

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Danica M. Cvetković

**POVEZANOST NIVOVA ADIPOCITOKINA I
RAZLIČITIH PODTIPOVA
LIPODISTROFIJE KOD BOLESNIKA
SA HIV INFEKCIJOM**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF MEDICINE

Danica M. Cvetković

**CORRELATION OF ADIPOCYTOKINE
LEVELS IN DIFFERENT TYPES OF
LIPODISTROPHY IN HIV/AIDS PATIENTS**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2018.

MENTOR:

Prof. Dr Gordana Dragović Lukić, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju; Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

1. Prof. Dr Đorđe Jevtović, Klinika za infektivne i tropske bolesti; Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
2. Prof. Dr Milica Bajčetić, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju; Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Prof. Dr Viktorija Dragojević Simić, Centar za kliničku farmakologiju, Vojnomedicinska akademija

Zahvaljujem se:

Prof. Gordani Dragović Lukić, mom mentoru, na zalaganju, posvećenosti i podršci koji su obeležili naš zajednički rad;

Dr Ivanu Soldatoviću, na ogromnoj pomoći pri statističkoj obradi podataka dobijenih u ovom istraživanju;

Pacijentima, koji su učestvovali u istraživanju na saradnji;

Mojim roditeljima, Ljiljani i Milutinu Srdić, na podršci i razumevanju;

Mom suprugu, Vladimiru Cvetkoviću, na tehničkoj podršci prilikom izrade doktorske disertacije, kao i spremnosti da me podrži u mojoj težnji ka stalnom usavršavanju.

POVEZANOST NIVOVA ADIPOCITOKINA I RAZLIČITIH PODTIPOVA LIPODISTROFIJE KOD BOLESNIKA SA HIV INFEKCIJOM

Uvod: Primenom kombinovane antiretrovirusne terapije (*combination antiretroviral therapy*, cART) došlo je do značajnog smanjenja morbiditeta i mortaliteta kod osoba inficiranih virusom humane imunodeficijencije (*Human Immunodeficiency Virus*, HIV) i sindromom stečene imunodeficijencije (*Acquired immune deficiency syndrome*, AIDS). Sa produženjem životnog veka pacijenata sa HIV-om od značaja je postalo praćenje neželjenih efekata cART-a među kojima se posebno izdvajaju poremećaj metabolizma lipida, dislipidemija, kao i periferna lipoatrofija i visceralna lipohipertrofija, zajednički označene kao lipodistrofija, i insulinska rezistencija. Sindrom lipodistrofije obuhvata tri klinička stanja koja se karakterišu poremećenom distribucijom telesnih masti, a to su lipoatrofija (gubitak potkožnog masnog tkiva), lipohipertrofija (povećanje visceralnog masnog tkiva) i mešoviti tip koji predstavlja kombinaciju dva navedena stanja. Skorašnja istraživanja su pokazala kompleksnu ulogu masnog tkiva, koje predstavlja metabolički aktivan endokrini organ i koje oslobađa u cirkulaciju biološki aktivne peptide, odnosno adipocitokine. Čelije masnog tkiva aktivno proizvode brojne predstavnike familije citokina, kao što su adiponektin, leptin, rezistin, faktor tumorske nekroze alfa (TNF- α), inhibitor aktivatora plazminogena (PAI-1) i razne druge interleukine (IL). Adipocitokini imaju različite uloge u imunom odgovoru (interleukini), inflamaciji (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, monocitni hemotaksni protein-1 (MCP-1)), metabolizmu glukoze (leptin, adiponektin, rezistin), osetljivosti na insulin (leptin, adiponektin), ćelijskoj adheziji (PAI-1), rastu i funkciji vaskularnih ćelija (faktor rasta vaskularnog endotela, VEGF), razvoju ateroskleroze, adipogeneze i drugih bioloških procesa. U ovom radu je ispitivana povezanost nivoa adipocitokina i različitih podtipova lipodistrofije kod bolesnika sa HIV infekcijom.

Ciljevi: (I) Utvrditi učestalost lipodistrofije kao i podtipova lipodistrofije (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) kod bolesnika sa HIV/AIDS-om; (II) Ispitati povezanost dužine trajanja cART-a i broja cART kombinacija sa pojavom lipodistrofije (odnosno odgovarajućeg podtipa lipodistrofije); (III) Ispitati povezanost nivoa adipocitokina (adiponektin, rezistin, leptin, interleukini (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10; IL-1 α , IL-1 β), TNF- α , PAI-1, MCP-1, VEGF, EGF, IFN- γ , cistatin C) kod bolesnika sa HIV/AIDS-om sa i bez

lipodistrofije; (IV) Ispititati povezanost nivoa adipocitokina (adiponektin, rezistin, leptin, interleukini (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10; IL-1 α , IL-1 β), TNF- α , PAI-1, MCP-1, VEGF, EGF, IFN- γ , cistatin C)) kod bolesnika sa HIV/AIDS-om sa različitim podtipovima lipodistrofije.

Materijal i metode: Istraživanje je imalo karakteristike studije preseka. Uključeno je 66 pacijenata koji su lečeni na Odeljenju Klinike za infektivne i tropske bolesti „Dr Kosta Todorović“ Kliničkog Centra Srbije, sa potvrđenom dijagnozom HIV infekcije i/ili dijagnozom AIDS-a. HIV/AIDS bolesnici su podeljeni u 2 grupe: 1) sa lipodistrofijom i 2) bez lipodistrofije. Pacijenti sa lipodistrofijom su, nakon toga, u zavisnosti od tipa promena masnog tkiva, klasifikovani u 3 podgrupe: lipoatrofija, lipohipertrofija i mešoviti tip lipodistrofije. Nakon uključivanja u studiju, pacijentima su uzeti uzorci krvi u cilju analize sledećih adipocitokina: adiponektin, rezistin, leptin, interleukini (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10), TNF- α , PAI-1, MCP-1, VEGF, EGF, IFN- γ i cistatin C. U istraživanju je korišćena biočip tehnologija - BAT (*Biochip Array Technology*) (*Randox Laboratories Ltd.*, London, Velika Britanija), koja omogućava istovremeno izvođenje dijagnostičkih testiranja iz pojedinačnog uzorka. Sve biohemijske analize su rađene na Odeljenju za Kliničku biohemiju *Royal Free Hospital, University College London*, London, Velika Britanija. Pored navedenog, urađen je i fizikalni pregled i rutinski laboratorijski testovi: glukoza, insulin, ukupni holesterol, lipoprotein visoke gustine (HDL) holesterol; lipoprotein niske gustine (LDL) holesterol, trigliceridi, enzimi jetre (alanin transaminaza (ALT), aspartat transaminaza (AST), i alkalna fosfataza (ALP)). Broj CD4⁺ T-limfocita je određivan *flow* citometrijom, a broj kopija HIV-RNK u plazmi je izmeren pomoću testa polimerazne lančane reakcije reverzne transkriptaze.

Rezultati: U našem istraživanju je registrovano 29 (44 %) pacijenata sa lipodistrofijom, od toga 15 pacijenata (52 %) je imalo lipoatrofiju, 4 pacijenta (14 %) lipohipertrofiju, a 10 pacijenata (34 %) je imalo mešoviti tip lipodistrofije. Trideset i sedam pacijenata (56 %) je bilo bez lipodistrofije. Pacijenti sa lipodistrofijom su bili značajno stariji u odnosu na pacijente bez lipodistrofije ($47,8 \pm 8$ god. vs. $41,3 \pm 12,1$ god., $p = 0,006$), ali i sa značajno manjim prosečnim brojem CD4⁺ T limfocita ($463 \text{ \u00c4el/mm}^3$ vs. $586 \text{ \u00c4el/mm}^3$, $p = 0,017$). Pacijenti sa lipodistrofijom su u dužem vremenskom periodu primali antiretrovirusnu terapiju (106 meseci, IQR (55,2 – 143,2 meseca) kao i veći broj ARV kombinacija (3,5, IQR (2 -5)) u poređenju sa pacijentima bez lipodistrofije (32 meseca, IQR (23,5 – 57,5) i 1 ARV kombinacija, IQR (1-2)) ($p < 0.001$).

Pacijenti sa lipodistrofijom su imali više vrednosti adiponektina, i niže vrednosti

leptina i rezistina, u poređenju sa vrednostima ovih adipocitokina u grupi pacijenata bez lipodistrofije, ali ove razlike nisu bile statistički značajne. Upoređivanjem vrednosti adipocitokina kod podgrupa pacijenata sa lipodistrofijom (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) i pacijenata bez lipodistrofije, pokazali smo da su vrednosti leptina i adiponektina bile statistički značajno veće kod pacijenata sa lipohipertrofijom ($p = 0,039$ za leptin i $p = 0,011$ za adiponektin). Nisu registrovane razlike u vrednostima rezistina između pacijenata sa različitim podtipom lipodistrofije i pacijenata bez lipodistrofije. Poređenjem između 3 podgrupe pacijenata sa lipodistrofijom, vrednosti sva 3 adipocitokina su bila niža kod pacijenata sa lipoatrofijom u odnosu na pacijente sa lipohipertrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije. Međutim, statistički značajne razlike unutar grupe pacijenata sa lipodistrofijom su bile samo za adiponektin i leptin. Naime, pacijenti sa lipoatrofijom su imali značajno niže vrednosti leptina u poređenju sa pacijentima sa lipohipertrofijom ($p = 0,020$) i pacijentima sa mešovitim tipom lipodistrofije ($p = 0,027$). Pored toga, pacijenti sa lipohipertrofijom su imali značajno više vrednosti adiponektina u poređenju sa pacijentima sa lipoatrofijom ($p = 0,027$) i pacijentima sa mešovitim tipom lipodistrofije ($p = 0,028$).

Pacijenti sa lipodistrofijom su imali niže vrednosti IL-4 i IL-10 u poređenju sa vrednostima ovih interleukina u grupi pacijenata bez lipodistrofije. Razlika u vrednostima IL-4 i IL-10 je bila statistički značajna ($p = 0,008$ za IL-4; $p = 0,027$ za IL-10). Upoređivanjem vrednosti interleukina kod podgrupa pacijenata sa lipodistrofijom (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) i pacijenata bez lipodistrofije, vrednosti IL-4 su bile statistički značajno više kod pacijenata sa lipoatrofijom ($p = 0,043$) a vrednosti IL-10 statistički značajno niže ($p = 0,031$).

U našem istraživanju, pacijenti sa lipodistrofijom su imali niže vrednosti TNF- α , VEGF, MCP-1 i EGF, kao i više vrednosti IFN- γ , cistatina C i PAI-1, u odnosu na pacijente bez lipodistrofije, ali nije bilo statistički značajne razlike. Upoređivanjem vrednosti ovih citokina kod podgrupa pacijenata sa lipodistrofijom (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) i pacijenata bez lipodistrofije, vrednosti cistatina C su bile statistički značajno veće kod pacijenata sa lipohipertrofijom ($p = 0,001$).

Kao ključni parametri, adiponektin i leptin su dalje korelisani sa antropometrijskim i metaboličkim parametrima, kao i sa ostalim citokinima koji su mereni u ovom istraživanju. Koncentracije adiponektina u krvi HIV/AIDS bolesnika su bile u pozitivnoj korelaciji sa uzrastom, kao i vrednostima aspartat transaminaze, alkalne fosfataze, interferona gama (IFN- γ) i cistatina C. Dobijeni rezultati pokazuju i negativnu korelaciju koncentracija adiponektina u krvi sa obimom struka, indeksom telesne mase (BMI) kao i nivoom inhibitora aktivatora

plazminogena 1 (PAI-1). Koncentracije leptina su bile u pozitivnoj korelaciji sa vrednostima IL-6, cistatinom C, kao i vrednostima insulina. U cilju još preciznije procene korelacije koncentracija adiponektina i leptina u krvi kod HIV/AIDS bolesnika i lipodistrofije, primenili smo analizu kovarijanse sa „bootstrapping“ metodom. Koncentracije adiponektina i leptina u krvi nisu bile statistički značajno povezane sa prisustvom lipodistrofije ($p = 0,795$ za adiponektin, i $p = 0,646$ za leptin), kada su poređene vrednosti adipocitokina kod pacijenata sa lipodistrofijom i pacijenata bez lipodistrofije. Međutim, kada su pacijenti sa lipodistrofijom podeljeni u 3 podgrupe, analiza kovarijanse je pokazala da korelacija vrednosti adiponektina ostaje statistički značajna u podgrupi pacijenata sa lipohipertrofijom, nakon prilagođavanja korelacionog modela za uzrast, indeks telesne mase (BMI), cistatin C, inhibitor aktivatora plazminogena 1 (PAI-1) i interferon-gama (IFN- γ) ($p = 0,001$).

Zaključak: Učestalost lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika je iznosila 44 %, i povezana je sa dužinom uzimanja cART-a kao i većim brojem cART kombinacija. Snižene koncentracije IL-4 i IL-10 su registrovane kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom u odnosu na HIV/AIDS bolesnike bez lipodistrofije. HIV/AIDS bolesnici sa lipohipertrofijom su imali značajno povišene vrednosti adiponektina, leptina, kao i cistatina C u poređenju sa HIV/AIDS bolesnicima bez lipodistrofije. HIV/AIDS bolesnici sa lipoatrofijom su imali značajno niže vrednosti IL-4 i značajno više vrednosti IL-10 u poređenju sa HIV/AIDS bolesnicima bez lipodistrofije. Korelacija adiponektina sa lipodistrofijom ostaje statistički značajna u podgrupi lipohipetrofije, nakon prilagođavanja korelacionog modela dodavanjem kovarijabli kao što su uzrast, BMI, cistatin C, PAI-1 I IFN- γ . Adiponektin bi, zbog značajne povezanosti sa lipodistrofijom, odnosno lipohipertrofijom, mogao biti novi “target” u budućim terapijskim strategijama lečenja lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika.

Ključne reči: HIV, lipodistrofija, adipocitokini

Naučna oblast: medicina

Uža naučna oblast: klinička farmakologija

UDK broj:

CORRELATION OF ADIPOCYTOKINE LEVELS IN DIFFERENT TYPES OF LIPODISTROPHY IN HIV/AIDS PATIENTS

Background: The introduction of combination antiretroviral therapy (cART) has led to a significant decrease in morbidity and mortality in people infected with Human Immunodeficiency Virus (HIV) and Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). With the prolongation of the life span of patients with HIV, it became increasingly important to monitor adverse effects associated with cART, such as lipid metabolism disorders, dyslipidemia, and peripheral lipoatrophy and visceral lipohypertrophy, commonly referred to as lipodystrophy, and insulin resistance. Lipodystrophy syndrome (LD) groups together three clinical conditions characterized by fat redistribution: lipoatrophy (LA, loss of subcutaneous adipose tissue), lipohypertrophy (LH, increase in visceral adipose tissue), and a mixed lipodystrophy type (MFR, mixed fat redistribution) that represents a combination of the two states mentioned above. A number of evidence have demonstrated a much more complex function of adipose tissue, which is now considered not only an energy storage organ but also a metabolically active endocrine organ that releases bioactive peptides (e.g., adipokines) into the blood stream. Fat cells actively secrete many members of the cytokine family, such as adiponectin, leptin, resistin, tumor necrosis factor alpha (TNF- α), plasminogen activator inhibitor (PAI-1) and various interleukins (IL). Adipokines have been proposed to play specific roles in immune response (interleukins), inflammation (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)), glucose metabolism (leptin, adiponectin), insulin sensitivity (leptin, adiponectin), cell adhesion (PAI-1), vascular growth and function (vascular endothelial growth factor, VEGF), development of atherosclerosis, adipogenesis and other biological processes. In our research, we investigated the association between levels of adipocytokines and different lipodystrophy subtypes in HIV/AIDS patients.

Aims: (I) to assess the prevalence of lipodystrophy and its subtypes (lipoatrophy, lipohypertrophy, mixed fat redistribution) in HIV/AIDS patients; (II) to examine the relationship between the duration of cART and the number of cART combinations with the prevalence of lipodystrophy (as well as with different lipodystrophy subtypes); (III) to determine the correlation between adipocytokine levels (adiponectin, resistin, leptin, interleukins (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 α , IL-1 β), PAI-1, MCP-1, VEGF, EGF, IFN-

γ , cystatin C) in HIV/AIDS patients with or without lipodystrophy; (IV) to determine the correlation between adipocytokine levels (adiponectin, resistin, leptin, interleukins (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 α , IL-1 β), PAI-1, MCP-1, VEGF, EGF, IFN- γ , cystatin C) in HIV/AIDS patients with different subtypes of lipodystrophy.

Methodology: The study had the characteristics of the cross-sectional study. We included 66 patients who were treated at the Infectious and Tropical Disease Hospital "Dr Kosta Todorović", Clinical Center of Serbia, with confirmed diagnosis of HIV infection and/or diagnosis of AIDS. HIV/AIDS patients were divided into 2 groups: 1) with lipodystrophy and 2) without lipodystrophy. Patients with lipodystrophy were subsequently, depending on the type of fatty tissue changes, classified in 3 subgroups: lipoatrophy, lipohypertrophy and a mixed type of lipodystrophy. Fasting (12 h) plasma blood samples were collected from all patients, and the following adipocytokines were assessed: adiponectin, resistin, leptin, interleukins (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10), TNF- α , PAI-1, MCP-1, VEGF, EGF, IFN- γ and cystatin C. Biochip Array Technology have been used (Randox Laboratories Ltd., London, UK), which allows simultaneous diagnostic testing from a single sample. All biochemical analyzes were done at the Department of Clinical Biochemistry, Royal Free Hospital (RFH), University College London, London, United Kingdom. In addition, physical examination and routine laboratory tests were performed: glucose, insulin, total cholesterol, high density lipoprotein (HDL) cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, triglycerides, liver enzymes (alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), and alkaline phosphatase (ALP)). The number of CD4⁺ T-cells was determined by flow cytometry, and the number of copies of HIV-RNA in plasma was measured by the polymerase chain reaction reaction of reverse transcriptase.

Results: The lipodystrophy was observed in 29 (44%) patients, while 15 (52 %) of them had lipoatrophy, 4 (14%) had lipohypertrophy and 10 (34%) patients had MFR. There were 37 (56 %) patients without lipodystrophy. Patients with lipodystrophy were significantly older than patients without lipodystrophy (47.8 ± 8 vs. 41.3 ± 12.1 years, $p = 0.006$), but also with a significantly lower immune recovery (median CD4⁺ T cell counts of 463 cells/mm³ vs. median CD4⁺ T cell counts of 586 cells/mm³, $p = 0.017$). LD patients received antiretroviral therapy for longer duration (median period of cART was 106 months (IQR (55.2 – 143.2 months) and a higher number of cART combinations (3.5, IQR (2-5)) compared with patients without lipodystrophy (median period of cART 32 months, IQR (23.5 – 57.5) and 1 ARV combination, IQR (1-2)) ($p < 0.001$).

LD patients had higher levels of adiponectin, and lower levels of leptin and resistin,

when compared with the patients without lipodystrophy, but these differences were not statistically significant. When adipocytokine levels were compared between subgroups of patients with lipodystrophy (lipoatrophy, lipohypertrophy, mixed type lipodystrophy) and patients without lipodystrophy, leptin and adiponectin levels showed significantly higher levels in patients with lipohypertrophy ($p = 0.039$; $p = 0.011$, respectively). There were no differences in resistin levels between patients with different lipodystrophy subtypes and patients without lipodystrophy. Subgroup differences within the patients with LD were also compared and all 3 adipocytokines were lower in LA patients compared to LH patients and MFR subgroup of patients. However, statistically significant differences within the LD group were found only for adiponectin and leptin, but not resistin. LA patients had significantly lower levels of leptin, when compared to LH patients and MFR patients ($p = 0.020$; $p = 0.027$, respectively). In addition to that, LH patients had significantly higher levels of adiponectin, in comparison with LA patients and MFR patients ($p = 0.027$; $p = 0.028$, respectively).

LD patients had significantly lower levels of IL-4 and IL-10, when compared to patients without lipodystrophy ($p = 0.008$; $p = 0.027$, respectively). When levels of interleukins were compared between subgroups of patients with lipodystrophy (lipoatrophy, lipohypertrophy, mixed type lipodystrophy) and patients without lipodystrophy, IL-4 levels were significantly higher in LA patients ($p = 0.043$) while IL-10 levels were significantly lower ($p = 0.031$).

In our study, LD patients had lower levels of TNF- α , VEGF, MCP-1 and EGF, as well as higher IFN- γ , cystatin C and PAI-1, when compared with patients without lipodystrophy, although the difference was not statistically significant. When levels of these cytokines were compared between subgroups of patients with lipodystrophy (lipoatrophy, lipohypertrophy, mixed type lipodystrophy) and patients without lipodystrophy, cystatin C levels were significantly higher in patients with lipohypertrophy ($p = 0.001$).

Since the most significant results were obtained for adiponectin and leptin, we correlated them, in the further analysis, as key parameters, with anthropometric and metabolic parameters, as well as with other cytokines. Adiponectin was positively correlated with age, AST, ALP, IFN- γ , cystatin C, and negatively correlated with waist circumference, BMI and PAI-1 in HIV/AIDS patients. Leptin was in positive correlation with IL-6, cystatin C, and insulin levels in HIV/AIDS patients. In order to estimate the correlation of adiponectin and leptin levels, and the presence of lipodystrophy, analysis of covariance with bootstrapping method was performed in HIV/AIDS patients. Levels of adiponectin and leptin were not significantly associated with the presence of lipodystrophy ($p = 0.795$, $p = 0.645$,

respectively), when compared LD and non-LD patients. However, when LD patients were divided into 3 subgroups, this analysis showed that correlation of adiponectin levels in patients with lipodystrophy remains statistically significant in the subgroup of patients with lipohypertrophy after adjustment for age, BMI, cystatin-C, PAI-1, IFN- γ ($p = 0.001$)

Conclusions: Lipodystrophy was observed in 44% HIV/AIDS patients. Lipodystrophy patients received cART for longer duration and a higher number of cART combinations. LD patients had significantly lower levels of IL-4 and IL-10, when compared to patients without lipodystrophy. LH patients had significantly higher levels of adiponectin, leptin, and cystatin C, when compared to HIV/AIDS patients without lipodystrophy. LA patients had significantly lower IL-4 values and significantly higher IL-10 levels, when compared to HIV/AIDS patients without lipodystrophy. The correlation of adiponectin with lipodystrophy remains statistically significant in the subgroup of lipohipetrophy, after adjustment for age, BMI, cystatin C, PAI-1, and IFN- γ . Adiponectin could serve as a new target in future therapeutic strategies for the treatment of lipodystrophy in HIV/AIDS patients.

Key words: HIV, lipodystrophy, adipocytokines.

The scientific field: medicine

Field of academic expertise: clinical pharmacology

UDC number:

SADRŽAJ

1	UVOD	11
1.1	HIV infekcija i AIDS	11
1.1.1	Epidemiologija	12
1.1.2	Patogeneza i klinička slika	12
1.2	Antiretrovirusna terapija i metaboličke komplikacije.....	14
1.3	Lipodistrofija kod pacijenata sa HIV infekcijom	16
1.3.1	Klinička slika lipodistrofije.....	19
1.3.2	Dijagnoza lipodistrofije.....	21
1.3.3	Lečenje lipodistrofije	21
1.4	Adipocitokini i uloga masnog tkiva u sintezi adipocitokina	22
1.4.1	Uticao cART-a na adipocite.....	24
1.4.2	Leptin	25
1.4.3	Adiponektin.....	26
1.4.4	Rezistin.....	27
1.4.5	Faktor tumorske nekroze alfa (TNF- α)	28
1.4.6	Inhibitor aktivatora plazminogena-1 (PAI-1).....	29
1.4.7	Interleukini (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10).....	30
1.4.8	Monocitni hemotaksni protein-1 (MCP-1).....	31
1.4.9	Faktor rasta vaskularnog endotela (VEGF).....	32
1.4.10	Epidermalni faktor rasta (EGF).....	32
1.4.11	Cistatin C.....	33
1.4.12	Interferon Gama (IFN- γ)	33
2	CILJEVI ISTRAŽIVANJA	35
3	MATERIJAL I METODE.....	36

3.1	Subjekti istraživanja	37
3.2	Klinička evaluacija	38
3.3	Biohemijske analize	39
3.3.1	Sakupljanje uzoraka krvi za analizu.....	39
3.3.2	Određivanje biohemijskih parametara	39
3.3.3	Imunološki i virusološki parametri	41
3.4	Statistička analiza	42
4	REZULTATI.....	43
4.1	Kliničke karakteristike pacijenata	43
4.2	Karakteristike HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije	44
4.3	Karakteristike HIV/AIDS bolesnika sa različitim podtipovima lipodistrofije (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) ..	46
4.4	Vrednosti adipocitokina kod HIV/AIDS bolesnika	50
5	DISKUSIJA	63
6	ZAKLJUČCI.....	70
7	LITERATURA	71

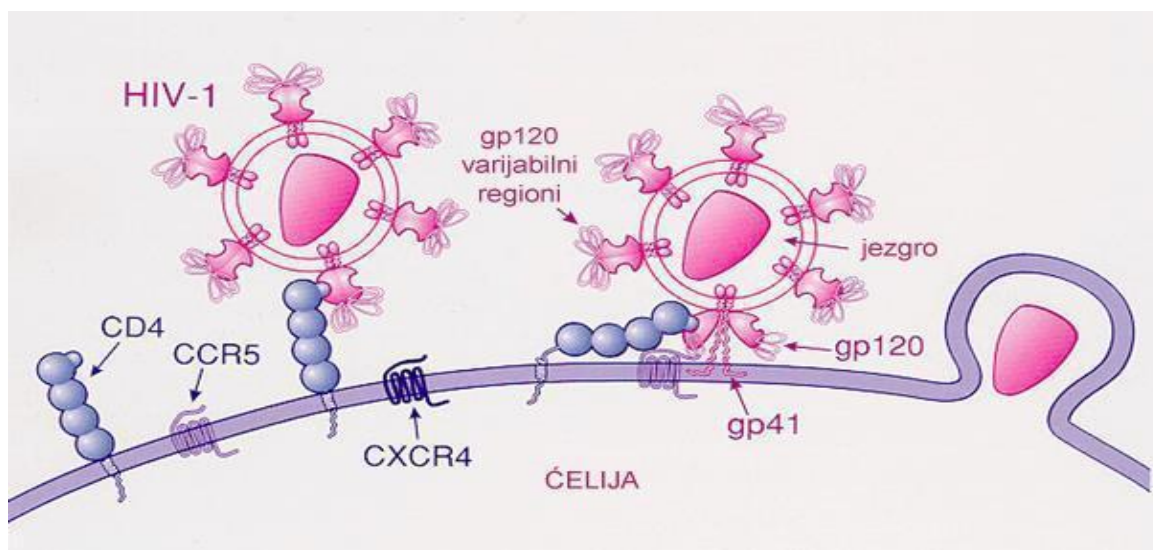
1 UVOD

1.1 HIV infekcija i AIDS

Sindrom stečene imunodeficijencije (na francuskom „*syndrome d'immuno-deficence acquise*”, SIDA ili na engleskom “*acquired immunodeficiency syndrome*”, AIDS) predstavlja terminalni stadijum hronične infekcije izazvane virusom humane imunodeficijencije (*human immunodeficiency virus, HIV*). Prvi klinički slučajevi do tada nepoznate bolesti su registrovani 1981. godine, kada je američki Centar za kontrolu bolesti (CDC) prijavio neobjašnjivu pojavu upale pluća uzrokovanu sa *Pneumocystis carinii* kod 5 prethodno zdravih homoseksualnih muškaraca u Los Anđelesu, kao i Kapošijevog sarkoma kod 26 prethodno zdravih homoseksualnih muškaraca u Nju Jork-u i Los Anđelesu. Bolest je kasnije registrovana i kod narkomanskih zavisnika oba pola, kod hemofiličara i pacijenata koji su primali transfuzije krvi, kod žena čiji su seksualni partneri imali AIDS, kao i kod novorođenčadi čije su majke imale AIDS. Virus humane imunodeficijencije je prvi put izolovan 1983. god., kod pacijenta sa limfadenopatijom, a 1984. je definitivno potvrđeno da virus izaziva AIDS (Longo i sar., 2015.).

HIV je RNK virus, pripada familiji retrovirusa i podfamiliji *lentiviridae*. Najznačajnija biološka karakteristika svih retrovirusa je konverzija virusne ribonukleinske kiseline (RNK) u dezoksiribonukleinsku kiselinu (DNK), što se odvija pod dejstvom enzima virusne RNK-zavisne DNK polimeraze, poznatijeg pod nazivom reverzna transkriptaza (RT). Po ulasku virusa u humanu ćeliju, dolazi do aktivacije ovog enzima, koji koristeći virusnu RNK kao model i ćelijske dezoksinukleozide kao supstrat, katalizuje sintezu dvostruke DNK kopije virusne RNK. Ovako nastala DNK se pod dejstvom enzima integraze integriše u genom inficirane ćelije, što se označava kao provirus, koji ostaje u latentnom stanju sve do aktivacije inficirane ćelije. Po aktivaciji inficirane ćelije, provirus funkcioniše kao i svaki dugi ćelijski gen i tada na osnovu provirusne DNK započinje transkripcija novih virusnih RNK molekula, koji se transportuju u citoplazmu, gde se sintetišu virusni polipeptidi (prekursori virusnih proteina) iz kojih se pod dejstvom HIV proteaze stvaraju nove virusne partikule (Del Rio i sar., 2010). HIV ulazi u ćelije domaćina vezujući se za receptore na površini CD4⁺ T limfocita, što je prikazano na *Slici 1*. Ulazak virusa u CD4 ćeliju se odigrava preko vezivanja virusnog R5 HIV-1 glikoproteina (gp120) za CD4⁺ T ćelijski receptor, što dovodi do konformacionih promena gp120 i omogućava vezivanje za CCR5 receptor. Formirani kompleks “okida” i aktivaciju glikoproteina gp41 koji posreduje u fuziji virusne opne i

ćelijske membrane, nakon čega virus ulazi u ćeliju.



