS, Inc., Chicago, Illinois, USA) was used for the statistical analyses. All analyses were performed by

nonparametric tests. For quantitative variables, the medians and interquartile ranges (25th to 75th percentiles) were used as measures of central tendency and dispersion. The number of patients in each category and the corresponding percentages are given for qualitative variables. The changes from baseline characteristics were compared by the Wilcoxon signed rank test or Mann-Whitney for quantitative variables and the McNemar or chi-square test for qualitative variables, with the continuity correction for the chi square when a subgroup included five or fewer subjects. Correlations were analyzed by Spearman's rank test. All statistical tests were two-tailed and were performed at a level of statistical significance of .05.

RESULTS

Study Population, Disposition of Patients, and Virological Data

Sixty-two patients with stavudine-associated lipatrophy were enrolled in the study. One patient discontinued the study 2 months after the switch because he moved to another city and was not evaluated. Thus, 61 patients completed the study and were evaluable. Baseline characteristics of the patients enrolled in the study are described in Table 1.

Forty-four patients were receiving NNRTIs (29 efavirenz and 15 nevirapine) and 13 were receiving PIs (6 lopinavir/ritonavir, 5 nelfinavir, and 2 saquinavir/ritonavir). Lamivudine was the second nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) in 42 of these patients, abacavir in 10, and didanosine in 5. Four patients were receiving a NRTI combination (three abacavir and lamivudine and one abacavir and didanosine).

Seven patients had to change ART (six virologic failure, and one personal decision) during the study, but tenofovir was not changed in any patient. CD4 lymphocyte count remained stable during the study period (median CD4 increased by 15 cells/ μL from a median of 435 cells/ μL 24 months after switch).

Six (10%) patients had protocol-defined virologic failure. This included all the four patients (100%) who were receiving tenofovir and two NRTIs (three abacavir and lamivudine, and one abacavir and ddI) and two patients with the tenofovir, lamivudine, and efavirenz combination. All of them had undetectable HIV-1 viral load 6 months after

Table 1. Baseline characteristics of patients enrolled in the study

Characteristics	Value (n = 61)
Age, years	40 (37–45)
Sex, males	44 (72)
HIV route	
Intravenous drug use	22 (36)
Heterosexuality	21 (34)
Men who have sex with men	13 (21)
Others	5 (8)
CDC category C	28 (46)
HCV positive	29 (48)
HBsAg positive	6 (10)
Time from HIV diagnosis, years	7.7 (4.4–12.1)
Time on ART, years	5.5 (1.8–7.1)
Time on stavudine therapy, years	4.8 (1.6–5.6)
Number of ART regimens	3 (2–4)
CD4 cell count, cells/ μ L	435 (298–733)
Weight, kg	63 (58.4–72.7)
Body mass index, kg/m ²	22.6 (21.2–24.5)

Note: Data are expressed in number (percentage) of patients or median (interquartile range). CDC = Centers for Diseases Control and Prevention; HCV = hepatitis C virus; HBsAg = hepatitis B surface antigen; ART = antiretroviral therapy.

changing the treatment but always maintaining tenofovir.

Body Fat Changes

In the first 6 months after switching from stavudine to tenofovir, no changes in malar fat thickness or total fat mass were observed. Statistically significant malar fat thickness increases from baseline were observed at Month 12 (median increase [IQR] 0.2 mm [0–0.6], $p = .001$), Month 18 (0.6 mm [0.1–1.1], $p < .001$), and Month 24 (0.8 mm [0.3–1.3], $p < .001$) (Figure 1A). Also, significant increases from baseline in total fat mass were observed at Month 12 (median increase [IQR] 1.7 kg [0.1–4.3], $p = .001$), Month 18 (3.2 kg [0.4–4.3], $p < .001$), and Month 24 (3.9 kg [1.4–6.2] kg, $p < .001$) (Figure 1B).

A moderate correlation was observed between baseline malar fat thickness and baseline total fat mass ($r = 0.39$, $p = .008$) and between Month 24

malar fat thickness and Month 24 total fat mass ($r = 0.40$, $p = .004$). No significant correlation was seen between the increase in total fat mass and the increase in malar fat thickness ($r = 0.21$, $p = .18$). We could not identify any other predictive factor of fat increase from baseline. Use of NNRTIs or PIs in the regimen, baseline malar fat thickness, and total fat mass did not influence malar or total fat recovery.

Subjective Assessment

At baseline, the percentage of patients with absent, mild, moderate, or severe subjective facial lipoatrophy were 0%, 41%, 44%, and 15%; after 24 months of therapy switch ($n = 50$), the percentages were 16%, 36%, 40%, and 8%, respectively ($p < .001$). With regard to changes in facial fat, none of the patients lost a lot, 8% lost some, 54% reported no change, 36% gained some, and 2% gained a lot of fat, compared with baseline. In those patients in which a subjective improvement in facial lipoatrophy was reported (gained some or gained a lot), an increase of 1.05 mm (IQR 0.65–1.67) in facial fat was observed with ultrasonography, in contrast to the 0.5 mm (IQR 0.1–1.2) increase in those patients who did not report any improvement (lost some or no change; $p = .020$).

At baseline, limb lipoatrophy was absent, mild, moderate, or severe in 15%, 31%, 49%, and 5% of patients, respectively. After 24 months, these percentages were 22%, 38%, 36%, and 4% ($p < .001$). With regard to subjective changes in limb fat, none of the patients lost a lot, 12% lost some, 63% had no change, 21% gained some, and 4% gained a lot, compared with baseline. No significant differences were seen in the increase of total fat mass (impedance) between patients with or without subjective improvement in limb fat (4.4 kg [IQR 3.1–6.5] vs. 3.5 kg [IQR 0.3–6.2]; $p = .39$).

At baseline, buttocks lipoatrophy was absent, mild, moderate, or severe in 17%, 39%, 36%, and 8% of patients, respectively. After 24 months, these percentages were 32%, 36%, 24%, and 8% ($p < .001$). With regard to subjective changes in buttocks fat, none of the patients lost a lot, 14% lost some, 58% had no change, 22% gained some, and 6% gained a lot, compared with baseline. No significant differences were seen in total fat mass increase (impedance) between patients with or without subjective improvement in buttocks fat (4.3 kg [IQR 2.4–7.2] vs. 3.5 kg [IQR 1.5–6.2]; $p = .54$).

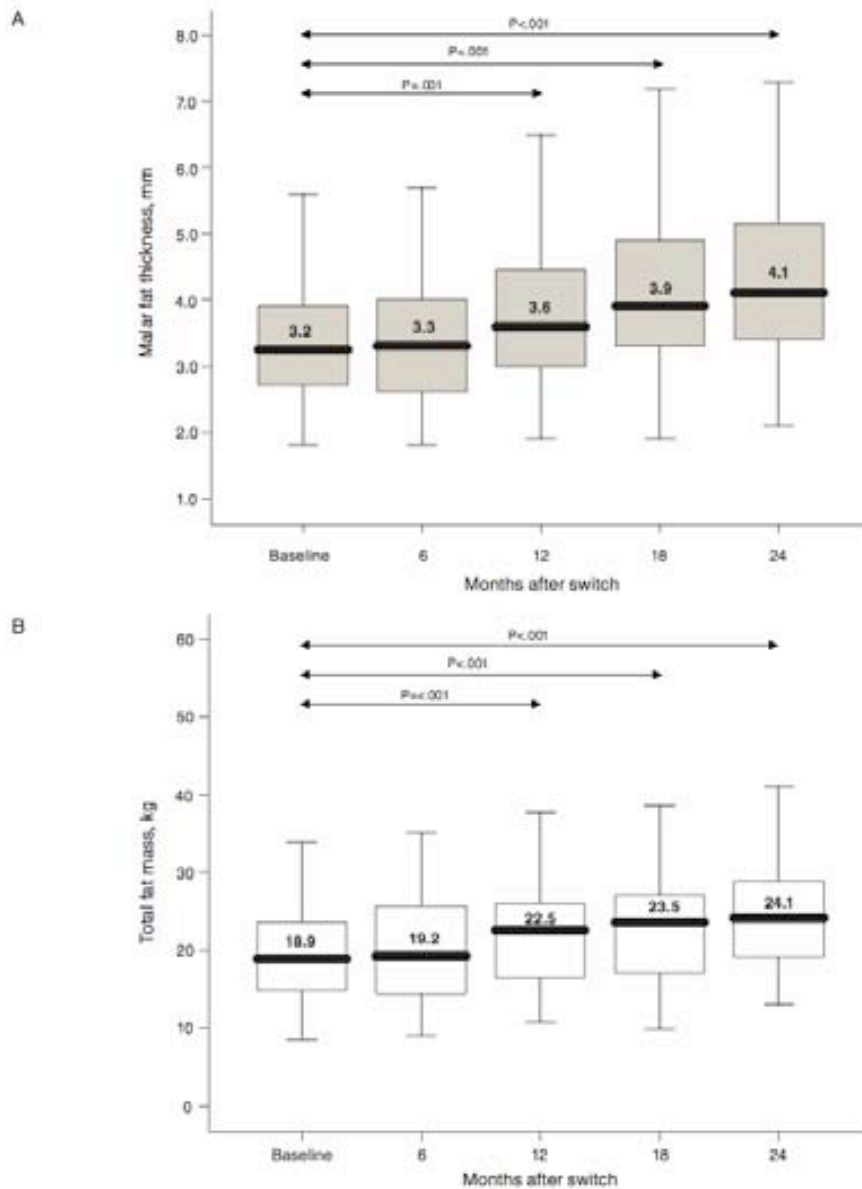


Figure 1. (A) Malar fat thickness (mm) in patients substituting tenofovir for stavudine from baseline to Month 24 ($n = 61$). (B) Total fat mass (kg) in patients substituting tenofovir for stavudine from baseline to Month 24 ($n = 61$). The box plots represent the median (line at middle of the box), quartiles (bottom and top limit for each box correspond to the 25th and 75th percentiles), and 5th and 95th percentiles (bottom and top whiskers).

