

Rischio cardiovascolare in pazienti HIV-positivi

U. Oliviero, A. Valvano, A. Farina, V. Apuzzi

*Dipartimento di Medicina Clinica, Scienze Cardiovascolari
ed Immunologiche, Università "Federico II" di Napoli*

Abstract

Background. L'avvento della terapia antiretrovirale (HAART) ha fortemente ridotto la mortalità nei pazienti HIV-positivi, provocando, tuttavia, una maggiore incidenza di patologia aterosclerotica precoce correlata soprattutto alla comparsa di alterazioni del profilo lipidico. I pazienti HIV-positivi in terapia HAART, mostrano alterazioni della reattività vascolare, che potrebbero essere dovute alla reazione immunologica e/o alla dislipidemia indotta dalla terapia.

Materiali e metodi. Abbiamo studiato 72 pazienti ambulatoriali HIV-positivi, con profilo lipidico normale, in terapia con differenti regimi HAART, dividendoli in due gruppi in base alla differente risposta immunologica, espressa dalla conta dei CD4 (36 pz con $CD4 > 200 < 500$ e 36 pz con $CD4 > 500$) e li abbiamo confrontati con un gruppo di 36 controlli sani. Tutti i soggetti hanno eseguito un ecocardiogramma, un ecocolordoppler carotideo e lo studio della reattività vascolare dell'arteria brachiale, attraverso la misurazione della Flow Mediated Dilation (FMD) e della Nitroglycerin Mediated Dilation (NMD).

Risultati. La funzione diastolica non ha mostrato significative differenze tra i gruppi; lo spessore intima-media carotideo, invece, è risultato significativamente aumentato nel gruppo con $CD4 > 200 < 500$ rispetto al gruppo con $CD4 > 500$ e ai controlli ($p < 0.01$). La FMD dell'arteria brachiale è risultata ridotta nei pazienti con $CD4 > 200 < 500$ rispetto a quelli con $CD4 > 500$ e ai controlli ($p < 0.01$).

Conclusioni. In pazienti HIV-positivi con profilo lipidico normale trattati con diversi regimi HAART le alterazioni dello spessore intima-media carotideo e della reattività vascolare potrebbero essere dovute al virus stesso e/o alla relativa reazione immunologica. La misurazione dello spessore intima-media carotideo e lo studio della reattività vascolare, data la riproducibilità e il relativo basso costo, potrebbero pertanto essere utilizzati, insieme con la valutazione dell'assetto lipidico e degli altri parametri bioumorali, nella precoce identificazione dei pazienti HIV-positivi a più alto rischio cardiovascolare.

Parole chiave: Terapia antiretrovirale; Infezione da HIV; Reattività vascolare; Spessore intima-media carotideo.

Background. Highly active antiretroviral therapy (HAART) has greatly reduced mortality in HIV-infected patients but may determine early atherosclerotic disease which is mainly correlated with dyslipidemia. The HIV-infected patients show an endothelial dysfunction which could be correlated both to anti-viral immune response and/or HAART induced dyslipidemia.

Materials and methods. We considered 72 HIV-positive outpatients with normal lipidic values, treated with different HAART regimens and divided into two groups according to the immune response, as expressed by the CD4 count (36 with $CD4 > 500$ and 36 with $CD4 > 200 < 500$) compared with 36 healthy controls. All the patients performed an echocardiography, a carotid echocolordoppler and the study of the brachial artery vascular reactivity by the measurements of the flow mediated dilation (FMD) and the nitroglycerin mediated dilation (NMD).

Results. We observed no differences between HIV-positive groups and controls regarding the echocardiographic diastolic findings; on the contrary the carotid intima-media thickness (IMT) was significantly increased in patients with $CD4 > 200 < 500$ in respect to the patients with $CD4 > 500$ and controls ($p < 0.01$) and the FMD was reduced in HIV-group with $CD4 > 200 < 500$ as compared to HIV-group with $CD4 > 500$ and controls ($p < 0.01$).

Conclusions. In HAART treated HIV patients with normal lipidic values the increase of carotid IMT and the impairment of vascular reactivity could be due to the virus itself and/or to the relative immune response. Because of the reproducibility and relative low-costs, the measurements of carotid IMT and of the vascular reactivity, together with the evaluation of the lipidemia and of the other biochemical markers, could be useful in the early identification of HIV-patients with higher cardiovascular risk.

Key words: HIV-infection; Vascular reactivity; Highly active antiretroviral therapy; Intima-media thickness.