Slika 1. Ulazak HIV-a u CD4⁺ T limfocit preko CCR5 receptora: 1) Vezivanje virusnog proteina gp120 za CD4 receptor; 2) vezivanje varijabilnog regiona gp120 za ko-receptor (CCR5 ili CXCR4) i vezivanje gp41 za ćelijsku membranu; 3) ulazak HIV-a u ćeliju. *Preuzeto i obrađeno iz: US National Institutes of Health - National Institute of Allergy and Infectious Diseases.*

1.1.1 Epidemiologija

Epidemija AIDS-a ima karakteristike svetske pandemije. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (SZO), iz 2016. godine, od početka epidemije je više od 70 miliona ljudi širom sveta inficirano HIV-om ili je imalo AIDS, a oko 35 miliona obolelih je umrlo od ove bolesti. Procenjuje se da približno oko 36,7 miliona ljudi (između 34,0 – 39,8 miliona) trenutno živi sa HIV-om, prema izveštaju SZO. Oko 0,8 % odrasle populacije uzrasta između 15-49 godina živi sa HIV-om, iako epidemija i širenje infekcije varira u zavisnosti od zemlje i regiona. Skoro 70 % novih slučajeva HIV infekcije se registruje u zemljama u razvoju, prevashodno u centralnoj Africi sa 1 zaraženim na svakih 25 odraslih osoba (Global Health Observatory data, HIV/AIDS. World Health Organization, 2017). HIV se prenosi seksualnim kontaktom (homoseksualnim i heteroseksualnim), putem krvi i vertikalnom transmisijom, odnosno sa majke na plod.

1.1.2 Patogeneza i klinička slika

Do pojave AIDS-a obično dolazi posle više godina od prodora HIV-a u organizam. Različita dužina inkubacije (od nekoliko meseci do 15 godina i duže) je posledica individualnih razlika u imunom odgovoru na HIV, kao i citopatogenih karakteristika virusa.

Osnovna patofiziološka karakteristika HIV infekcije je postepena eliminacija čitavih klonova CD4⁺ T limfocita. HIV infekcija prolazi kroz akutnu i hroničnu fazu. Akutna faza se karakteriše intenzivnom i nekontrolisanom replikacijom virusa u CD4⁺ T limfocitima sekundarnih limfoidnih organa (slezina i limfni čvorovi), što prati masivna viremija od 10⁹-10¹⁰ kopija HIV RNK/ml plazme. Virusna replikacija stimuliše HIV-specifične citotoksične limfocite, koji eliminišu inficirane limfocite i/ili zaustavljaju virusnu replikaciju antivirusnim faktorima (hemokinima), zbog čega dolazi do pada viremije, što se vremenski poklapa sa serokonverzijom. Hroničnu HIV infekciju karakteriše intenzivna replikacija virusa, koji neprestano mutira, pri čemu se aktiviraju uvek novi klonovi CD4⁺ i CD8⁺ T limfocita, uz stalno "izmicanje" imunskom nadzoru, što na kraju dovodi do iscrpljivanja imunskog sistema (Longo i sar., 2015.).

HIV infekcija može biti asimptomatska ili simptomatska. Tokom asimptomatske faze, nema kliničkih znakova infekcije, ali postoje jasni laboratorijski parametri disfunkcije imunog sistema. Sa daljim slabljenjem imunskog sistema, postepeno, dolazi do pojave prvih simptoma i znakova bolesti što se manifestuje pojavom oportunističkih infekcija i/ili oportunističkih tumora.

Progresija HIV infekcije se prati određivanjem apsolutnog i relativnog broja CD4⁺ T limfocita periferne krvi i određivanjem stepena viremije (*plasma viral load*, pVL). Klasifikacija HIV infekcije se bazira na kliničkoj slici i broju CD4⁺ T limfocita, koji je neophodan laboratorijski parameter za definitivnu dijagnozu stadijuma HIV infekcije. Prema klasifikaciji američkog Centra za kontrolu bolesti, na osnovu kliničke slike, razlikuju se tri kliničke kategorije HIV infekcije. To su kategorije A, B i C, koje se dalje dele u tri podgrupe na osnovu broja CD4⁺ T limfocita, i označavaju se brojevima 1, 2, 3. Kategorije A₁, A₂ i A₃ predstavljaju klinički asimptomatsku HIV infekciju. Kategorije B₁, B₂ i B₃ obuhvataju osobe sa neurološkim manifestacijama HIV infekcije i oportunističkim infekcijama koje nisu kriterijum za AIDS (periferno neuropatije, manje oportunističke infekcije i cervikalna intraepitelna neoplazija). Kategorije C₁, C₂ i C₃ obuhvataju sve AIDS "indikativne bolesti" tj. bolesti koje ukazuju na prisustvo AIDS-a. Prema CDC klasifikaciji HIV bolesti, dijagnoza AIDS-a se može postaviti ako je apsolutni broj CD4⁺ T limfocita manji od 200 ćelija/mm³, bez obzira na kliničke znake. Obolelim od AIDS-a se smatraju sve osobe koje su obuhvaćene A₃, B₃ i C₁-C₃ kategorijom CDC klasifikacije (CDC. 1993 Revised Classification System).

1.2 Antiretrovirusna terapija i metaboličke komplikacije

Antiretrovirusni lekovi se koriste za lečenje infekcije izazvane HIV-om i sindroma stečene imunodeficijencije. Do sada je registrovano ukupno 28 lekova, od kojih 2 više nisu u prometu. Ovi lekovi se na osnovu različitog mesta dejstva u replikativnom ciklusu virusa klasifikuju u 6 grupa (U. S. Department of Health and Human Services, 2016):

1. **Nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (NIRT):** zidovudin (AZT), zalcitabin (ddC), didanozin (ddI), stavudin (d4T), lamivudin (3TC), abakavir (ABC), emtricitabin (FTC) i tenofovir (TDF). Zalcitabin i stavudin nisu više u prometu.
2. **Nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (NNIRT):** nevirapin (NVP), efavirenz (EFV), delavirdin (DLV), etravirin (TMC-125), rilpivirin (TMC-278).
3. **Inhibitori proteaze (PI):** sakvinavir (SQV), ritonavir (RTV), indinavir (IDV), nelfinavir (NFV), amprenavir (APV), lopinavir (LPV), fosamprenavir (FOS), atazanavir (ATV), tipranavir i darunavir (TMC-114). Amprenavir nije više u prometu.
4. **Inhibitori fuzije HIV-a:** enfuvirtid.
5. **Antagonisti CCR5 receptora:** maravirok.
6. **Inhibitori virusne integraze:** raltegravir, dolutegravir, elvitegravir.

Antiretrovirusni lekovi su se u početku primenjivali u vidu monoterapije ili dualne terapije, što se vrlo brzo pokazalo kao neefikasno, zbog kratkotrajnog kliničkog poboljšanja i visoke stope morbiditeta i mortaliteta. Krajem 1996. godine počinje da se primenjuje nova strategija lečenja, koja podrazumeva primenu 3 ili više antiretrovirusnih lekova različitih mehanizama dejstva (Autran i sar., 1997; Komanduri i sar., 1998; Lederman i sar., 1998). Ova strategija je poznata kao visoko aktivna antiretrovirusna terapija (*Highly Active Antiretroviral Therapy*, HAART) ili kao kombinovana antiretrovirusna terapija (*Combination Antiretroviral Therapy*, cART).

Primena cART-a je učinila AIDS hroničnom bolešću zbog maksimalne i intenzivne supresije virusne replikacije, poboljšanja kvaliteta života i produženja životnog veka kod osoba inficiranih HIV-om. Danas cART najčešće čine kombinacije dva leka iz grupe nukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze (NIRT) sa jednim lekom iz grupe proteaznih inhibitora (PI) (2 NIRT+1 PI). Primenjuje se i kombinacija dva leka iz grupe nukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze sa jednim nenukleozidnim inhibitorom reverzne transkriptaze (2 NIRT+ 1 NNIRT), u cilju štednje proteaznih inhibitora za kasnije faze

lečenja. Poslednju deceniju se primenjuje i strategija "pojačavanja" dejstva PI sa ciljem da se modifikacijom farmakokinetike proteaznih inhibitora produži njihov poluživot. Ova strategija se sastoji iz dodavanja malih doza ritonavira (100 mg/dan), koji inhibiše enzim citohrom P450 (CYP3A) u jetri. To je omogućilo da se proteazni inhibitori primenjuju dva puta ili čak jednom dnevno, što svakako olakšava njihovu svakodnevnu primenu i poboljšava adherenciju.

Najnovije preporuke za lečenje AIDS-a iz jula 2016. god. preporučuju uzimanje antiretrovirusne terapije kod svih bolesnika sa HIV infekcijom, nezavisno od broja CD4⁺ T limfocita, u cilju smanjenja morbiditeta i mortaliteta udruženih sa HIV infekcijom, kao i prevencije transmisije (*Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents*, 2016). Terapijska efikasnost cART-a se procenjuje na osnovu broja kopija HIV RNK/ml plazme i broja perifernih CD4⁺ T limfocita. Primenjeni terapijski protokol se smatra efikasnim ako je doveo do supresije virusne replikacije ispod nivoa detekcije komercijalnog testa za HIV (<50 kopija HIV RNK/ml plazme), uz istovremeni porast broja CD4⁺ limfocita u odnosu na inicijalnu vrednost. Propisani terapijski protokol se smatra neefikasnim ako se u periodu 6-8 nedelja ne postigne povećanje broja CD4⁺ T limfocita iznad 250/mm³ ili ako u toku njegove primene dođe do pojave novih oportunističkih infekcija.

Neophodnost višegodišnjeg uzimanja velikog broja različitih lekova dovodi i do brojnih neželjenih i toksičnih efekata, uz pojavu neželjenih interakcija sa drugim lekovima i hranom. Zbog ponovnog uspostavljanja nadzora nad pojedinim mikroorganizmima dolazi do demaskiranja do tada subkliničkih infekcija, kao što su hepatitis B i C, kriptokokoza i tuberkuloza, kao i citomegalovirusne infekcije, sa razvojem retinitisa i vitritisa. U prisustvu terapijskih koncentracija antiretrovirusnih lekova u plazmi, kao posledica izuzetno velike mutagene sposobnosti virusa, može doći do nastanka rezistentnog kvazisoja HIV-a. Akumulacijom mutacija razvija se rezistencija ne samo na jedan lek već i na većinu ili sve lekove istog mehanizma dejstva. Iz prethodno navedenog je jasno da doživotna terapija jednom kombinacijom različitih antiretrovirusnih lekova nije moguća. Primena cART-a je doprinela značajnom padu morbiditeta i mortaliteta, ali je to još uvek daleko od težnje pacijenata inficiranih HIV-om i njihovih lekara da se sa HIV-om "normalno" živi (Arts i sar., 2012).

Sa produženjem životnog veka pacijenata sa HIV-om od značaja je postalo praćenje neželjenih efekata cART-a, što daje HIV infekciji karakteristike hronične degenerativne bolesti (Campos i sar., 2009). Na početku antiretrovirusne terapije, neželjena dejstva koja se

javljaju su obično blagog do umerenog intenziteta. Međutim, u kasnijoj fazi lečenja, neželjena dejstva postaju kompleksnija, utičući na kvalitet života i adherencu na cART (Han i sar., 2011). Među neželjenim dejstvima cART-a se posebno izdvajaju poremećaj metabolizma lipida, dislipidemija, kao i periferna lipoatrofija i visceralna lipohipertrofija, zajednički označene kao lipodistrofija, i insulinska rezistencija. Dislipidemija, lipodistrofija i insulinska rezistencija zajedno čine metabolički sindrom, koji dodatno doprinosi povećanju kardiovaskularnog rizika i ubrzanom starenju, kao i pojavi drugih komorbiditeta, kod pacijenata sa HIV infekcijom (Dragovic i sar., 2014; Jantarapakde i sar., 2014; Guaraldi i sar., 2013; Cortes i sar., 2015; Tsiodras i sar., 2000).

1.3 Lipodistrofija kod pacijenata sa HIV infekcijom

Sindrom lipodistrofije (*human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)/highly active antiretroviral therapy (HAART) - associated lipodystrophy syndrome HALS*) obuhvata tri klinička stanja koja se karakterišu poremećajem distribucije telesnih masti, a to su lipoatrofija (gubitak potkožnog masnog tkiva), lipohipertrofija (relativno povećanje visceralnog masnog tkiva) i kombinacija ova dva stanja (mešoviti tip).

Morfološki znaci lipodistrofije su prvi put opisani od strane Carr-a i saradnika (Carr i sar., 1998), 2 godine nakon uvođenja inhibitora proteaze. Isti autori su, nekoliko godina kasnije (Carr i sar., 2003), postavili model za dijagnozu lipodistrofije koji koristi više parametara (demografske, kliničke, biološke i radiološke). Svaki od ovih parametara se boduje a ukupan skor određuje da li pacijent ima lipodistrofiju.

Do danas, još uvek nema opšte prihvaćene definicije lipodistrofije. U većini studija koje su do sada istraživale lipodistrofiju, dijagnoza se postavljala na osnovu promena primećenih od strane samog pacijenta i/ili lekara (Behrens i sar., 2011; Galescu i sar., 2013). Ovi nalazi su često bili potvrđivani antropometrijskim merenjima i/ili radiološkim ispitivanjima. Još uvek ne postoji konsenzus o tome da li u definisanje ovog sindroma treba da se uključe i nemorfološki kriterijumi kao što su poremećaj metabolizma lipida, glukoze i laktata, kao i osteoporoza i hipogonadizam (Baril i sar., 2005; Singhania i sar., 2011; Lana LGC i sar., 2014).

Iako je teško utvrditi prevalenciju lipodistrofije, dosadašnje observacione studije su pokazale da je učestalost lipodistrofije bila između 1 – 84 %, u zavisnosti od karakteristika ispitanika (pol, uzrast, rasa), vrste i dužine primene antiretrovirusne terapije kao i kriterijuma za postavljanje dijagnoze lipodistrofije (Omolayo i sar., 2008; Carr i sar., 2003; Barbaro i sar.,

2006; Singhania i sar., 2011; Finkelstein i sar., 2015). U dosadašnjim istraživanjima, učestalost lipoatrofije je bila između 2 – 43 % (Alves i sar., 2014; Finkelstein i sar., 2015; Baril i sar., 2005), lipohipertrofije 3 – 53 %, dok je kod mešovitog tipa lipodistrofije učestalost bila između 2 – 46 % (Baril i sar., 2005; Finkelstein i sar., 2015).

Prvi znaci lipodistrofije se mogu videti već posle 4 - 6 meseci od uvođenja cART-a, sa značajnim porastom incidence lipodistrofije posle 12 meseci (Phan i sar., 2012; Pujades-Rodriguez i sar., 2011). Na početku cART ere, bilo je veoma teško razlikovati lipoatrofiju od gubitka masnog tkiva ili gubitka u telesnoj težini usled proteinske malnutricije. Ključna razlika je da pacijenti sa lipodistrofijom imaju normalnu skeletnu mišićnu masu u poređenju sa pothranjenim pacijentima koji imaju smanjenu mišićnu masu. Procenjuje se da je gubitak otprilike jedne trećine potkožnog masnog tkiva potreban pre nego što lipoatrofija postaje klinički očigledna (Podzameczer i sar., 2009; Singhania i sar., 2011).

Identifikacija lipodistrofije ima snažan uticaj na uspešnost lečenja HIV infekcije. Upravo prepoznavanje lipodistrofije kao neželjenog dejstva cART-a može dovesti do prestanka terapije, zamene terapije kao i neredovnog uzimanja lekova. Brojne kliničke studije (George i sar., 2016; Xiao i sar., 2017; Vincent i sar., 2017; Arjun i sar., 2017; Bekele i sar., 2013) koje su istraživale kvalitet života kod HIV/AIDS bolesnika su pokazale da ovi pacijenti imaju dobar kvalitet života, kada je reč o fizičkom funkcionisanju. Međutim, ovi pacijenti se veoma često žale na anksioznost i depresiju koji nastaju usled morfoloških promena i nezadovoljstva sopstvenim izgledom. Promene u fizičkom izgledu kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom imaju negativne psihosocijalne posledice u vidu smanjenog samopouzdanja, društvene izolacije što utiče na sveukupni kvalitet života. Kako bi izbegli pojavu ovih neželjenih dejstava, HIV/AIDS bolesnici na cART terapiji, mogu čak i potpuno prestati sa uzimanjem lekova (Justina i sar., 2014).

Faktore koji utiču na nastanak i razvoj lipodistrofije usled cART-a delimo na faktore u vezi s domaćinom i faktore koji su u vezi sa cART-om. Starije godine života (više od 40 godina), ženski pol, povišene vrednosti serumskih triglicerida, manji broj CD4+ T limfocita i uznapredovali stadijumi HIV infekcije su povezani i sa većim rizikom od lipodistrofije (Baril i sar., 2005). Potencijal za razvoj lipodistrofije i način njenog ispoljavanja se razlikuje među klasama antiretroviralnih lekova, kao i među lekovima unutar iste klase. Novija istraživanja, međutim, sve više ističu činjenicu da se faktori rizika za nastanak lipodistrofije razlikuju, i u zavisnosti od podtipa lipodistrofije (Finkelstein i sar., 2015; de Waal i sar., 2013), kao što je navedeno u Tabeli 1.

Tabela 1. Faktori rizika za nastanak i razvoj lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika

Varijable	Lipodistrofija*		Lipoatrofija		Lipohipertrofija	
ARV	Primena stavudina (Mercier2009, Chuapai 2007)		Primena stavudina (vanGriensven2007,Menezes2011 Homsanit2007)			
			Primena indinavira (Homsanit2007)			
	Trajanje cART-a (Tin2005,Mutimura2007, Bouille2007)		Trajanje cART-a (vanGriensven2007)			
Demografske karakteristike	Ženski pol (Likanonsakul2012,Tin2005, Phan2012,Bouille2007, George2009, Kalyanasundaram2012)		Ženski pol (vanGriensven2007, Phan2012, Menezes2011, vanGriensven2010, George2009)			
			> 40 god. (Phan2012)		Mladi uzrast (Zannou2009)	
Ishrana			BMI > 25 kg/m² (vanGriensven2007)			
			Početak i brzina gubitka tel. mase (vanGriensven2007)			
Imuni sistem	HIV RNK ispod nivoa detekcije (Chupai2007)					

* Navedene studije su ispitivale faktore rizika za lipodistrofiju bez diferenciranja između podtipova lipodistrofije. Do sada, nisu identifikovani faktori rizika za mešoviti podtip lipodistrofije. ARV – antiretrovirusna terapija; cART – kombinovana antiretrovirusna terapija; BMI – indeks telesne mase (Body Mass Index).

Faktori rizika koji su navedeni u Tabeli 1 se uglavnom odnose na zemlje u razvoju, obzirom da se u ovim zemljama i dalje primenjuju stari antiretrovirusni režimi. Primena stavudina, trajanje cART-a kao i ženski pol su glavni faktori rizika za nastanak lipodistrofije kao i lipoatrofije. U literaturi su prijavljena dozno-zavisno neželjena dejstva stavudina kao što su lipoatrofija, laktička acidoza i periferna neuropatija (Phan i sar., 2012; Boulle i sar., 2007). Upravo je zbog toga i SZO u 2007. god. preporučila smanjenje doze stavudina sa 40 mg na 30 mg (Cournil i sar., 2010; Pujades-Rodriguez i sar., 2011), a zatim i prestanak primene ovog leka, 2009. god (WHO, 2011). Međutim, u mnogim zemljama u razvoju, uključujući i našu, stavudin se i dalje primenjuje, prvenstveno zbog niske cene (Jouquet i sar., 2011; WHO 2012, Ford i sar., 2010; Dragović i sar., 2014).

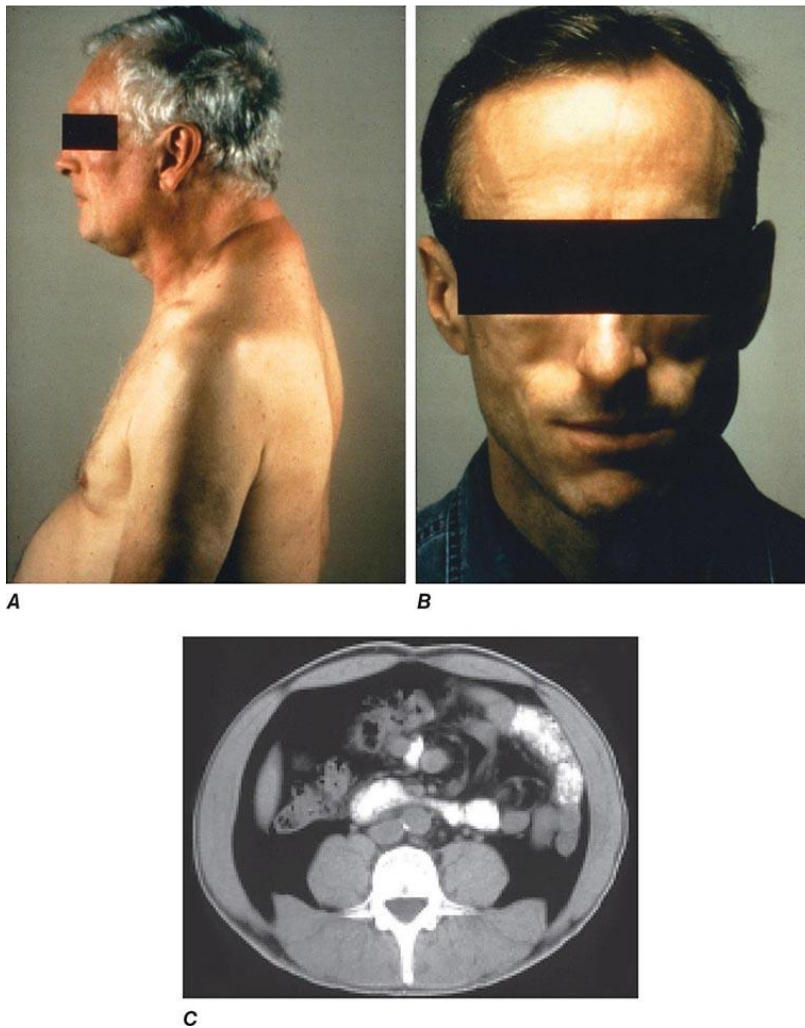
Lipodistrofija kod pacijenata inficiranih HIV-om je povezana najčešće sa primenom PI i NRTI, pri čemu ozbiljnost lipodistrofije zavisi od tipa, dužine primene cART-a, kao i od toga da li je primena terapije u toku ili ne. Međutim, njeno prisustvo i kod pacijenata koji još uvek nisu započeli sa lečenjem ukazuje i na druge potencijalne uzroke njenog nastanka, kao što su proinflamatorni citokini ili direktni uticaj HIV virusa na adipocite (Coll i sar., 2007; Mondy i sar., 2008; Francisci i sar., 2009).

HIV specifični faktori imaju bitnu ulogu u inflamaciji adipoznog tkiva. HIV virusni protein R može indukovati disfunkciju adipoznog tkiva putem inhibicije aktiviranog receptora za proliferaciju peroksizoma gama (PPAR- γ) i aktivacije gena za glukokortikoide, što posledično dovodi do lipolize, makrofagne infiltracije u adipozno tkivo i steatoze jetre (Agarwal i sar., 2015). Pored toga, adipozno tkivo može delovati i kao „rezervoar“ za HIV virus (Couturier i sar., 2015). U literaturi se takođe opisuje i destrukcija crevne mukoze koja nastaje odmah nakon HIV infekcije. Kao posledica destrukcije mukoze, razne supstance koje proizvode mikrobni agensi se dreniraju u jetru, dolazi do lokalne inflamacije i povećane sinteze triglicerida, akumulacije masti u hepatocitima, što sve zajedno doprinosi akumulaciji visceralnog adipoznog tkiva (van Wijk i sar., 2012; Balagopal i sar., 2008; Koethe i sar., 2016).

1.3.1 Klinička slika lipodistrofije

Lipodistrofija se javlja kod muškaraca, žena i dece. Lipoatrofija je najuočljivija na licu, ekstremitetima i bokovima. Lipohipertrofija se manifestuje značajnim povećanjem visceralnog masnog tkiva, što za posledicu ima povećanje obima struka. Ona se takođe ispoljava uvećanjem dorzocervikalnog masnog tkiva ("buffalo hump") i/ili jednostranom ili

obostranom ginekomastijom, za koju se smatra da nije povezana sa endokrinim poremećajima. Kod muškaraca, ginekomastija može proći i spontano u periodu od godinu dana. Javljaju se i mnogobrojni lipomi, uvećanje supraklavikularnih masnih jastučića i akumulacija masnog tkiva na prednjoj strani vrata (Baril i sar., 2005; Finkelstein i sar., 2015). Zbog povećanog obima struka dolazi do osećaja nadutosti i gastroezofagealnog refluksa, a zabeleženi su i problemi sa spavanjem kao i teškoće pri vežbanju. Ginekomastija, ako je značajno izražena, uzrokuje bol u leđima. Morfološke promene uzrokovane lipodistrofijom, stvaraju osećaj anksioznosti, depresije i gubitak samopoštovanja. Izraženost facijalne lipoatrofije doprinosi stigmatizaciji HIV inficiranih pacijenata. Sve ovo može za posledicu imati smanjenje komplijanse, dovodeći kod nekih pacijenata čak do prestanka uzimanja antiretrovirusnih lekova (Shenoy i sar., 2013; Finkelstein i sar., 2015). Karakteristične lipodistrofične promene su prikazane na *Slici 2*.



Slika 2. Karakteristike lipodistrofije. A) Uvećanje visceralnog masnog tkiva i dorzocervikalnog masnog tkiva ("buffalo hump"). B) Facijalna lipoatrofija. C) Intraabdominalna akumulacija masti – gojaznost centralnog tipa, na CT skenu (preuzeto i obrađeno iz: Longo i sar., 2015).

1.3.2 Dijagnoza lipodistrofije

Lipodistrofija se danas dijagnostikuje na osnovu kliničkog nalaza koji predstavlja kombinaciju simptoma i znakova, a koji su rezultat subjektivne opservacije pacijenta i/ili lekara. Preporučuje se i postojanje objektivnih parametara koji će potvrditi prisustvo lipodistrofije. Antropometrijski parametri kao što su visina, masa i indeks telesne mase (*body mass index, BMI*) su važni, ali ne i dovoljni za postavljanje dijagnoze, kao ni za razlikovanje lipoatrofije od mršavljenja i lipohipertrofije od gojaznosti, naročito zbog toga što kombinovani oblici najčešće nisu praćeni promenama ovih parametara. Kao markeri lipodistrofije se koriste obim vrata, nadlaktice, struka i kukova, mada ne postoji konsenzus o njihovim vrednostima koje bi ukazivale na njeno sigurno prisustvo. Neki autori navode da odnos obima struka i kukova veći od 0,95 kod muškaraca i 0,85 ili 0,90 kod žena ukazuje na prisustvo lipodistrofije. Za procenu distribucije telesnih masti se koriste i debljina kožnih nabora izmerena na grudima, bicepsu, tricepsu, lopatici, suprailijačno i glutealno.

Suverene metode za postavljanje dijagnoze lipodistrofije su radiološke metode: ultrasonografija, DEXA metoda (DEXA - *Dual Energy X-Ray Absorptiometry*, denzitometrija), CT (kompjuterizovana tomografija) i magnetna rezonanca, koje pružaju mogućnost analiziranja sastava tkiva u pojedinim telesnim regionima (Singhania i sar., 2011). Zbog visoke cene njihove primene, ne koriste se rutinski u svakodnevnoj praksi.

1.3.3 Lečenje lipodistrofije

Još uvek nema idealnog terapijskog tretmana za otklanjanje morfoloških promena nastalih kod lipodistrofije. Do sada je ispitivano više terapijskih opcija poput vežbanja, promene načina ishrane, smanjenja izloženosti antiretrovirusnim lekovima, primene specifičnih lekova i kozmetičkih tretmana, pri čemu je svaka od navedenih pokazala različit stepen uspešnosti. Fizička aktivnost bilo koje vrste osim što može doprineti poboljšanju lipodistrofije, pojačava efekt specifične farmakološke terapije (Finkelstein i sar., 2015; Florindo i sar., 2007; Ogalha i sar., 2011; Phillipas i sar., 2013).

Jedna od prvih strategija koja je razmatrana u otklanjanju lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika je zamena jednog antiretrovirusnog leka drugim, a na osnovu različitog potencijala različitih lekova za nastanak lipodistrofije (Barragan i sar., 2006; Bernardino i sar., 2013). Noviji antiretrovirusni lekovi imaju manji potencijal za nastanak lipodistrofije, pa oni sve više

predstavljaju prvi terapijski izbor potiskujući starije lekove, koji imaju veći broj neželjenih i toksičnih efekata, ali i veći potencijal za razvoj lipodistrofije. Naravno, ovi lekovi se uglavnom primenjuju u razvijenim zemljama, dok je u zemljama u razvoju odabir antiretrovirusnog leka, odnosno odgovarajuće kombinacije antiretrovirusnih lekova, i dalje uslovljen finansijskim mogućnostima.

Lečenje metaboličkih poremećaja u okviru lipodistrofije, kao što su insulinska rezistencija, dislipidemija i metabolički sindrom, je uglavnom slično kao i u opštoj populaciji (Tsoukas i sar., 2014). Kada je reč o insulinskoj rezistenciji, preporučuju se lekovi kao što su metformin i/ili tiazolidinedioni. Metformin je bio efikasan u poboljšanju insulinske rezistencije kod pacijenata sa lipodistrofijom, povećavajući iskorišćavanje glukoze na periferiji i inhibišući glukoneogenezu u jetri (Aboud i sar., 2007; Brown i sar., 2008). Metformin takođe može poboljšati distribuciju masnog tkiva u lipodistrofiji kod HIV/AIDS bolesnika (Kohli i sar., 2007). Međutim, novija istraživanja savetuju oprez kada je reč o istovremenoj primeni antiretrovirusnih lekova i hipoglikemijskih lekova. Određene klase oralnih hipoglikemijskih lekova, a koji se metabolišu preko CYP450 sistema, mogu stupati u ozbiljne interakcije sa antiretrovirusnim lekovima (Tornio i sar., 2012; Hughes i sar., 2015).