Anthropometric Parameters

No significant changes were seen between baseline and Month 24 after switch to tenofovir in body weight (median [IQR], 65 kg [60.6–72.8] vs 65.3 kg [57.6–71.9]), in body mass index (23.6 kg/m² [21.8–24.6] vs. 23.5 kg/m² [21.4–24.6]), in brachial circumference (27.2 cm [25.0–29.1] vs. 28.0 cm [25.7–29.2]), or in the waist/hip circumference ratio (0.95 kg [0.88–1.0] vs. 0.97 kg [0.92–1.02]).

Changes in Parameters of Mitochondrial Toxicity

The content of mtDNA (mtDNA/nDNA ratio) in PBMCs at baseline (median [IQR], 42 [31–59]) was significantly lower than in historical controls of HIV-infected ARV-naïve patients (79 [51–114]; $p < .001$) and HIV-negative patients (147 [112–181]; $p < .001$). A significant increase in the content of mtDNA in PBMCs was seen 1 month (49 [35–74]; $p = .003$) and 3 months (65 [39–102]; $p < .001$) after the substitution of tenofovir for stavudine. Six months

after the switch, changes in mtDNA compared to baseline were not significant.

At baseline 19 patients (31%) had high lactate values (>2.2 mmol/L) (Figure 2). The median plasma lactate level decreased from baseline to Month 24 (from 1.72 to 1.18 mmol/L, $p < .001$), mainly in patients with baseline hyperlactatemia (from 3.05 to 1.19 mmol/L, $p < .001$). Lactate levels decreased specially during the first 3 months, subsequently seeing a slight decrease through 24 months, where only two patients (3%) had hyperlactatemia.

Changes in Metabolic Parameters

After replacing stavudine with tenofovir, significant improvement in total cholesterol, LDL-C, and TG were observed. Figure 3A illustrates the median for change in fasting total cholesterol and the percentage of patients with hypercholesterolemia. Forty percent of the patients had cholesterol values >240 mg/dL at baseline, with a median of

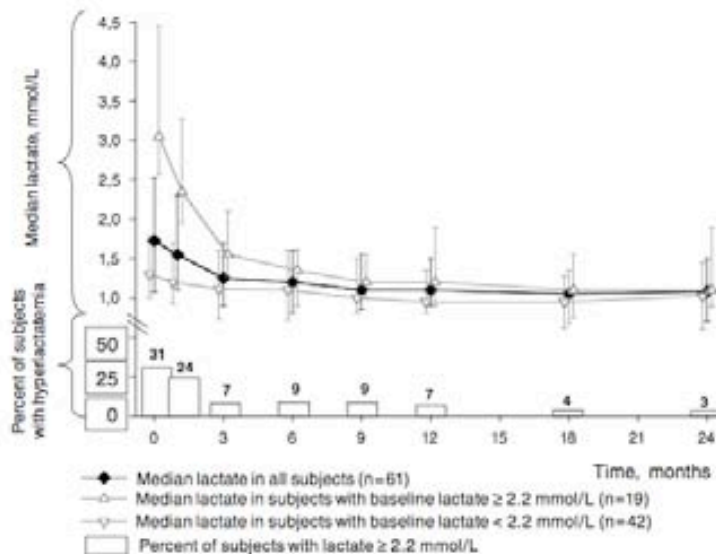


Figure 2. Lactate plasma levels (mmol/L) in patients substituting tenofovir for stavudine from baseline to Month 24. Lines represent median lactate values and whiskers the interquartile ranges, globally or depending on the baseline lactate levels. Bars represent percentage of patients with hyperlactatemia.

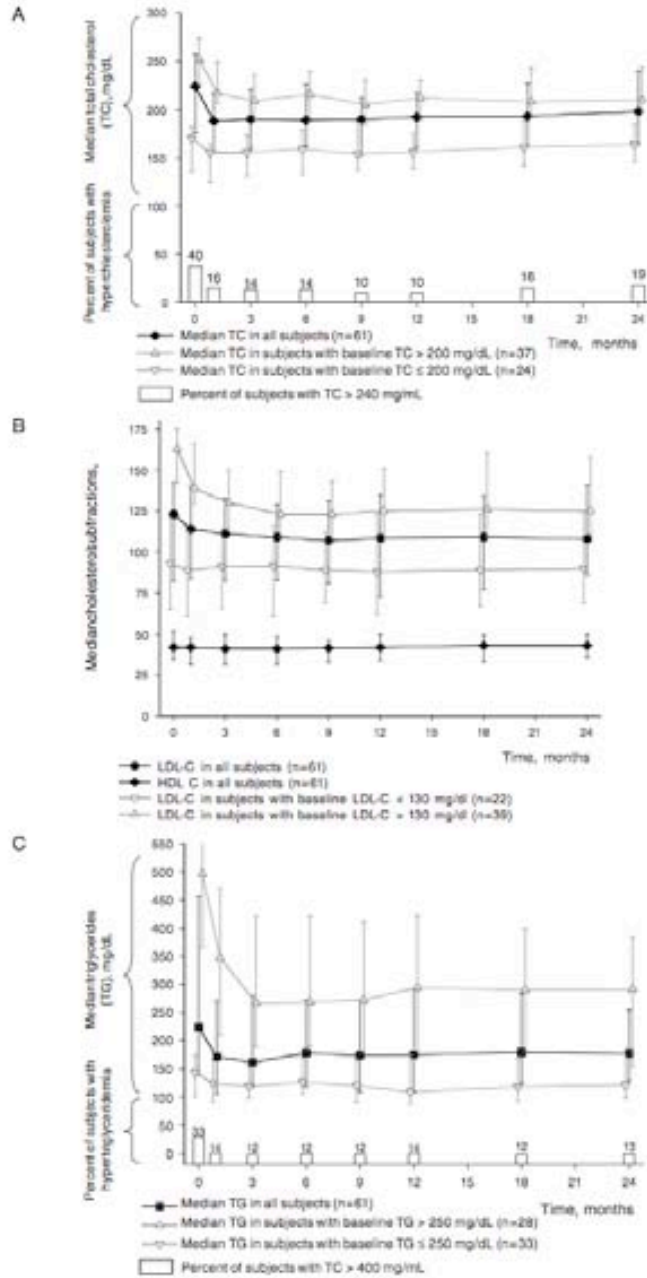


Figure 3. (A) Fasting total cholesterol plasma levels (mg/dL) in patients substituting tenofovir for stavudine from baseline to Month 24. Lines represent median cholesterol values and whiskers the interquartile ranges, globally or depending on the baseline cholesterol levels. Bars represent percentage of patients with hypercholesterolemia >240 mg/dL.

(B) Median values of fasting cholesterol subfractions, globally or depending on the baseline LDL-cholesterol levels (whiskers represent interquartile ranges).

(C) Fasting total triglyceride plasma levels (mg/dL) in patients substituting tenofovir for stavudine from baseline to Month 24. Lines represent median triglyceride values and whiskers the interquartile ranges, globally or depending on the baseline triglyceride levels. Bars represent percentage of patients with hypertriglyceridemia >400 mg/dL.

224 mg/dL. Median total cholesterol concentrations among all subjects were 23 mg/dL (12% lower 24 months after the switch than during stavudine therapy ($p < .001$), and only 19% of the patients had cholesterol values over 240 mg/dL ($p < .001$). The decrease in total cholesterol was larger in patients with baseline hypercholesterolemia and almost all the improvement achieved at 24 months was already seen as early as 1 or 3 months after the switch.

The change in cholesterol fractions is shown in Figure 3B. There was a significant improvement of LDL-C, mainly in subjects with elevated LDL-C at baseline. Concentration of HDL-C did not change after switch to tenofovir.

The total cholesterol/HDL-C ratio significantly improved after therapy switch, with median values (IQR) of 5.26 (4.28–6.24), 4.89 (3.92–5.56), 4.93 (4.03–5.73), 4.71 (4.14–5.96), 4.76 (4.16–5.41), 4.72 (3.86–5.71), 4.73 (3.95–5.72), and 4.65 (3.99–5.77) at baseline, 1, 3, 6, 9, 12, 18, and 24 months, respectively.

Figure 3C illustrates the medians for change in fasting TG and of the percentage of patients with hypertriglyceridemia. Thirty-three percent of patients had TG >400 mg/dL values at baseline, with a median of 223 mg/dL. Median TG concentrations among all subjects was 56 mg/dL (31% lower 24 months after the switch ($p < .001$) and 12% of patients had TG values over 400 mg/dL 24 months after. As seen with cholesterol, the decrease in TG values was seen mainly in patients with hypertriglyceridemia, and almost all the improvement attained at 24 months was already seen as early as 1 or 3 months after the switch.

Safety and Tolerability

No serious adverse events related to treatment medication were reported during the study. No patient experienced bone fractures. No significant changes in liver function tests, glucose, or creatinine values were observed during the study.

DISCUSSION

HIV-associated lipodystrophy is a highly stigmatizing syndrome that can negatively impact the patient's self-esteem, social relationships, and treatment adherence and entail metabolic disor-

ders that can increase cardiovascular risk. The toxic effects of stavudine on mitochondria may contribute to lipodystrophy. This study evaluated the long-term effect of switching a stavudine-based regimen to a tenofovir-based regimen.