INTRODUZIONE

L'utilizzo delle terapie di associazione con farmaci antiretrovirali (highly active antiretroviral therapy, HAART) ha modificato la storia naturale dell'infezione da HIV che, a partire dalla metà degli anni Novanta è risultata sempre più influenzata dalla eventuale comparsa di eventi cardiovascolari.¹⁻⁵

Nei pazienti HIV-positivi trattati con inibitori delle proteasi, è stato segnalato l'aumento di alcuni marker biologici di rischio cardiovascolare, tra cui le molecole di adesione ICAM e VCAM e le Selectine E e P,⁶ ed osservato sia un aumento significativo dello spessore intima-media carotideo (intima-media thickness, IMT)⁷ sia una ridotta reattività vascolare.⁸

Tali esperienze confermano l'effetto pro-aterogeno della terapia con inibitori delle proteasi, che si realizza con una serie di meccanismi fisiopatologici, tra cui certamente l'alterazione del profilo lipidico dei pazienti affetti.³

Meno chiaro è il ruolo che lo stato di immuno-competenza può avere nell'indurre un danno vascolare.⁹

Per cercare di definire l'eventuale relazione tra stato immunologico dei soggetti HIV-positivi e profilo di rischio cardiovascolare, abbiamo avviato nel 2000 uno studio prospettico su una coorte di pazienti HIV-positivi in terapia HAART con differente livello di compromissione immunologica, espressa dalla conta dei CD4, ma con un profilo lipidico certamente normale.

PAZIENTI E METODI

Nel nostro studio sono stati arruolati 3 gruppi di 36 soggetti di età compresa fra 30 e 55 anni, così rappresentati:

1. 36 pazienti HIV-positivi (24 M, 12 F) in terapia HAART da almeno 2 anni con conta dei CD4 > 200 < 500;
2. 36 pazienti HIV-positivi (21 M, 15 F) in terapia HAART da almeno 2 anni con conta dei CD4 > 500;
3. 36 controlli sani (25 M, 11 F) omogenei per sesso, età e altre caratteristiche antropometriche.

Sono stati esclusi dallo studio soggetti con conta CD4 < 200, pazienti con coinfezione HCV o HBV, pazienti con malattia cardio- o cerebro-vascolare nota, con valori pressori > 150 / 80 mmHg o in terapia antiipertensiva, soggetti ipercolesterolemici (valori di colesterolo totale > 200 mg/dl) o in trattamento con farmaci ipolipidemizzanti (statine).

La valutazione ecocardiografica della funzione diastolica è stata eseguita con Ecografo Nemio, Toshiba, con sonda multifrequenziale 2,5-3,5 mHz. Sono stati misurati l'ampiezza dell'onda E e dell'onda A, il tempo di decelerazione dell'onda E, il rapporto E/A e l'IRT (intervallo di tempo tra chiusura della valvola mitralica e apertura della valvola aortica).

Ciascun paziente ha eseguito EcocolorDoppler carotideo, con sonda lineare da 7,5 mHz (Ecografo Nemio, Toshiba) in asse longitudinale e trasverso, per la valutazione dello spessore intima-media carotideo. L'IMT è stato misurato al bulbo carotideo, a 1 cm dal bulbo sulla carotide comune e dopo 1 cm sulla carotide interna, sempre sulla parete posteriore del vaso, secondo un protocollo precedentemente validato¹⁰ e le relative immagini sono state congelate e conservate, per consentire a un operatore indipendente, ignaro delle caratteristiche cliniche del paziente, misurazioni "off line" successive.

La valutazione non invasiva della reattività endoteliale è stata effettuata attraverso lo studio della "flow mediated dilation" (FMD) e della "nitroglycerin mediated dilation" (NMD), utilizzando lo stesso ecografo ad alta risoluzione, con sonda lineare da 7,5 mHz, regolata a differenti settaggi (Nemio, Toshiba), dopo un riposo di 10 minuti su di un lettino cardiologico in una stanza climatizzata.

L'arteria brachiale è stata studiata in diverse scansioni longitudinali con la sonda posta 3-5 cm sopra il gomito. Una volta ottenuta la scansione longitudinale più assimilabile a un "ponte cinese" il diametro trasverso del vaso è stato misurato 4 volte sull'onda R dell'ECG e ne è stato calcolato il valore medio.