Statini su pokazali veliku efikasnost u snižavanju holesterola i triglicerida u populaciji HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom (Macallan i sar., 2008; Johns i sar., 2007). Međutim, savetuje se oprez pri istovremenoj primeni ovih lekova sa antiretrovirusnim lekovima. Gerber i saradnici u svom istraživanju navode da inhibitori proteaze kod HIV/AIDS bolesnika mogu dovesti do smanjenja koncentracija statina usled indukcije hepatičkog/intestinalnog enzima CYP3A4 koji učestvuje u metabolizmu statina (Gerber i sar., 2005). Zbog potencijalnih interakcija koje mogu nastati usled istovremene primene antiretrovirusnih i drugih lekova, Institut za farmakologiju liverpulskeg Univerziteta u Engleskoj je 1999. god. osnovao sajt pomoću kog se može proveriti da li se, i na koji način, mogu kombinovati lekovi koje pacijenti sa HIV infekcijom i pridruženim oboljenjima uzimaju (HIV drug interactions, <http://www.hiv-druginteractions.org/checker>). Back i saradnici ističu značaj mnogobrojnih interakcija između antiretrovirusnih i svih drugih lekova, kao i rizik kome su posebno izloženi pacijenti sa HIV infekcijom (Back i sar., 2013.)

1.4 Adipocitokini i uloga masnog tkiva u sintezi adipocitokina

Skorašnja istraživanja su pokazala kompleksnu ulogu masnog tkiva, koje predstavlja metabolički aktivan endokrini organ i koje oslobađa u cirkulaciju biološki aktivne peptide,

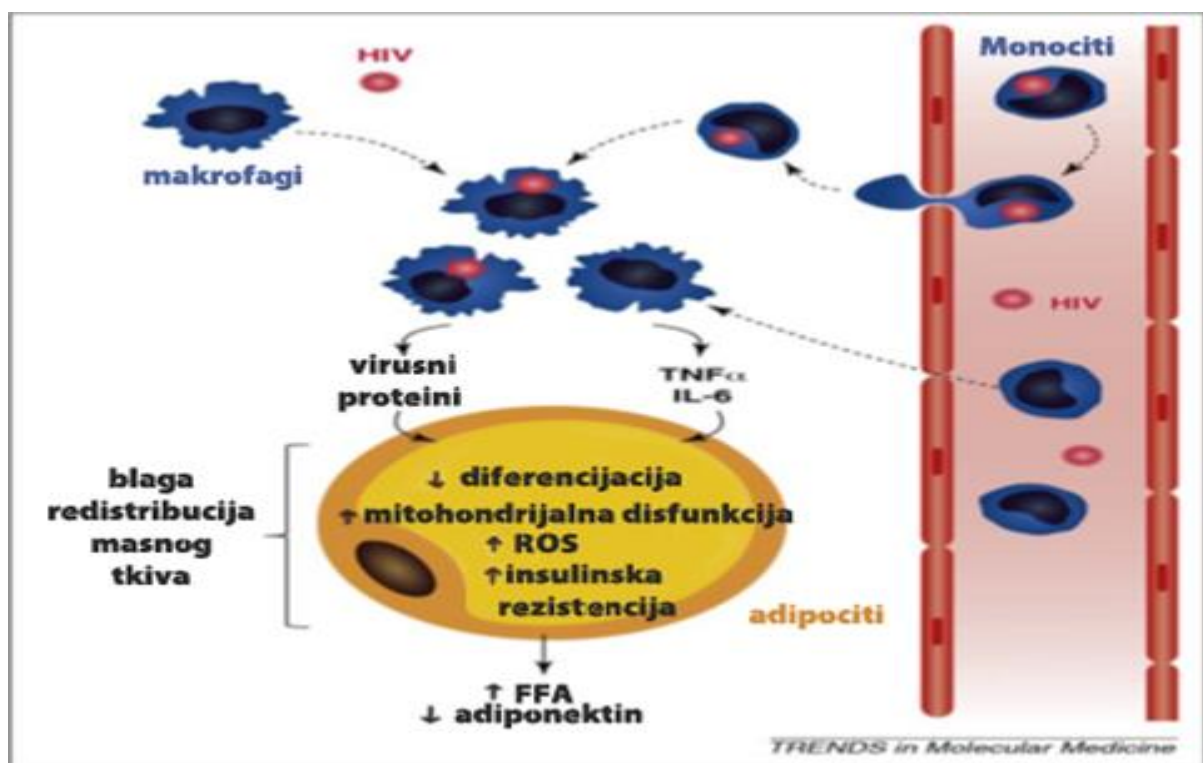
odnosno adipokine (Feve i sar., 2016; Erlandson i sar., 2016; Mallewa i sar., 2008; Veloso i sar., 2012; Paruthi i sar., 2013; Dragović, 2015). Adipozno tkivo aktivno proizvodi brojne predstavnike familije citokina, kao što su adiponektin, leptin, rezistin, faktor tumorske nekroze alfa (TNF- α), inhibitor aktivatora plazminogena (PAI-1) i razne druge interleukine (IL) (Lagathu i sar., 2007; Belo i sar., 2015, Paruthi i sar., 2013). Adipocitokini imaju različite uloge u imunom odgovoru (interleukini), inflamaciji (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, monocitni hemotaksni protein-1 (MCP-1)), metabolizmu glukoze (leptin, adiponektin, rezistin), osetljivosti na insulin (leptin, adiponektin), ćelijskoj adheziji (PAI-1), rastu i funkciji vaskularnih ćelija (faktor rasta vaskularnog endotela, VEGF), razvoju ateroskleroze, adipogeneze i drugih bioloških procesa (Blüher, 2012; Blüher, 2014; Catalan i sar., 2009.; Erlandson i sar., 2016). Do sada je otkriveno ukupno 600 adipokina (Blüher, 2014). Međutim, još uvek se malo zna o ulozi adipocitokina u patogenezi lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika, a koji primaju antiretrovirusnu terapiju.

Lipodistrofija može biti posledica poremećene ravnoteže između nastanka i smrti adipocita. Na ovu ravnotežu utiču brojni proinflamatorni citokini čija se sekrecija povećava kao posledica HIV infekcije, a među njima se po značaju uloge izdvaja TNF- α . Ovaj citokin inhibiše proces lipogeneze i stimuliše proces lipolize. Količina ovog citokina je značajno povećana u potkožnom masnom tkivu kod pacijenata sa lipodistrofijom (Erlandson i sar., 2016). Poremećaj u produkciji adipocitokina (adiponektin i leptin) i infiltracija imunih ćelija u masno tkivo dovode do pojačanog proinflatornog stanja. Hipertrofija adipocita i akumulacija visceralnog masnog tkiva dovode do supresije adiponektina, stimulacije transformišućeg faktora rasta beta (TGF- β) i aktivacije pro-fibrotičkih procesa (Hong i sar., 2005).

Međutim, istraživanja sugerišu da sama HIV infekcija ima značajan uticaj na adipozno tkivo, još pre uvođenja cART-a (Caron-Debarle i sar., 2010, Singhanian i sar., 2011, Agarwal i sar., 2015., Damouche i sar., 2015). Kao što je prikazano na *Slici 3.*, inficirani makrofagi oslobađaju proinflatorne citokine. Sistemska inflamacija koja nastaje usled HIV infekcije može dovesti do migracije monocita iz vaskularnog endotela, dovodeći do povećanja broja aktiviranih makrofaga u masnom tkivu (Crowe i sar., 2010).

Tipični simptomi disfunkcije adipoznog tkiva su: 1) visceralna (ektopična) akumulacija masnog tkiva, 2) promene u celularnom i intracelularnom matriksu adipoznog tkiva, 3) povećani broj imunih ćelija u adipoznom tkivu, 4) hipertrofija adipocita, 5) povećana autofagija i apoptoza, 6) promene ekstracelularnog matriksa adipoznog tkiva (fibroza adipoznog tkiva), 7) promene u iRNK adipoznog tkiva i ekspresiji proteina (Blüher, 2013).

Promene u koncentracijama adipocitokina u plazmi takođe mogu da reflektuju disfunkciju adipoznog tkiva (Blüher, 2013; Ussar i sar., 2012; Giralt i sar., 2011).



Slika 3. Efekti HIV infekcije na adipozno tkivo. Pojedini makrofagi adipoznog tkiva, inficirani HIV-om, oslobađaju virusne proteine. Kada su inficirani, makrofagi sekretuju proinflamatorne citokine (TNF- α i IL-6). Sistemska inflamacija koja nastaje usled HIV infekcije može dovesti do migracije monocita iz vaskularnog endotela (desno), dovodeći do povećanja broja aktiviranih makrofaga u masnom tkivu. Citokini i virusni proteini inhibiraju diferencijaciju adipocita (obeleženo žuto) i dovode do mitohondrijalne disfunkcije i porasta reaktivnih oblika kiseonika u mitohondrijama (ROS), i insulinske rezistencije. Nastaje blaga redistribucija masnog tkiva koja kasnije dovodi i do porasta koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi, kao i smanjenja koncentracija adiponektina u krvi. TNF α – faktor tumorske nekroze alfa; IL-6 – interleukin 6; FFA – slobodne masne kiseline. Preuzeto i obrađeno iz: Caron-Debarle i sar., 2010.

1.4.1 Uticaj cART-a na adipocite

Poremećaj u diferencijaciji adipocita se može javiti usled primene cART-a, a posebno usled primene starih PI (ritonavir, sakvinavir) i NNRTI (efavirenz, rilpivirin, nevirapin). Noviji lekovi (uključujući darunavir, maravirok i raltegravir) izgleda imaju manji uticaj na adipogenezu ili mitohondrije. Brojna istraživanja ističu značaj smanjenja mitohondrijalne DNK u masnom tkivu koje se može javiti i kod HIV/AIDS bolesnika lečenih cART-om

(Sevastianova i sar., 2011; Feeney i sar., 2012; McComsey i sar., 2013). U *tabeli 2.* su zbirno prikazani svi do sada poznati efekti antiretrovirusnih lekova na adipocite.

Tabela 2. Efekti pojedinih antiretrovirusnih lekova na adipocite

Tip poremećaja adipoznog tkiva	Suspekti antiretrovirusni lekovi
Poremećaj adipogeneze ili funkcije adipocita	Lopinavir/ritonavir (Capel 2012, Kitazawa 2014), ritonavir (Capel 2012), efavirenz (Diaz-Delfin 2012, Diaz-Delfin 2011), rilpivirin (Diaz-Delfin 2012), stavudin (Domingo 2014)
Pre-adipocitna autofagija ili apoptoza	Atazanavir (Gibellini 2012)
Poremećaj metabolizma lipida i/ili glukoze	Atazanavir/ritonavir (Minami 2011), lopinavir/ritonavir (Capel 2012, Kitazawa 2014), ritonavir (Capel 2012), darunavir (Capel 2012, Kitazawa 2014), NNRTI (Minami 2011), efavirenz (Diaz-Delfin 2012), NRTI (Minami 2011).
Poremećaj mitohondrijalne funkcije	Atazanavir (Gibellini 2012), atazanavir/ritonavir (Capel 2012), sakvinavir (Bociaga-Jasik 2013), lopinavir/ritonavir (Capel 2012), NRTI (Domingo 2014, Feeney 2012, McComsey 2013, Menezes 2013)
Proinflamatorni efekti	Atazanavir/ritonavir (Capel 2012), , lopinavir/ritonavir (Capel 2012), ritonavir (Capel 2012), efavirenz ((Diaz-Delfin 2012, Diaz-Delfin 2011), rilpivirin (Diaz-Delfin 2012)
Akumulacija prelamina A	Inhibitori proteaze (Berezziat 2011)

1.4.2 Leptin

Leptin je hormon koji se sintetishe u adipoznom tkivu i ima ključnu ulogu u energetske homeostazi. Smatra se prototipom svih adipocitokina, a po strukturi je peptid, koji u svom sastavu ima 167 aminokiselina (Sahin-Efe i sar., 2012). Osovina leptin-hipotalamus ima značajnu ulogu u regulaciji metabolizma glukoze i lipida (Blüher 2014; Veloso i sar., 2012). Leptin centralno deluje na centar za sitost i dovodi do smanjenog uzimanja hrane, dok periferno dovodi do povećanog iskorišćenja glukoze u skeletnim mišićima kao i smanjenja glukoneogeneze u jetri (Mantzoros i sar., 2011; Groeneveld i sar., 2012).

Otkriven pre više od 20 godina, prvobitno je ovaj adipokin posmatran kao potencijalni terapijski agens protiv gojaznosti, odnosno originalno je bio razvijen sa ciljem da smanji

masno tkivo kod gojaznih osoba (Farooqi i sar., 1999; Farooqi i sar., 2002; Hukshorn i sar., 2000). Međutim, iako je značajno uticao na smanjenje telesne težine kod miševa (Halaas i sar., 1995) kao i kod ljudi sa naslednim deficitom leptina (Farooqi i sar., 2002), nije značajno uticao na smanjenje telesne težine kod gojaznih pacijenata (Hukshorn i sar., 2000; Mantzoros i sar., 2011; Dardeno i sar., 2010) ili kod miševa sa visokokalorijskom ishranom (Van Heek i sar., 1997). Skorašnja istraživanja sugerišu da nedostatak efekta leptina na smanjenje telesne težine kod gojaznih osoba nastaje zbog razvoja centralne rezistencije na leptin i posledično pojave visokih koncentracija leptina u krvi, u toku i posle razvoja gojaznosti (Moon i sar., 2011; Moon i sar., 2012; Moon i sar., 2013; Moon i sar., 2014; Matarese i sar., 2013).

Efekti metreleptina (analog leptina) su ispitivani u randomizovanom, duplo-slepom, placebo-kontrolisanom istraživanju kod žena sa hipotalamičkom amenorejom i stečenom hroničnom hipoleptinemijom. Rezultati studije su pokazali da metreleptin obnavlja broj CD4 T ćelija kao i in vitro proliferativni odgovor, zbog čega autori sugerišu da bi terapija metreleptinom mogla da bude efikasna u rekonstituciji hipoleptinemičkih stanja u HIV infekciji, kada je broj CD4 T limfocita redukovano (Matarese i sar., 2013). Metreleptin je bio efikasan i u otvorenim, randomizovanim, placebo-kontrolisanim ispitivanjima kod HIV pacijenata sa lipodistrofijom (Lee i sar., 2006; Mantzoros i sar., 2009; Mulligan i sar., 2009). Sa druge strane, nedavna istraživanja sa analogom leptina (metreleptin) kod HIV bolesnika sa lipodistrofijom nisu pokazala značajna poboljšanja u kinetici leptina kao odgovor na terapiju metreleptinom u trajanju od 2-4 meseca (Sekhar i sar., 2012). Međutim, i pored kontradiktornih podataka iz različitih istraživanja, metreleptin je odobren u Japanu i Americi u lečenju lipodistrofije već nekoliko godina (Chou i sar., 2013; U. S. Department of Health and Human Services, 2014).

Efekat cART-a na koncentracije leptina u krvi kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom je još uvek kontroverzan. Pojedina istraživanja su pokazala povezanost cART-a sa lipodistrofijom i hipoleptinemijom (Calmy i sar., 2009; Oral i sar., 2010), dok su druga istraživanja pokazala da cART nema efekt na koncentracije leptina u krvi (Mynarcik i sar., 2002; Dzwonek i sar., 2007).

1.4.3 Adiponektin

Adiponektin pripada grupi najekspresivnijih proteina adipocita i predstavlja približno 0,01 % ukupnih proteina plazme (Ye i sar., 2013). Otkriven odmah nakon leptina, 1995. god.

(Scherer i sar., 1995), adiponektin je ušao u sferu interesovanja prvenstveno zbog njegovog delovanja na insulinsku senzitivnost, kao i antiinflamatornog i antiapoptotičkog dejstva na različite tipove ćelija (Dalamaga i sar., 2012; Veloso i sar., 2012; Groeneveld i sar., 2012). U prethodne 2 decenije, otkriveno je nekoliko različitih aspekata delovanja adiponektina, što čini adiponektin interesantnim kao target za potencijalne nove lekove u lečenju gojaznosti i raznih poremećaja u distribuciji masnog tkiva (Dalamaga i sar., 2012; Ye i sar., 2013; Turer i sar., 2012). Koncentracije adiponektina u plazmi inverzno korelišu sa različitim metaboličkim poremećajima, kao što su gojaznost i poremećaji u distribuciji masnog tkiva (Ye i sar., 2013; Scherer i sar., 1995; Turer i sar., 2012). Pored toga, u velikim longitudinalnim studijama, adiponektin je bio identifikovan kao marker mortaliteta od svih uzroka smrti, kao i marker srčane insuficijencije, koronarne bolesti i dijabetesa tip II (Karas i sar., 2014; Sook i sar., 2013; Forsblom i sar., 2011). Adiponektin deluje i u mozgu, tako što povećava energetske potrebe i dovodi do gubitka u težini (Turer i sar., 2012). Primena rekombinantnog adiponektina je dovela do poboljšanja insulinske senzitivnosti (uglavnom u jetri), povećane sekrecije insulina (Okamoto i sar., 2008), smanjenja telesne težine i poboljšanja glikemije (Ye i sar., 2013; Turer i sar., 2012).

Kod HIV/AIDS bolesnika, koncentracije adiponektina u plazmi su u značajnoj korelaciji sa procentom masti u ekstremitetima i insulinskom senzitivnošću (Mynarcik i sar., 2000; Mynarcik i sar., 2002), iako neki autori tvrde da je adiponektin prediktor insulinske senzitivnosti nezavisno od količine ili procenta adipoznog tkiva (Vigouroux i sar., 2003). U prethodnim istraživanjima je pokazano da su koncentracije adiponektina značajno niže kod HIV pacijenata sa poremećajem distribucije masnog tkiva i da negativno koreliraju sa trigliceridima u serumu; najniže koncentracije adiponektina su bile kod HIV pacijenata sa lipoatrofijom i lipohipertrofijom (Vigouroux i sar., 2003; Addy i sar., 2003; Estrada i sar., 2006; Chaparro i sar., 2005).

1.4.4 Rezistin

Rezistin je protein koji se sintetiše u adipocitima, i za koji se predpostavlja da ima važnu ulogu u gojaznosti, insulinskoj rezistenciji i dijabetesu. Glavni izvor rezistina su makrofagi i mononuklearni leukociti, a u značajno manjoj meri u sintezi rezistina učestvuju i adipociti (Jamaluddin i sar., 2012). Stanja koja prati sistemska inflamacija manjeg stepena, kao što su dijabetes i ateroskleroza, mogu indukovati makrofagnu ekspresiju rezistina, povisiti

njegovu koncentraciju u plazmi, nezavisno od metaboličkih promena. Ovoj teoriji idu u prilog i prethodno objavljena istraživanja gde je prikazana uloga rezistina u raznim patološkim procesima, kao što su inflamacija, endotelna disfunkcija, tromboza, disfunkcija glatke mišićne ćelije, što sve kasnije dovodi do nastanka kardiovaskularnih oboljenja (Cho i sar., 2011).

Kod bolesnika sa HIV infekcijom su nađene povišene koncentracije rezistina u plazmi, u poređenju sa neinficiranim kontrolama. Upravo je ta razlika pripisana metaboličkim promenama koje nastaju usled primene cART-a (Ranade i sar., 2008; Escote i sar., 2011). Arama i saradnici su nedavno pokazali povišene vrednosti rezistina kod HIV/AIDS bolesnika sa lipoatrofijom, u poređenju sa HIV/AIDS bolesnicima bez lipodistrofije (Arama i sar., 2014).

1.4.5 Faktor tumorske nekroze alfa (TNF- α)

Faktor tumorske nekroze alfa (TNF- α) je citokin koji je snažno eksprimiran u adipoznom tkivu (Hotamisligil i sar., 1995; Sopasakis i sar., 2005). Pored korisnih efekata koje ima na insulinsku senzitivnost i metabolizam glukoze, predstavlja i interesantan “target” za različite antiinflamatorne terapije (Blüher, 2014). U animalnom modelu gojaznosti, neutralizacija TNF- α dovodi do porasta perifernog preuzimanja glukoze kao odgovor na insulin (Hotamisligil i sar., 1993). Terapija sa anti-TNF- α antitelima dovodi do inhibicije inflamatorne aktivnosti, i poboljšanja masne jetre (Li i sar., 2003), kao i zaštite od gojaznosti i insulinske rezistencije u nekoliko različitih animalnih modela (Liang i sar., 2008).

Sekrecija TNF- α je delimično i pod genetskom kontrolom. TNF- α gen sadrži brojne polimorfizme za koje se veruje da su funkcionalno značajni. Najviše su istraživani promoterski regioni polimorfizma na pozicijama -308 i -238 (Mallewa i sar., 2008). Maher i saradnici su pokazali povećanu učestalost -238 G/A tranzicije kod pacijenata sa lipodistrofijom, u poređenju sa pacijentima bez lipodistrofije. Obe grupe pacijenata su bile na terapiji inhibitora proteaze i NRTI (Maher i sar., 2002). Maher, kao i Nolan sa saradnicima, sugerišu da polimorfizam TNF- α promoterskog regiona na poziciji - 238 povećava rizik za nastanak lipodistrofije kod pacijenata koji primaju antiretrovirusne lekove (Maher i sar., 2002; Nolan i sar., 2003).

Brojna istraživanja su pokazala da su nasledne lipodistrofije, gojaznost, kao i lipodistrofija kod HIV bolesnika povezane sa povišenim koncentracijama TNF- α u plazmi

(Wong i sar., 2005; Johnson i sar., 2004; Hauner i sar., 2005). HIV infekcija, *per se*, ima snažan uticaj na ravnotežu TNF- α (Vidal i sar., 2011). Sa druge strane, iako bolesnici sa HIV-om imaju povišene koncentracije ovog citokina, istraživanja pokazuju da koncentracije ovog citokina u plazmi dramatično padaju nakon započinjanja cART-a (Domingo i sar., 2005).

1.4.6 Inhibitor aktivatora plazminogena-1 (PAI-1)

Inhibitor aktivatora plazminogena-1 (PAI-1) učestvuje u regulaciji fibrinolize ograničavajući produkciju plazmina. Neutrališe endogeni aktivator tkivnog plazminogena (t-PA) koji konvertuje plazminogen u aktivni plazmin, koji učestvuje u degradaciji fibrina. PAI-1 na taj način smanjuje rizik od krvarenja. Stvara se u aktiviranim trombocitima, glatkim mišićnim ćelijama, jetri, slezini, kao i u adipoznom tkivu (Huber, 2001).

Povišene koncentracije PAI-1 u krvi su nađene kod pacijenata sa insulinskom rezistencijom i dijabetesom tip II (Mallewa i sar., 2008). Povišene vrednosti PAI-1 su bile udružene i sa povećanom incidencom koronarnih događaja kao što su nestabilna angina, infarkt miokarda, iznenadna srčana smrt kao i hronična koronarna arterijska bolest (Mallewa i sar., 2008; Knudsen i sar., 2014). PAI-1 ima značajnu ulogu i u nastanku tromboembolijskih poremećaja kao što su cerebrovaskularni događaji, periferna vaskularna bolest, plućna embolija, duboka venska tromboza i primarna i sekundarna hipertenzija (Mallewa i sar., 2008).

He i saradnici u svom istraživanju ističu da su povišene koncentracije PAI-1 bile značajno povišene kod HIV bolesnika sa lipodistrofijom u poređenju sa grupom HIV bolesnika bez lipodistrofije. Ovi autori su takođe pokazali da su povišene koncentracije PAI-1 bile udružene sa insulinskom rezistencijom kod pacijenata sa lipodistrofijom. Koncentracije PAI-1 su bile u pozitivnoj korelaciji sa TNF- α , kao i TNF receptorima I i II, zbog čega ovi autori sugerišu da TNF- α može biti uključen u regulaciju PAI-1 vrednosti kod HIV bolesnika sa lipodistrofijom (He i sar., 2005). Yki i saradnici su takođe pokazali da pacijenti sa lipodistrofijom koji su primali cART su imali povišene koncentracije PAI-1 (Yki i sar., 2003.).

1.4.7 Interleukini (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10)

Interleukini se stvaraju u adipoznom tkivu, učestvuju u modulaciji imunog sistema dovodeći do hronične sistemske inflamacije. Predstavljaju veoma brojnu grupu citokina, i stalno se otkrivaju novi pripadnici grupe. Do sada se najviše zna o interleukinu 6 (IL-6). Adipozno tkivo učestvuje u stvaranju IL-6 u procentu od skoro 30 % (Fasshauer i sar., 2003). IL-6 je plejotropni citokin, sa hormonalnim dejstvom na mnoga tkiva, ali i efektima na jetru, kostnu srž, endotel, za koje se veruje da su značajni i doprinose razvoju gojaznosti i metaboličkim efektima (Mohamed Ali i sar., 1997; Feve i sar., 2009; Martin-Cordero i sar., 2011). Istraživanja koja su uključivala HIV/AIDS pacijente sa lipodistrofijom, a koji su bili lečeni cART-om, su pokazala različite rezultate, kada je reč o vrednostima ovog citokina: Lindegaard i saradnici su pokazali više koncentracije IL-6 u plazmi kod HIV/AIDS bolesnika u poređenju sa HIV negativnim kontrolama (Lindegaard i sar., 2004), dok drugi autori sugerišu da nema razlika (Jones i sar., 2005). Sa druge strane, *in vitro* istraživanja, na adipocitima humanog i animalnog porekla (miševi) su pokazala da postoji izražena ekspresija i sekrecija ovog citokina kao odgovor na inhibitore proteaze (kao što su lopinavir, nelfinavir i ritonavir), i NRTI (zidovudin i stavudin) (Lagathu i sar., 2004; Vernochet i sar., 2005).

Skorašnja istraživanja ističu značaj i ulogu IL-4, koji je udružen sa antiinflamatornim stanjima i takođe učestvuje u nastanku i razvoju insulinske rezistencije. Smatra se da IL-4 ima važnu ulogu u regulaciji metabolizma masti i glukoze, i da na taj način utiče na glukoznu toleranciju i insulinsku senzitivnost (Ji i sar., 2012; Falasca i sar., 2007; Norbiato i sar., 2000; Ricardo-Gonzales i sar., 2012). Podaci iz istraživanja pokazuju da IL-4 inhibira adipogenezu u ranim fazama diferencijacije adipocita preko signalnog puta STAT6 i podstiče lipolizu putem regulacije aktivnosti hormon-senzitivne lipaze koja učestvuje u degradaciji triglicerida (Tsao i sar., 2014).

IL-1 α i IL-1 β pokazuju snažni proinflamatorni efekt, u povišenim koncentracijama se nalaze kod pacijenata sa dijabetesom, a veruje se i da utiču na destrukciju beta ćelija i dovode do promena u insulinskoj senzitivnosti (Feve i sar., 2009). IL-1 α i IL-1 β predstavljaju 2 podtipa IL-1. Istraživanja su pokazala da osobe sa detektabilnim koncentracijama IL-1 β u krvi, kao i povišenim koncentracijama IL-6, imaju veći rizik od nastanka dijabetesa, u poređenju sa osobama koje su imale samo povišeni IL-6, bez detektabilnih nivoa IL-1 β . Povišene koncentracije IL-1 β u adipoznom tkivu su pokazane i kod gojaznih osoba (Feve i sar., 2009).

IL-10 je klasični antiinflamatorni citokin, i ima ključnu ulogu u regulaciji imunog sistema. IL-10 pokazuje snažno inhibitorno dejstvo u sintezi proinflamatornih citokina kao što su IL-6 i TNF α . Van Exel i saradnici u svom istraživanju ističu ulogu IL-10 u nastanku metaboličkog sindroma i tip 2 dijabetesa (van Exel i sar., 2002). Schulbin i saradnici su pokazali da primena cART-a smanjuje produkciju IL-10 u mukozi debelog creva, dok su Styliou i saradnici pokazali nishodnu regulaciju nivoa IL-10 usled primene cART-a (Schulbin i sar., 2008; Styliou i sar., 1999). Sa druge strane, povišene koncentracije IL-10 su pokazane kod HIV/AIDS bolesnika sa sekundarnom infekcijom i iznapredovalom fazom bolesti, kao i kod bolesnika sa HIV infekcijom koji nisu primali cART, što ukazuje i na značaj ne samo cART-a već i HIV infekcije *per se* (Gori i sar., 2016).

IL-8 se stvara u subkutanom i visceralnom adipoznom tkivu (Bruun i sar., 2001). Pretpostavlja se da hronična inflamatorna stanja udružena sa HIV infekcijom mogu dovesti i do povišenih vrednosti ovog citokina. U istraživanju Lihn i saradnika, nađene su povišene vrednosti IL-8 u subkutanom adipoznom tkivu HIV pacijenata sa lipodistrofijom (Lihn i sar., 2003.), zajedno sa povišenim vrednostima TNF- α i IL-6, i sniženim vrednostim adiponektina. Ovi autori sugerišu da bi upravo IL-8 mogao imati ključnu ulogu u regulaciji adiponektina.

1.4.8 Monocitni hemotaksni protein-1 (MCP-1)

Monocitni hemotaksni protein -1 je član CC familije hemokina i važan medijator koji „regrutuje“ monocite i T limfocite u različita tkiva kada postoji infekcija i inflamacija (Baggiolini i sar., 1998). Inflamacija ima poseban značaj u razvoju ateroskleroze, i zato se pretpostavlja da bi MCP-1 mogao da ima važnu ulogu u patogenezi ateroskleroze kao i kardiovaskularnih događaja (Coll i sar., 2007 (ref II); Dragomir i sar., 2006). MCP-1 indukuje insulinsku rezistenciju tako što snažno smanjuje preuzimanje glukoze stimulirano insulinom, i dovodi do nishodne regulacije adipogenih gena kao što su adipsin, GLUT4, beta-adrenergički receptori i PPAR-g na mišjim adipocitima, u in vitro uslovima (Kralisch i sar., 2007; Sartipy i sar., 2003). Kod pacijenata bez dijabetesa, MCP-1 pozitivno korelira sa BMI (Murdolo i sar., 2007; Chacon i sar., 2007).

HIV infekcija je hronična inflamatorna bolest koja je udružena sa aterosklerozom nižeg stepena (Coll i sar., 2006). Visoke koncentracije MCP-1 su nađene kod HIV bolesnika sa lipodistrofijom (Alonso-Villaverde i sar., 2004). U ovom istraživanju, vrednosti MCP-1 kod pacijenata sa lipodistrofijom su bile u pozitivnoj korelaciji sa debljinom intime i medije

karotidnih arterija. HIV pacijenti sa lipodistrofijom imaju povišeni rizik od nastanka i razvoja ateroskleroze, a MCP-1 bi mogao biti značajan marker i za nastanak lipodistrofije u HIV populaciji.

Yao i saradnici, su u svom istraživanju pokazali povišene vrednosti MCP-1 u krvi HIV bolesnika u odnosu na HIV-negativne kontrole. Nakon 3 meseca uzimanja cART-a nije bilo značajne razlike u vrednostima MCP-1. Međutim, nakon dužeg perioda uzimanja cART-a (3 - 6 godina) došlo je do značajnih promena u koncentracijama ovog citokina (Yao i sar., 2007.).