We found a significant albeit modest increase of 0.8 mm (25%) in malar fat thickness and of 3.9 kg (21%) in total body fat 24 months after switching to tenofovir. Six months after the switch, no changes in malar fat or whole body fat were seen; after that point, a partial reversal of lipodystrophy was observed, which appeared to continue over time. However, subjective lipodystrophy improvements 24 months after treatment switch were moderate, and only 38%, 25%, and 28% of patients reported an evident improvement in face, limbs, or buttocks, respectively. Subjective improvement of facial lipodystrophy was significantly associated with a greater increase of subcutaneous malar fat thickness measured by ultrasonography (1.1 mm in those patients who referred improvement and 0.5 mm in those who did not), whereas no significant association was seen between total fat increase measured by bioimpedance and subjective improvement of lipodystrophy in any location.

Three previously published studies have assessed switching from a thymidine analog NRTI to tenofovir in patients receiving stable ART with undetectable viral load.^{21–23} In the study by Milinkovic et al.,²¹ patients who switched from stavudine to tenofovir ($n = 15$) had a median increase in limb fat and in total fat of 0.40 kg and 1.19 kg, respectively, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) after 6 months, whereas patients who continued with standard dose of stavudine ($n = 19$) had a median decrease in limb fat and in total fat of 0.18 and 0.43 kg, respectively. In the RAVE study,²² patients who switched from either zidovudine or stavudine to tenofovir ($n = 52$) had a median increase in limb fat and in total fat of 0.33 kg and 0.95 kg, respectively, as measured by DEXA after 12 months. Patients receiving stavudine before switching to tenofovir experienced greater increases in limb fat (0.50 kg; $n = 37$) than those on zidovudine (0.19 kg; $n = 17$). In the extension phase of Study 903,²³ a total of 85 patients originally randomized to stavudine, lamivudine, and efavirenz completed the 36-month double-blind phase of the study and were switched to an open-label regimen of tenofovir, lamivudine, and efavirenz. Mean limb

fat as measured by DEXA increased progressively from 4.5 kg around the time of the switch to 5.1 kg at 48 weeks after the switch and to 5.8 kg 36 months after the switch. None of these three studies performed a subjective analysis of lipoatrophy evolution or an objective analysis of facial lipoatrophy, except for a substudy of 47 subjects with lipoatrophy in the RAVE study, who underwent scanning by tridimensional laser technique to assess facial volume allowing changes in facial volume to be calculated by superimposing the scans. Fat volume in both cheek areas increased by 2539 mm³ from baseline to 48 weeks after the switch, and this increase correlated with improvements in limb fat.³³ This technique needs to be standardized and is not available in many hospitals.

Sonography is a simple, rapid, available, and low-cost technique to measure the thickness of subcutaneous malar fat.^{26,34,35} Patients with lipoatrophy have less facial fat than persons without lipoatrophy²⁷; in our study, its measurement was useful to analyze changes in facial lipoatrophy after switching stavudine for tenofovir. Sonography should be considered as an additional tool to quantify malar fat changes in HIV-1-infected patients when performed by the same expert radiologist.

Bioelectrical impedance is a simple and inexpensive technique, which is useful for measuring total fat, but it does not allow the differentiation between locations (trunk, limbs) or between subcutaneous or visceral fat; this is a limitation of our study. The increase in total fat seen in our study is similar to the increase in total fat and subcutaneous fat in limbs measured by DEXA in the other stavudine to tenofovir switching studies,^{24–26} but it has not correlated with subjective changes in any location, as seen in another study.³⁶ Without a doubt, subcutaneous limb fat measurement by DEXA, which is becoming routinely available in many centers, is the gold standard for the study of limb lipoatrophy in patients infected with HIV.

Dyslipidaemia was very common in patients with lipoatrophy receiving HAART including stavudine, despite the fact that most patients were receiving NNRTI. After replacing stavudine for tenofovir, a notable improvement in total cholesterol, LDL-C, and triglycerides was observed, and the decrease was more pronounced in patients with baseline dyslipidaemia. The lipid decay effect was observed very early after the switch: it was

evident in the first evaluation 1 month after the switch and the larger decrease was seen within the first 3 months, stabilizing or having slight changes after then.

These findings are consistent with the other studies where stavudine has been replaced by tenofovir.^{24–26,28} In those switch studies where the thymidine analog has been substituted by abacavir, a gain in limb fat similar to that observed with tenofovir has been seen, but with little change in the lipid profile.^{17,18,20,21} Therefore switching to tenofovir rather than to abacavir may provide a more attractive option in terms of improving the lipid profile.^{26,37} Even in those patients in whom the switch is not enough to resolve dyslipidaemia, it can become a good complement to the lipid-lowering agents' activity.

Mitochondrial parameters that were studied improved with the switch strategy. Consistent with other switch studies,^{18,20} we demonstrated a progressive reduction of lactate levels after replacing stavudine with tenofovir, especially in those patients with baseline hyperlactatemia. The moderate increase in PBMCs mtDNA seen in the first months after the switch can be partly responsible for the recovery of mitochondrial function, which allowed lactatemia normalisation, although other factors independent of DNA polymerase inhibition could be implicated, such as mtRNA transcription inhibition in the absence of mtDNA depletion.^{20,39}

No correlation was seen between improvement in mitochondrial parameters and fat gain. As previously established, body fat changes are mediated by mitochondria, but drug toxicities are probably organ-specific, and mitochondrial changes should not be measured in PBMCs.^{18,25,40}

After the switch to tenofovir, most patients continued to have durable virologic response, except those receiving a combination of three NRTIs. The four patients who received a triple nucleoside combination went on to experience virological failure after changing from stavudine to tenofovir, with the selection of resistance mutations. When this study was begun, the high virological failure rate associated with triple nucleoside combinations that did not contain a thymidine analogue was unknown.

The switch to tenofovir was well tolerated after 24 months of follow-up, and no patient had to stop therapy because of adverse events.

Some limitations of our study must be pointed out. The first is the use of techniques such as bioimpedance that do not allow the differentiation between localizations in fat gain. The second is the potential bias in the subjective perception of fat changes due to the placebo effect; despite this possibility, significant correlation between subjective and objective measurements was seen in facial fat gain.

In summary, our study demonstrated that in the actual context of HAART in virologically suppressed HIV-infected patients with lipoatrophy, switching from stavudine to tenofovir maintains durable virologic suppression and leads to a significant improvement of facial lipoatrophy, lipid profile, and lactate levels with an excellent safety profile. Lipoatrophy reversion is very slow and is still clinically evident in most patients 24 months after switching. These results support the proactive change from stavudine to tenofovir.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by grant 36274/02 from FIPSE, by Red Temática de Investigación en SIDA (RIS G03/173-RETIC RD06/006) and by Gilead Sciences. The funding sources played no role in the design of the study, data collection, data analysis, or writing of the manuscript.

REFERENCES

- Saint-Marc T, Partisani M, Poizat-Martin I, et al. Fat distribution evaluated by computed tomography and metabolic abnormalities in patients undergoing antiretroviral therapy: Preliminary results of the LIPOCO study. *AIDS*. 2000;14:37-49.
- Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular risk and body-fat abnormalities in HIV-infected adults. *N Engl J Med*. 2005;352:48-62.
- John M, Nolan D, Mallal S. Antiretroviral therapy and the lipodystrophy syndrome. *Antivir Ther*. 2001;6:9-20.
- Nolan D, Mallal S. Antiretroviral-therapy-associated lipoatrophy: Current status and future directions. *Sex Health*. 2005;2:153-163.
- McCormsey G. Update on mitochondrial toxicity of antiretrovirals and its link to lipodystrophy. *AIDS Rev*. 2002;4:140-147.
- Mallal SA, John M, Moore CB, James IR, McKinnon EJ. Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection. *AIDS*. 2000;14:1309-1316.
- Lewis W, Kohler JJ, Hosseini SH, et al. Antiretroviral nucleosides, deoxynucleotide carrier and mitochondrial DNA: Evidence supporting the DNA pol gamma hypothesis. *AIDS*. 2006;20:675-684.
- Hurst M, Noble S. Stavudine: An update of its use in the treatment of HIV infection. *Drugs*. 1999;58:919-949.
- Pozniak AL, Gallant JE, DeJesus E, et al. Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz versus fixed-dose zidovudine/lamivudine and efavirenz in antiretroviral-naïve patients: Virologic, immunologic, and morphologic changes—a 96-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006;43:535-540.
- van Leth F, Phanuphak P, Ruxrungtham K, et al. Comparison of first-line antiretroviral therapy with regimens including nevirapine, efavirenz, or both drugs, plus stavudine and lamivudine: A randomised open-label trial, the 2NN Study. *Lancet*. 2004;363:1253-1263.
- Joly V, Flandre P, Meiffredy V, et al. Increased risk of lipoatrophy under stavudine in HIV-1-infected patients: Results of a substudy from a comparative trial. *AIDS*. 2002;16:2447-2454.
- van der Valk M, Casula M, Weveringz GJ, et al. Prevalence of lipoatrophy and mitochondrial DNA content of blood and subcutaneous fat in HIV-1-infected patients randomly allocated to zidovudine- or stavudine-based therapy. *Antivir Ther*. 2004;9:385-393.
- Lichtenstein KA. Redefining lipodystrophy syndrome: Risks and impact on clinical decision making. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;39:395-400.
- Saves M, Raffi F, Capeau J, et al. Factors related to lipodystrophy and metabolic alterations in patients with human immunodeficiency virus infection receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2002;34:1396-1405.
- Mallon PW, Miller J, Cooper DA, Carr A. Prospective evaluation of the effects of antiretroviral therapy on body composition in HIV-1-infected men starting therapy. *AIDS*. 2003;17:971-979.
- Podzamczak D, Ferrer E, Sanchez P, et al. Less lipoatrophy and better lipid profile with abacavir as compared to stavudine: 96-week results of a randomized study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006;44:139-147.
- Martin A, Smith DE, Carr A, et al. Reversibility of lipoatrophy in HIV-infected patients 2 years after switching from a thymidine analogue to abacavir: The MITOX Extension Study. *AIDS*. 2004;18:1029-1038.
- McCormsey GA, Ward DJ, Hesselthaler SM, et al. Improvement in lipoatrophy associated with highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-infected patients switched from stavudine to abacavir or zidovudine: The results of the TARHEEL study. *Clin Infect Dis*. 2004;38:263-270.
- John M, McKinnon EJ, James IR, et al. Randomized, controlled, 48-week study of switching stavudine and/or zalcitabine to abacavir/abacavir to prevent or reverse lipoatrophy in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;33:29-33.
- Garcia-Benayas T, Blanco F, de la Cruz JJ, Soriano V, Gonzalez-Lahoz J. Replacing stavudine by abacavir reduces lactate levels and may improve lipoatrophy. *AIDS*. 2003;17:921-924.
- Carr A, Workman G, Smith DE, et al. Abacavir substitution for nucleoside analogs in patients with HIV lipoatrophy: A randomized trial. *JAMA*. 2002;288:207-215.