La vasodilatazione post-ischemica è stata indotta utilizzando uno sfigmomanometro posto sul braccio, prossimale rispetto alla sonda esplorante, mantenuto

gonfiato a 250 mmHg per 5 minuti. Il diametro dell'arteria brachiale è stato misurato per 4 volte dopo la desufflazione, in media ogni 15 secondi; la FMD è stata calcolata come differenza percentuale tra il massimo diametro post-ischemia e il diametro medio basale.

Dopo 10 minuti di riposo, sono stati somministrati 0,6 mg di nitroglicerina sublinguale e dopo 3 minuti è stato misurato più volte il diametro dell'arteria brachiale; la NMD è stata quindi calcolata come differenza percentuale tra il massimo diametro post-nitroglicerina e il diametro medio di base.

I dati, espressi nelle tabelle come media $\pm$ DS, sono stati confrontati utilizzando il test *t* di Student.

RISULTATI

I dati antropometrici dei pazienti HIV-positivi e dei controlli sono riassunti in Tabella 1.

I due gruppi di pazienti e i controlli erano omogenei per quanto riguarda età, sesso, valori pressori, profilo lipidico, glicemia a digiuno e body mass index (BMI).

I risultati relativi allo studio della funzione diasto-

lica sono mostrati in Tabella 2. In 1 paziente del gruppo CD4 > 500, in 2 pazienti del gruppo CD4 tra 200 e 500 e in 2 controlli sono state osservate alterazioni del rapporto E/A (ridotta ampiezza dell'onda E), con differenze non significative.

Il tempo di decelerazione dell'onda E (DcT) e l'intervallo IRT sono risultati pressoché sovrapponibili nei 2 gruppi di pazienti HIV-positivi e del tutto comparabili ai valori medi dei controlli.

I risultati dello studio ultrasonografico dei vasi epiaortici sono riassunti in Tabella 3.

Lo spessore intima-media carotideo è aumentato in maniera significativa nel gruppo di pazienti con CD4 tra 200 e 500 sia rispetto al gruppo con CD4 > 500, sia rispetto ai volontari sani ($p < 0.01$).

La Tabella 4 mostra i risultati dello studio della reattività vascolare. Dall'esame della tabella si nota che la FMD è risultata ridotta in maniera significativa nel gruppo di pazienti con CD4 compreso tra 200 e 500 sia rispetto al gruppo con CD4 > 500 sia rispetto ai controlli ($p < 0.01$), mentre non sono state osservate differenze significative tra i valori medi di FMD dei pazienti con CD4 > 500 e i controlli ($p = \text{NS}$).

La NMD è risultata nel range di normalità in tutti

Tabella 1. Caratteristiche antropometriche della popolazione studiata (media $\pm$ DS)

	Sesso	Età (anni)	Pressione arteriosa sistolica (mmHg)	Pressione arteriosa diastolica (mmHg)	Colesterolo totale (mg/dl)	Colesterolo HDL (mg/dl)	Trigliceridi (mg/dl)	Glicemia (mg/dl)	Body Mass Index
CD4 > 200 < 500	22M/14F	41 $\pm$ 7	130 $\pm$ 8	80 $\pm$ 3	145 $\pm$ 32	45 $\pm$ 6	125 $\pm$ 45	92 $\pm$ 10	20 $\pm$ 4
CD4 > 500	20M/16F	40 $\pm$ 9	125 $\pm$ 9	78 $\pm$ 6	150 $\pm$ 35	44 $\pm$ 5	115 $\pm$ 50	84 $\pm$ 16	22 $\pm$ 2
Controlli	18M/18F	38 $\pm$ 8	115 $\pm$ 8	75 $\pm$ 8	142 $\pm$ 38	46 $\pm$ 7	120 $\pm$ 40	92 $\pm$ 20	22 $\pm$ 3

Tabella 2. Funzione diastolica nei pazienti HIV-positivi e nei controlli (media $\pm$ DS)

	Velocità onda E (cm/sec)	Velocità onda A (cm/sec)	Rapporto E/A	DcT (msec)	IRT (msec)
CD4 > 200 < 500	78 + 10	48 + 8	1,66 + 0,25	144 + 28	85 + 9
CD4 > 500	74 + 10	46 + 10	1,64 + 0,23	140 + 22	83 + 7
Controlli	76 + 10	47 + 8	1,65 + 0,23	142 + 24	86 + 7

Tabella 3. Spessore intima-media (IMT) nei pazienti HIV-positivi e nei controlli (media $\pm$ DS)