1.4.9 Faktor rasta vaskularnog endotela (VEGF)

Faktor rasta vaskularnog endotela (VEGF) je ključni faktor uključen u proces angiogeneze adipoznog tkiva (Carmeliet i sar., 2003; Neels i sar., 2004; Roy i sar., 2006). Međutim, uloga koju ovaj citokin ima u gojaznosti još uvek nije u potpunosti razjašnjena (Pasarica i sar., 2009; Ye i sar., 2007; Loebig i sar., 2010). Elias i saradnici su pokazali da pojačana ekspresija VEGF-a dovodi do pojačane vaskularizacije kao i povećanog broja M2 anti-inflamatornih makrofaga, što smanjuje mogućnost pojave gojaznosti i insulinske rezistencije kod transgenih miševa (Elias i sar., 2012). Upravo zbog ovih karakteristika, VEGF i njegova ekspresija u adipoznom tkivu bi mogli predstavljati interesantan „target“ za nove terapijske strategije.

Angiogeneza je integralna komponenta remodelovanja adipoznog tkiva (Sun i sar., 2011), čak i u situaciji kada je telesna težina stabilna. Iako su u prošlim decenijama otkriveni brojni angiogeni faktori, VEGF predstavlja ključni faktor u angiogenezi adipoznog tkiva (Cao i sar., 2007; Sun i sar., 2011; Fukumura i sar., 2003).

1.4.10 Epidermalni faktor rasta (EGF)

Epidermalni faktor rasta (EGF) stvaraju različiti tipovi ćelija; EGF učestvuje u proliferaciji i diferencijaciji različitih ćelija kao i u regulaciji angiogeneze (Morimoto i sar., 1991). Delovanje EGF-a na adipocite i dalje ostaje predmet diskusije obzirom na brojne kontradiktorne rezultate koji su do sada objavljeni u literaturi. Nekoliko istraživanja je pokazalo da EGF ima antilipolitičko dejstvo na zrele adipocite (Haysted i sar., 1986; Moule i sar., 1995; Baba i sar., 2000), dok su druga istraživanja pokazala da EGF stimuliše lipolizu i

inhibira diferencijaciju preadipocita kao i akumulaciju masti (Vassaux i sar., 1994; Hauner i sar., 1995). Lee i saradnici, u svom istraživanju, sugerišu da EGF deluje kao negativni regulator adipogeneze tako što inhibira ranu fazu diferencijacije adipocita (Lee i sar., 2008). Zbog inhibitornog dejstva u sazrevanju adipocita, smatra se da EGF zapravo učestvuje u kontroli homeostaze adipoznog tkiva.

1.4.11 Cistatin C

Cistatin C, niskomolekularni peptid, inhibitor cistein proteaze koji je uključen u remodelovanje vaskularnog ekstracelularnog matriksa (Turk i sar., 1991), je biomarker glomerularne filtracije (Shlipak i sar., 2013). Prethodna istraživanja su pokazala da su koncentracije cistatina C u plazmi kod HIV bolesnika povišene u odnosu na opštu populaciju (Neuhaus i sar., 2010; Odden i sar., 2007). Povišene koncentracije ovog peptida su nađene i kod pacijenata sa metaboličkim sindromom, koji je faktor rizika za kasniji nastanak i razvoj kardiovaskularnih oboljenja kao i dijabetes tip II (Magnusson i sar., 2013; Liu i sar., 2014; Asefy i sar., 2014).

Prethodna *in vitro* ispitivanja (Taleb i sar., 2006) su pokazala da je adipozno tkivo izvor cistatina C, i da se uticaj cistatina C ne odnosi samo na glomerularnu filtraciju, već da postoji i delovanje na adipozno tkivo: uvećanje adipocita, hipoksija, produkcija proinflamatornih citokina, povećanje broja makrofaga, i mnoge druge celularne i molekularne alteracije adipoznog tkiva, a koje se javljaju kod gojaznosti (Naour i sar., 2009).

U dosadašnjoj objavljenj literaturi ima vrlo malo objavljenih radova o cistatinu C kod bolesnika sa HIV infekcijom, a posebno kada je reč o pridruženoj alteraciji adipoznog tkiva odnosno lipodistrofije.

1.4.12 Interferon Gama (IFN- γ)

Interferon gama (IFN- γ) pripada drugoj klasi velike porodice interferona i učestvuje u brojnim imunološkim procesima različitih inflamatornih stanja (Schroder i sar., 2004). Zhang i saradnici u svom istraživanju sugerišu da IFN- γ ima važnu ulogu u oksidativnom stresu i nastanku inflamacije u adipoznom tkivu, kao i da učestvuje u regulaciji endotelne funkcije (Zhang i sar., 2011). Ovi autori takođe sugerišu da infiltracija adipoznog tkiva T limfocitima

može biti primarni događaj koji kasnije dovodi do inflamacije adipoznog tkiva. NK ćelije (natural killer cells – “ćelije ubice”), kao i T limfociti, nakon aktivacije, snažno eksprimiraju IFN- γ (Calderon i sar., 2008; O’Rourke i sar., 2009). Međutim, iako je uloga ovog citokina u inflamaciji adipoznog tkiva nesporna (Rocha i sar., 2008), još uvek se malo zna o brojnim interakcijama ovog citokina sa ostalim adipokinima, a posebno kada je reč o HIV bolesnicima i promenama u adipoznom tkivu nakon primanja cART-a.

Yao i saradnici su u svom istraživanju pokazali da su HIV/AIDS bolesnici imali značajno niže koncentracije IFN- γ u odnosu na HIV-negativne kontrole. Primena antiretrovirusne terapije je dovela do sukcesivnog povišenja koncentracija ovog citokina, a primećena je i negativna korelacija između koncentracija IFN- γ i broja aktiviranih T limfocita, 12 meseci posle primene cART-a. Ovi autori sugerišu da je moguće da antiretrovirusna terapija dovodi i do stimulacije proizvodnje citokina i posledično regulacije diferencijacije i proliferacije T limfocita, odnosno da pored inhibicije virusne replikacije doprinosi i rekonstrukciji imunog sistema (Yao i sar., 2013.).

2 CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Utvrditi učestalost lipodistrofije kao i podtipova lipodistrofije (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) kod bolesnika sa HIV/AIDS-om.
2. Ispitati povezanost dužine trajanja cART-a i broja cART kombinacija sa pojavom lipodistrofije (odnosno odgovarajućeg podtipa lipodistrofije).
3. Ispitati povezanost nivoa adipocitokina (adiponektin, rezistin, leptin, interleukini (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10; IL-1 α , IL-1 β), TNF- α , PAI-1, MCP-1, VEGF, EGF, IFN- γ , cistatin C) kod bolesnika sa HIV/AIDS-om sa lipodistrofijom i bolesnika sa HIV/AIDS-om bez lipodistrofije.
4. Ispitati povezanost nivoa adipocitokina (adiponektin, rezistin, leptin, interleukini (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10; IL-1 α , IL-1 β), TNF- α , PAI-1, MCP-1, VEGF, EGF, IFN- γ , cistatin C) kod bolesnika sa HIV/AIDS-om sa različitim podtipovima lipodistrofije (lipoatrofija, lipohipertrofija i mešoviti tip lipodistrofije).

3 MATERIJAL I METODE

Istraživanje je imalo karakteristike studije preseka. Uključeni su pacijenti koji su lečeni na 6-om Odeljenju Klinike za infektivne i tropske bolesti „Dr Kosta Todorović“ Kliničkog Centra Srbije, sa potvrđenom dijagnozom HIV infekcije i/ili dijagnozom AIDS-a, u periodu od juna 2012. god. do januara 2013. god. Istraživanje je sprovedeno u okviru projekta Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj (br. 175024) i IATOS projekta, čiji je rukovodilac Prof. Dr Gordana Dragović Lukić.

U istraživanje su uključene osobe oba pola, starosti od 18 do 80 godina. Pacijenti sa potvrđenom dijagnozom HIV infekcije su podeljeni u 2 grupe: 1) sa lipodistrofijom i 2) bez lipodistrofije. Pacijenti sa lipodistrofijom su nakon toga, u zavisnosti od tipa promena adipoznog tkiva, klasifikovani u 3 podgrupe: a) lipoatrofija; b) lipohipertrofija i c) mešoviti tip lipodistrofije.

Nakon uključivanja u istraživanje, pacijentima su uzeti uzorci krvi u cilju analize sledećih adipocitokina: adiponektin, rezistin, leptin, interleukini (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 α , IL-1 β), TNF- α , PAI-1, MCP-1, VEGF, EGF, IFN- γ i cistatin C. Pored navedenog, urađen je fizikalni pregled i rutinski laboratorijski testovi: glukoza, insulin, ukupni holesterol, lipoprotein visoke gustine (HDL) holesterol, lipoprotein niske gustine (LDL) holesterol, trigliceridi, aminotransferaze (alanin transaminaza (ALT), aspartat transaminaza (AST)), i alkalna fosfataza (ALP). Uzorci krvi su sakupljeni od uzastopnih pacijenata sa HIV infekcijom, lečenih na Klinici za infektivne i tropske bolesti, Kliničkog centra Srbije, koji su bili hospitalizovani ili su dolazili na redovne ambulantne preglede. Uzorci krvi su uzeti od HIV/AIDS pacijenata venepunkcijom, posle 12 sati gladovanja, u količini od 10 mL, a zatim centrifugirani na temperaturi od 4 °C (2500 obrtaja/min, 10 minuta). Uzorci plazme su zatim podeljeni u epruvete od 2 ml, i zamrznuti na -70 °C, sve do trenutka slanja na dalju analizu. Nakon dobijanja izvozne dozvole za transport biološkog humanog materijala, uzorci su transportovani u suvom ledu u Veliku Britaniju, gde je na Odeljenju za Kliničku biohemiju, *Royal Free Hospital (RFH), University College London*, London, Velika Britanija, urađena analiza svih biohemijskih parametara.

Iz uzetih uzoraka krvi, koncentracije holesterola, triglicerida, enzima jetre (alanin transaminaza (ALT), aspartat transaminaza (AST), i alkalna fosfataza (ALP)) i glukoze su određivane korišćenjem reagens aplikacija Acusera RIQAS (*Randox Laboratories Ltd.*, London, Velika Britanija).

U istraživanju je korišćena i biočip tehnologija - BAT (*Biochip Array Technology*) (*Randox Laboratories Ltd.*, London, Velika Britanija), koja omogućava istovremeno izvođenje dijagnostičkih testiranja iz pojedinačnog uzorka. Biočip tehnologija je zasnovana na principima ELISA tehnike, uz korišćenje minimalne količine uzorka plazme (25 μ L).

Imunološki status i virološki odgovor pacijenta na cART su procenjivani određivanjem broja CD4⁺ T-limfocita i brojem kopija HIV-RNK u plazmi (*plasma viral load*, pVL). Broj CD4⁺ T-limfocita je određivan *flow* citometrijom, a broj kopija HIV-RNK u plazmi je izmeren pomoću testa polimerazne lančane reakcije reverzne transkriptaze (*Ultrasensitive assay version 1.5 Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, SAD*) sa donjim nivoom detekcije od 50 kopija/ml (1.7 log₁₀).

Analiza podataka je izvršena metodama deskriptivne i analitičke statistike. Tokom istraživanja su ispoštovani svi etički principi, kao i principi dobre laboratorijske prakse i principi dobre kliničke prakse.

3.1 Subjekti istraživanja

U istraživanju je učestvovalo 66 ispitanika oba pola, 50 muškaraca i 16 žena, starosti od 18 do 80 godina, koji su lečeni na VI-om odeljenju Klinike za infektivne i tropske bolesti, Kliničkog centra Srbije, Beograd, Srbija.

I Kriterijumi za uključivanje u istraživanje su:

- Potvrda HIV infekcije (specifična serumska antitela detektovana ELISA tehnikom uz potvrdu nalaza Western blot metodom); dijagnoza HIV infekcije i/ili dijagnoza AIDS-a je postavljena prema CDC klasifikaciji (*Centers for Disease Control case definition criteria*, CDC) (CDC. 1993 Revised Classification System).
- Pacijenti muškog i ženskog pola stariji od 18 godina.
- Redovno uzimanje antiretrovirusne terapije.
- Redovni dolasci na zakazane preglede.
- Dostupnost svih relevantnih podataka o toku bolesti
- Saglasnost pacijenta za učešće u istraživanju.

II Kriterijumi za isključivanje iz istraživanja su:

- Trudnoća i dojenje;
- Akutne bolesti;
- Hronična upotreba alkohola, opijata i rekreacionih droga;
- Nagli gubitak u telesnoj težini;
- Maligne bolesti;
- Inflamatorne bolesti imunog sistema;
- Ascites i edemi;
- Retki metabolički poremećaji (kao npr. *Wilson*-ova bolest, hemohromatoza i sl.)

Uzorci krvi su sakupljeni u okviru projekta Prof. Dr Gordane Dragović Lukić, u skladu sa definisanim istraživanjem, i uz saglasnost Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu (br. 29/XI-5 od 26.11.2012). Dobijena je saglasnost Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu za dodatne analize na istom biološkom materijalu (broj odobrenja 29/III-26 od 28.03.2016.). Istraživanje je sprovedeno i uz saglasnost Veća naučnih oblasti medicinskih nauka, Univerziteta u Beogradu (broj odobrenja 61206-3075/2/16, od 21.06.2016.). Svi bolesnici su pre uključivanja u studiju potpisali informisani pristanak.

3.2 Klinička evaluacija

Za svakog pacijenta su prikupljeni sledeći podaci: demografski podaci (pol, godine starosti), način prenošenja HIV infekcije, vrsta antiretrovirusnog leka i klasa kojoj pripada, dužina trajanja cART-a (meseći), kao i broj cART kombinacija (zabeležen datum početka i datum obustave odgovarajuće cART kombinacije). Prilikom fizikalnog pregleda su evidentirani i antropometrijski parametri: telesna visina i težina, kao i obim struka i indeks telesne mase BMI (*Body Mass Index* – indeks telesne mase; telesna masa je podeljena sa kvadratom telesne visine, izraženo u kg/m²). Evidentirani su i prisutni kardiovaskularni faktori rizika kao što su hipertenzija, *diabetes mellitus*, povišen holesterol i trigliceridi, porodična anamneza kardiovaskularnih oboljenja, trenutni pušački status (nepušač, bivši pušač ili pušač). Kod svih ispitanika su evidentirani svi ostali lekovi koje pacijenti trenutno piju ili su nedavno uzimali (kao npr. lekove za određena kardiovaskularna oboljenja, *diabetes mellitus* ili povišen holesterol).

Dijagnoza kliničke lipodistrofije je postavljena prilikom fizikalnog pregleda, prema kriterijumima za metabolički sindrom Internacionalnog udruženja za *diabetes mellitus* (Alberti, 2009), kao i prema kriterijumima za lipodistrofiju (Mallewa 2008, Vigouroux 2003).

Pacijenti sa potvrđenom dijagnozom HIV infekcije su podeljeni u 2 grupe: 1) sa lipodistrofijom i 2) bez lipodistrofije. U zavisnosti od tipa promena masnog tkiva, pacijenti sa lipodistrofijom su dalje klasifikovani u 3 podgrupe:

- 1) lipoatrofija (gubitak potkožnog masnog tkiva sa lica, gornjih i donjih ekstremiteta);
- 2) lipohipertrofija (nakupljanje masnog tkiva u predelu zadnje strane vrata, uvećanje grudi, visceralno nagomilavanje masti);
- 3) mešoviti tip lipodistrofije (kombinacija lipoatrofije i lipohipertrofije).

3.3 Biohemijske analize

3.3.1 Sakupljanje uzoraka krvi za analizu

Uzorci krvi su uzeti od HIV/AIDS pacijenata venepunkcijom, posle 12 sati gladovanja, u količini od 10 mL. Nakon toga, uzorci su centrifugirani na temperaturi od 4 °C (2500 obrtaja/min, 10 minuta), u cilju ekstrakcije plazme. Period od trenutka uzimanja uzorka krvi do ekstrakcije plazme ne sme biti duži od jednog sata. Uzorci plazme su zatim podeljeni u epruvete od 2 ml, i zamrznuti na -70 °C, sve do trenutka slanja na dalju analizu. Nakon dobijanja izvozne dozvole za transport biološkog humanog materijala, uzorci su transportovani u suvom ledu u Veliku Britaniju, gde je na Odeljenju za Kliničku biohemiju, *Royal Free Hospital, University College London*, London, Velika Britanija, urađena analiza svih biohemijskih parametara.

3.3.2 Određivanje biohemijskih parametara

Iz uzetih uzoraka krvi, određivane su koncentracije holesterola, triglicerida, enzima jetre (alanin transaminaza (ALT), aspartat transaminaza (AST), i alkalna fosfataza (ALP)), glukoze, korišćenjem reagens aplikacija Acusera RIQAS (*Randox Laboratories Ltd.*, London, Velika Britanija).

U istraživanju je korišćena i biočip tehnologija - BAT (*Biochip Array Technology*) (*Randox Laboratories Ltd.*, London, Velika Britanija), koja omogućava istovremeno izvođenje dijagnostičkih testiranja iz pojedinačnog uzorka. Biočip tehnologija je zasnovana na principima ELISA tehnike, uz korišćenje minimalne količine uzorka plazme (25 μ L). Rezultati se očitavaju metodom hemiluminiscence, uz pomoć CCD (*Charge coupled device*) kamere i specijalnog softvera za obradu slika. BAT tehnologija omogućava veću preciznost rezultata i manji broj ponavljanja, čime se postiže kompletniji dijagnostički profil za svakog pacijenta. U ovom istraživanju su korišćena tri seta biohemijskih testova BAT tehnologije: a) *Metabolic Syndrome Array I*; b) *Metabolic Syndrome Array II*; c) *Cytokine Array I*.

Koncentracije nivoa leptina, rezistina, PAI-1, i insulina su određivane korišćenjem biohemijskog seta - *Metabolic Syndrome Array I*. Nivoi adiponektina i cistatina C su određivani korišćenjem biohemijskog seta - *Metabolic Syndrome Array II*, dok su interleukini (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10) kao i TNF- α , VEGF, EGF, IFN- γ , i MCP-1 su određivani korišćenjem testa *Cytokine Array I*.



Slika 4. 1) Polu-automatski analizator; 2) inkubator obezbeđuje kontrolisane temperaturne uslove; 3) Nosač biočipa. Preuzeto i obrađeno iz: *Randox Biochip Array*; *Randox Clinical Laboratory Services* (www.randox.com).

Na slici 4. je prikazan polu-automatski analizator *Randox Evidence Investigator* (*Randox Laboratories Ltd.*, London, Velika Britanija). U okviru BAT tehnologije, sve faze imunološkog testa se obavljaju ručno, u kontrolisanim temperaturnim uslovima koje obezbeđuje inkubator. Biočip je osnovna jedinica testa (dimenzija 9 mm x 9 mm), a svaki nosač biočipa sadrži po 9 biočipova.

Sistem obezbeđuje i plitko korito (*slika 5.*) u koje se smešta 6 nosača biočip-ova (ukupno 54 biočip-a). Nakon dodavanja uzorka i reagensa imunoeseja u biočip, 54 biočip-a se ubacuje u inkubator, kako bi se obezbedili optimalni temperaturni uslovi. Po ubacivanju nosača biočipa u polu-automatski analizator, softverski sistem (*Acusera 24.7, online version 2.0*) počinje da obrađuje i da arhivira sve podatke. Analizator koristi jedinstveni softverski sistem koji prevodi svetlosne signale, dobijene u hemiluminescentnim reakcijama, u koncentraciju analiziranog parametra.



Slika 5. 1) Dodavanje reagensa testa i uzorka u biočip; 2) 54 biočipa se smešta u inkubator koji obezbeđuje optimalne uslove; 3) nosač biočipa se ubacuje u polu-automatski analizator *Randox Evidence Investigator*. Preuzeto i obrađeno iz: *Randox Biochip Array; Randox Clinical Laboratory Services* (www.randox.com).

3.3.3 Imunološki i virusološki parametri

Imunološki status i virološki odgovor pacijenta na cART su procenjivani određivanjem broja CD4 + T-limfocita i brojem kopija HIV-RNK u plazmi (*plasma viral load, pVL*). Broj CD4+ T-limfocita je određivan *flow* citometrijom, a broj kopija HIV-RNK u plazmi je izmeren pomoću testa polimerazne lančane reakcije reverzne transkriptaze (*Ultrasensitive assay version 1.5 Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, SAD*) sa donjim nivoom detekcije od 50 kopija/ml ($1.7 \log_{10}$).

3.4 Statistička analiza

U dizajniranoj istraživačkoj bazi podataka izabrane varijable su merene nominalnom, ordinalnom, intervalnom i omernom skalom. Podaci su prikazani kao broj (%), srednja vrednost \pm standardna devijacija (SD), ili medijana i interkvartilni raspon (IQR, 25. i 75. percentil). Podaci su prikazani tabelarno i grafički.

Za međusobno poređenje dve grupe korišćene su sledeće metode: Studentov t-test za kontinuirane parametarske varijable i *Mann-Whitney-ev* U-test za kontinuirane neparametarske varijable. Za komparaciju više grupa korišćena je parametarska ANOVA ili neparametarska ANOVA (*Kruskal-Wallis-ov* test). Za određivanje povezanosti među varijablama korišćen je *Spearman-ov* test korelacije za neparametarske i *Pearson-ov* test korelacije za parametarske podatke. Analiza kovarijanse je korišćena kako bi se ispitala povezanost adiponektina i leptina i podgrupa lipodistrofije za pridružene varijable. Varijable su logaritamski transformisane i korišćene u modelu. Zbog relativno malog uzorka za statističko modelovanje ($n = 66$ HIV/AIDS bolesnika), korišćen je *bootstrapping* metod. Sve p vrednosti manje od 0,05 se smatraju značajnim.

Statistička obrada podataka je rađena u programu IBM SPSS Statistics 20 (IBM Corp, Armonk, New York).

4 REZULTATI

4.1 Kliničke karakteristike pacijenata

Kriterijume za uključivanje u studiju je ispunilo 66 pacijenata, lečenih na Klinici za infektivne i tropske bolesti u Beogradu, sa potvrđenom dijagnozom HIV infekcije i/ili dijagnozom AIDS-a. U istraživanju je učestvovalo 50 pacijenata muškog pola (76 %) i 16 pacijenata ženskog pola (24 %). Prosečna starost svih bolesnika sa HIV infekcijom u ovom istraživanju je bila $44,2 \pm 10,9$ godina.

Prema CDC klasifikaciji, 34 pacijenta (52%) je imalo AIDS. Populacija muškaraca koji su imali seks sa muškarcima (*Men having sex with men* - MSM) je bila najbrojnija grupa sa 32 pacijenta (48,5 %), dok je 27 pacijenata (41 %) bilo zaraženo HIV-om preko heteroseksualnog kontakta, 3 pacijenta (4,5 %) putem transfuzije krvi i produkata krvi, 3 pacijenta (4,5 %) su bili intravenski narkomanski zavisnici, a kod jednog pacijenta (1,5 %) nije utvrđen put prenošenja HIV-a (nepoznato).

Prilikom fizikalnog pregleda su evidentirani i antropometrijski parametri: telesna visina i težina, kao i obim struka. Prosečni indeks telesne mase (BMI) je bio $23,9 \pm 3,5$ kg/m² a obim struka je u proseku iznosio $89,1 \pm 13,8$ cm.

Svi pacijenti su imali dobar virološki odgovor sa nedetektabilnim brojem kopija HIV-RNK-a u plazmi (*plasma viral load*, pVL), kao i imunološki status sa prosečnim brojem CD4⁺ T limfocita od 517 ćel/mm³ (IQR, 367 - 711 ćel/mm³).

Kod svih ispitanika su evidentirani podaci o antiretrovirusnim lekovima: trajanje kombinovanog antiretrovirusnog terapijskog režima (izraženo u mesecima), kao i broj cART kombinacija. U našem istraživanju, HIV/AIDS bolesnici su primali različite kombinacije antiretrovirusnih lekova iz sledećih grupa lekova: nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (abakavir, lamivudin, zidovudin, didanozin), inhibitori proetaze (lopinavir), kao i nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (efavirenz).

Prosečno vreme uzimanja kombinovane antiretrovirusne terapije kod svih ispitanika je iznosilo 46 meseci (IQR, 28 - 114 meseci), dok je prosečni broj antiretrovirusnih kombinacija bio 2 (IQR, 1 - 4 kombinacije).

Najčešći komorbiditet pacijenata sa HIV infekcijom je bila hipertenzija, koja je registrovana kod 20 ispitanika (30,3 %), *diabetes mellitus* kod 7 ispitanika (10,6 %) i kardiovaskularne bolesti kod 5 ispitanika (7,6 %). U ispitivanoj populaciji pacijenata sa HIV infekcijom bilo je 35 pušača (53 %) kao i 8 bivših pušača (12,1 %). 6 (9 %) pacijenata je

imalo ko-infekciju hepatitis C virusom (HCV), 5 (7,6 %) pacijenata je imalo ko-infekciju hepatitis B virusom (HBV), a jedan pacijent (1,5 %) je imao udruženu HBV/HCV infekciju (HIV/HBV/HCV ko-infekcija).

4.2 Karakteristike HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije

U skladu sa ciljevima istraživanja, lipodistrofija je registrovana kod 29 HIV/AIDS pacijenata (44 %), od toga 23 (79 %) pacijenta muškog pola i 6 (20,7 %) pacijenata ženskog pola. Ostatak ispitivane grupe činili su pacijenti bez lipodistrofije, 37 (56,1 %) pacijenata odnosno 27 pacijenata (72,9 %) muškog pola i 10 (27,02 %) pacijenata ženskog pola. Pacijenti sa lipodistrofijom su bili značajno stariji u odnosu na pacijente bez lipodistrofije ($47,8 \pm 8$ god. vs. $41,3 \pm 12,1$ god., $p = 0,006$), ali i sa značajno manjim prosečnim brojem CD4+ T limfocita ($463 \text{ \u00b0} \text{ \u00c4el/mm}^3$ vs. $586 \text{ \u00b0} \text{ \u00c4el/mm}^3$, $p = 0,017$). U *tabeli 3* (u daljem tekstu) su prikazane osnovne karakteristike svih HIV/AIDS bolesnika koji su u\u00e7estvovali u istra\u017eivanju.

Pacijenti sa lipodistrofijom su u du\u017eem vremenskom periodu primali antiretrovirusnu terapiju (106 meseci, IQR (55,2 – 143,2 meseca)) kao i ve\u0107i broj cART kombinacija (3,5, IQR (2 -5)) u pore\u011denju sa pacijentima bez lipodistrofije (32 meseca, IQR (23,5 – 57,5) i 1 cART kombinacija, IQR (1-2)). Razlike u du\u017eini cART-a kao i u broju cART kombinacija, izme\u0111u dve grupe, su bile statisti\u0107ki zna\u0107ajne ($p < 0,001$), \u0161to je prikazano u *tabeli 3*.

U *tabeli 4* su prikazane metaboli\u0107ke karakteristike HIV/AIDS bolesnika. Pacijenti sa lipodistrofijom su imali vi\u0161e vrednosti triglicerida i ni\u017ee vrednosti ukupnog holesterola u krvi, u odnosu na pacijente bez lipodistrofije, ali razlika nije bila statisti\u0107ki zna\u0107ajna. Vrednosti HDL i LDL holesterola u krvi su bile ni\u017ee kod pacijenata sa lipodistrofijom u odnosu na pacijente bez lipodistrofije, ali nije bilo statisti\u0107ki zna\u0107ajne razlike. Nije bilo statisti\u0107ki zna\u0107ajne razlike u vrednostima enzima jetre (aspartat transaminaza (AST), alanin transaminaza (ALT), alkalna fosfataza (ALP)) izme\u0111u pacijenata sa lipodistrofijom i bez lipodistrofije.

Tabela 3. Osnovne karakteristike HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije

	Ukupni broj	LD	Non-LD	<i>p</i>
Broj pacijenata	66	29	37	
Muški pol /ženski pol	50/16	23/6	27/10	
Starost (god.)*	44,2 ± 10,9	47,8 ± 8,0	41,3 ± 12,1	0,006
BMI (kg/m ²)*	23,9 ± 3,5	23,8 ± 3,4	24,0 ± 3,6	0,841
OS (cm)*	89,1 ± 13,8	89,6 ± 12,7	88,7±14,8	0,619
CD4 (ćelije/mm ³)**	517 [367 - 711]	463 [343 - 538]	586 [476 - 909]	0,017
Ukupni broj cART kombinacija**	2 [1 - 4]	3,5 [2 - 5]	1 [1 - 2]	<0,001
Ukupno trajanje uzimanja cART (meseći)**	46 [28 - 114]	106 [55,2-143,2]	32 [23,5-57,5]	<0,001

* - Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija (SD);

** - Rezultati su prikazani kao medijana (IQR, 25 % - 75 %);

LD – lipodistrofija; non – LD – bez lipodistrofije; BMI – indeks telesne mase (*Body mass index*); OS – obim struka; cART – kombinovana antiretrovirusna terapija; *p* - *p* vrednosti (LD pacijenti vs. non-LD pacijenti).