22. Moyle GJ, Baldwin C, Langroudi B, Mandala S, Gazzard BG. A 48-week, randomized, open-label comparison of three abacavir-based substitution approaches in the management of dyslipidemia and peripheral lipotrophy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;33:22-28.
23. Birkus G, Hitchcock MJ, Cihlar T. Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: Comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:716-723.
24. Valdez JF, Cassetti I, Suleiman JM, et al. The safety and efficacy of switching stavudine to tenofovir df in combination with lamivudine and efavirenz in HIV-1-infected patients: Three-year follow-up after switching therapy. *HIV Clin Trials*. 2007;8:381-390.
25. Milinkovic A, Martinez E, Lopez S, et al. The impact of reducing stavudine dose versus switching to tenofovir on plasma lipids, body composition and mitochondrial function in HIV-infected patients. *Antivir Ther*. 2007;12:407-415.
26. Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J, et al. A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipotrophy. *AIDS*. 2006;20:2043-2050.
27. Murphy RL, da Silva BA, Hicks CB, et al. Seven-year efficacy of a lopinavir/ritonavir-based regimen in antiretroviral-naïve HIV-1-infected patients. *HIV Clin Trials*. 2008;9:1-10.
28. Llibre JM, Domingo P, Palacios R, et al. Sustained improvement of dyslipidaemia in HAART-treated patients replacing stavudine with tenofovir. *AIDS*. 2006;20:1407-1414.
29. Martinez E, Bianchi L, Garcia-Viejo MA, Bru C, Gatell JM. Sonographic assessment of regional fat in HIV-1-infected people. *Lancet*. 2000;356:1412-1413.
30. Kyle UG, Bosseus I, De Lorenzo AD, et al. Bioelectrical impedance analysis-part II: Utilization in clinical practice. *Clin Nutr*. 2004;23:1430-1453.
31. Lichtenstein K, Ward DJ, Moorman AC, et al. Clinical assessment of HIV-associated lipodystrophy in an ambulatory population. *AIDS*. 2001;15:1389-1398.
32. Crespo M, Sauleda S, Esteban JI, et al. Peginterferon alpha-2b plus ribavirin vs interferon alpha-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients. *J Viral Hepat*. 2007;14:228-238.
33. Benn P, Sauret V, Cartledge J, et al. Improvements in facial lipotrophy at 48 weeks following substitution of a thymidine analog with tenofovir or abacavir: A randomised, open-label study in persons with lipotrophy and virological suppression on HAART. 7th International Workshop on Adverse Drug Reactions and Lipodystrophy in HIV; November 13-17, 2005; Dublin, Ireland. Abstract 8. *Antivir Ther*. 2005;10:17.
34. Jones PR, Davies PS, Norgan NG. Ultrasonic measurements of subcutaneous adipose tissue thickness in man. *Am J Phys Anthropol*. 1986;71:359-363.
35. Asensi V, Martin-Roces E, Collazos J, et al. Association between physical and echographic fat thickness assessments and a lipodystrophy grading scale in lipodystrophic HIV patients: Practical implications. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006;22:830-836.
36. Schwenk A, Breuer P, Kremer G, Ward L. Clinical assessment of HIV-associated lipodystrophy syndrome: Bioelectrical impedance analysis, anthropometry and clinical scores. *Clin Nutr*. 2001;20:243-249.
37. Martinez E, Arranz JA, Podzamczar D, et al. Efficacy and safety of NRTI's switch to tenofovir plus emtricitabine (Truvada®) vs. abacavir plus lamivudine (Kivexa®) in patients with virologic suppression receiving a lamivudine containing HAART: The BICOMBO study. In: Program and abstracts of the Fourth IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention; July 22-25, 2007; Sydney, Australia. Abstract WESS102.
38. Mallon PW, Unemori P, Sedwell RL, et al. In vivo, nucleoside reverse-transcriptase inhibitors alter expression of both mitochondrial and lipid metabolism genes in the absence of depletion of mitochondrial DNA. *J Infect Dis*. 2006;191:1686-1696.
39. Galluzzi L, Pinti M, Guaraldi G, et al. Altered mitochondrial RNA production in adipocytes from HIV-infected individuals with lipodystrophy. *Antivir Ther*. 2005;10 (Suppl 2): M91-99.
40. Nolan D, Hammond E, Martin A, et al. Mitochondrial DNA depletion and morphologic changes in adipocytes associated with nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy. *AIDS*. 2003;17:1329-1338.

10.2 RECOMB

HIV Medicine



Impact of switching from zidovudine/lamivudine to tenofovir/emtricitabine on lipotrophy, measured by limb fat DEXA: 72 weeks results of the RECOMB study.

Journal:	HIV Medicine
Manuscript ID:	HIV-OA-06-2012-1929.R1
Manuscript Type:	Original research
Date Submitted by the Author:	05-Oct-2012
Complete List of Authors:	Ribera, Esteban; Hospital Vall d'Hebron, Infectious Diseases; Larrousse, María; Hospital Clínic, Infectious Diseases Unit; Curran, Adrian; Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Infectious Diseases; Negredo, Eugenia; Lluita contra la Sida Foundation; Germans Trias i Pujol University Hospital, Clotet, Bonaventura; Fundació IrsiCaixa, Retrovirology lab; Estrada, Vicente; Hospital Clínico San Carlos, Internal Medicine/HIV Unit; Sanz-Sanz, Jesús; Hospital Universitario la Princesa, Unidad de Enfermedades Infecciosas; Berenguer, Juan; Hospital General Universitario "Gregorio Marañón", Infectious Diseases-HIV Unit; Rubio, Rafael; Hospital 12 de Octubre, Internal Medicine Department (HIV unit); Pulido, Federico; Hospital 12 de Octubre, Unidad VIH; Ferrer, Pedro; Gilead Sciences, Medical Department; Alvarez, María Luisa; Gilead Sciences, Medical Department; Arterburn, Sarah; Gilead Sciences; Martínez, Esteban; Hospital Clínic, Infectious Diseases Unit;
Keywords:	limb fat, lipotrophy, tenofovir, emtricitabine, zidovudine, HIV, Prevention

SCHOLARONE™
Manuscripts

Impact of switching from zidovudine/lamivudine to tenofovir/emtricitabine on lipotrophy, measured by limb fat DEXA: 72 weeks results of the RECOMB study.

Running head: AZT/3TC or TDF/FTC and limb fat changes

Authors:

E. Ribera, Hospital Universitari Vall d'Hebron. Infectious Diseases Division. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. Spain.

M. Larrouse, Infectious Diseases Unit, Hospital Clinic-IDIBAPS, University of Barcelona, Barcelona, Spain.

A. Curran, Hospital Universitari Vall d'Hebron. Infectious Diseases Division. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. Spain.

E. Negrodo, IrsiCaixa Foundation, Institut Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, Spain.

B. Clotet, IrsiCaixa Foundation, Institut Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, Spain.

V. Estrada, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain.

J. Sanz Sanz, Hospital Universitario de la Princesa, Instituto de Investigación Princesa, Madrid, Spain.

J. Berenguer, Infectious Diseases/HIV Unit, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain.

R. Rubio, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain.

F. Pulido, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain.

P. Ferrer, Gilead Sciences SL, Madrid, Spain.

M.L. Alvarez, Gilead Sciences SL, Madrid, Spain.

S. Arterburn, Gilead Sciences Inc, Foster City, USA.

E. Martínez, MD, PhD, Infectious Diseases Unit, Hospital Clinic-IDIBAPS,
University of Barcelona, Barcelona, Spain.

Corresponding author: Dr. Esteban Ribera, Servei de Malalties Infeccioses,
Hospital Universitari Vall d'Hebron, Paseo Vall d'Hebron 119-129, Sexta planta,
08035 Barcelona, Spain. Telephone: +34 934894497, e-mail:
eriberap@gmail.com

Meetings at which parts of the data were presented (including title of
conference, city, and date):

- XVII International AIDS Conference. Mexico City, Mexico, August 3-8,
2008
- 5th International AIDS Society Conference on HIV Pathogenesis,
Treatment, and Prevention. Cape Town, South Africa, July 19-22, 2009
- 9th International Congress on Drug Therapy in HIV Infection. Glasgow,
UK, November 9-13, 2008
- 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Seattle,
USA, March 5-8, 2012

ABSTRACT

Objectives: Lipoatrophy is a long-term adverse effect of some antiretrovirals that affects quality of life, compromises adherence and may limit the clinical impact of HIV treatments. This paper explores the effect of tenofovir/emtricitabine (TDF/FTC) on the amount of limb fat in patients under virologic suppression.