IMT (mm $\pm$ DS)	CD4 > 200 < 500		CD4 > 500		Controlli	
	dx	sx	dx	sx	dx	sx
Carotide comune	0,85 $\pm$ 0,04*	0,87 $\pm$ 0,04*	0,61 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,04	0,62 $\pm$ 0,04	0,64 $\pm$ 0,06
Bulbo carotideo	0,90 $\pm$ 0,06*	0,93 $\pm$ 0,06*	0,72 $\pm$ 0,05	0,71 $\pm$ 0,04	0,74 $\pm$ 0,08	0,72 $\pm$ 0,04
Carotide interna	0,83 $\pm$ 0,05*	0,81 $\pm$ 0,05*	0,62 $\pm$ 0,08	0,67 $\pm$ 0,03	0,66 $\pm$ 0,08	0,68 $\pm$ 0,08

* p < 0.01 vs controlli e vs CD4 > 500

Tabella 4. Reattività vascolare nei pazienti HIV-positivi e nei controlli (media $\pm$ DS)

	CD4 > 200 < 500	CD4 > 500	Controlli
FMD%	5,2 $\pm$ 2,1*	7,8 $\pm$ 4,1	8,5 $\pm$ 3,5
NMD%	10,5 $\pm$ 6,3	10,9 $\pm$ 5,1	11,2 $\pm$ 4,8

* p < 0.01 vs CD4 > 500 e vs controlli

i gruppi, senza differenze significative tra pazienti HIV-positivi e controlli.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Nei pazienti HIV-positivi trattati con inibitori delle proteasi (HAART) è stata osservata la comparsa di lesioni aterosclerotiche carotidiche in misura maggiore rispetto a quanto osservato nei pazienti trattati con inibitori nucleosidici o con inibitori non nucleosidici.¹¹⁻¹³ Tali lesioni vascolari sono state osservate quasi esclusivamente in pazienti in terapia HAART che avevano sviluppato alterazioni significative del profilo lipidico.^{4,5}

Nei pazienti in terapia HAART, tuttavia, si osserva anche una progressiva diminuzione della conta dei CD4 e un'attivazione delle cellule T (aumento dei fenotipi linfocitari CD38+HLA DR+).⁹

Il danno endoteliale osservato in corso di terapia HAART potrebbe pertanto essere anche conseguenza di alterazioni dell'immunità cellulo-mediata.

In pazienti HIV-positivi in terapia con HAART, senza alterazioni del profilo lipidico, abbiamo riscontrato una riduzione della reattività vascolare e un aumento dello spessore intima-media carotideo che

sembrerebbero pertanto correlabili o alla stessa infezione virale o alle conseguenti modifiche della risposta immunitaria cellulo-mediata.

Il virus HIV potrebbe provocare alterazioni della funzione endoteliale con effetti diretti e indiretti.¹⁴

Gli effetti diretti sono probabilmente mediati dalla proteina Tat, secreta dalle cellule infette, che si lega direttamente a recettori di superficie delle cellule endoteliali inducendo apoptosi e, insieme al TNF α , determina adesione dei linfociti T e dei monociti all'endotelio con conseguente attivazione di programmi di morte cellulare.¹⁵

Gli effetti indiretti dell'infezione da HIV si realizzerrebbero attraverso la risposta immunitaria cellulo-mediata.

I linfociti T attivati, infatti, liberano microvescicole contenenti citochine proinfiammatorie e procoagulanti che riducono l'espressione dell'enzima Ossido Nitrico Sintetasi (eNOS) nelle cellule endoteliali¹⁶ e il siero dei pazienti HIV positivi è ricco di tali microvescicole.¹⁷

Le alterazioni della reattività vascolare da noi osservate risultano correlate alla conta dei CD4, e pertanto provocate soprattutto dalle alterazioni della risposta immunitaria cellulo-mediata.

Questo stesso meccanismo fisiopatologico sarebbe

alla base del significativo aumento dello spessore intima-media carotideo, marker "surrogato" di aterosclerosi;¹⁸ non abbiamo, invece, osservato alterazioni significative degli indici ecocardiografici di funzione diastolica, che evidentemente sono maggiormente correlati alle alterazioni del profilo lipidico, e comunque compaiono in fasi più avanzate di malattia.

In conclusione, lo studio della reattività vascolare e dello spessore intima-media carotideo potrebbe assumere un ruolo complementare alla valutazione dei comuni marker biochimici e di quelli "emergenti" nell'identificazione di soggetti HIV-positivi a più alto rischio di complicanze cardiovascolari.