Tabela 4. Metaboličke karakteristike HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije

	Ukupni broj n=66	LD	Non-LD	<i>p</i>
Trigliceridi (mmol/L)	1,98 ± 1,49	2,01 ± 1,18	1,96 ± 1,71	0,470
Ukupni holesterol (mmol/L)	5,54 ± 1,39	5,46 ± 1,17	5,59 ± 1,55	0,915
HDL holesterol (mmol/L)	1,01 ± 0,39	0,90 ± 0,25	1,08 ± 0,45	0,156
LDL holesterol (mmol/L)	3,78 ± 1,18	3,72 ± 0,97	3,82 ± 1,32	0,752
AST (IU/L)	33,5 ± 38,5	28,9 ± 13,3	36,8 ± 49,4	0,335
ALT (IU/L)	37,9 ± 36,5	38,8 ± 39,3	37,2 ± 34,9	0,562
ALP (IU/L)	93,4 ± 44,6	91,4 ± 39,1	95,0 ± 49,3	0,766

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija (SD);

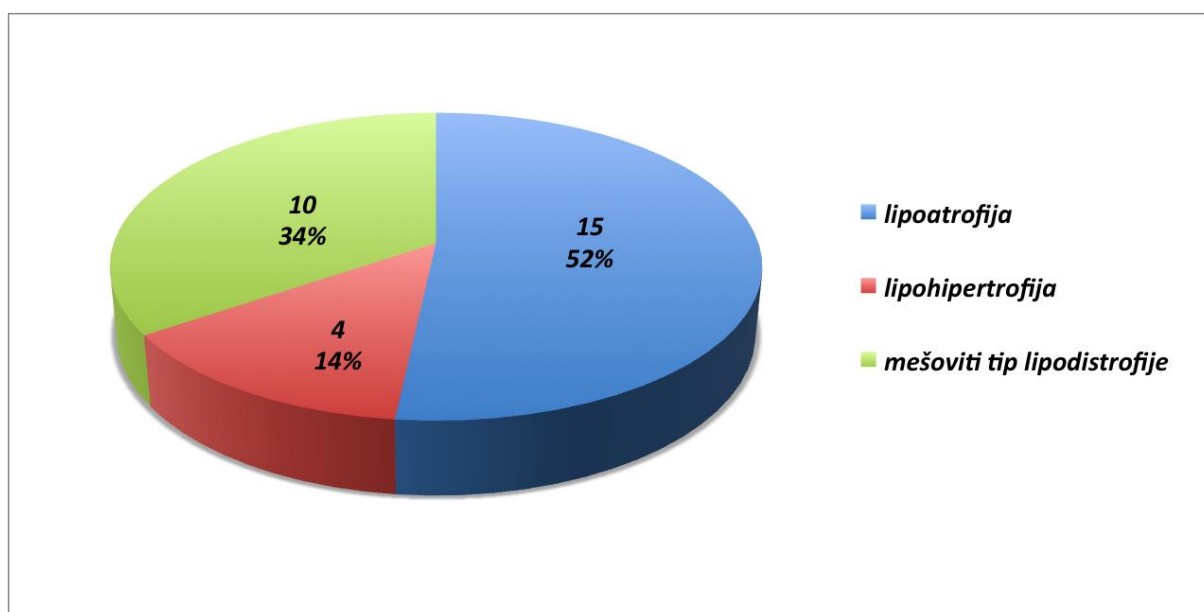
LD – lipodistrofija; non – LD – bez lipodistrofije; HDL (High density lipoprotein) – lipoprotein visoke gustine; LDL (Low density lipoprotein) – lipoprotein niske gustine; AST - aspartat transaminaza; ALT – alanin transaminaza; ALP – alkalna fosfataza; *p* - *p* vrednosti (LD pacijenti vs. non-LD pacijenti).

4.3 Karakteristike HIV/AIDS bolesnika sa različitim podtipovima lipodistrofije (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije)

U našem istraživanju, lipodistrofija je registrovana kod 29 pacijenata sa HIV infekcijom (44 %), a među njima je 15 pacijenata (52 %) imalo lipoatrofiju, 4 pacijenta (14 %) je imalo lipohipertrofiju a 10 pacijenata (34 %) je imalo mešoviti tip lipodistrofije. Trideset i sedam pacijenata (56 %) je bilo bez lipodistrofije.

Na *grafikonu 1.* su prikazane učestalosti podtipova lipodistrofije (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) kod HIV/AIDS bolesnika.

Grafikon 1. Učestalosti podtipova lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika



Na grafikonu je prikazan broj pacijenata (%) u svakoj podgrupi lipodistrofije.

U tabeli 5. su prikazane opšte karakteristike pacijenata sa lipodistrofijom a koji su podeljeni u 3 podgrupe: lipoatrofija, lipohipertrofija i mešoviti tip lipodistrofije. Podgrupe pacijenata sa lipodistrofijom su poređene sa grupom pacijenata bez lipodistrofije i odgovarajuće p vrednosti su prikazane u tabeli.

Pacijenti sa mešovitim tipom lipodistrofije su bili najstariji i statistički značajna razlika je bila zapažena u ovoj podgrupi pri poređenju sa pacijentima bez lipodistrofije ($p3 = 0,006$). Nije bilo statistički značajne razlike u obimu struka i BMI, između podgrupa pacijenata sa lipodistrofijom i pacijenata bez lipodistrofije. Kada je poređen broj $CD4^+$ T limfocita lipodistrofičnih podgrupa sa pacijentima bez lipodistrofije, primećena je statistički značajna razlika između pacijenata sa lipoatrofijom i pacijenata bez lipodistrofije ($p1 = 0,041$). Statistički značajne razlike su bile utvrđene između svih podgrupa u odnosu na pacijente bez lipodistrofije, kada je reč o broju cART kombinacija kao i dužini trajanja terapije. Pacijenti u sve tri podgrupe lipodistrofije su značajno duže primali antiretrovirusnu terapiju i sa većim brojem cART kombinacija u odnosu na pacijente bez lipodistrofije.

Tabela 5. Opšte karakteristike HIV/AIDS bolesnika bez lipodistrofije i sa lipoatrofijom, lipohipertrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije

	LA	LH	MFR	Non LD	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>
Broj pacijenata	15	4	10	37			
Muški pol/ženski pol	13/2	2/2	8/2	27/10			
Starost (god.)*	45,5± 8,9	48,2 ± 6,6	51,1 ± 6,4	41,3± 12,1	0,130	0,147	0,006
BMI (kg/m²)*	22,8± 2,8	26,3 ± 6,3	24,2 ± 2,5	24,0 ± 3,6	0,374	0,553	0,711
OS (cm)*	85,6± 11,4	93,5±19,3	93,9±11,1	88,7±14,8	0,657	0,692	0,184
CD4 (ćelije/mm³)**	401 [336- 535]	352 [334-571]	493 [452 -541]	586 [476 - 909]	0,041	0,133	0,277
Ukupni broj cART kombinacija**	3 [2 - 5]	5	2 [1 - 5]	1 [1 - 2]	<0,001	0,001	0,011
Dužina uzimanja cART (meseći)**	87 [40 - 138]	133	119,5 [61,7-158,2]	32,0 [23,5-57,5]	0,004	0,001	<0,001

* - Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija (SD);

** - Rezultati su prikazani kao medijana (IQR, 25 % - 75 %);

LD – lipodistrofija; LA – lipoatrofija; LH – lipohipertrofija; MFR – mešoviti tip lipodistrofije; non – LD – bez lipodistrofije; BMI – indeks telesne mase; OS – obim struka; cART – kombinovana antiretrovirusna terapija; *p1* - *p* vrednosti (LA pacijenti vs. non-LD pacijenti); *p2* – *p* vrednosti (LH vs. non-LD pacijenti); *p3* – *p* vrednosti (MFR vs. non-LD) pacijenti.

Tabela 6. Metaboličke karakteristike HIV/AIDS bolesnika bez lipodistrofije i sa lipoatrofijom, lipohipertrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije

	LA	LH	MFR	Non LD	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>
Trigliceridi (mmol/l)	2,47±1,27	1,68±1,11	1,45±0,83	1,96±1,71	0,066	0,879	0,425
Ukupni holesterol (mmol/l)	5,73 ± 0,92	4,62 ± 1,43	5,4 ± 1,36	5,59 ± 1,55	0,438	0,268	0,932
HDL holesterol (mmol/l)	0,86 ± 0,23	0,76 ± 0,34	1,01±0,25	1,08±0,45	0,109	0,211	0,958
LDL holesterol (mmol/l)	3,81 ± 0,91	2,86 ± 0,96	3,92±1,00	3,82 ± 1,32	1,00	0,188	0,847
AST (IU/L)	29,1 ± 16,7	35,5 ± 8,3	25,4 ± 6,8	36,8 ± 49,4	0,737	0,101	0,643
ALT (IU/L)	41,9 ± 50,8	32,7 ± 8,6	36,6±24,9	37,2 ± 34,9	0,077	0,281	0,643
ALP (IU/L)	89,0 ± 34,4	120,0± 58,4	76,5±26,5	95,0± 49,3	0,674	0,181	0,339

Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina ± standardna devijacija (SD);

LA – lipoatrofija; LH – lipohipertrofija; MFR – mešoviti tip lipodistrofije; non – LD – bez lipodistrofije; HDL (High density lipoprotein) – lipoprotein visoke gustine; LDL (Low density lipoprotein) – lipoprotein niske gustine; AST - aspartat transaminaza; ALT – alanin transaminaza; ALP – alkalna fosfataza; *p1*- *p* vrednosti (LA pacijenti vs. non-LD pacijenti); *p2* – *p* vrednosti (LH vs. non LD pacijenti); *p3* – *p* vrednosti (MFR vs. non LD pacijenti).

Tabela 6. prikazuje metaboličke karakteristike pacijenata sa 3 različita podtipa lipodistrofije. Podgrupe pacijenata sa lipodistrofijom su poredene sa grupom pacijenata bez lipodistrofije i odgovarajuće *p* vrednosti su prikazane u tabeli. Iako prethodno nije pokazana statistički značajna razlika u metaboličkim parametrima između HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom i bez lipodistrofije, kada su pacijenti sa lipodistrofijom podeljeni u 3

podgrupe, vrednosti triglicerida i alanin-transaminaze u krvi pacijenata sa lipoatrofijom su bile povišene u odnosu na ostale 2 podgrupe pacijenata sa lipodistrofijom. P vrednosti triglicerida kao i alanin transaminase (ALT) u podgrupi pacijenata sa lipoatrofijom su bile na granici statističke značajnosti, prilikom poređenja sa pacijentima bez lipodistrofije ($p = 0,066$ za triglyceride; $p = 0,077$ za ALT).

4.4 Vrednosti adipocitokina kod HIV/AIDS bolesnika

U tabelama 7. i 8. su prikazane izmerene vrednosti koncentracija leptina, adiponektina i rezistina u krvi kod HIV/AIDS bolesnika. *Tabela 7.* prikazuje vrednosti ovih adipocitokina kod HIV/AIDS bolesnika, a koji su podeljeni na osnovu prisustva ili odsustva lipodistrofije. *Tabela 8.* prikazuje pacijente sa lipodistrofijom koji su podeljeni u 3 podgrupe (lipoatrofija, lipohipertrofija i mešoviti tip lipodistrofije).

U našem istraživanju, pacijenti sa lipodistrofijom su imali veće vrednosti adiponektina, i niže vrednosti leptina i rezistina, u poređenju sa vrednostima ovih adipocitokina u grupi pacijenata bez lipodistrofije (*tabela 7.*). Međutim, nisu dobijene statistički značajne razlike u vrednostima ovih adipocitokina između grupe pacijenata sa lipodistrofijom i grupe bez lipodistrofije ($p = 0,959$ za leptin; $p = 0,499$ za adiponektin i $p = 0,220$ za rezistin).

Upoređivanjem vrednosti adipocitokina kod podgrupa pacijenata sa lipodistrofijom (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) i pacijenata bez lipodistrofije, pokazali smo da su vrednosti leptina i adiponektina bile statistički značajno veće kod pacijenata sa lipohipertrofijom ($p = 0,039$ za leptin i $p = 0,011$ za adiponektin). Nisu registrovane razlike u vrednostima rezistina između pacijenata sa različitim podtipom lipodistrofije i pacijenata bez lipodistrofije (*tabela 8.*).

Tabela 7. Vrednosti leptina, adiponektina i rezistina kod HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije

	N = 66	LD	Non LD	<i>p</i>
Leptin	1,43	1,28	1,46	0,959
(ng/ml)	[0,89-3,30]	[0,90-3,72]	[0,85-2,81]	
Adiponektin (ng/ml)	23,2	23,4	22,3	0,499
	[17,7-55,4]	[18,0-64,7]	[16,4-51,9]	
Rezistin	4,64	4,30	4,82	0,220
(ng/ml)	[3,77-6,30]	[3,67-5,16]	[3,98-6,45]	

Rezultati su prikazani kao medijana (IQR, 25 % - 75 %);

LD – lipodistrofija; non – LD – bez lipodistrofije; *p* – *p* vrednosti (LD vs. non LD).

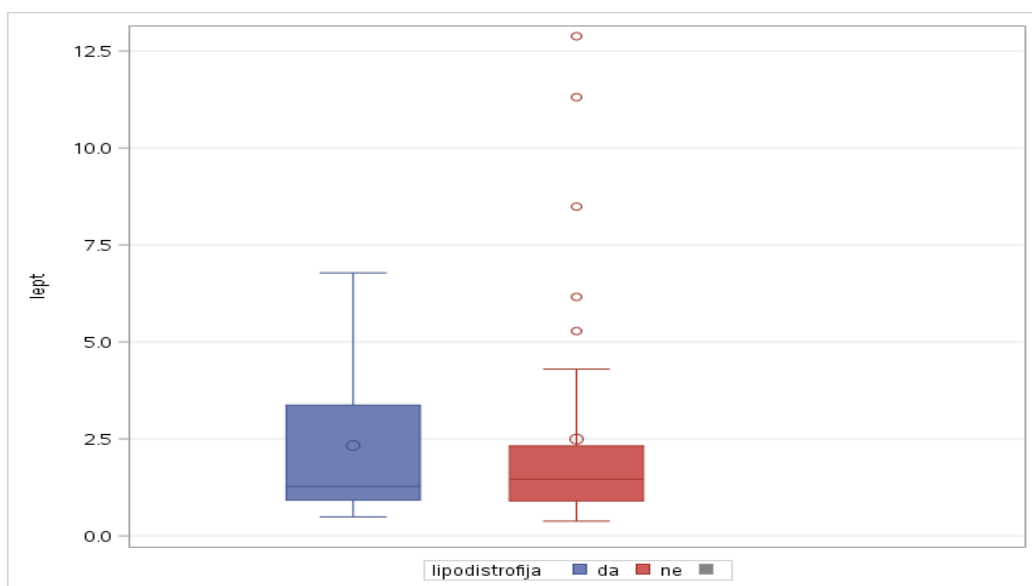
Tabela 8. Vrednosti leptina, adiponektina i rezistina kod HIV/AIDS bolesnika bez lipodistrofije i sa lipoatrofijom, lipohipertrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije

	LA	LH	MFR	Non LD	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>
Leptin (ng/ml)	0,96	3,81	2,54	1,46	0,081	0,039	0,258
	[0,65-1,17]	[2,39-5,66]	[1,23-4,19]	[0,85-2,81]			
Adiponektin (ng/ml)	21,8	88,18	27,4	22,3	0,722	0,011	0,670
	[13,7-55,9]	[78,2-175,83]	[21,5-37,3]	[16,4-51,9]			
Rezistin (ng/ml)	3,79	6,27	4,59	4,82	0,111	0,380	0,349
	[3,12-5,18]	[3,97-8,70]	[3,65-5,12]	[3,98-6,45]			

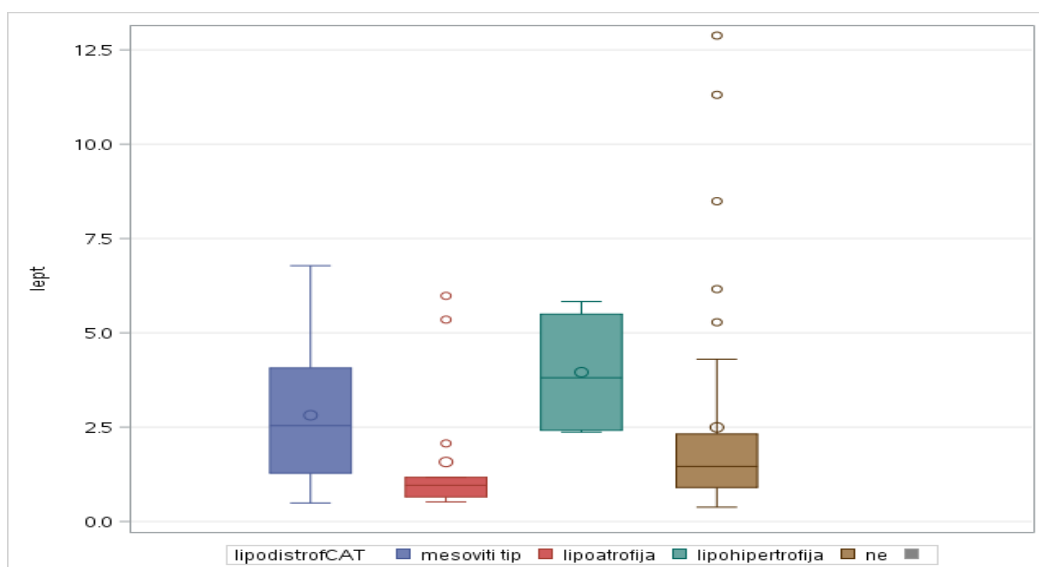
Rezultati su prikazani kao medijana (IQR, 25 % - 75 %);

LA – lipoatrofija; LH – lipohipertrofija; MFR – mešoviti tip lipodistrofije; non – LD – bez lipodistrofije; *p1* – *p* vrednosti (LA pacijenti vs. non-LD pacijenti); *p2* – *p* vrednosti (LH vs. non LD pacijenti); *p3* – *p* vrednosti (MFR vs. non LD pacijenti).

Grafikon 2 a) Vrednosti leptina u krvi HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije



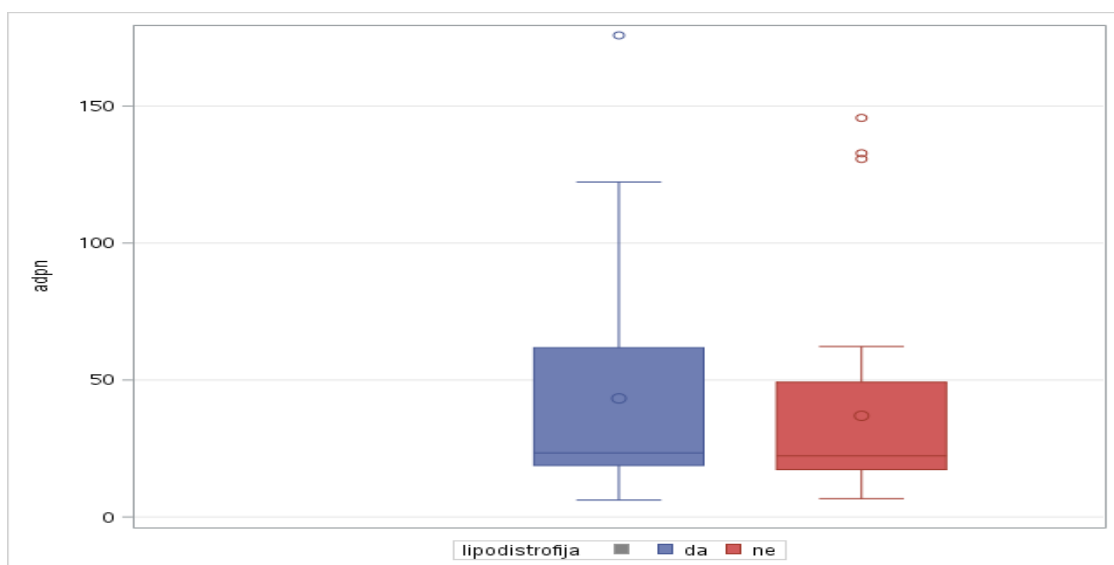
b) Vrednosti leptina u krvi HIV/AIDS bolesnika sa lipoatrofijom, lipohipertrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije, kao i bez lipodistrofije



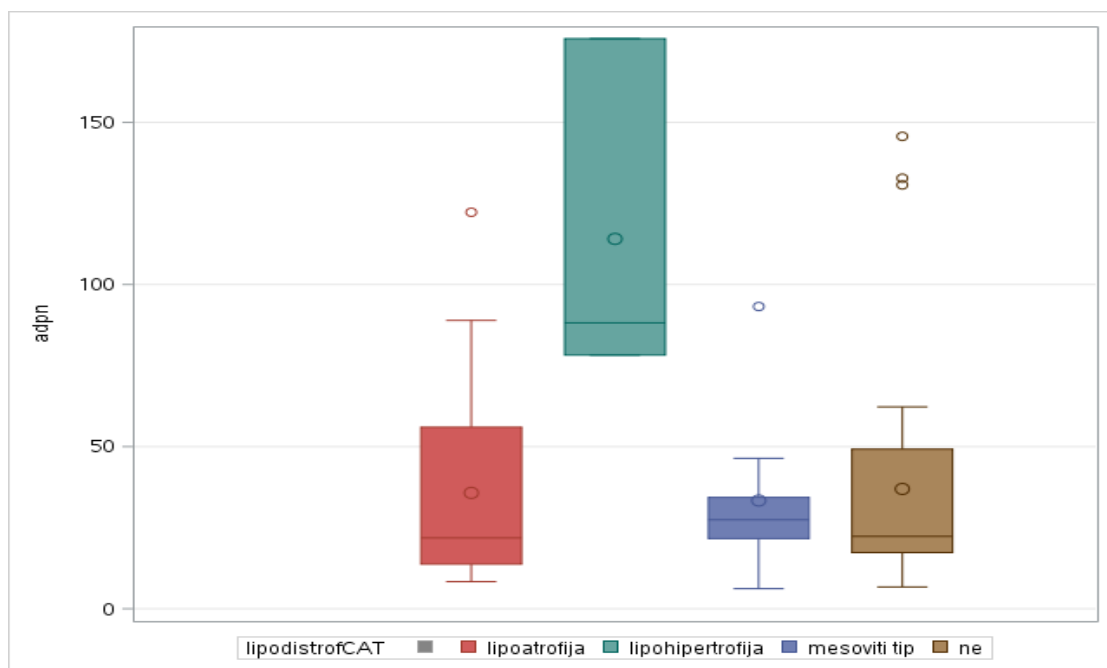
Lept - koncentracije leptina u krvi (ng/ml).

Na *grafikonu 2.* su prikazane vrednosti leptina u krvi kod bolesnika sa HIV/AIDS-om, pri čemu su upoređivane vrednosti ovog adipocitokina između pacijenata sa lipodistrofijom i bez lipodistrofije (*grafikon 2a*), kao i različitih podgrupa lipodistrofije (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) sa pacijentima bez lipodistrofije (*grafikon 2 b*).

Grafikon 3 a) Vrednosti adiponektina u krvi HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije



b) Vrednosti adiponektina u krvi HIV/AIDS bolesnika sa lipoatrofijom, lipohipertrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije, kao i bez lipodistrofije



ADPN- koncentracije adiponektina u krvi (ng/ml).

Grafikon 3. prikazuje vrednosti adiponektina u krvi kod bolesnika sa HIV/AIDS-om, pri čemu su upoređivane vrednosti ovog adipocitokina između pacijenata sa lipodistrofijom i bez lipodistrofije (*grafikon 3a*), kao i različitih podgrupa lipodistrofije (lipoatrofija,

lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) sa pacijentima bez lipodistrofije (*grafikon 3 b*).

U našem istraživanju su rađena i poređenja između 3 podgrupe pacijenata sa lipodistrofijom: vrednosti sva 3 adipocitokina su bila niža kod pacijenata sa lipoatrofijom u odnosu na pacijente sa lipohipertrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije. Međutim, statistički značajne razlike unutar grupe pacijenata sa lipodistrofijom su bile samo za adiponektin i leptin. Naime, pacijenti sa lipoatrofijom su imali značajno niže koncentracije leptina u krvi, u poređenju sa pacijentima sa lipohipertrofijom ($p = 0,020$) i pacijentima sa mešovitim tipom lipodistrofije ($p = 0,027$). Pored toga, pacijenti sa lipohipertrofijom su imali značajno više vrednosti adiponektina u poređenju sa pacijentima sa lipoatrofijom ($p = 0,027$) i pacijentima sa mešovitim tipom lipodistrofije ($p = 0,028$).

U *tabelama 9. i 10.* su prikazane izmerene vrednosti koncentracija interleukina u krvi kod HIV/AIDS bolesnika: IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, kao i interleukin 1-alfa (IL-1 α) i interleukin 1-beta (IL-1 β). *Tabela 9.* prikazuje vrednosti interleukina kod HIV/AIDS bolesnika, a koji su podeljeni na osnovu prisustva ili odsustva lipodistrofije. *Tabela 10.* prikazuje pacijente sa lipodistrofijom koji su podeljeni u 3 podgrupe (lipoatrofija, lipohipertrofija i mešoviti tip lipodistrofije).

U našem istraživanju, pacijenti sa lipodistrofijom su imali niže vrednosti IL-4 i IL-10 u poređenju sa vrednostima ovih interleukina u grupi pacijenata bez lipodistrofije (*tabela 9.*). Razlika u vrednostima IL-4 i IL-10 je bila statistički značajna ($p = 0,008$ za IL-4 i $p = 0,027$ za IL-10). Nisu dobijene statistički značajne razlike u vrednostima ostalih interleukina.

Tabela 9. Izmerene vrednosti interleukina kod HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije

	ukupno	LD	Non LD	<i>p</i>
IL-2 (pg/ml)	2,76 [2,22-3,56]	2,29 [2,08-3,86]	2,83 [2,49-3,46]	0,158
IL-4 (pg/ml)	2,58 [2,18-2,96]	2,35 [2,06-2,66]	2,73 [2,32-3,21]	0,008
IL-6 (pg/ml)	1,64 [1,25-1,64]	1,66 [1,25-2,34]	1,63 [1,23-2,69]	0,905
IL-8 (pg/ml)	14,69 [11,31-1,88]	16,9 [11,3-24,0]	14,5 [11,3-20,6]	0,673
IL-10 (pg/ml)	0,84 [0,64-1,12]	0,72 [0,62-0,90]	0,96 [0,69-1,22]	0,027
IL-1α (pg/ml)	0,17 [0,14-0,21]	0,15 [0,13-0,20]	0,18 [0,15-0,23]	0,125
IL-1β (pg/ml)	1,63 [1,30-1,63]	1,54 [1,28-1,91]	1,67 [1,37-2,39]	0,161

Rezultati su prikazani kao medijana (IQR, 25 % - 75 %);

IL – interleukin; LD – lipodistrofija; non – LD – bez lipodistrofije; *p* – *p* vrednosti (LD vs. non LD).

Tabela 10. Izmerene vrednosti interleukina kod HIV/AIDS bolesnika bez lipodistrofije i sa lipoatrofijom, lipohipertrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije

	LA	LH	MFR	Non LD	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>
IL-2 (pg/ml)	2,29 [1,95-3,03]	2,96 [1,99-3,71]	2,25 [2,13-4,65]	2,83 [2,49-3,46]	0,092	0,910	0,540
IL-4 (pg/ml)	2,50 [2,02-2,81]	2,22 [1,92-2,57]	2,31 [2,07-2,83]	2,73 [2,32-3,21]	0,043	0,052	0,107
IL-6 (pg/ml)	1,40 [1,14-2,03]	8,21 [1,72-39,63]	1,81 [1,54-2,69]	1,63 [1,23-2,69]	0,163	0,065	0,344
IL-8 (pg/ml)	12,8 [8,6-23,9]	23,7 [6,8-38,7]	17,6 [11,6-22,65]	14,5 [11,3-20,6]	0,741	0,367	0,456
IL-10 (pg/ml)	0,72 [0,62-0,85]	0,78 [0,64-1,14]	0,72 [0,56-1,41]	0,96 [0,69-1,22]	0,031	0,484	0,196
IL-1α (pg/ml)	0,15 [0,12-0,19]	0,16 [0,12-0,18]	0,18 [0,14-0,27]	0,18 [0,15-0,23]	0,051	0,249	0,926
IL-1β (pg/ml)	1,58 [1,19-1,80]	1,38 [1,29-1,54]	1,73 [1,34-2,85]	1,67 [1,37-2,39]	0,116	0,125	0,915

Rezultati su prikazani kao medijana (IQR, 25 % - 75 %);

LA – lipoatrofija; LH – lipohipertrofija; MFR – mešoviti tip lipodistrofije; non – LD – bez lipodistrofije; *p1* - *p* vrednosti (LA pacijenti vs. non-LD pacijenti); *p2* – *p* vrednosti (LH vs. non LD pacijenti); *p3* – *p* vrednosti (MFR vs. non LD pacijenti).

Upoređivanjem vrednosti interleukina kod podgrupa pacijenata sa lipodistrofijom (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešani tip lipodistrofije) i pacijenata bez lipodistrofije, vrednosti IL-4 su bile statistički značajno više kod pacijenata sa lipoatrofijom ($p = 0,043$) a vrednosti IL-10 statistički značajno niže ($p = 0,031$). Nisu registrovane razlike u vrednostima IL-4, IL-10, kao i ostalih interleukina između pacijenata sa lipohipertrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije, u odnosu na vrednosti interleukina kod pacijenata bez lipodistrofije (tabela 10.). Međutim, interesantno bi bilo napomenuti da su izmerene više vrednosti IL-6 u krvi pacijenata sa lipohipertrofijom u odnosu na vrednosti kod pacijenata bez lipodistrofije ($p = 0,065$, što je na granici statističke značajnosti).

U tabelama 11. i 12. su prikazane izmerene vrednosti faktora tumorske nekroze alfa (TNF- α), vaskularnog endotelijalnog faktora rasta (VEGF), interferon-gama (IFN- γ),

monocitnog hemoatraktnog proteina 1 (MCP-1), epidermalnog faktora rasta (EGF), cistatina C kao i inhibitora aktivatora plazminogena 1 (PAI-1) u krvi HIV/AIDS bolesnika. *Tabela 11.* prikazuje vrednosti citokina kod HIV/AIDS bolesnika, a koji su podeljeni na osnovu prisustva ili odsustva lipodistrofije. *Tabela 12.* prikazuje pacijente sa lipodistrofijom koji su podeljeni u 3 podgrupe (lipoatrofija, lipohipertrofija i mešoviti tip lipodistrofije); vrednosti navedenih citokina kod tri podgrupe su upoređivane sa vrednostima citokina kod pacijenata bez lipodistrofije.

U našem istraživanju, pacijenti sa lipodistrofijom su imali niže vrednosti TNF- α , VEGF, MCP1 i EGF, kao i više vrednosti IFN- γ , cistatina C i PAI-1 u odnosu na pacijente bez lipodistrofije, ali nije bilo statistički značajne razlike (*tabela 11.*). Upoređivanjem vrednosti ovih citokina kod podgrupa pacijenata sa lipodistrofijom (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) i pacijenata bez lipodistrofije, vrednosti cistatina C su bile statistički značajno više kod pacijenata sa lipohipertrofijom ($p = 0,001$), u poređenju sa pacijentima bez lipodistrofije (*tabela 12.*). Nisu registrovane razlike u vrednostima TNF- α , VEGF, IFN- γ , MCP-1, EGF, i PAI-1, prilikom poređenja različitih podgrupa pacijenata sa lipodistrofijom (lipoatrofija, lipohipertrofija, mešoviti tip lipodistrofije) i pacijenata bez lipodistrofije.