Methods: Randomized, prospective clinical trial comparing the continuation on a zidovudine/lamivudine (AZT/3TC) based-regimen to the switch to a TDF/FTC one on the limb fat mass assessed by DEXA over a 72-week period.

Results: Eighty patients were included (39 in the TDF/FTC arm and 41 in the AZT/3TC arm), and 73 completed the study (37 and 36 in each arm, respectively). In the switch arm, limb fat increased by 540 grams from baseline ($p=0.022$), while in the AZT/3TC arm it decreased by -379 grams ($p=0.112$, p between groups= 0.007). Subjects with a baseline limb fat ≤ 7.2 Kg, a previous time on AZT > 5 years or a body mass index > 25 Kg/m² experienced the highest and statistically significant limb fat gain. Haemoglobin increased a median of 1.0 g/dL in the TDF/FTC arm ($p<0.001$), and remained unchanged in the AZT/3TC arm (p between groups= 0.0002). There were no significant differences between groups in other secondary endpoints (body weight, total body and trunk fat content, total body bone mineral density, laboratory parameters, CD4 cell count and viral load).

Conclusions: Switching from an AZT/3TC to a TDF/FTC based-regimen led to a statistically significant improvement in limb fat, as opposed to the progressive loss in subjects continuing AZT/3TC.

INTRODUCTION

Highly active antiretroviral treatments (HAART) have drastically modified the course of HIV infection, thanks to the immunologic and virologic control achieved with them.(1) Nevertheless, long term adherence to the treatment (for all their lifespan, according to current knowledge), without having relevant adverse effects is required to attain these results.(2)

For HIV patients, lipoatrophy is a frequent problem with important consequences, related to the use of HAART as well as to some host and virus factors. It is characterized by a loss of subcutaneous fat in the face, buttocks and/or limbs, and it is frequently associated with other metabolic complications (dyslipidemia, insulin resistance), increased cardiovascular risk and lack of adherence to antiretroviral treatment (ART).(2-4) It is also a source of great concern for patients due to stigmatization. The change in the amount and distribution of body fat must be considerable (loss of 30-50% of total body fat) before it becomes evident,(5-7) and in consequence the cases of clinically obvious lipoatrophy are only the tip of the iceberg of a phenomenon that represents a generalized disorganization of the adipose tissue,(8) starting when ARVs are first used and continuing over time(9-11). When the patient perceives the change in his/her body shape, the fat loss is difficult to regain,(9;12-14) it is therefore important to prevent its appearance in a subclinical stage.(15)

Agents associated with the appearance of lipoatrophy include among others the thymidine analogues reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), stavudine (d4T) being the main culprit,(9;10;16-18) along with zidovudine (AZT) entailing an important cause of fat loss.(17;19) Due to their toxicity, AZT and d4T are not first line options for HIV patients any more, but they are still used by

many patients who started their HAART regimens with the AZT/3TC combination some time ago. On the other hand, the fixed dose combination of TDF/FTC is the preferred NRTI backbone option currently, and is unanimously recommended by all main international antiretroviral treatment guidelines.(15;20) It is an easy to use and well tolerated option, with a smaller fat loss effect(12;21) and recommended as well for the treatment and prevention of lipoatrophy substituting thymidine analogues.(15)

The objective of this study was to explore limb fat changes, as well as changes in other clinically relevant parameters, comparing switching from AZT/3TC to TDF/FTC to maintaining AZT/3TC in stable patients who were virologically suppressed.

METHODS

Study design

This was a prospective, multicenter, randomized, open label, phase 4 clinical trial, carried out in 8 HIV clinics in Spain, between May 2006 and September 2008. The protocol was approved by the Ethics Committee of all the participating centers and by the Spanish Health Authorities. This study was conducted according to the principles in the Declaration of Helsinki 1975, 2000 revision. Each participant gave written informed consent.

Eligible subjects invited to participate were adult patients (>18 years) with confirmed HIV-1 infection, on stable therapy for at least 6 months with a HAART regimen containing AZT+3TC, either as separate drugs or as the fixed dose combination Combivir[®], plus a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) or a protease inhibitor (PI), and with confirmed HIV-1 RNA < 50 copies/mL in the last two consecutive determinations.

Patients accepting to participate were randomized to either continuing their HAART regimen (AZT/3TC arm) or switching from AZT+3TC to TDF+FTC (TDF/FTC arm), with the same third agent previously used. In the AZT/3TC arm, subjects received the study drug either as a fixed dose combination (Combivir[®], 1 tablet BID) or as separate components of lamivudine 150 mg (1 tablet BID) plus zidovudine 300 mg (1 tablet BID); in the TDF/FTC arm the study drug was administered as a fixed dose combination (Truvada[®], 1 tablet QD). "Treated Subjects" were those who were randomized and received at least one dose of the study drug and the "Treated Subjects" dataset was used for both efficacy and safety analyses. A centralized manual randomization procedure was used, whereby treatments were assigned to subjects at each study site, stratifying according to the current third agent of their HAART (NNRTI or PIs) regimen.

Clinical examinations and laboratory analyses were conducted at each participating centre at baseline and every twelve weeks thereafter until week 72. Whole body dual energy x-ray absorptiometry (DEXA) scans to measure body fat were performed at baseline and every 24 weeks, and were centralized in two clinics in Barcelona and Madrid. Scans were read centrally by a radiologist unaware of the patient's randomization arm. A DEXA Lunar Prodigy model was used and cross-calibration between centres was performed by a variable composition phantom. In order to provide a clinically appropriate range for instrument assessment three different configurations of the phantom layers were applied, designed to evaluate a high, medium and low fat composition. The agreement among the different scanners was evaluated according to the Bland-Altman method and Lin's concordance correlation coefficient. Results

showed a high concordance for body fat composition between the DEXA fan-beam systems with no significant differences in the fat component quantification.

Exclusion criteria were prior virological failure or intolerance to TDF or FTC-containing therapy, treatment with investigational antiretroviral drugs, known history of drug abuse or chronic alcohol consumption, pregnancy or breast-feeding, recent opportunistic infection (current or in the previous 4 weeks), documented active malignant disease (excluding cutaneous Kaposi sarcoma), renal disease with estimated glomerular filtration rate <50 mL/min/1.73m², concomitant use of nephrotoxic or immunosuppressive drugs, systemic corticosteroids, interleukin-2, or chemotherapy, and patients who were not considered suitable for the study at investigator's discretion. For women of childbearing potential, a negative urine pregnancy test at screening visit was required. Patients on lipid-lowering therapy were allowed to participate if their lipid-lowering therapy had been stable for at least the previous 8 weeks.

Endpoints

The primary endpoint of this study was the change from baseline in total limb fat measured by DEXA at weeks 24, 48 and 72. Total limb fat change was measured in grams, and it was calculated as the sum of arms and legs fat. Additional subanalyses of total limb fat change were performed according to baseline total limb fat dichotomized by < 7200 grams vs. ≥ 7200 grams (mean value for HIV negative men(5;6)), baseline body mass index (BMI) ≤ 25 kg/m² vs. BMI > 25 kg/m² (cut-off for overweight), and prior AZT use ≤ 5 years vs. > 5 years.

Secondary endpoints were changes in trunk and total body fat, body weight, total bone mineral density (BMD), haemoglobin and hematocrit levels, fasting metabolic parameters (total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides and lactate), mitochondrial DNA/nuclear DNA (mDNA/nDNA) ratio in lymphocytes, renal function measured by the glomerular filtration rate, calculated by the modification of diet in renal disease (MDRD) formula, proportion of patients maintaining HIV-1 RNA <400 and <50 copies/mL, change in CD4 cell counts, safety (incidence of adverse events and laboratory abnormalities) and description of resistance mutations in case of virological failure. Adherence to ART was assessed at each visit after baseline by the simplified medication adherence questionnaire (SMAQ), and a median of days of compliance was calculated. The SMAQ is a validated instrument that classifies adherence as a dichotomous variable (adherent/non adherent).(22)

Statistical analysis

Descriptive statistics were reported including number and percentage for categorical variables and number, mean, standard deviation, median and interquartile ranges for continuous variables. Two sided 95% confidence intervals (CIs) for each treatment group were calculated for absolute values and changes from baseline values at each time point. Changes from baseline within treatment groups were compared using a Wilcoxon Signed Rank Test, and differences between treatment group changes using a Wilcoxon Rank Sum Test. The proportion of patients with undetectable viral load was tested using a Fisher's exact test. The primary analysis was performed using a last post-baseline observation carried forward methodology (LOCF) for global and

stratified data, and the global analysis was confirmed by a secondary missing equals excluded (M=E) analysis.

This trial was designed as a pilot exploratory study with a total of 80 subjects, randomized 1:1 to each treatment arm.

This study was designed by and data were analysed at Gilead Sciences. All authors had full access to the data and vouch for the accuracy and completeness of the data and the analyses. The manuscript was written by all the authors, each of whom contributed to the drafts and revisions and approved the final manuscript. The study was registered at clinicaltrials.gov (number NCT00324649).

RESULTS

Baseline demographics and subject disposition

A total of 80 subjects were randomized, 39 subjects to the TDF/FTC group and 41 subjects to the AZT/3TC group. Subjects were predominantly male (81%) with a mean age of 44 years, and groups were well matched for all variables except sex, creatinine and baseline CD4 cell count (Table 1).

The majority of subjects completed the 72 weeks of study. Only two (5%) subjects in the TDF/FTC group and five (12%) in the AZT/3TC group discontinued study treatment prematurely. The two subjects in the TDF/FTC group discontinued treatment due to gastrointestinal intolerance and noncompliance, respectively. In the AZT/3TC group, discontinuations were due to indinavir-related nephrolithiasis (n=2), anemia (n=1), lactic acidosis (n=1) and one subject withdrew consent because of fear of lipoatrophy (n=1).