Le metodiche ultrasonografiche di misurazione della reattività vascolare e dello spessore intima-media carotideo, data l'innocuità, la riproducibilità e il relativo basso costo, potrebbero divenire parte integrante dello studio dei pazienti HIV-positivi per stabilire la velocità di progressione della malattia e l'efficacia di eventuali provvedimenti terapeutici adottati.

INDIRIZZO PER LA CORRISPONDENZA

Dr. Ugo Oliviero
Dipartimento di Medicina Clinica,
Scienze Cardiovascolari e Immunologiche
Università "Federico II"
Via Pansini, 5
80131 Napoli
Tel./fax 081-7463369
E-mail: uolivier@unina.it

Bibliografia

1. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC et al. and the HIV Outpatient Study investigators. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1998;338:853-860.
2. Holmberg SD, Moorman AC, Williamson JM, Tong TC, Ward DJ, Wood KC, Greenberg AE, Janssen RS; HIV Outpatients Study investigators (HOPS). Protease inhibitors and cardiovascular outcomes in patients with HIV-1. *Lancet* 2002; 360:1747-1748.
3. Bozzette SA, Ake CF, Tam HK, Chang SW, Louis TA. Cardiovascular and cerebrovascular events in patients treated for human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 2003;348:702-710.
4. Balasubramanyam A, Sekhar RV, Jahoor F, Jones PH, Pownall HJ. Pathophysiology of dyslipidemia and increased cardiovascular risk in HIV lipodystrophy: a model of 'systemic steatosis'. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:59-67.
5. Sekhar RV, Jahoor F, Pownall HJ, Ballantyne CM, Balasubramanyam A. Cardiovascular implications of HIV-associated dyslipidemic lipodystrophy. *Curr Atheroscler Rep* 2004;6:173-179.
6. de Gaetano Donati K, Rabagliati R, Iacoviello L, Cuda R. HIV infection, HAART, and endothelial adhesion molecules: current perspectives. *Lancet Infect Dis* 2004;4:213-222.
7. Hsue PY, Lo JC, Franklin A et al. Progression of atherosclerosis as assessed by carotid intima-media thickness in patients with HIV infection. *Circulation* 2004;109:1603-1608.
8. Stein JH, Klein MA, Bellehumeur JL et al. Use of human immunodeficiency virus-1 protease inhibitors is associated with atherogenic lipoprotein changes and endothelial dysfunction. *Circulation* 2001;104:257-262.
9. Hunt PW, Martin JN, Sinclair E et al. T cell activation is associated with lower CD4+ T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during Antiretroviral Therapy. *J Infect Dis* 2003;187:1534-1543.
10. Oliviero U, Orefice G, Coppola G et al. Carotid atherosclerosis and ischemic stroke in young patients. *Int Angiol* 2002;21:117-122.
11. Seminari E, Pan A, Voltini G, Carnevale G et al. Assessment of atherosclerosis using carotid ultrasonography in a cohort of HIV-positive patients treated with protease inhibitors. *Atheroscler* 2002; 162: 433-438.
12. Maggi P, Lillo A, Perilli F, Maserati R, Chiriacchi A; PREVALEAT Group. Colour-Doppler ultrasonography of carotid vessels in patients treated with antiretroviral therapy: a comparative study. *AIDS* 2004; 18:1023-1028.
13. Martin LD, Vandhuick O, Guillo P et al. Premature atherosclerosis in HIV positive patients and cumulated time of exposure to antiretroviral therapy (SHIVA study). *Atheroscler* 2005. Article in press.
14. Blum A, Hadas V, Burke M, Yust I, Kessler A. Viral load of the human immunodeficiency virus could be an independent risk factor for endothelial dysfunction. *Clin Cardiol* 2005;28:149-153.
15. Fischer SD, Miller TL, Lipshultz SE. Impact of HIV and highly active antiretroviral therapy on leukocyte adhesion molecules, arterial inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2006;185:1-11.
16. Martin S, Tesse A, Hugel B et al. Shed membrane particles from T lymphocytes impair endothelial function and regulate endothelial protein expression. *Circulation* 2004 ; 109:1653-1659.
17. Aupeix K, Hugel B, Martin T et al. The significance of shed membrane particles during programmed cell death in vitro, and in vivo, in HIV-1 infection. *J Clin Invest* 1997;99:1546-1554.
18. de Groot E, Hovingh GK, Wiegman A et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation* 2004;109(suppl III): III- 33 -38.