Tabela 11. Izmerene vrednosti TNF- α , VEGF, IFN- γ , MCP-1, EGF, cistatina C i PAI-1 kod HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije

	ukupno	LD	Non LD	<i>p</i>
TNF-α*	3,45	3,39	3,62	0,444
(pg/ml)	[2,74-4,37]	[2,68-4,33]	[2,85-4,41]	
VEGF*	86,77	83,3	114,8	0,979
(pg/ml)	[58,76-6,77]	[60,4-163,5]	[53,6-170,8]	
IFN-γ*	0,51	0,51	0,50	0,697
(pg/ml)	[0,43-0,81]	[0,41-0,74]	[0,44-0,90]	
MCP1*	289,6	276,2	314,5	0,335
(pg/ml)	[240,4-89,6]	[232,8-50,5]	[245,6-367,7]	
EGF*	96,1	93,9	108,5	0,625
(pg/ml)	[49,24-6,12]	[42,6-142,1]	[51,2-144,7]	
Cistatin C**	2,48 \pm 1,68	2,59 \pm 1,93	2,40 \pm 1,49	0,868
(ng/ml)				
PAI – 1**	20,39 \pm 5,72	21,32 \pm 6,37	19,67 \pm 5,13	0,292
(ng/ml)				

* - Rezultati su prikazani kao medijana (IQR, 25 % - 75 %);

** - Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija (SD);

LD - lipodistrofija; non – LD – bez lipodistrofije; TNF- α – faktor tumorske nekroze alfa; VEGF – vaskularni endotelijalni faktor rasta; IFN- γ – interferon gama; MCP-1 – monocitni hemoatraktni protein-1; EGF – epidermalni faktor rasta; PAI-1 – inhibitor aktivatora plazminogena 1; *p* – *p* vrednosti (LD vs. non LD).

Tabela 12. Izmerene vrednosti TNF- α , VEGF, IFN- γ , MCP-1, EGF, cistatina C, PAI-1 kod HIV/AIDS bolesnika bez lipodistrofije i sa lipoatrofijom, lipohipertrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije

	LA	LH	MFR	Non LD	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>
TNF-α*	3,18	4,25	3,50	3,62	0,247	0,588	0,709
(pg/ml)	[2,73-3,94]	[2,72-5,73]	[2,60-4,43]	[2,85-4,41]			
VEGF*	92,7	67,3	78,9	114,8	0,495	0,588	0,588
(pg/ml)	[59,4-239,5]	[32,8-171,2]	[68,8-86,2]	[53,6-170,8]			
IFN-γ*	0,51	0,70	0,48	0,50	0,576	0,259	0,463
(pg/ml)	[0,38-0,66]	[0,48-7,68]	[0,40-0,65]	[0,44-0,90]			
MCP1*	279,7	255,6	280,5	314,5	0,725	0,095	0,613
(pg/ml)	[241,2-365,7]	[157,0-282,2]	[215,8-438,2]	[245,6-367,7]			
EGF*	93,9	47,9	102,2	108,5	0,788	0,125	0,790
(pg/ml)	[40,5-85,3]	[41,4-85,3]	[69,2-152,3]	[51,2-144,7]			
Cistatin C **	1,92 \pm 1,17	6,86 \pm 1,89	2,33 \pm 1,418	2,40 \pm 1,49	0,189	0,001	1,000
(ng/ml)							
PAI – 1**	22,49 \pm 6,32	20,68 \pm 9,96	19,81 \pm 5,12	19,67 \pm 5,13	0,179	0,916	0,769
(ng/ml)							

* - Rezultati su prikazani kao medijana (IQR, 25 % - 75 % interkvartilni raspon);

** - Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija (SD);

LD - lipodistrofija; non – LD – bez lipodistrofije; LA – lipoatrofija; LH – lipohipertrofija; MFR – mešoviti tip lipodistrofije; TNF- α – faktor tumorske nekroze alfa; VEGF – vaskularni endotelijalni faktor rasta; IFN- γ – interferon gama; MCP-1 – monocitni hemoatraktni protein-1; EGF – epidermalni faktor rasta; PAI-1 – inhibitor aktivatora plazminogena 1; *p1* - p vrednosti (LA pacijenti vs. non-LD pacijenti); *p2* – p vrednosti (LH vs. non LD pacijenti); *p3* – p vrednosti (MFR vs. non LD pacijenti).

Koncentracije adiponektina i leptina u krvi HIV/AIDS bolesnika su bili statistički značajno povišene u podgrupi pacijenata sa hipolipertrofijom, u poređenju sa pacijentima bez lipodistrofije. Pored toga, poređenjem između 3 podgrupe pacijenata sa lipodistrofijom dobijene su značajne razlike u koncentracijama adiponektina i leptina: 1) pacijenti sa lipohipertrofijom su imali značajno više vrednosti adiponektina u poređenju sa pacijentima sa

lipoatrofijom ($p = 0,027$) i pacijentima sa mešovitim tipom lipodistrofije ($p = 0,028$); 2) pacijenti sa lipoatrofijom su imali značajno niže nivoe leptina u poređenju sa pacijentima sa lipohipertrofijom ($p = 0,020$) i pacijentima sa mešovitim tipom lipodistrofije ($p = 0,027$).

Kao ključni parametri, adiponektin i leptin su dalje korelisani sa antropometrijskim i metaboličkim parametrima, kao i sa ostalim citokinima koji su mereni u ovom istraživanju (*tabela 13.*). Koncentracije adiponektina u krvi HIV/AIDS bolesnika su bile u pozitivnoj korelaciji sa uzrastom, kao i vrednostima aspartat transaminaze, alkalne fosfataze, interferona gama (IFN- γ) i cistatina C. Dobijeni rezultati prikazani u *tabeli 13.* pokazuju i negativnu korelaciju koncentracija adiponektina u krvi sa obimom struka, indeksom telesne mase (BMI) kao i nivoom inhibitora aktivatora plazminogena 1 (PAI-1). Koncentracije leptina su bile u pozitivnoj korelaciji sa vrednostima IL-6, cistatinom C, kao i nivoima insulina.

U cilju još preciznije procene korelacije vrednosti adiponektina i leptina u krvi kod HIV/AIDS bolesnika i lipodistrofije, primenili smo analizu kovarijanse sa „bootstrapping“ metodom, što je prikazano u *tabeli 14.* Nivoi adiponektina i leptina nisu bili statistički značajno povezani sa prisustvom lipodistrofije ($p = 0,795$ za adiponektin, i $p = 0,646$ za leptin), kada su poređene vrednosti adipocitokina kod pacijenata sa lipodistrofijom i pacijenata bez lipodistrofije. Međutim, kada su pacijenti sa lipodistrofijom podeljeni u 3 podgrupe, analiza kovarijanse je pokazala da korelacija vrednosti adiponektina u krvi ostaje statistički značajna u podgrupi pacijenata sa lipohipertrofijom, nakon prilagođavanja korelacionog modela za uzrast, indeks telesne mase (BMI), cistatin C, inhibitor aktivatora plazminogena 1 (PAI-1) i interferon-gama (IFN- γ) ($p = 0,001$) (*tabela 14.*).

Tabela 13. Korelacioni matriks za adiponektin, leptin, interleukine i antropometrijske i metaboličke parametre kod HIV/AIDS bolesnika

	Adiponektin (ng/ml)	Leptin (ng/ml)	OS (cm)	BMI	uzrast
Adiponektin (ng/ml)	1.000	.285*	-.338**	-.310*	.284*
Leptin (ng/ml)	.285*	1.000	.157	.167	.189
OS (cm)	-.338**	.157	1.000	.912**	.178
BMI	-.310*	.167	.912**	1.000	.182
uzrast	.284*	.189	.178	.182	1.000
AST	.271*	.089	.084	.044	.126
ALT	.209	.208	.186	.197	.088
ALP	.331*	.074	.146	.087	.014
Trigliceridi	-.196	.105	.241	.234	-.034
holesterol	-.131	-.034	-.143	-.115	.238
HDL holesterol	.077	-.071	-.064	-.003	.178
LDL holesterol	-.075	-.010	-.338*	-.283*	.096
IL -2 (pg/ml)	-.020	.164	-.002	-.089	-.086
IL - 4 (pg/ml)	-.020	.019	-.345**	-.313*	-.208
IL - 6 (pg/ml)	.125	.287*	.113	.124	.168
IL - 8 (pg/ml)	.170	.194	-.113	-.133	.078
IL - 10 (pg/ml)	.108	-.082	-.241	-.202	-.196
VEGF (pg/ml)	.058	-.019	.011	.027	.136
IFN- γ (pg/ml)	.256*	.116	-.233	-.254*	-.146
TNF- α (pg/ml)	.190	.145	-.177	-.249*	.007
IL-1 α (pg/ml)	.142	-.089	-.259*	-.227	.143
IL-1 β (pg/ml)	.149	-.001	-.090	-.125	.045
MCP-1 (pg/ml)	-.184	-.005	.165	.166	.056
EGF (pg/ml)	-.198	-.046	.034	.046	.040
Cistatin C (ng/ml)	.372**	.255*	.107	.071	.093
Rezistin (ng/ml)	.024	.106	.037	.087	-.100
Insulin (nIU/ml)	-.210	.461**	.484**	.467**	.178
PAI-1 (ng/ml)	-.340**	.094	.186	.174	.012

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$;

OS – obim struka; BMI – indeks telesne mase; ALT – alanin transaminaza; AST – aspartat transaminaza; ALP - alkalna fosfataza; HDL (High density lipoprotein) – lipoprotein visoke gustine; LDL (Low density lipoprotein) – lipoprotein niske gustine; IL – interleukin; VEGF – vaskularni endotelijalni faktor rasta; IFN- γ – interferon gama; TNF- α – faktor tumorske nekroze alfa; MCP-1 – monocitni hemoatraktni protein 1; EGF - epidermalni faktor rasta; PAI-1 – inhibitor aktivatora plazminogena –1.

Tabela 14. Analiza kovarijance sa „bootstrapping“ metodom: uticaj adiponektina i leptina na prisustvo lipodistrofije (zavisne varijable) kod HIV/AIDS bolesnika

LD	logADP ^a			logLEPT ^b		
	R ²	B (95% CI)	<i>p</i>	R ²	B (95% CI)	<i>p</i>
No		Ref.			Ref.	
LA	0.539	-0.039 (-0.191 to 0.128)	0.655	0.454	-0.125 (-0.307 to 0.067)	0.180
LH		0.610 (0.311 to 0.965)	0.001		0.126 (-0.24 to 0.427)	0.357
MFR		-0.094 (-0.274 to 0.085)	0.303		0.057 (-0.178 to 0.294)	0.631
No		Ref.			Ref.	
Yes	0.427	0.022 (-0.127 to +0.147).	0.795	0.430	-0.036 (-0.193 to 0.104)	0.646

^a Prilagođene vrednosti prema uzrastu, BMI, cistatin C, inhibitoru aktivatora plazminogena – 1 (PAI-1), interferon gama (IFN- γ).

^b Prilagođene vrednosti za interleukin 6 (IL-6), insulin i cistatin C.

LA – lipoatrofija; LH – lipohipertrofija; MFR – mešani tip lipodistrofije; LD – lipodistrofija; R² – determinacioni koeficijent; 95 % CI -95 % Interval poverenja; logADP – logaritamski transformisana nezavisna varijabla (adiponektin); logLEPT – logaritamski transformisana nezavisna varijabla (leptin); *p* – *p* vrednosti.

5 DISKUSIJA

Podtipovi lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika su dinamična stanja koja mogu prelaziti iz jednog podtipa u drugi, bilo usled dejstva samog HIV virusa, bilo kao posledica primenjene antiretrovirusne terapije. Promene u distribuciji masnog tkiva dovode i do smanjenog samopouzdanja, posebno kod adolescenata i mlađih odraslih osoba, što sve vodi ka prestanku uzimanja terapije i neadekvatne kontrole bolesti (Mancini i sar., 2015). Metaboličke komplikacije kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom doprinose povećanom riziku od kardiovaskularnih i hepatičkih oboljenja što dodatno doprinosi i ubrzanom starenju ovih bolesnika (Caron-Debarle i sar., 2010). Uticaj koji cART i HIV infekcija imaju na ekspresiju adipocitokina u adipoznom tkivu je značajan zbog toga što promene u koncentracijama adipocitokina u plazmi mogu da reflektuju disfunkciju adipoznog tkiva kod ovih bolesnika (Fève i sar., 2016; Erlandson i sar., 2016; Mallewa i sar., 2008; Paruthi i sar., 2013; Veloso i sar., 2012; Dragović 2015).

U ovom istraživanju, prevalencija lipodistrofije, kao i podtipova lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika, je bila slična podacima u prethodno objavljenim istraživanjima (Arama i sar., 2014; Freitas i sar., 2014; Belo i sar., 2015). Dosadašnje observacione studije su pokazale veliko variranje u učestalosti lipodistrofije, u zavisnosti od karakteristika ispitanika (pol, uzrast, rasa), vrste i dužine primene antiretrovirusne terapije kao i kriterijuma za postavljanje dijagnoze lipodistrofije (McComsey i sar., 2011; Grunfeld i sar., 2010; Curran i sar., 2012; de Waal i sar., 2013). Potrebno je istaći da nasuprot zemljama u razvoju, prevalencija lipodistrofije kao i lipoatrofije opada u razvijenim zemljama, obzirom da se stari antiretrovirusni režimi zamenjuju sa manje toksičnim lekovima (Guaraldi i sar., 2009.).

Podaci ovog istraživanja ukazuju da su HIV/AIDS bolesnici koji su u dužem periodu primali antiretrovirusnu terapiju imali i izraženije promene u redistribuciji adipoznog tkiva. HIV/AIDS bolesnici sa 3 različita podtipa lipodistrofije su duže primali cART, u poređenju sa bolesnicima bez lipodistrofije. Prethodno objavljena istraživanja sa HIV bolesnicima su pokazala slične rezultate (Finkelstein i sar., 2015; Margolis i sar., 2014). U našem istraživanju smo takođe pokazali da su sve tri podgrupe pacijenata sa lipodistrofijom primale i veći broj cART kombinacija, u poređenju sa bolesnicima bez lipodistrofije. Različite cART kombinacije su uglavnom sadržale starije antiretrovirusne lekove, koji se još uvek koriste u Srbiji (Dragović i sar., 2009; Kušić i sar., 2016).

Brojna, do sada sprovedena istraživanja, nedvosmisleno su potvrdila povezanost

cART-a i pojave lipodistrofije, iako je sam patofiziološki mehanizam ostao do kraja nerasvetljen. Različite hipoteze su predložene u cilju razotkrivanja patogeneze lipodistrofije: primena sa NRTI i PI je bila povezana sa mitohondrijalnom toksičnošću i oksidativnim stresom (Cote i sar., 2007; Fleischman i sar., 2007), poremećaj adipogeneze i diferencijacije adipocita (Capel i sar., 2012; Kitazawa i sar., 2014; Diaz-Delfin i sar., 2011; Diaz-Delfin i sar., 2012; Domingo i sar., 2014), poremećaj ekspresije gena koji su bitni za metabolizam lipida (Riddle i sar., 2001), poremećaj lipolize (Capel i sar., 2012; Kitazawa i sar., 2014; Minami i sar., 2011).

Rezultati nedavno objavljenog istraživanja sugerišu da adipozno tkivo predstavlja i rezervoar za HIV virus obzirom da adipociti pojačavaju aktivaciju CD4 T limfocita kao i HIV replikaciju (Couturier i sar., 2015). Sa druge strane, reorganizacija adipoznog tkiva, koja se javlja kod HIV bolesnika sa lipodistrofijom, može nastati i zbog oštećenja ekstracelularnog matriksa i povišene ekspresije kolagena i fibronektina što kasnije dovodi i do fibroze (Giralt i sar., 2011), odnosno barijere koja onemogućava prolazak antiretrovirusnih lekova u adipozno tkivo (Couturier i sar., 2015).

Pacijenti sa lipodistrofijom u ovom istraživanju su bili stariji u odnosu na bolesnike bez lipodistrofije. Populacija bolesnika u našem istraživanju je bila slična zapadnoevropskim zemljama sa dominantnom MSM grupom (populacija muškaraca koji su imali seks sa muškarcima) (Likatavicius i sar., 2011).

Rezultati našeg istraživanja ukazuju na kompleksnu ulogu adipocitokina u lipodistrofiji, kao i u različitim podtipovima lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika. Iako je otkriven pre više od dve decenije, leptin se i dalje nalazi u fokusu brojnih istraživanja, prvenstveno zbog kompleksne uloge koju ima u imunom sistemu, kao i raznim metaboličkim i neuroendokrinim funkcijama (Blüher, 2014). U našem istraživanju, HIV/AIDS bolesnici sa lipodistrofijom su imali niže koncentracije leptina u krvi, u poređenju sa bolesnicima bez lipodistrofije, ali razlika nije bila statistički značajna. Efekt koji cART ima na koncentracije leptina kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom je i dalje predmet brojnih kontroverzi. Dok jedni autori (Calmy i sar., 2009; Nagy i sar., 2003; Tsoukas i sar., 2015) prijavljuju hipoleptinemiju kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom, drugi ističu da cART nema dejstvo na koncentracije leptina (Mynarcik i sar., 2002; Dzwonek i sar., 2007; Leszczyszyn-Pynka i sar., 2005). HIV/AIDS bolesnici sa lipoatrofijom su, u našem istraživanju, imali statistički značajno niže vrednosti u poređenju sa pacijentima sa lipohipertrofijom, kao i pacijentima sa mešovitim tipom lipodistrofije. Ovi rezultati su slični podacima dobijenim u drugim istraživanjima (Freitas i sar., 2014; Kosmiski i sar., 2008; Nagy i sar., 2003; Kelesidis

i sar., 2010), gde su pacijenti sa lipoatrofičnim promenama imali najniže koncentracija leptina u krvi u poređenju sa pacijentima sa lipohipertrofijom, koji su imali najviše koncentracije leptina. Međutim, druga istraživanja nisu pokazala ovakve rezultate, najverovatnije zbog toga što pacijenti nisu dalje deljeni prema podtipu lipodistrofije (Mynarcik i sar., 2002; Dzwonek i sar., 2007). U našem istraživanju, leptin je bio u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijama u krvi IL-6, i insulina, što je slično rezultatima u prethodno objavljenim studijama (Nagy i sar., 2003; Langkilde i sar., 2015). Brojna istraživanja (Nagy i sar., 2003; Lee i sar., 2006; Veloso i sar., 2012; Moon i sar., 2013) su ukazala na značaj povezanosti koncentracija leptina i insulinske rezistencije kod pacijenata sa lipodistrofičnim promena. Langkilde i sar. sugerišu da su visoke koncentracije kod pacijenata sa lipohipertrofijom povezane sa rezistencijom na leptin što može kasnije uticati i na pojavu insulinske rezistencije (Langkilde i sar., 2015).

Adiponektin je protein plazme koji se stvara u adipoznom tkivu, sa antiinflamatornim, antioksidativnim i vazodilatatornim efektima (Dalamaga i sar., 2012; Veloso i sar., 2012; Groeneveld i sar., 2012). Studije objavljene do sada su pokazale da se pojedini antiretrovirusni lekovi akumuliraju u adipocitima i dovode do nishodne regulacije aktiviranog receptora za proliferaciju peroksizoma gama (PPAR- γ) i sekrecije adiponektina (Vernochet i sar., 2005; Lagathu i sar., 2007; Jones i sar., 2008). Disfunkcija adipoznog tkiva i antiretrovirusni lekovi mogu dovesti do poremećaja u sekreciji adiponektina. U našem istraživanju, pacijenti sa lipodistrofijom su imali veće koncentracije adiponektina u krvi, u poređenju sa pacijentima bez lipodistrofije, iako razlika nije bila statistički značajna. Naši rezultati pokazuju i da pacijenti sa lipohipertrofijom imaju značajno povišene koncentracije ovog adipocitokina, u odnosu na pacijente bez lipodistrofije, kao i u odnosu na pacijente sa lipoatrofijom i mešovitim tipom lipodistrofije. Slično našim rezultatima, Luo i saradnici su kod HIV/AIDS pacijenata sa lipodistrofijom, lečenih antiretrovirusnom terapijom, pokazali povišene koncentracije adiponektina u poređenju sa pacijentima bez lipodistrofije (Luo i sar., 2009). Ovi autori takođe sugerišu pojavu postepene nishodne regulacije koncentracija adiponektina u krvi, imajući u vidu činjenicu da u grupi pacijenata sa lipodistrofijom, posle 18 meseci, dolazi do pada koncentracija adiponektina. Iako pojedini autori ističu značaj sniženih vrednosti adiponektina kod HIV/AIDS pacijenata sa lipodistrofijom (Freitas i sar., 2014; Kosmiski i sar., 2008; Addy i sar., 2003), Yamamoto i saradnici su nedavno pokazali da povišene koncentracije adiponektina mogu biti udružene sa smanjenim rizikom od pojave dijabetes melitusa tip II, nezavisno od lokalizacije akumuliranog adipoznog tkiva (Yamamoto i sar., 2014). U našem istraživanju, HIV/AIDS pacijenti su pokazali i značajnu negativnu korelaciju između koncentracija adiponektina i obima struka, BMI i koncentracija PAI-1, kao

i pozitivnu korelaciju sa uzrastom, koncentracijom AST i ALP, IFN- γ i cistatin C. Naši rezultati su u skladu sa rezultatima iz drugih istraživanja koja su ispitala povezanost visceralne gojaznosti i koncentracije adiponektina (Freitas i sar., 2014; Kosmiski i sar., 2008; Addy i sar., 2003).

Rezistin je još jedan protein koji se stvara u adipocitima i koji u poslednje vreme izaziva pažnju. U literaturi se opisuje njegova značajna uloga u gojaznosti, insulinskoj rezistenciji i dijabetesu. Naime, povišene koncentracije ovog citokina su opisane kod gojaznih pacijenata kao i dijabetičara, kao i kod pacijenata koji nisu gojazni ali imaju potvrđenu insulinsku rezistenciju (Blüher, 2014). U našem istraživanju nije bilo značajnih razlika u koncentracijama rezistina, između HIV/AIDS bolesnika sa ili bez lipodistrofije. Bolesnici sa lipohipertrofijom jesu imali više koncentracije ovog citokina u odnosu na pacijente bez lipodistrofije, ali razlika nije bila značajna. Slični rezultati su objavljeni i u drugim istraživanjima (Freitas i sar., 2014; Barb i sar., 2005). Međutim, u istraživanju Arama i sar. je nedavno pokazano da su HIV/AIDS bolesnici sa lipoatrofijom imali povišene vrednosti rezistina (Arama i sar., 2014). Uloga i značaj ovog citokina i dalje ostaje predmet kontroverzi obzirom na kontradiktorne rezultate u prethodno objavljenim istraživanjima, iako su prvobitni rezultati dobijeni u studijama na animalnim modelima bili vrlo „obećavajući“ (Nogueiras i sar., 2010). Ranade i sar. u svom istraživanju ističu značaj genetske varijacije rezistina koja može biti povezana sa metaboličkim komplikacijama usled primene cART (Ranade i sar., 2008). Ovi autori sugerišu i da upravo parakrini efekti rezistina mogu biti značajni u lipodistrofiji kod HIV bolesnika, a da izmerene koncentracije rezistina u plazmi ne odgovaraju koncentracijama rezistina na pravom mestu delovanja, odnosno u adipoznom tkivu.

Faktor tumorske nekroze alfa (TNF- α) je citokin koji je snažno eksprimiran u adipoznom tkivu, i koji je snažni induktor apoptoze adipocita. Povišene vrednosti ovog citokina su opisane kod HIV bolesnika sa lipodistrofijom i koji primaju cART (Domingo i sar., 2005; Wong i sar., 2005; Jonson i sar., 2004; Hauner i sar., 2005). U literaturi se opisuju povišene vrednosti TNF- α u visceralnom adipoznom tkivu u odnosu na subkutano adipozno tkivo (Cao i sar., 2008). Na ravnotežu TNF- α sistema značajno utiče i sama HIV infekcija (Vidal i sar., 2011), obzirom da je pokazano da su vrednosti TNF- α povišene kod HIV inficiranih pacijenata kao i da one drastično padaju nakon uvođenja antiretrovirusne terapije (Domingo i sar., 2005). Pojedini autori sugerišu da upravo zbog supresije TNF- α pri primeni cARTa dolazi do razvoja lipohipertrofije i akumulacije visceralnog adipoznog tkiva, obzirom da je TNF- α poznat kao faktor koji dovodi do kaheksije i mršavljenja (de Waal i sar., 2013;

Haissman i sar., 2009). U našem istraživanju nije bilo značajnih razlika u vrednostima ovog citokina, između pacijenata sa ili bez lipodistrofije, kao ni između različitih podtipova lipodistrofije. Obzirom da su svi pacijenti primali cART, u dužem ili kraćem vremenskom periodu, antiretrovirusna terapija je najverovatnije dovela i do normalizacije koncentracija inflamatornih markera kao što je i TNF- α . Pored toga, vrednosti TNF- α su bile u negativnoj korelaciji sa BMI kod HIV/AIDS bolesnika, što je u skladu sa prethodno objavljenim istraživanjem (Koethe i sar., 2013).

U našem istraživanju, nismo dobili značajne razlike u vrednostima PAI-1 između HIV/AIDS pacijenata sa lipodistrofijom i bez lipodistrofije, kao i između podgrupa pacijenata sa različitim tipom redistribucije masti. Slične rezultate su pokazali i Padilla i sar. (Padilla i sar., 2011). Međutim, naši rezultati pokazuju negativnu korelaciju koncentracija adiponektina i inhibitora aktivatora plazminogena 1 (PAI-1), što je u skladu sa istraživanjem Masia i saradnika (Masia i sar., 2010). Brojna istraživanja ističu značaj povišenih koncentracija PAI-1 kod HIV bolesnika sa lipodistrofijom (He i sar., 2005; Yki i sar., 2003). Sa druge strane, Domingo i saradnici (Domingo i sar., 2005) su pokazali da pacijenti bez lipodistrofije kao i pacijenti sa mešovitim tipom lipodistrofije imaju povišene vrednosti PAI-1, a Freitas i saradnici (Freitas i sar., 2014) su pokazali da se najniže koncentracije PAI-a nalaze kod pacijenata sa izolovanom centralnom akumulacijom masti. Masia i saradnici sugerišu da je lipodistrofija kod HIV/AIDS bolesnika povezana sa endotelnom disfunkcijom i markerima ateroskleroze (kao što je PAI-1) što povećava i rizik za pojavu kardiovaskularnih oboljenja kod ovih pacijenata. U svetlu ovih kontroverznih rezultata, Van Vonderen i saradnici sugerišu da mikrocirkulacija i krvni sudovi mogu različito reagovati na antiretrovirusne lekove i da različiti ne-endotelni mehanizmi, uključujući i promene u ekstracelularnom matriksu, funkciji vaskularnih glatkih mišića mogu uticati na koncentracije PAI-1 (van Vonderen i sar., 2009). U prilog tezi o postojanju različitih ne-endotelnih mehanizama i uticaja antiretrovirusne terapije, ide i činjenica da su u istraživanju He i saradnika koncentracije PAI-1 bile značajno povišene kod HIV bolesnika sa lipodistrofijom u poređenju sa grupom HIV bolesnika bez lipodistrofije, iako nije bilo razlike između dve grupe u iRNK ekspresiji za PAI-1 u adipoznom tkivu.

Prema našem saznanju, u ovom istraživanju su po prvi put pokazane značajno niže koncentracije IL-4 kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom, u poređenju sa pacijentima bez lipodistrofije. Prethodna istraživanja koja su ispitivala IL-4 nisu pokazala razlike između HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije, kao i između podtipova lipodistrofije (Belo i sar., 2015; Norbiato i sar., 2000). Određena istraživanja su pokazala povezanost IL-4 i insulinske

senzitivnosti (Falasca i sar., 2007; Norbiato i sar., 2000; van Exel i sar., 2002). Smatra se da IL-4 ima značajnu ulogu u regulaciji metabolizma glukoze i lipida tako što utiče na insulinsku senzitivnost i toleranciju na glukozu (Ji i sar., 2012; Ricardo-Gonzales i sar., 2012). Snižena insulinska senzitivnost smanjuje preuzimanje slobodnih masnih kiselina u cirkulaciju i to kasnije može dovesti i do lipodistrofije (De Wit i sar., 2003). Naši rezultati pokazuju i negativnu korelaciju između koncentracija IL-4 i BMI. Ovi rezultati se mogu očekivati obzirom da većina autora sugeriše da IL-4 inhibira akumulaciju adipoznog tkiva i da je na taj način ovaj citokin inverzno proporcionalan telesnoj težini (Ricardo-Gonzales i sar., 2010; Tsao i sar., 2014).

Naši rezultati pokazuju i značajno niže koncentracije IL-10 kod HIV/AIDS pacijenata sa lipodistrofijom u poređenju sa pacijentima bez lipodistrofije. Styliou i saradnici su pokazali nishodnu regulaciju nivoa IL-10 usled primene cART-a (Styliou i sar., 1999). Norbiato i saradnici su, slično našim rezultatima pokazali niže koncentracije ovog citokina kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom (Norbiato i sar., 2000), za razliku od Pontes i saradnika u čijem istraživanju su HIV/AIDS bolesnici sa lipodistrofijom imali više koncentracije IL-10 u odnosu na pacijente bez lipodistrofije (Pontes-Cardoso i sar., 2007).

Studije objavljene do sada sugerišu da su koncentracije cistatina C u plazmi kod HIV bolesnika više u odnosu na opštu populaciju (Neuhaus i sar., 2010; Odden i sar., 2007). Nedavno su Liu i saradnici pokazali i povezanost cistatina C sa insulinskom rezistencijom, komponentama metaboličkog sindroma i inflamacije (Liu i sar., 2014). Salgado i sar. sugerišu da cistatin ima značajnu ulogu u alteraciji adipoznog tkiva, možda čak i važniju od one u bubrežnoj funkciji (Salgado i sar., 2012). U do sada objavljenoj literaturi ima vrlo malo radova o cistatinu C kod bolesnika sa HIV infekcijom, a posebno kada je reč o pridruženoj alteraciji adipoznog tkiva odnosno lipodistrofije. Zbog toga su posebno značajni rezultati koje smo dobili u našem istraživanju, gde je cistatin C bio značajno povišen kod HIV/AIDS bolesnika sa lipohipertrofijom. Naši rezultati pokazuju i značajne pozitivne korelacije između adiponektina i cistatina C, kao i leptina i cistatina C. Prema dostupnoj literaturi, nije bilo istraživanja sa sličnim rezultatima, a posebno kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom. Prema našem saznanju, ovo je prva studija koja je pokazala pozitivnu korelaciju cistatina C sa leptinom i adiponektinom kod HIV/AIDS bolesnika. Tačan mehanizam ove povezanosti još nije do kraja razjašnjen i novija istraživanja će u narednom periodu, nadamo se, dati odgovore na ova pitanja.