The median study drug adherence was 100% for both groups (IQR for TDF/FTC: 99.8-100%; for AZT/3TC: 99.6-100%)

Body composition

Changes in total limb fat are summarized in Figure 1. Subjects in the TDF/FTC arm had a baseline median limb fat of 3565 g, which had increased significantly by 540 g at week 72 ($p=0.022$), whereas subjects in the AZT/3TC arm had a baseline median limb fat of 4304 g, which had decreased by 379 g at the same time point ($p=0.113$). The difference between the two groups was statistically significant by LOCF analysis ($p=0.008$).

Subgroup analyses showed significant differences in limb fat gain between groups at weeks 48 and 72 in subjects with a baseline limb fat ≤ 7200 g (figure 2A), but not in those with more than 7200 g of limb fat (figure 2B). Analyses using as cut-off the median value of limb fat in the study subjects (3642 grams) showed similar results (data not shown). Differences in limb fat gain were also statistically significant between groups in individuals with previous time on AZT > 5 years (figure 2C), but not in those with use of AZT ≤ 5 years (figure 2D). Subgroup analysis for subjects receiving an NNRTI as the third agent were similar to these primary results, and analysis for subjects taking a PI were inconclusive due to the small sample size ($n=12$).

There were no statistically significant differences within or between treatment groups in the changes from baseline in either trunk or total body fat at week 72, and there were no clinically relevant changes from baseline in subjects' body weight in any arm during the study period (Table 2).

Regarding total bone mineral density (BMD), baseline values were similar between treatment groups (1.07 ± 0.096 g/cm² with TDF/FTC and 1.08 ± 0.127 g/cm² with AZT/3TC). After 72 weeks, there were no significant changes

within the TDF/FTC ($-0.95 \pm 1.8\%$, $p=0.374$) or the AZT/3TC ($-0.58 \pm 1.1\%$, $p=0.837$) groups or between treatment groups ($p=0.307$).

Lipid parameters

In the TDF/FTC arm, total cholesterol decreased from a baseline median of 187 mg/dL (4.79 mmol/L) to 182 mg (4.71 mmol/L) at Week 12 ($p < 0.001$) and 178 mg/dL (4.60 mmol/L) at week 24 ($p=0.040$), and then returned to 183 mg/dL (4.69 mmol/L) at week 72. A similar pattern was observed for LDL cholesterol with an additional significant difference between groups in LDL cholesterol at week 72 (median decrease of -1.5 mg/dL in the TDF/FTC arm ($p=0.553$) and a median increase of $+12.0$ mg/dL in the AZT/3TC ($p=0.081$) group [$p=0.043$ between groups]). There were no significant changes in the median total cholesterol value in the AZT/3TC group at any time point. Twelve subjects in the TDF/FTC arm and 16 in the AZT/3TC arm had baseline total cholesterol values higher than 200 mg/dL (5.13 mmol/L), while at the end of follow up 12 subjects in the TDF/FTC arm and 20 in the AZT/3TC arm had values higher than that. Three subjects (7%) in the AZT/3TC arm and none in the TDF/FTC arm needed to start treatment with lipid lowering drugs during the study period. At week 72 there were no significant differences within or between the groups for total cholesterol and total cholesterol/HDL ratio or triglycerides.

Other laboratory markers (table 2)

Haemoglobin and hematocrit increased in the TDF/FTC group by week 12 (median Hb: $+0.9$ g/dL, median hematocrit: $+3.0\%$, both $p<0.0001$) and remained increased throughout treatment. There were no significant changes in these parameters within the AZT/3TC group at any time point. Differences between treatments were significant ($p \leq 0.015$) at all post-baseline time points

for both haemoglobin and hematocrit. At the end of follow up, 6 subjects in the AZT/3TC arm and 11 in the TDF/FTC arm had increases in absolute haemoglobin by ≥ 1 g/dL, and 6 in the AZT/3TC arm and 3 in the TDF/FTC arm had decreases of the same magnitude. Three subjects in the AZT/3TC arm and one in the TDF/FTC arm needed specific treatment for anaemia during the study period.

Baseline serum creatinine concentration was significantly lower in the TDF/FTC arm than in the AZT/3TC arm (median: 0.80 versus 0.90 mg/dL, respectively, $p=0.046$), and slightly increased in the TDF/FTC group at week 72 (median 0.86 mg/dL, change from baseline $+0.05$ mg/dL, $p<0.001$), without significant changes in the AZT/3TC group (median 0.84 mg/dL, change -0.02 mg/dL, $p=0.12$). At week 72, the median value of the glomerular filtration rate decreased from 99.2 to 92.2 mL/min/1.73 m² in the TDF/FTC arm (median change -6.5 mL/min/1.73 m², $p<0.001$), and increased from 96.4 to 106.1 mL/min/1.73m² in the AZT/3TC arm (median change $+3.0$ mL/min/1.73 m², $p=0.110$), the difference between groups being significant ($p<0.001$). All creatinine and glomerular filtration rate values during the study period were within the normal range in both arms.

Lactic acid decreased significantly by week 24 in the TDF/FTC group (-0.33 mmol/L, $p=0.0016$), without significant changes in the AZT/3TC group.

HIV infection parameters

At week 72, 35 out of 39 (89.7%) subjects for TDF/FTC and 34 out of 41 (82.9%) subjects for AZT/3TC (difference 6.8%; 95% CI -8.1% to 21.8%) maintained a sustained virological response (ITT, M=F analysis). Only two

patients in each group experienced viral rebound (2 consecutive HIV RNA >50 copies/mL).

The median CD4 count over 72 weeks increased by 67 cells/mm³ in the TDF/FTC group and by 36 cells/mm³ in the AZT/3TC group, without significant differences between groups.

Safety

Treatment was well tolerated in both groups. Grade 3-4 adverse events occurred in one patient (2.6%) treated with TDF/FTC and five patients (12.2%) treated with AZT/3TC. Of these, only two cases were considered as possibly or probably related to the study drug, both in the AZT/3TC arm (lactic acidosis and anaemia). There were two cases of trauma-related bone fractures during the study (lumbar vertebral fracture in the TDF/FTC arm and radius fracture in the AZT/3TC arm), none of which were considered to be related to any of the study medications. The only renal adverse events were two cases of renal colic related to indinavir in the AZT/3TC arm. No new or unexpected safety findings or deaths were reported during the study.

DISCUSSION

In this randomized clinical trial conducted in virologically suppressed HIV patients, switching from AZT/3TC to TDF/FTC was associated with a statistically significant increase in limb fat in the switch arm as compared with patients who continued on their original regimen. This difference was driven by a significant increase in limb fat in those patients who switched to TDF/FTC, and continuous decreases, although not statistically significant, in the arm that continued on their original regimen. Changes were progressive over time and the difference between groups was significant from week 48 onwards. At the

end of week 72, subjects in the TDF/FTC arm had almost 1 kilogram more of limb fat than those who kept with AZT/3TC. These results are consistent with previous findings which showed that switching from a regimen containing d4T or AZT to a new regimen containing ABC(13;14;18;23-25) or TDF(21;25;28) made it possible to halt the loss of subcutaneous fat and was associated with some recuperation.

In almost all the subgroups analysed, stratified by baseline limb fat, baseline BMI or previous time on AZT, the change trends were the same, fat was preserved in the TDF/FTC arm and lost in the AZT/3TC arm. In contrast to the findings of a similar study,(26) in our study this benefit was especially relevant and statistically significant in those subjects who had been exposed to AZT for longer periods of time (>5 years) and in those whose baseline limb fat was lower than 7200 g (this value represents the mean value for the limb fat in men without HIV infection).(5;6) This last group would represent both those subjects who have already lost their limb fat as a consequence of their previous exposure to AZT, who therefore have the biggest deficit to be regained, and slim subjects, who represent a known risk factor for lipoatrophy identified in previous series.(9) In contrast, differences within and between groups in strata with a shorter exposure to AZT or with baseline limb fat >7200 g showed similar trends but did not achieve statistical significance, probably because these subjects did not have a great fat loss to overcome (but whose fat had to be preserved) or because subjects with host or viral factor protecting them from lipoatrophy were included. However, these results should be interpreted with caution as they were observed in a small group of subjects. Finally, the group with the highest absolute increase in limb fat was the one with a higher baseline

BMI ($>25 \text{ Kg/m}^2$), this factor having been previously identified as an independent predictor of fat increase in these persons.(13) As has been reported before,(26;27) total body fat and trunk fat content showed a slight not significant increase in both treatment groups during the study period. Regarding bone composition, there were no significant differences within or between study groups regarding total BMD after 72 weeks.

Virologic and immunologic control was maintained during the study period in both arms. TDF/FTC was well tolerated in this study population, with no new or unexpected safety findings reported during the study, as found in prior studies (12;21;25;26;29,30). Changes in the lipid profile were more favourable in the TDF/FTC arm, but they were small in magnitude in both groups. Haemoglobin values increased early in the TDF/FTC arm, suggesting that this switch strategy could be a good option in cases of symptomatic anaemia. Although there were significant changes from baseline in the serum creatinine concentration and in the glomerular filtration rate between groups, renal security was good in the TDF/FTC arm. The increase in serum creatinine levels and the decrease in the glomerular filtration rate were small and similar to those described in previous studies (26;27;29). All patients had a renal function within the normal range and without significant renal adverse events.

One limitation of our study was the small sample size in certain subgroups of interest, which may have limited our possibility to report important changes in specific subsets of subjects. Also, we do not have information about the subjective perception of lipoatrophy by subjects or by physicians. This information would have been important to support our conclusions, based on the study of a phenomenon that is often not clinically evident in the first phases,

but has the capacity to seriously affect quality of life when it becomes visible. Previous studies have shown that in patients with clinically evident lipoatrophy, an improvement in limb fat as measured by DEXA is not always perceived in the same way by patients and/or physicians.(13;14;23) Nevertheless, a recent study(31) has shown a statistically significant correlation between lipoatrophy scores, as determined by physicians and patients, and the measurements of limb fat changes by DEXA, and other authors(32,33) have reported that changes in limb fat measured by DEXA have a positive and statistically significant correlation with the increase in malar volume as determined by a validated 3D laser imaging technique, suggesting that the cosmetic aspect also improves when limb fat increases.

In summary, our study shows that switching from a HAART regimen based on AZT/3TC to a regimen based on TDF/FTC led to a significant improvement in limb fat, opposed to the progressive loss of limb fat seen in subjects who kept their original regimen. This benefit was especially relevant in those subjects who had already lost limb fat. However, fat recovery is not complete and these results support the proactive change from AZT/3TC to TDF/FTC.

ACKNOWLEDGEMENTS: We thank Ana María Caro-Murillo for editing the manuscript and editorial assistance and Anthony Curran for English language editing. Funding: Gilead Sciences S.L.

References

- (1) Palella FJ, Jr., Delaney KM, Moorman AC et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998; 38: 853-860.
- (2) Chesney M. Adherence to HAART regimens. *AIDS Patient Care STDS* 2003; 17: 169-177.
- (3) Duran S, Saves M, Spire B et al. Failure to maintain long-term adherence to highly active antiretroviral therapy: the role of lipodystrophy. *AIDS* 2001; 15: 2441-2444.
- (4) Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular risk and body-fat abnormalities in HIV-infected adults. *N Engl J Med* 2005; 352: 48-62.
- (5) Carr A, Samaras K, Burton S et al. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS* 1998; 12: F51-F58.
- (6) Martinez E, Larrousse M, Podzamczar D, Gatell JM. Objective amount of limb fat in HIV-infected subjects with subjective diagnosis of lipoatrophy. *HIV Med* 2009; 10: 257-261.
- (7) Podzamczar D, Ferrer E, Martinez E et al. How much fat loss is needed for lipoatrophy to become clinically evident? *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009; 25: 563-567.

- (8) Josse G, Gensanne D, Aquilina C et al. Human immunodeficiency virus atrophy induces modification of subcutaneous adipose tissue architecture: in vivo visualization by high-resolution magnetic resonance imaging. *Br J Dermatol* 2009; 160: 741-746.
- (9) Bacchetti P, Gripshover B, Grunfeld C et al. Fat distribution in men with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 40: 121-131.
- (10) Mallon PW, Miller J, Cooper DA, Carr A. Prospective evaluation of the effects of antiretroviral therapy on body composition in HIV-1-infected men starting therapy. *AIDS* 2003; 17: 971-979.
- (11) Tavassoli N, Bagheri H, Sommet A et al. Effects of discontinuing stavudine or protease inhibitor therapy on human immunodeficiency virus-related fat redistribution evaluated by dual-energy x-ray absorptiometry. *Pharmacotherapy* 2006; 26: 154-161.
- (12) Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006; 354: 251-260.
- (13) Martin A, Smith DE, Carr A et al. Reversibility of lipotrophy in HIV-infected patients 2 years after switching from a thymidine analogue to abacavir: the MITOX Extension Study. *AIDS* 2004; 18: 1029-1036.
- (14) McComsey GA, Ward DJ, Hesselthaler SM et al. Improvement in lipotrophy associated with highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-infected patients switched from stavudine to

abacavir or zidovudine: the results of the TARHEEL study. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 263-270.

- (15) European AIDS Clinical Society (EACS). Guidelines. Version 6.1 - November 2011. Available at: http://www.europeanaidsclicalsociety.org/images/stories/EACS-Pdf/eacsguidelines-v6_english.pdf. Accessed February 22, 2012.
- (16) John M, McKinnon EJ, James IR et al. Randomized, controlled, 48-week study of switching stavudine and/or protease inhibitors to combivir/abacavir to prevent or reverse lipoatrophy in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 33: 29-33.
- (17) Mallal SA, John M, Moore CB, James IR, McKinnon EJ. Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection. *AIDS* 2000; 14: 1309-1316.
- (18) Podzamczar D, Ferrer E, Sanchez P et al. Less lipoatrophy and better lipid profile with abacavir as compared to stavudine: 96-week results of a randomized study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 44: 139-147.
- (19) Tsekas G, Chrysos G, Douskas G et al. Body composition changes in protease inhibitor-naive HIV-infected patients treated with two nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *HIV Med* 2002; 3: 85-90.
- (20) Panel de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el Sida. Documento de consenso de Gesida/Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. Actualización enero 2012. Available at:

<http://www.gesida.seimc.org/pcientifica/fuentes/DcyRc/gesidadcycrc2012-Documentoconsenso-TAR-adulto-verimprimir.pdf>. Accessed February 22, 2012.

- (21) Arribas JR, Pozniak AL, Gallant JE et al. Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz compared with zidovudine/lamivudine and efavirenz in treatment-naive patients: 144-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008; 47: 74-78.
- (22) Knobel H, Alonso J, Casado JL et al. Validation of a simplified medication adherence questionnaire in a large cohort of HIV-infected patients: the GEEMA Study. *AIDS* 2002; 16: 605-613.
- (23) Carr A, Workman C, Smith DE et al. Abacavir substitution for nucleoside analogs in patients with HIV lipoatrophy: a randomized trial. *JAMA* 2002; 288: 207-215.
- (24) Moyle GJ, Baldwin C, Langroudi B, Mandalia S, Gazzard BG. A 48-week, randomized, open-label comparison of three abacavir-based substitution approaches in the management of dyslipidemia and peripheral lipoatrophy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 33: 22-28.
- (25) Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J et al. A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipoatrophy. *AIDS* 2006; 20: 2043-2050.
- (26) Fisher M, Moyle GJ, Shahmanesh M et al. A randomized comparative trial of continued zidovudine/lamivudine or replacement with tenofovir

- disoproxil fumarate/emtricitabine in efavirenz-treated HIV-1-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51: 562-568.
- (27) Martinez E, Arranz JA, Podzamczar D et al. A simplification trial switching from nucleoside reverse transcriptase inhibitors to once-daily fixed-dose abacavir/lamivudine or tenofovir/emtricitabine in HIV-1-infected patients with virological suppression. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51: 290-297.
- (28) Ribera E, Paradiñeiro JC, Curran A, et al. Improvements in subcutaneous fat, lipid profile, and parameters of mitochondrial toxicity in patients with peripheral lipoatrophy when stavudine is switched to tenofovir (LIPOTEST Study). *HIV Clin Trials* 2008;9:407-417.
- (29) DeJesus E, Ruane P, McDonald C et al. Impact of switching virologically suppressed, HIV-1-infected patients from twice-daily fixed-dose zidovudine/lamivudine to once-daily fixed-dose tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine. *HIV Clin Trials* 2008; 9: 103-114.
- (30) DeJesus E, Young B, Morales-Ramirez JO et al. Simplification of antiretroviral therapy to a single-tablet regimen consisting of efavirenz, emtricitabine, and tenofovir disoproxil fumarate versus unmodified antiretroviral therapy in virologically suppressed HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51: 163-174.
- (31) Tungsiripat M, O'Riordan MA, Storer N et al. Subjective clinical lipoatrophy assessment correlates with DEXA-measured limb fat. *HIV Clin Trials* 2009; 10: 314-319.

- (32) Benn P, Sauret-Jackson V, Cartledge J et al. Improvements in cheek volume in lipoatrophic individuals switching away from thymidine nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *HIV Med* 2009; 10: 351-355.
- (33) Yang Y, Yap M, Oo TN, Paton NI. Objective assessment of facial lipoatrophy changes in a cohort of HIV-infected patients taking combination antiretroviral therapy. *HIV Clin Trials* 2008; 9: 399-406.

For Peer Review

Table 1 Baseline characteristics

	TDF/FTC arm (n=39)	AZT/3TC arm (n=41)	p-value
Age, years (mean \pm SD)	44 (\pm 10.6)	44 (\pm 7.4)	0.927
Sex (male), n (%)	28 (72)	37 (90)	0.046
HIV risk factor, n (%)*			NS
Intravenous drug use	8 (21)	12 (29)	
Heterosexual	16 (41)	11 (27)	
Men who have sex with men	15 (38)	18 (44)	
Other	2 (5)	2 (5)	
CD4 cell count (cells/mL), median (IQR)	655 (505-789)	504 (363-756)	0.037
Undetectable HIV RNA, n (%)			
<50 copies/mL	38 (97%)	39 (95%)	0.588
50 - 400 copies/mL	1 (3%)	2 (5%)	
ARV class of the third agent of HAART			NS
Protease inhibitor	6 (15)	7 (17)	
NNRTI	33 (85)	34 (83)	
Efavirenz	21 (54)	24 (59)	
Nevirapine	12 (31)	10 (24)	
Years on AZT/3TC, median (IQR)	5.8 (4.2-7.2)	6.2 (4.7-7.2)	0.281
Body mass index, kg/m ² (mean \pm SD)	24.6 (\pm 3.5)	24.9 (\pm 3.9)	0.969
Body weight, kg (mean \pm SD)	70.5 (\pm 10.4)	74.0 (\pm 13.2)	0.391
Limb fat content, kg (median, IQR)	3.565 (2.695-6.525)	4.304 (2.147-6.503)	0.756

* Subjects could report more than 1 HIV risk factor.

SD: standard deviation; IQR: interquartile range; ARV: antiretroviral; HAART: Highly active antiretroviral treatment; NNRTI: non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor.

Table 2. Baseline values and changes at week 72 in body fat and laboratory parameters

Parameters: Median (IQR)	TDF/FTC (n=39)		AZT/3TC (n=41)		p value for comparison of change between groups
	Baseline	Week 72 change from baseline, median	Baseline	Week 72 change from baseline, median	
Trunk fat content (Kg)	10.1 (7.6-14.0)	+0.354	9.4 (6.0-13.1)	+0.526	0.897
Total body fat (Kg)	15.2 (10.7-21.5)	+0.786	13.5 (9.7-20.6)	+0.334	0.307
Total cholesterol [§] (mg/dL)	187.0 (157.0-206.0)	-3.0	189.0 (166.0-218.0)	+1.0	0.249
TC/HDL ratio [§]	3.9 (3.2-4.7)	+0.3	3.8 (2.8-4.9)	+0.3	0.882
LDLc (mg/dL) [§]	109.0 (86.0-136.0)	-1.5	107.5 (90.0-131.6)	+12.0	0.043
HDLc (mg/dL) [§]	49.0 (42.5-59.1)	-4.0 ^a	49.5 (41.5-65.0)	-1.0	0.372
Triglycerides (mg/dl) ^{§§}	110.0 (76.0-154.0)	+7.0	120.0 (80.0-175.0)	0.0	0.275
Haemoglobin (g/dL)	14.6 (13.8-15.5)	+1.0 ^c	14.5 (13.2-15.1)	-0.1	0.0002
Hematocrit (%)	42.6 (40.0-44.9)	+2.3 ^c	42.0 (39.0-43.6)	0.0	0.0014
Creatinine (mg/dL)	0.80 (0.67-0.93)	+0.05	0.90 (0.78-1.02)	-0.02	0.001
Lactic acid (mmol/L)	1.23 (0.89-1.60)	-0.17 ^b	1.12 (0.83-1.99)	0.07	0.024
Lymphocyte mDNA/nDNA ratio	61.5 (35.0-83.0)	+99.0 ^c	61.0 (43.0-82.0)	+31.0 ^c	0.195

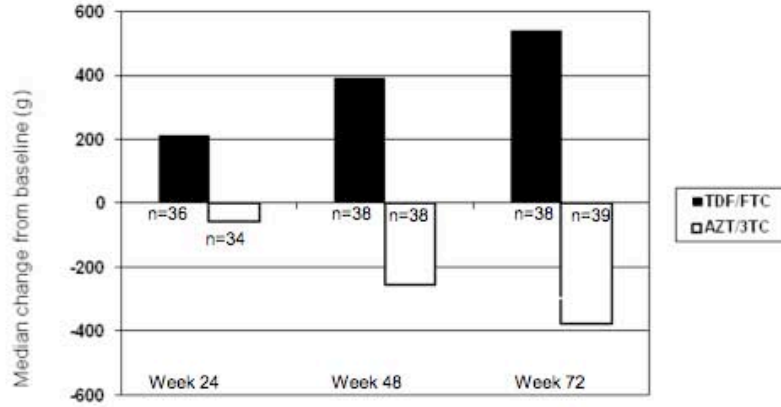
Within treatment group comparisons are not significant unless otherwise indicated: ^a p<0.05, ^b p<0.01, ^c p<0.0001

IQR: interquartile range; TC: total cholesterol; LDLc: low density lipoprotein cholesterol; HDLc: high density lipoprotein cholesterol

[§] Conversion factor for total cholesterol, HDL and LDL in mmol/L: mg/dL/39

^{§§} Conversion factor for triglycerides in mmol/L: mg/dL/89

Figure 1: Median changes in limb fat and baseline values assessed by DEXA in both treatment groups through 72 weeks of follow-up.

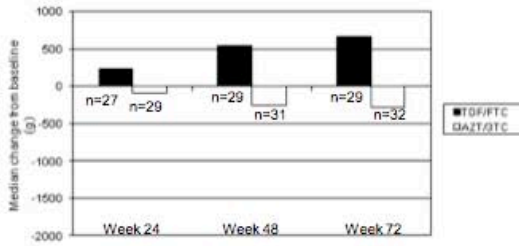


Values in grams	Baseline (median, IQR)	W 24	W 48	W 72
TDF/FTC	3565 (2695, 6525)	+211	+392^c	+540^a
AZT/3TC	4304 (2147, 6503)	-59	-257	-379
TDF/FTC - AZT/3TC		270	649	919
P between groups	0.756	0.262	0.001	0.008

TDF/FTC-AZT/3TC means the total difference between groups (grams gained/lost in one arm plus grams gained/lost in the other). IQR: interquartile range
 All comparisons within groups are not significant unless otherwise indicated: ^a p<0.05; ^b p<0.01; ^c p<0.001; ^d p<0.0001

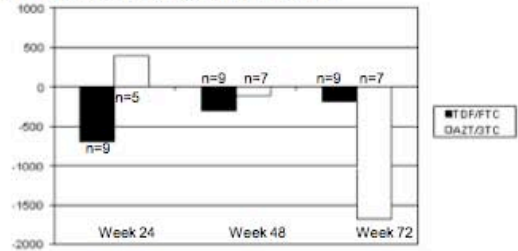
Figure 2: Median changes in limb fat according to baseline characteristics: A) limb fat \leq 7.2 kg, B) limb fat $>$ 7.2 kg, C) zidovudine duration $>$ 5 years, D) zidovudine duration \leq 5 years, E) body mass index \leq 25 kg/m², F) body mass index $>$ 25 kg/m².

2 A: Baseline total limb fat \leq 7.2 Kg



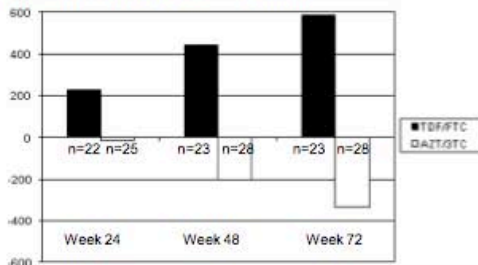
Grams	Baseline Median (IQR)	W 24	W 48	W 72
TDF/FTC	3138 (2465, 4536)	+229^a	+534^c	+669^c
AZT/3TC	3059 (2127, 4876)	-97	-259^a	-289
TDF/FTC-AZT/3TC		326	793	958
p between groups	0.823	0.019	<0.0001	0.002

2 B: Baseline total limb fat $>$ 7.2 Kg



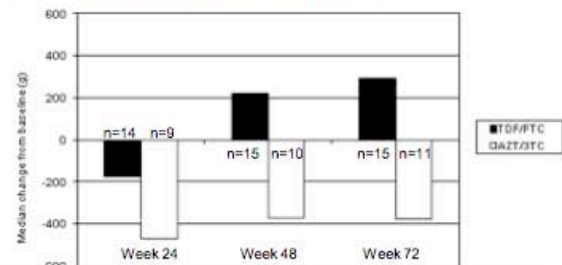
Grams	Baseline Median (IQR)	W 24	W 48	W 72
TDF/FTC	11645(8968,13459)	-687	-304	-188
AZT/3TC	11115(7358,13748)	+403	-105	-1681
TDF/FTC-AZT/3TC		1090	199	1493
p between groups	0.672	0.351	1.000	0.341

2 C: Previous time on AZT $>$ 5 years



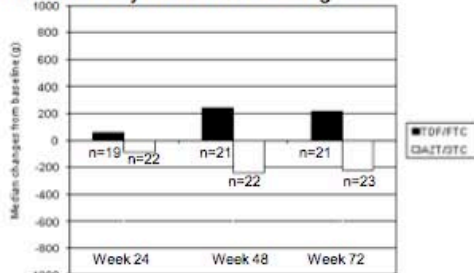
Grams	Baseline Median (IQR)	W 24	W 48	W 72
TDF/FTC	2964 (1919, 5153)	+227^a	+441^b	+584^b
AZT/3TC	3939 (2146, 5692)	-13	-204	-333
TDF/FTC-AZT/3TC		240	645	917
p between groups	0.389	0.150	0.003	0.015

2 D: Previous time on AZT \leq 5 years



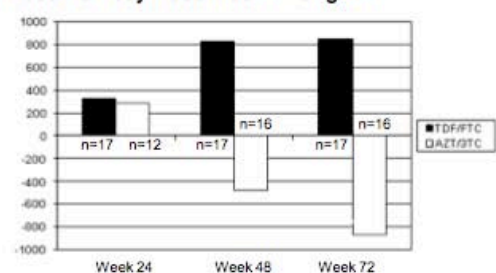
Grams	Baseline Median (IQR)	W 24	W 48	W 72
TDF/FTC	6460 ((3436, 11645)	-175	+222	+289
AZT/3TC	4526 (2651, 7194)	-470	-373	-379
TDF/FTC-AZT/3TC		295	595	668
p between groups	0.233	0.777	0.142	0.132

2 E: Baseline Body Mass Index \leq 25Kg/m²



Grams	Baseline Median (IQR)	W 24	W 48	W 72
TDF/FTC	3311 (2072, 4623)	+53	+241	+215
AZT/3TC	2651 (1720, 4399)	-68	-241	-227
TDF/FTC-AZT/3TC		141	482	442
p between groups	0.360	0.205	0.011	0.231

2 F: Baseline Body Mass Index $>$ 25Kg/m²



Grams	Baseline Median (IQR)	W 24	W 48	W 72
TDF/FTC	5875 (3138, 11645)	+323	+826[*]	+852
AZT/3TC	6929 (4820, 9945)	+288	-476	-869[*]
TDF/FTC-AZT/3TC		35	1302	1721
p between groups	0.418	0.740	0.032	0.011

TDF/FTC-AZT/3TC means the total difference between groups (grams gained/lost in one arm plus grams gained/lost in the other). IQR: interquartile range
 All comparisons within groups are not significant unless otherwise indicated: ^a p<0.05; ^b p<0.01; ^c p<0.001; ^d p<0.0001