Uprkos brojnim istraživanjima primarni uzrok lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika još uvek ostaje nerazjašnjen. Da li lipodistrofija nastaje usled HIV infekcije ili usled primene

antiretrovirusne terapije?! U tom svetlu, naše istraživanje predstavlja još jedan pomak i podsticaj u tumačenju mnogobrojnih kompleksnih mehanizama i mogućih interakcija različitih citokina koji prate stanje lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika. Potrebno je istaći i da drugi faktori, kao npr. pridružene bolesti ili određeni lekovi, takođe mogu uticati na rezultate istraživanja i otežati adekvatnu interpretaciju dobijenih rezultata korelacije između HIV-a, antiretrovirusne terapije i lipodistrofije. Kardiovaskularne bolesti kod HIV/AIDS bolesnika su posebno značajne kada se govori o lipodistrofiji i poremećaju distribucije adipoznog tkiva (Padilla i sar., 2011). Sa druge strane, HIV infekcija direktno može uticati na aktivaciju endotelnih ćelija, tako što menja njihov fenotip iz antitrombotičkog u protrombotički i dovodeći do perzistentne inflamacije (Francisci i sar., 2009). Novija istraživanja sve više ističu značaj farmakogenetičkih studija kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom, imajući u vidu činjenicu da se lipodistrofija ne javlja kod svih bolesnika, iako primaju iste terapijske režime antiretrovirusnih lekova (Vidal i sar., 2011).

Naši rezultati pokazuju značajne razlike u koncentracijama adiponektina i leptina, između HIV/AIDS bolesnika sa i bez lipodistrofije, između bolesnika sa lipohipertrofijom i bez lipodistrofije, kao i između različitih podtipova lipodistrofije. Oba adipocitokina bi mogli biti značajni prognostički markeri kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofije. Zbog toga smo sproveli i statističko modelovanje sa „bootstrapping“ metodom kako bi dodatno ispitali korelacije adiponektina i leptina i različitih podtipova lipodistrofije. Korelacija adiponektina sa lipodistrofijom ostaje statistički značajna u podgrupi pacijenata sa lipohipertrofijom, nakon dodavanja kovarijabli kao što su uzrast, BMI, cistatin C, PAI-1 i IFN γ . Svi gore navedeni rezultati podržavaju hipotezu da stalno praćenje koncentracija adiponektina, zajedno sa ostalim metaboličkim parametrima, može poboljšati promene u distribuciji adipoznog tkiva koje se javlja kod HIV/AIDS bolesnika koji primaju cART (Bonnet i sar., 2010; Tao i sar., 2009). Pored toga, adiponektin može biti i novi „target“ u novim terapijskim strategijama za lečenje lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika.

Prava uloga adiponektina i ostalih citokina koje stvara adipozno tkivo još nije precizno definisana, ali je bez sumnje važna. U našem istraživanju smo želeli da istaknemo važnu ulogu adipocita i adipoznog tkiva u metaboličkim poremećajima kod HIV/AIDS bolesnika koji primaju antiretrovirusnu terapiju. Rezultati ovog istraživanja bi mogli biti od koristi i drugim zemljama u razvoju gde se još uvek primenjuju stari antiretrovirusni terapijski režimi. Kompleksne interakcije i poremećaji sekrecije adipocitokina od strane adipoznog tkiva jesu i biće i dalje predmet intenzivnog istraživanja u narednom periodu.

6 ZAKLJUČCI

U skladu sa postavljenim ciljevima ovog istraživanja, a na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Učestalost lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika je 44 %. Kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom, učestalost lipoatrofije je 52 %, lipohipertrofije 14 % a mešovitog tipa lipodistrofije je 34 %.
2. HIV/AIDS bolesnici sa lipodistrofijom su primali cART u dužem vremenskom periodu kao i veći broj antiretrovirusnih kombinacija u poređenju sa bolesnicima bez lipodistrofije. Sve tri podgrupe HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom su primale cART u značajno dužem vremenskom periodu kao i veći broj cART kombinacija u odnosu na pacijente bez lipodistrofije.
3. Snižene koncentracije IL-4 i IL-10 su registrovane kod HIV/AIDS bolesnika sa lipodistrofijom u odnosu na HIV/AIDS bolesnike bez lipodistrofije.
4. HIV/AIDS bolesnici sa lipohipertrofijom su imali značajno povišene vrednosti adiponektina, leptina, kao i cistatina C u poređenju sa HIV/AIDS bolesnicima bez lipodistrofije.
5. HIV/AIDS bolesnici sa lipoatrofijom su imali značajno niže vrednosti IL-4 i značajno više vrednosti IL-10 u poređenju sa HIV/AIDS bolesnicima bez lipodistrofije.
6. Koncentracije leptina su bile u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijama IL-6, C-peptida i insulina.
7. Koncentracije adiponektina su bile u negativnoj korelaciji sa obimom struka, BMI i koncentracijama PAI-1, a u pozitivnoj korelaciji sa uzrastom, AST, ALP, IFN- γ i cistatinom C.
8. Korelacija adiponektina sa lipodistrofijom ostaje statistički značajna u podgrupi lipohipertrofije, nakon prilagođavanja korelacionog modela dodavanjem kovarijabli kao što su uzrast, BMI, cistatin C, PAI-1 i IFN- γ . Zbog značajne povezanosti adiponektina i lipodistrofije, ovaj adipocitokin bi mogao biti novi "target" u budućim terapijskim strategijama lečenja lipodistrofije kod HIV/AIDS bolesnika.

7 LITERATURA

1. Aboud M, Elgalib A, Kulasegaram R, et al. Insulin resistance and HIV infection: a review. *Int J Clin Pract* 2007;61(3):463-72.
2. Addy CL, Gavrilu A, Tsiodras S, et al. Hypoadiponectinemia is associated with insulin resistance, hypertriglyceridemia, and fat redistribution in human immunodeficiency virus-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(2):627–36.
3. Agarwal N, Balasubramanyam A. Viral mechanisms of adipose dysfunction: lessons from HIV-1 Vpr. *Adipocyte* 2015; 4:55-9.
4. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the study of Obesity. *Circulation* 2009; 120(16):1640-5.
5. Alonso-Villaverde C, Coll B, Parra S et al. Atherosclerosis in patients infected with HIV is influenced by a mutant monocyte chemoattractant protein-1 allele. *Circulation* 2004; 110(15): 2204–9.
6. Alves MD, Brites C, Eduardo S. HIV-associated lipodystrophy: a review from a Brazilian perspective. *Ther Clin Risk Manage* 2014; 10:559-66.
7. Arama V, Munteanu DI, Streinu Cercel A, et al. Lipodystrophy syndrome in HIV-treatment-multiexperienced patients: implication of resistin. *J Endocrinol Invest* 2014;37(6):533-9.
8. Arjun BY, Unnikrishnan B Ramapuram JT, et al. Factors Influencing Quality of Life among People Living with HIV in Coastal South India. *J Int Assoc Provid AIDS CARE* 2017;16(3):247-53.

9. Arts EJ, Hazuda DJ. HIV-1 Antiretroviral Drug Therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2:a007161.
10. Asefy Z, Mirinejad M, Amirrasooli H, et al. Assessing validity of serum cystatin C for predicting metabolic syndrome. *Pak J Biol Sci* 2014;17(4):582–585.
11. Autran B, Carcelain G, Li TS, et al. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4⁺ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* 1997; 277:112-6
12. Baba AS, Harper JM, Buttery PJ. Effects of gastric inhibitory polypeptide, somatostatin and epidermal growth factor on lipogenesis in ovine adipose explants. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2000; 127(2): 173–82.
13. Back D, Else L. The importance of drug-drug interactions in the DAA era. *Dig Liver Dis* 2013; 45(5):S343-8.
14. Baggiolini M. Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* 1998; 392(6676): 565–8.
15. Balagopal A, Philp FH, Astemborski J, et al. Human immunodeficiency virus-related microbial translocation and progression of hepatitis C. *Gastroenterology* 2008; 135:226-33.
16. Barb D, Wadhwa SG, Kratzsch J, et al. Circulating resistin levels are not associated with fat redistribution, insulin resistance, or metabolic profile in patients with the highly active antiretroviral therapy-induced metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(9):5324-8.
17. Barbaro G. Metabolic and cardiovascular complications of highly active antiretroviral therapy for HIV infection. *Curr HIV Res* 2006; 4(1):79–85.
18. Baril JG, Junod P, LeBlanc R, et al. HIV-associated lipodystrophy syndrome: A review of clinical aspects. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2005; 16(4):233-43.
19. Barragan P, Fisac C, Podzamczar D. Switching strategies to improve lipid profile and morphologic changes. *AIDS Rev* 2006; 8(4):191-203.

20. Behrens G, Reinhold ES. Lipodystrophy syndrome. Chapter 8 HIV In: Christian Hoffmann and Jürgen K. Rockstroh (ed) Medizin Fokus Verlag, Berlin (2011).
21. Bekele T, Rourke SB, Tucker R, et al. Direct and indirect effects of perceived social support on health-related quality of life in persons living with HIV/AIDS. *AIDS Care* 2013;25(3):337-46.
22. Belo S, Santos AC, Madureira A, et al. IL-4 and IL-6 levels and adipose tissue distribution in HIV-1 patients under antiretroviral therapy. *J Endocrinol Invest* 2015; 38(7):779-84.
23. Bereziat V, Cervera P, Le Dour C, et al. LMNA mutations induce a non-inflammatory fibrosis and a brown fat-like dystrophy of enlarged cervical adipose tissue. *Am J Pathol* 2011;179(5):2443-53.
24. Bernardino JI, Pulido F, Martinez E. Switching to lopinavir/ritonavir with or without abacavir/lamivudine in lipoatrophic patients treated with zidovudine/abacavir/lamivudine. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68(6):1373-81.
25. Blüher M. Clinical relevance of adipokines. *Diabetes Metab J* 2012; 36:317-27.
26. Blüher M. Adipose tissue dysfunction contributes to obesity related metabolic diseases. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2013;27(2):163-77.
27. Blüher M. Adipokines - removing road blocks to obesity and diabetes therapy. *Mol Metab* 2014; 3(3):230-40.
28. Bociaga-Jasik M, Polus A, Goralska J, et al. Metabolic effects of the HIV protease inhibitor-saquinavir in differentiating human preadipocytes. *Pharmacol Rep* 2013; 65(4):937-50.
29. Bonnet E. New and emerging agents in the management of lipodystrophy in HIV-infected patients. *HIV AIDS* 2010;2:167-78.

30. Boulle A, Orrel C, Kaplan R, et al. Substitutions due to antiretroviral toxicity or contraindication in the first 3 years of antiretroviral therapy in a large South African cohort. *Antivir Ther* 2007;12(5):753-60.
31. Brown TT. Approach to the human immunodeficiency virus-infected patient with lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(8):2937-45.
32. Bruun JM, Pedersen SB, Richelsen B. Regulation of interleukin 8 production and gene expression in human adipose tissue in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(3):1267-73.
33. Calderon B, Suri A, Pan XO, et al. IFN-gamma-dependent regulatory circuits in immune inflammation highlighted in diabetes. *J Immunol* 2008;181(10):6964-74.
34. Calmy A, Gayet-Ageron A, Montecucco F, et al. HIV increases markers of cardiovascular risk: results from a randomized, treatment interruption trial. *AIDS* 2009; 23:929-39.
35. Campos LN, Cesar CC, Guimaraes MCD. Quality of life among HIV/AIDS patients after initiating antiretroviral therapy. *Clinics* 2009;64(9):867-75.
36. Cao Y. Angiogenesis modulates adipogenesis and obesity. *J Clin Invest* 2007;117:2362-8.
37. Cao YL, Hu CZ, Meng X et al. Expression of TNF- α protein in omental and subcutaneous adipose tissue in obesity. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 79(2): 214-9.
38. Capel E, Auclair M, Caron-Debarle M, et al. Effects of ritonavir-boosted darunavir, atazanavir and lopinavir on adipose functions and insulin sensitivity in murine and human adipocytes. *Antivir Ther* 2012; 17:549-56.
39. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003;9(6):653-60.
40. Caron-Debarle M, Lagathu C, Boccara F, et al. HIV-associated lipodystrophy: from fat injury to premature aging. *Trends Mol Med* 2010; 16(5):218-29.

41. 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(7):F51-8.
42. Carr A, Emery S, Law M, et al. An objective case definition of lipodystrophy in HIV-infected adults: a case-control study. *Lancet* 2003; 361(9359):726-35
43. Catalan V, Gomez-Ambrosi J, Rodriguez A, et al. Adipokines in the treatment of diabetes mellitus and obesity. *Expert Opin Pharmacother* 2009; 10(2):239-54.
44. CDC. 1993 Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults. *MMWR* 1992; 41(RR-17)
45. Chacon MR, Fernandez-Real JM, Richart C et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in obesity and type 2 diabetes. Insulin Sensitivity Study. *Obesity (Silver Spring)* 2007; 15: 664–72.
46. Chaparro J, Reeds DN, Wen W, et al. Alterations in thigh subcutaneous adipose tissue gene expression in protease inhibitor-based highly active antiretroviral therapy. *Metabolism* 2005;54(5):561–7.
47. Cho Y, Lee SE, Lee HC, et al. Adipokine resistin is a key player to modulate monocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells, leading to progression of atherosclerosis in rabbit carotid artery. *J Am Coll of Cardiol* 2011;57(1):99–109.
48. Chou K, Perry CM. Metreleptin: first global approval. *Drugs* 2013; 73(9):989-97.
49. Chuapai Y, Kiertiburanakul S, Malathum K, et al. Lipodystrophy and dyslipidemia in human immunodeficiency virus-infected Thai patients receiving antiretroviral therapy. *J Med Assoc Thai* 2007;90(3):452-8.
50. Clumeck N, Pozniak A, Raffi F, EACS Executive Committee. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of HIV-infected adults. *HIV Med* 2008;9:65–71.

51. Coll B, Parra S, Alonso-Villaverde C et al. HIV-infected patients with lipodystrophy have higher rates of carotid atherosclerosis: the role of monocyte chemoattractant protein-1. *Cytokine* 2006; 34: 51–5.
52. Coll B, Parra S, Alonso-Villaverde C, et al. The role of immunity and inflammation in the progression of atherosclerosis in patients with HIV infection. *Stroke* 2007;38(9):2477-84.
53. Coll B, Alonso-Villaverde C, Joven J. Monocyte chemoattractant protein-1 and atherosclerosis: is there room for an additional biomarker? *Clin Chim Acta* 2007; 383: 21–9.
54. Cortes VA, Fernandez-Galilea M. Lipodystrophies: adipose tissue disorders with severe metabolic implications. *J Physiol Biochem* 2015; 71(3):471-8.
55. Cote HC. Mechanisms of antiretroviral therapy-induced mitochondrial dysfunction. *Curr Opin HIV AIDS* 2007;2(4):253-60.
56. Cournil A, Coudray M, Kouanfack C, et al. Reduced dose of stavudine and lipodystrophy in HIV-infected patients in Camaroon. *Antivir Ther* 2010; 15(7):1039-43.
57. Couturier J, Suliburk JW, Brown JM, et al. Human adipose tissue as a reservoir for memory CD4+ T cells and HIV. *AIDS* 2015; 29(6):667-74.
58. Crowe, S.M., Westhorpe, Mukhamedova N, et al. The macrophage: the intersection between HIV infection and atherosclerosis. *J Leukoc Biol* 2010; 87(4): 589–98.
59. Curran A, Martinez E, Saumoy M, et al. Body composition changes after switching from protease inhibitors to raltegravir: SPIRAL-LIP substudy. *AIDS* 2012; 26:475-81.
60. Dalamaga M, Diakopoulos KN, Mantzoros CS. The role of adiponectin in cancer: a review of current evidence. *Endocr Rev* 2012;33(4):547-94.

61. Damouche A, Lazure T, Avettand-Fenoel V, et al. Adipose Tissue Is a Neglected Viral Reservoir and an Inflammatory Site during Chronic HIV and SIV Infection. *Plos Pathog* 2015; 11(9):e1005153.
62. Dardeno TA, Chou SH, Moon HS, et al. Leptin in human physiology and therapeutics. *Front Neuroendocrinol* 2010;31(3):377-93.
63. Del Rio C, Curran JW (2010). Epidemiology and prevention of acquired immunodeficiency syndrome and human immunodeficiency virus infection. In GL Mandell et al., eds., Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed., vol. 1, pp. 1635-1661. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier.
64. De Waal R, Cohen K, Maartens G. Systematic Review of Antiretroviral-Associated Lipodystrophy: Lipoatrophy, but Not Central Fat Gain, Is an Antiretroviral Adverse Drug Reaction. *PloS One* 2013;8(5):e63623.
65. De Wit S, Wand H, Law M, et al. Prevalence of lipodystrophy and retinoid syndrome in a 48-week randomized trial to evaluate safety and efficacy of indinavir/ritonavir 800/100 mg versus saquinavir/ritonavir 1000/100 mg. Program and abstracts of the 9th European AIDS Conference 2003; 2:2529
66. Diaz-Delfin J, Gutierrez Mdel M, Gallego-Escuredo JM, et al. Effects of nevirapine and efavirenz on human adipocyte differentiation, gene expression, and release of adipokines and cytokines. *Antiviral Res* 2011;91:112-9.
67. Diaz-Delfin J, Domingo P, Mateo MG. Effects of rilpivirine on human adipocyte differentiation, gene expression, and release of adipokines and cytokines. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(6):3369-75.
68. Domingo P, Vidal F, Domingo JC, et al. Tumour necrosis factor alpha in fat redistribution syndromes associated with combination antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients: potential role in subcutaneous adipocyte apoptosis. HIV-Frs Study Group. *Eur J Clin Investig* 2005;35(12):771-80.

69. Domingo P, Gutierrez Mdel M, Gallego-Escuredo JM, et al. Effects of switching from stavudine to raltegravir on subcutaneous adipose tissue in HIV-infected patients with HIV/HAART-associated lipodystrophy syndrome (HALS). A clinical and molecular study. *PloS One* 2014; 9(2):e89088.
70. Dragomir E, Simionescu M. Monocyte chemoattractant protein-1—a major contributor to the inflammatory process associated with diabetes. *Arch Physiol Biochem* 2006; 112(4/5): 239–44.
71. Dragovic G, Smith CJ, Jevtovic DJ, et al. Comparison of nucleoside reverse transcriptase inhibitor use as part of first-line therapy in a Serbian and a UK clinic. *HIV Clin Trials*, 2009, 10:306-13.
72. Dragovic G, Danilovic D, Dinic A, et al. Lipodystrophy induced by combination antiretroviral therapy in HIV/AIDS patients: A Belgrade Cohort Study. *Vojnosanit Pregl* 2014; 71(8):746-50.
73. Dragovic G. The role of adipokines in HIV lipodystrophy. *Germes* 2015; 5(3):64.
74. Dzwonek AB, Novelli V, Scwenk A, et al. Serum leptin concentrations and fat redistribution in HIV-1-infected children on highly active antiretroviral therapy. *HIV Medicine*, 2007, 8(7):433-8.
75. Elias I, Franckhauser S, Ferre T, et al. Adipose Tissue Overexpression of Vascular Endothelial Growth Factor Protects Against Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes* 2012; 61(7): 1801–13.
76. Erlandson KM, Lake JE. Fat Matters: Understanding the Role of Adipose Tissue in Health in HIV Infection. *Curr HIV/AIDS Rep* 2016;13(1):20-30.
77. Escote X, Miranda M, Veloso S, et al. Lipodystrophy and insulin resistance in combination antiretroviral treated HIV-1-infected patients: implication of resistin. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2011;57(1):16–23.

78. Estrada V, Martinez-Larrad MT, Gonzalez-Sanchez JL, et al. Lipodystrophy and metabolic syndrome in HIV-infected patients treated with antiretroviral therapy. *Metabolism* 2006;55(7):940–5.
79. Falasca K, Ucciferri C, Manzoli L, et al. Metabolic syndrome and cardiovascular risk in HIV-infected patients with lipodystrophy. *Int J Immunopathol pharmacol* 2007;20(3):519-27.
80. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, et al. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *N Eng J Med* 1999;341(12):879-84.
81. Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest* 2002; 110:1093-103.
82. Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia* 2003; 46: 1594–603.
83. Feeney ER, van Vonderen MG, Wit F, et al. Zidovudine/lamivudine but not nevirapine in combination with lopinavir/ritonavir decreases subcutaneous adipose tissue mitochondrial DNA. *AIDS* 2012; 26:2165-74.
84. Feve B, Bastard JP. The role of interleukins in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2009; 5(6):305–11.
85. Feve B, Bastard C, Fellahi S, et al. New adipokines. *Ann Endocrinol* 2016;77(1):49-56.
86. Fillipas S, Cicuttini FM, Holland AE, et al. Physical activity participation and cardiovascular fitness in people living with immunodeficiency virus: a one year longitudinal study. *J AIDS Clinic Res* 2013;S9:002.
87. Finkelstein JL, Gala P, Rochford R, et al. HIV/AIDS and lipodystrophy: Implications for clinical management in resource-limited settings. *J Int AIDS Soc* 2015;18:19033

88. Florindo AA, Latorre MRO, Jaime PC, et al. Leisure time physical activity prevents accumulation of central fat in HIV/AIDS subjects on highly active antiretroviral therapy. *Int J STD AIDS* 2007; 18:692-6.
89. Ford N, Calmy A. Improving first-line antiretroviral therapy in resource-limited settings. *Curr Opin HIV AIDS* 2010;5(1):38-47.
90. Forsblom C, Thomas MC, Moran J, Saraheimo M, Thorn L, Waden J, et al. Serum adiponectin concentration is a positive predictor of all-cause and cardiovascular mortality in type 1 diabetes. *J Intern Med* 2011;270:346-55.
91. Francisci D, Giannini S, Baldelli F, et al. HIV type 1 infection, and not short-term HAART, induces endothelial dysfunction. *AIDS* 2009;23(5):589-96.
92. Freitas P, Carvalho D, Santos AC, et al. Adipokines, hormones related to body composition, and insulin resistance in HIV fat redistribution syndrome. *BMC Infect Dis.* 2014; 14: 347.
93. Fukumura D., Ushiyama A., Duda D.G., et al. Paracrine regulation of angiogenesis and adipocyte differentiation during in vivo adipogenesis. *Circ Res* 2003;93(9):e88–e97.
94. Galescu O, Bhangoo A, Ten A. Insulin resistance, lipodystrophy and cardiometabolic syndrome in HIV/AIDS. *Rev Endocr Metab Disord* 2013; 14(2):133–40.
95. George JA, Venter WD, Van Deventer HE, et al. A longitudinal study of the changes in body fat and metabolic parameters in a South African population of HIV-positive patients receiving an antiretroviral therapeutic regimen containing stavudine. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009;25(8):771-81.
96. George S, Bergin C, Clarke S, et al. Health-related quality of life and associated factors in people with HIV: an Irish cohort study. *Health Qual Life Outcomes* 2016; 14(1):115.

97. Gerber JG, Rosenkrantz SL, Fichtenbaum CJ, et al. Effects of efavirenz on the pharmacokinetics of simvastatin, atorvastatin, and pravastatin: results of AIDS Clinical Trials Group 5108 Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39(3):307-12.
98. Gibellini L, De Biasi S, Pinti M, et al. The protease inhibitor atazanavir triggers autophagy and mitophagy in human preadipocytes. *AIDS* 2012; 26:2017-26.
99. Giralt M, Domingo P, Villarroya F. Adipose tissue biology and HIV-infection. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011;25:487-99.
100. Global Health Observatory (GHO) data, HIV/AIDS. World Health Organization. <http://www.who.int/gho/hiv/en> (assessed on May 2017)
101. Gori E, Mduluzi T, Nyagura M, et al. Inflammation-modulating cytokine profile and lipid interaction in HIV-related risk factors for cardiovascular diseases. *Ther Clin Risk Manag* 2016;12:1659–66.
102. Groeneveld MP, Huang-Doran I, Semple RK. Adiponectin and leptin in human severe insulin resistance – Diagnostic utility and biological insights. *Biochimie* 2012;94:2172-9.
103. Grunfeld C, Saag M, Cofrancesco J Jr, et al. Regional adipose tissue measured by MRI over 5 years in HIV-infected and control participants indicates persistence of HIV-associated lipodystrophy. *AIDS* 2010; 24:1717-26.
104. Guaraldi G, Barabouitis IG. Evolving perspectives on HIV-associated lipodystrophy syndrome: moving from lipodystrophy to non-infectious HIV co-morbidities. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64(3):437-40.
105. Guaraldi G, Stentarelli C, Zona S, et al. HIV-associated lipodystrophy: impact of antiretroviral therapy. *Drugs* 2013; 73(13):1431-50.
106. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. <http://aidsinfo.nih.gov/Guidelines> (accessed on June, 2017).

107. Haissman JM, Lasse SV, Sembuche S, et al. Plasma Cytokine Levels in Tanzanian HIV-1-infected Adults and the Effect of Antiretroviral Treatment. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;52: 493–7.
108. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995;269(5223):543-6.
109. Han SH, Zhou J, Saghayam S, et al. Prevalence of and risk factors for lipodystrophy among HIV infected patients receiving combined antiretroviral treatment in the Asia-Pacific region: results from the TREAT Asia HIV Observational Database (TAHOD). *Endocr J* 2011; 58(6):475-84.
110. Hauner H, Rohrig K, Petruschke T. Effects of epidermal growth factor (EGF), platelet-derived growth factor (PDGF) and fibroblast growth factor (FGF) on human adipocyte development and function. *Eur J Clin Invest* 1995; 25(2): 90–6.
111. Hauner H. Secretory factors from human adipose tissue and their functional role. *Proc Nutr Soc* 2005;64(2):163–9.
112. Haystead TA, Hardie DG. Both insulin and epidermal growth factor stimulate lipogenesis and acetyl-CoA carboxylase activity in isolated adipocytes. Importance of homogenization procedure in avoiding artefacts in acetyl-CoA carboxylase assay. *Biochem J* 1986; 234: 279–84.
113. He G, Andersen O, Haugaard SB et al. Plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) in plasma and adipose tissue in HIV-associated lipodystrophy syndrome. Implications of adipokines. *Eur J Clin Invest* 2005; 35: 583–90.
114. HIV drug interactions. University of Liverpool. <http://www.hiv-druginteractions.org/checker>, assessed on October 2017.
115. Homsanit M, Nelson KE, Sonjai A, et al. Body shape and metabolic abnormalities in Thai HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007; 23(11):1314-21.

116. Hong KM, Burdick MD, Phillips RJ, et al. Characterization of human fibrocytes as circulating adipocyte progenitors and the formation of human adipose tissue in SCID mice. *FASEB J* 2005; 19(4):2029-31.
117. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993;259(5091):87-91.
118. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, et al. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995;95:2409-15.
119. Huber K. Plasminogen activator inhibitor type-1 (part one): basic mechanisms, regulation, and role for thromboembolic disease. *J Thromb Thrombolysis* 2001; 11(3): 183–93.
120. Hughes CA, Tseng A, Cooper R. Managing drug interactions in HIV-infected adults with comorbid illness. *CMAJ* 2015;187(1):36-42.
121. Hukshorn CJ, Saris WH, Westerterp-Plantenga MS, et al. Weekly subcutaneous pegylated recombinant native human leptin (PEG-OB) administration in obese men. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(11):4003-9.
122. Jamaluddin MS, Weakley SM, Yao Q, et al. Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease. *Br J Pharmacol* 2012;165(3):622-32.
123. Jantarapakde J, Phanuphak N, Chaturawit C, et al. Prevalence of metabolic syndrome among antiretroviral-naive and antiretroviral-experienced HIV-1 infected Thai adults. *AIDS Patient Care STDS* 2014; 28(7):331-40.
124. Ji Y, Sun S, Xu A, et al. Activation of natural killer T cells promotes M2 Macrophage polarization in adipose tissue and improves systemic glucose tolerance via interleukin-4 (IL-4)/STAT6 protein signaling axis in obesity. *J Biol Chem* 2012; 287(17):13561–71.
125. Johns KW, Bennett MT, Bondy GP. Are HIV positive patients resistant to statin therapy? *Lipids Health Dis* 2007;6:27.

126. Johnson JA, Albu JB, Engelson ES, Fried SK, Inada Y, Ionescu G, Kotler DP. Increased systemic and adipose tissue cytokines in patients with HIV-associated lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286(2):E261–E271.
127. Jones SP, Qazi N, Morelese J et al. Assessment of adipokine expression and mitochondrial toxicity in HIV patients with lipodystrophy on stavudine- and zidovudine-containing regimens. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 40(5): 565–72.
128. Jones SP, Waitt C, Sutton R, et al. Effect of atazanavir and ritonavir on the differentiation and adipokine secretion of human subcutaneous and omental preadipocytes. *AIDS* 2008; 22(11):1293-8.
129. Jouquet G, Bygrave H, Kranzer K, et al. Cost and cost-effectiveness of switching from d4T or AZT to a TDF-based first-line regimen in a resource-limited setting in rural Lesotho. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2011; 58(3):e68-74.
130. Justina LBD, Luiz MC, Maurici R, et al. Prevalence and factors associated with lipodystrophy in AIDS patients. *Rev Soc Bras Med Trop* 2014; 47(1):30-7.
131. Kalyanasundaram AP, Jacob SM, Hemalatha R, et al. Prevalence of lipodystrophy and dyslipidemia among patients with HIV infection on generic ART in rural South India. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic)* 2012;11(5):329-34.
132. Kannisto K, Sutinen J, Korshennikova E, et al. Expression of adipogenic transcription factors, peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1, IL-6 and CD45 in subcutaneous adipose tissue in lipodystrophy associated with highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2003; 17(12):1753-62.
133. Karas MG, Benkeser D, Arnold AM, et al. Relations of Plasma Total and High-Molecular-Weight Adiponectin to New-Onset Heart Failure in Adults \geq 65 Years of Age (from the Cardiovascular Health Study). *Am J Cardiol* 2014;113(2):328-34.

134. Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S, et al. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. *Ann Intern Med* 2010;152(2):93-100
135. Kitazawa T, Yoshino Y, Suzuki S, et al. Lopinavir inhibits insulin signaling by promoting protein tyrosine phosphatase 1B expression. *Exp Ther Med* 2014;8:851-5.
136. Knudsen A, Katzenstein TL, Benfield T, et al. Plasma plasminogen activator inhibitor-1 predicts myocardial infarction in HIV-1-infected individuals. *AIDS* 2014;28(8):1171-9
137. Koethe JR, Dee K, Bian A, et al. Circulating interleukin-6, soluble CD14, and other inflammation biomarker levels differ between obese and nonobese HIV-infected adults on antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2013;29(7):1019-25.
138. Koethe JR, Heimbürger DC, PrayGod G, et al. From Wasting to Obesity: The Contribution of Nutritional Status to Immune Activation in HIV Infection. *The Journal of Infectious Diseases* 2016;214(S2):S75-82.
139. Kohli R, Shevitz A, Gorbach S, et al. A randomized placebo-controlled trial of metformin for the treatment of HIV lipodystrophy. *HIV Med* 2007;8(7):420-6.
140. Komanduri KV, Viswanathan MN, Wieder ED, et al. Restoration of cytomegalovirus-specific CD4⁺ T-lymphocyte responses after ganciclovir and highly active antiretroviral therapy in individuals infected with HIV-1. *Nat Med* 1998; 4(8):953-6.
141. Kosmiski LA, Bacchetti P, Kotler DP, et al. Relationship of fat distribution with adipokines in human immunodeficiency virus infection. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(1):216-24.
142. Kralisch S, Bluher M, Paschke R et al. Adipokines and adipocyte targets in the future management of obesity and the metabolic syndrome. *Mini Rev Med Chem* 2007; 7(1): 39–45.
143. Kušić J, Mladenović M, Dimitrijević B et al. Treatment outcomes of first-line antiretroviral therapy in HIV-1-positive patients in Serbia. *J Virus Erad* 2016;2(1):32-5.

144. Lagathu C, Bastard JP, Auclair M et al. Antiretroviral drugs with adverse effects on adipocyte lipid metabolism and survival alter the expression and secretion of proinflammatory cytokines and adiponectin in vitro. *Antivir Ther* 2004; 9(6): 911–20.
145. Lagathu C, Eustace B, Prot M, et al. Some HIV antiretrovirals increase oxidative stress and alter chemokine, cytokine or adiponectin production in human adipocytes and macrophages. *Antivir Ther* 2007; 12(4):489-500.
146. Lana LGC, Junqueira DRG, Perini E, et al. Lipodystrophy among patients with HIV infection on antiretroviral therapy:a systematic review protocol. *BMJ Open* 2014; 4(3): e004088.
147. Langkilde A, Petersen J, Henriksen JH, et al. Leptin, IL-6, and suPAR reflect distinct inflammatory changes associated with adiposity, lipodystrophy and low muscle mass in HIV-infected patients and controls. *Immun Ageing* 2015;12:9.
148. Lederman MM, Connick E, Landay A, et al. Immunologic responses associated with 12 weeks of combination antiretroviral therapy consisting of zidovudine, lamivudine, and ritonavir: Results of AIDS Clinical Trials Group Protocol 315. *J Infect Dis* 1998; 178(1):70-9.
149. Lee JH, Chan JL, Sourlas E, et al. Recombinant methionyl human leptin therapy in replacement doses improves insulin resistance and metabolic profile in patients with lipodystrophy and metabolic syndrome induced by the highly active antiretroviral therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(7):2605-11.
150. Lee JS, Suh JM, Park HG, et al. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor inhibits adipocyte differentiation at commitment and early induction stages. *Differentiation* 2008;76(5):478-87.
151. Leszczyszyn-Pynka M, Pynka S, Boroń-Kaczmarek A, et al. Serum leptin and adiponectin concentrations in patients infected with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) on antiretroviral therapy. *Endokrynol Pol* 2005;56(1):19-24.

152. Li Z, Yang S, Lin H, et al. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2003;37(2):343-50.
153. Liang H, Yin B, Zhang H, et al. Blockade of tumor necrosis factor (TNF) receptor type 1-mediated TNF-alpha signaling protected Wistar rats from diet-induced obesity and insulin resistance. *Endocrinology* 2008;149(6):2943-51.
154. Lihn AS, Richelsen B, Pedersen SB. Increased expression of TNF alpha, IL-6, and IL-8 in HALS: implications for reduced adiponectin expression and plasma levels. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285(5):E1072-80.
155. Likanonsakul S, Rattanatham T, Feangvad S, et al. Polymorphisms in fas gene is associated with HIV-related lipoatrophy in Thai patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012;29(1):142-50.
156. Likatavicius G, van de Laar MJ. HIV infection and AIDS in the European Union and European Economic Area. *EuroSurveill* 2011, 2010, 16:pii=20030.
157. Lindegaard B, Keller P, Bruunsgaard H et al. Low plasma level of adiponectin is associated with stavudine treatment and lipodystrophy in HIV-infected patients. *Clin Exp Immunol* 2004; 135(2): 273–9.
158. Liu P, Sui S, Xu D, et al. Clinical analysis of the relationship between cystatin C and metabolic syndrome in the elderly. *Rev Port Cardiol* 2014; 33(7-8):411-6
159. Loebig M, Klement J, Schmoller A, et al. Evidence for a relationship between VEGF and BMI independent of insulin sensitivity by glucose clamp procedure in a homogenous group healthy young men. *PLoS ONE* 2010;5(9):e12610
160. Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19th ed. McGraw-Hill Education; 2015.

161. Luo L, Zhang L, Tao M, et al. Adiponectin and leptin levels in Chinese patients with HIV-related lipodystrophy: a 30-month prospective study. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009;25(12):1265-72.
162. Macallan DC, Baldwin C, Mandalia S, et al. Treatment of altered body composition in HIV-associated lipodystrophy: comparison of rosiglitazone, pravastatin, and recombinant human growth hormone. *HIV Clin Trials* 2008;9(4):254-68.
163. Magnusson M, Hedblad B, Engström G, et al. High levels of cystatin C predict the metabolic syndrome: the prospective Malmö Diet and Cancer Study. *J Intern Med* 2013; 274(2):192-9
164. Maher B, Alfirevic A, Vilar FJ et al. TNF- α promoter region gene polymorphisms in HIV-positive patients with lipodystrophy. *Acquir Immune Defic Syndr* 2002; 16(15): 2013–8.
165. Mallewa J, Wilkins E, Vilar J, et al. HIV-associated lipodystrophy: a review of underlying mechanisms and therapeutic options. *Journal of Antimicrob Chemother* 2008; 62(4):648-60.
166. Mancini T, Secchiaroli G. Threats to identity: lipodystrophy and identity changes in people with HIV/AIDS (PWA). *Acta Biomed* 2015; 86(1):29-39.
167. Mantzoros CS. Whiter recombinant human leptin treatment for HIV – associated lipoatrophy and the metabolic syndrome? *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(4):1089-91.
168. Mantzoros CS, Magkos F, Brinkoetter M, et al. Leptin in human physiology and pathophysiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011;301(4):E567-84.
169. Margolis AM, Heverling H, Pham PA, et al. A review of the toxicity of HIV medications. *J Med Toxicol*, 2014, 10:26-39.
170. Martin-Cordero L, Garcia JJ, Hinchado MD, et al. The interleukin-6 and noradrenaline mediated inflammation-stress feedback mechanism is dysregulated in metabolic syndrome: effect of exercise. *Cardiovascu Diabetol* 2011;10:42.

171. Masia M, Padilla S, Garcia N, et al. Endothelial function is impaired in HIV-infected patients with lipodystrophy. *Antivir Ther* 2010; 15(1):101-10.
172. Matarese G, La Rocca C, Moon HS, et al. Selective capacity of metreleptin administration to reconstitute CD4+ T-cell number in females with acquired hypoleptinemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(9):E818-27.
173. McComsey GA, Kitch D, Sax PE, et al. Peripheral and central fat changes in subjects randomized to abacavir-lamivudine or tenofovir-emtricitabine with atazanavir-ritonavir or efavirenz: ACTG Study A5224s. *Clin Infect Dis* 2011; 53(2):185-96.
174. McComsey GA, Daar ES, O Riordan M, et al. Changes in fat mitochondrial DNA and function in subjects randomized to abacavir-lamivudine or tenofovir DF-emtricitabine with atazanavir-ritonavir or efavirenz. AIDS Clinical Trials Group Study A5224s, substudy of A5202. *J Infect Dis* 2013;207:604-11.
175. Menezes CN, Maskew M, Sanne I, et al. A longitudinal study of stavudine-associated toxicities in a large cohort of South African HIV infected subjects. *BMC Infect Dis* 2011;11:244.
176. Menezes CN, Duarte R, Dickens C, et al. The early effects of stavudine compared with tenofovir on adipocyte gene expression, mitochondrial DNA copy number and metabolic parameters in South African HIV-infected patients: a randomized trial. *HIV Med* 2013; 14:217-25.
177. Mercier S, Gueye NF, Cournil A, et al. Lipodystrophy and metabolic disorders in HIV-1-infected adults on 4- to 9-year antiretroviral therapy in Senegal: a case-control study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51(2):224-30.
178. Minami R, Yamamoto M, Takahama S, et al. Comparison of the influence of four classes of HIV antiretrovirals on adipogenic differentiation: the minimal effect of raltegravir and atazanavir. *J Infect Chemother* 2011; 17:183-8.

179. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:4196–200.
180. Mondy KE. Determinants of endothelial function in human immunodeficiency virus infection: a complex interplay among therapy, disease, and host factors. *J Cardiometab Syndr* 2008; 3(2):88-92.
181. Moon HS, Matarese G, Brennan AM, et al. Efficacy of metreleptin in obese patients with type 2 diabetes: cellular and molecular pathways underlying leptin tolerance. *Diabetes* 2011;60:1647-56.
182. Moon HS, Chamberland JP, Mantzoros CS. Amylin and leptin activate overlapping signalling pathways in an additive manner in mouse GT1-7 hypothalamic, C₂C₁₂ muscle and AML12 liver cell lines. *Diabetologia* 2012;55(1):215-25.
183. Moon HS, Dalamaga M, Kim SY, et al. Leptin's role in lipodystrophic and nonlipodystrophic insulin-resistant and diabetic individuals. *Endocr Rev* 2013;34:377-412.
184. Moon HS, Huh JY, Schneider BE, et al. Identification, and saturable nature, of signalling pathways induced by metreleptin in humans: comparative evaluation of in vivo, ex vivo, and in vitro administration. *Diabetes* 2015; 64(3):828-39.
185. Morimoto A, Okamura K, Hamanaka R, et al. Hepatocyte growth factor modulates migration and proliferation of human microvascular endothelial cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 179(2): 1042–9.
186. Moule SK, Edgell NJ, Welsh GI, et al. Multiple signalling pathways involved in the stimulation of fatty acid and glycogen synthesis by insulin in rat epididymal fat cells. *Biochem J* 1995; 311(Pt2): 595–601.

187. Mulligan K, Khatami H, Schwarz JM, et al. The effects of recombinant human leptin on visceral fat, dyslipidemia, and insulin resistance in patients with human immunodeficiency virus-associated lipodystrophy and hypoleptinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(4):1137-44.
188. Murdolo G, Hammarstedt A, Sandqvist M et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in subcutaneous abdominal adipose tissue: characterization of interstitial concentration and regulation of gene expression by insulin. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(7): 2688–95.
189. Mutimura E, Stewart A, Rheeder P, et al. Metabolic function and the prevalence of lipodystrophy in a population of HIV-infected African subjects receiving highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;46(4):451-5.
190. Mynarcik DC, McNurlan MA, Steigbigel RT, et al. Association of severe insulin resistance with both loss of limb fat and elevated serum tumor necrosis factor receptor levels in HIV lipodystrophy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2000;25(4):312–321.
191. Mynarcik DC, Combs T, McNurlan MA, et al. Adiponectin and leptin levels in HIV-infected subjects with insulin resistance and body fat redistribution. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;31(5):514–20.
192. Nagy GS, Tsiodras S, Martin LD, et al. Human immunodeficiency virus type 1-related lipodystrophy and lipohypertrophy are associated with serum concentrations of leptin. *Clin Infect Dis* 2003;36(6):795-802.
193. Naour N, Fellahi S, Renucci JF *et al*. Potential contribution of adipose tissue to elevated serum cystatin C in human obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2009;17(12):2121–6.
194. Neels JG, Thinnis T, Loskutoff DJ. Angiogenesis in an in vivo model of adipose tissue development. *FASEB J* 2004;18(9):983–5.
195. Neuhaus J, Jacobs DR Jr, Baker JV, et al. Markers of inflammation, coagulation and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis* 2010; 201(12):1788-95.

196. Nogueiras R, Novelle MG, Vazquez MJ, Lopez M, Dieguez C. Resistin: regulation of food intake, glucose homeostasis and lipid metabolism. *Endocr Dev* 2010;17:175–84.
197. Nolan D, Moore C, Castley A et al. Tumour necrosis factor- α gene 2238G/A promoter polymorphism associated with a more rapid onset of lipodystrophy. *Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 17(1): 121–3.
198. Norbiato G, Trifiro G, Galli M, et al. Fat redistribution in HIV-infected patients. A new hormonal immune disorder? *Ann NY Acad Sci* 2000; 917:951-5.
199. Odden MC, Scherzer R, Bacchetti P, et al. Cystatin C level as a marker of kidney function in human immunodeficiency virus infection: the FRAM study. *Arch Intern Med* 2007;167(20):2213-9.
200. Ogalha C, Luz E, Sampaio E, et al. A randomized, clinical Trial to evaluate the impact of regular physical activity on the quality of life, body morphology and metabolic parameters of patients with AIDS in Salavador, Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2011; 57(Suppl III):S179-85.
201. Okamoto M, Ohara-Imaizumi M, Kubota N, et al. Adiponectin induces insulin secretion in vitro and in vivo at a low glucose concentration. *Diabetologia* 2008;51(5):827-35.
202. Omolayo O, Sealy PL. HIV lipodystrophy syndrome. *Hosp Physician* 2008; 44(5):7–14
203. Oral EA, Chan JL. Rationale for leptin-replacement therapy for severe lipodystrophy. *Endocrine practice*, 2010, 16(2):324-33.
204. O'Rourke RW, Metcalf MD, White AE, et al. Depot-specific differences in inflammatory mediators and a role for NK cells and IFN- γ in inflammation in human adipose tissue. *Int J Obes (Lond)* 2009;33(9):978–90.
205. Padilla S, Masia M, Garcia N, et al. Early changes in inflammatory and pro-thrombotic biomarkers in patients initiating antiretroviral therapy with abacavir or tenofovir. *BMC Infect Dis* 2011; 11:40.

206. Palella FJ Jr, Baker RK, Moorman AC et al. Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 43(1):27–34.
207. Paruthi J, Gill N, Mantzoros CS. Adipokines in the HIV/HAART associated lipodystrophy syndrome. *Metabolism* 2013;62(9):1199-205.
208. Pasarica M, Sereda OR, Redman LM, et al. Reduced adipose tissue oxygenation in human obesity: evidence for rarefaction, macrophage chemotaxis, and inflammation without an angiogenic response. *Diabetes* 2009;58(3):718–25.
209. Phan V, Thai S, Choun K, et al. Incidence of treatment-limiting toxicity with stavudine-based antiretroviral therapy in Cambodia: a retrospective cohort study. *PloS One* 2012; 7(1):e30647
210. Podzamczer 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(6):563-7.
211. Pontes-Cardoso LCR, Souza LR, Peraçoli MTS, et al. Cytokine profile and clinical metabolic alterations in HIV-1 infected individuals with and without lipodystrophy. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 2007;13(2):509-26.
212. Pujades-Rodriguez M, Dantony E, Pinoges L, et al. Toxicity associated with stavudine dose reduction from 40 to 30 mg in first-line antiretroviral therapy. *PloS One* 2011; 6(11):e28112.
213. Pujades-Rodriguez M, Schramm B, Som L, et al. Immunovirological outcomes and resistance patterns at 4 years of antiretroviral therapy use in HIV-infected patients in Cambodia. *Trop Med Int Health* 2011;16(2):205-13.
214. Ranade K, Geese WJ, Noor M, et al. Genetic analysis implicates resistin in HIV lipodystrophy. *AIDS* 2008;22(13):1561–8.

215. Randox, Evidence Investigator; www.randox.com, assessed on June 2017
216. Ricardo-Gonzales RR, Read Eagle A, Odegaard JL, et al. IL-4/STAT 6 immune axis regulates peripheral nutrient metabolism and insulin sensitivity. *Proc Natl Acad Sci* 2012;107(52):22617-22.
217. Riddle TM, Kuhel DG, Woollett LA, et al. HIV protease inhibitor induces fatty acid and sterol biosynthesis in liver and adipose tissues due to the accumulation of activated sterol regulatory element-binding proteins in the nucleus. *J Biol Chem* 2001;276(40):37514-9
218. Rocha VZ, Folco EJ, Sukhova G, et al. Interferon-gamma, a Th1 cytokine, regulates fat inflammation: a role for adaptive immunity in obesity. *Circ Res* 2008;103(5):467-76.
219. Roy H, Bhardwaj S, Ylä-Herttuala S. Biology of vascular endothelial growth factors. *FEBS Lett* 2006;580:2879-87.
220. Sahin-Efe A, Katsikeris F, Mantzoros CS. Advances in adipokines. *Metabolism* 2012; 61(12):1659-65.
221. Salgado JV, Salgado BJ, Neves FA. Cystatin C may better reflect the effect of obesity on renal function. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 20(6):1136.
222. Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(12): 7265-70.
223. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995;270(45):26746-9.
224. Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, et al. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol* 2004;75(2):163-89
225. Schulbin H, Bode H, Smidt H, et al. Cytokine expression in the Colonic Mucosa of Human Immunodeficiency Virus-infected Individuals before and during 9 months of Antiretroviral Therapy. *Antimicrob Agent Chemoter* 2008;52(9):3377-84.

226. Sekhar RV, Jahoor F, Iyer D, et al. Leptin replacement therapy does not improve the abnormal lipid kinetics of hypoleptinemic patients with HIV-associated lipodystrophy syndrome. *Metabolism* 2012;61(10):1395-403.
227. Sevastianova K, Sutinen J, Greco D, et al. Comparison of dorsocervical with abdominal subcutaneous adipose tissue in patients with and without antiretroviral therapy – associated lipodystrophy. *Diabetes* 2011; 60:1894-900.
228. Shenoy A, Ramapuram JT, Unnikrishan B, et al. Effect of lipodystrophy on the quality of life among people living with HIV/AIDS (PLHIV) on highly active antiretroviral therapy. *J Int Assoc Provid AIDS Care* 2014;13(5):471-5.
229. Shlipak MG, Matsushita K, Ärnlöv J, et al. Cystatin C versus Creatinine in Determining Risk Based on Kidney Function. *N Engl J Med* 2013; 369(10):932-43.
230. Singhania R, Kotler DP. Lipodystrophy in HIV patients: its challenges and management approaches. *HIV AIDS* 2011; 3:135-43
231. Sook Lee E, Park SS, Kim E, et al. Association between adiponectin levels and coronary heart disease and mortality: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2013;42(4):1029-39.
232. Sopasakis VR, Nagaev I, Smith U. Cytokine release from adipose tissue of nonobese individuals. *Int J Obes* 2005;29:1144-7.
233. Stylianou E, Aukrust P, Kvale D, et al. IL-10 in HIV infection: increasing serum IL-10 levels with disease progression down-regulatory effect of potent anti-retroviral therapy. *Clin Exp Immunol* 1999;116:115-20.
234. Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest* 2011;121(6):2094–101.

235. Taleb S, Canello R, Clément K, et al. Cathepsin s promotes human preadipocyte differentiation: possible involvement of fibronectin degradation. *Endocrinology* 2006;147(10):4950–9.
236. Tao MM, Zhang L, Qiu ZF, et al. Adipokines and highly active antiretroviral therapy related lipodystrophy: clinical study of 52 cases. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2009;89:867-71.
237. Tin EE, Bowonwatanuwong C, Desakorn V, et al. The efficacy and adverse effects of GPO-VIR (stavudine + lamivudine + nevirapine) in treatment-naïve adult HIV patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005;36(2):362-9
238. Tornio A, Niemi M, Neuvonen PJ, et al. Drug interactions with oral antidiabetic agents: pharmacokinetic mechanisms and clinical implications. *Trends Pharmacol Sci* 2012;33(6):312-22.
239. Tsao CH, Shiau MY, Chuang PH, et al. Interleukin-4 regulates lipid metabolism by inhibiting adipogenesis and promoting lipolysis. *J Lipid Res* 2014;55(3):385-97.
240. Tsiodras M, Mantzoros C, Hammer S, et al. Effects of protease inhibitors on hyperglycemia, hyperlipidemia, and lipodystrophy: a 5 year cohort study. *Arch Intern Med* 2000;160(13):2050-6.
241. Tsoukas MA, Farr OM, Mantzoros CS. Leptin in congenital and HIV-associated lipodystrophy. *Metabolism* 2015; 64(1):47-59
242. Turer AT, Scherer PE. Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia* 2012;55:2319-26.
243. Turk V, Bode W. The cystatins: Protein inhibitors of cysteine proteinases. *FEBS Lett* 1991; 285(2):213–9.

244. U. S. Department of Health and human Services (U.S. Food and Drug Administration). MYALEPTTM (metreleptin for injection) for subcutaneous use, Prescribing information. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/125390s000lbl.pdf, assessed on June 2017
245. U. S. Department of Health and human Services (U.S. Food and Drug Administration, <http://www.fda.gov/ForPatients/Illness/HIVAIDS/Treatment/ucm118915.htm>, assessed on May 2017)
246. US National Institutes of Health - National Institute of Allergy and Infectious Diseases. <http://www.niaid.nih.gov/daids/dtpdb/attach.asp>, assessed on June 2017
247. Ussar S, Bezy O, Blüher M, et al. Glypican-4 enhances insulin signaling via interaction with the insulin receptor and serves as a novel adipokine. *Diabetes* 2012;61:2289-98.
248. Van Exel E, Gussekloo J, de Craen AJM, et al. Low production capacity of interleukin 10 associates with the metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:1088-92.
249. van Griensven J, De Naeyer L, Mushi T, et al. High prevalence of lipoatrophy among patients on stavudine-containing first line antiretroviral therapy regimens in Rwanda. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 2007;101(8):793-8.
250. van Griensven J, Zachariah R, Rasschaert F, et al. Stavudine- and nevirapine-related drug toxicity while on generic fixed-dose antiretroviral treatment: incidence, timing, and risk factors in a three-year cohort in Kigali, Rwanda. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2010;104(2):148-53.
251. Van Heek M, Compton DS, France CF, et al. Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *J Clin Invest* 1997;99(3):385-90.

252. Van Vonderen MG, Hassink EA, van Agtmael MA, et al. Increase in carotid artery intima-media thickness and arterial stiffness but improvement in several markers of endothelial function after initiation of antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2009; 199(8):1186-94.
253. Van Wijk JP, Cabezas MC. Hypertriglyceridemia, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Disease in HIV-Infected Patients: Effects of Antiretroviral Therapy and Adipose Tissue Distribution. *Int J Vasc Med* 2012;2012:201027.
254. Vassaux G, Negrel R, Ailhaud G, et al. Proliferation and differentiation of rat adipose precursor cells in chemically defined medium: Differential action of anti-adipogenic agents. *J Cell Physiol* 1994;161: 249–56.
255. Veloso S, Escote X, Ceperuelo-Mallafre V, et al. Leptin and adiponectin, but not IL18, are related with insulin resistance in treated HIV-1-infected patients with lipodystrophy. *Cytokine* 2012; 58(2):253-60.
256. Vernochet C, Azoulay S, Duval D et al. Human immunodeficiency virus protease inhibitors accumulate into cultured human adipocytes and alter expression of adipocytokines. *J Biol Chem* 2005; 280(3): 2238–43.
257. Vidal F, Domingo P, Vilades C, et al. Pharmacogenetics of the lipodystrophy syndrome associated with HIV infection and combination antiretroviral therapy. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2011;7(11):1365–82.
258. Vigouroux C, Maachi M, Nguyen TH, et al. Serum adipocytokines are related to lipodystrophy and metabolic disorders in HIV-infected men under antiretroviral therapy. *AIDS* 2003; 17(10):1503-11.
259. Vincent W, Fang X, Calabrese SK, et al. HIV-related shame and health related quality of life among older, HIV-positive adults. *J Behav Med* 2017;40(3):434-44.

260. WHO, UNAIDS, UNICEF. Global HIV/AIDS response: epidemic update and health sector progress towards Universal Access: Progress Report. Geneva:WHO, UNAIDS, UNICEF; 2011.
261. Wong SP, Huda M, English P, et al. Adipokines and the insulin resistance syndrome in familial partial lipodystrophy caused by a mutation in lamin A/C. *Diabetologia* 2005;48(12):2641–9.
262. World Health Organization. Global Price Reporting Mechanism (GPRM): AIDS medicines and diagnostic service (AMDS). Geneva:World Health Organization; 2012.
263. Xiao Z, Li X, Qiao S, et al. Social support, depression, and quality of life among people living with HIV in Guangxi, China. *AIDS Care* 2017; 29(3):319-25.
264. Yamamoto S, Matsushita Y, Nakagawa T, et al. Circulating adiponectin levels and risk of type 2 diabetes in the Japanese. *Nutr Diabetes* 2014;4:e130.
265. Yao HP, Jin CZ, Zhang FJ, et al. Impact of highly active antiretroviral therapy on plasma MCP-1 and MSP in AIDS patients. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2007;36(2):174-8.
266. Yao Y, Luo Y, He Y, et al. The effect of a year of highly active antiretroviral therapy on immune reconstruction and cytokines in HIV/AIDS patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2013; 29(4):691-7.
267. Ye J, Gao Z, Yin J, He Q. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;293(4):E1118–28.
268. Ye R, Scherer PE. Adiponectin, driver or passenger on the road to insulin sensitivity? *Mol Metab* 2013;2(3):133-41.
269. Yki-Jarvinen H, Sutinen J, Silveira A, et al. Regulation of plasma PAI-1 concentrations in HAART-associated lipodystrophy during rosiglitazone therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(4):688–94.

270. Zannou DM, Denoeud L, Lacombe K, et al. Incidence of lipodystrophy and metabolic disorders in patients starting non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in Benin. *Antivir Ther* 2009; 14(3):371-80.

271. Zhang H, Potter BJ, Cao JM, et al. Interferon-gamma induced adipose tissue inflammation is linked to endothelial dysfunction in type 2 diabetic mice. *Basic Res Cardiol* 2011;106(6):1135-45.

SPISAK SKRAĆENICA

AIDS	sindrom stečene imunodeficijencije
cART	kombinovana antiretroviralna terapija
CDC	Američki Centar za kontrolu bolesti
CT	kompjuterizovana tomografija
DEXA	denzitometrija (<i>Dual Energy X-Ray Absorptiometry</i>)
DNK	dezoksiribonukleinska kiselina
HAART	visoko aktivna antiretrovirusna terapija (<i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i>)
HIV	virus humane imunodeficijencije
IL	interleukin
MCP-1	monocitni hemotaksni protein-1
PAI-1	inhibitor aktivatora plazminogena
PI	inhibitori proteaze
PPAR- γ	aktivirani receptor za proliferaciju peroksizoma gama
pVL	stepen viremije (<i>plasma viral load</i>)
RT	reverzna transkriptaza
RNK	ribonukleinska kiselina
STAT6	signal transducer and activator of transcription 6
SZO	Svetska zdravstvena organizacija
TNF- α	faktor tumorske nekroze alfa
VEGF	faktor rasta vaskularnog endotela

BIOGRAFIJA

Danica Cvetković (devojačko Srdić), rođena 10.12.1973. godine u Vršcu, upisala je Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu 1992./1993 god. Diplomirala je 2000. god. sa prosečnom ocenom tokom studiranja 8.94. U periodu od marta 2000. god. do maja 2001. god. bila je zaposlena na odođeno vreme u Kliničko-bolničkom centru Zemun (KBC). Od 21.05.2001. god. je stalno zaposlena u Sektoru Istraživanja i Razvoja, Hemofarm A.D., u Službi Medicine. Magistarske studije iz oblasti kliničke farmakologije i terapije je upisala 2000. god., na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Magistarsku tezu pod nazivom „Uloga alfa faktora tumorske nekroze (TNF- α) u progresiji srčane insuficijencije odraslih“ odbranila je aprila 2009. god. Specijalističke studije iz oblasti kliničke farmakologije i terapije je upisala na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, a specijalistički ispit položila je 2010. god. Doktorske studije iz oblasti kliničke farmakologije i terapije upisala je 2015. god. na Medicinskom fakultetu u Beogradu, pod mentorstvom Prof. Dr Gordane Dragović Lukić.

Do sada je izlagala svoje radove na brojnim međunarodnim evropskim i svetskim, kao i domaćim kongresima i konferencijama iz oblasti farmakologije kardiovaskularnih oboljenja, kao i *In vitro - in vivo* korelacionih modela.

Član je sekcije kliničkih farmakologa srpskog lekarskog društva, evropskog udruženja kliničkih farmakologa (EACPT), kao i internacionalnog udruženja za farmakoekonomiju (ISPOR). Posедуje sertifikat dobre kliničke prakse američkog udruženja profesionalaca u kliničkom istraživanju (ACRP).

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Danica M. Cvetković

broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

POVEZANOST NIVOVA ADIPOCITOKINA I RAZLIČITIH PODTIPOVA
LIPODISTROFIJE KOD BOLESNIKA SA HIV INFEKCIJOM

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 14.02.2018.

Danica M. Cvetković

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Danica M. Cvetković

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada POVEZANOST NIVOA ADIPOCITOKINA I RAZLIČITIH
PODTIPOVA LIPODISTROFIJE KOD BOLESNIKA SA HIV INFEKCIJOM

Mentor Prof. Dr Gordana Dragović Lukić

Potpisani Danica M. Cvetković

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 17.02.2018.

Cvetković Danica

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**POVEZANOST NIVOVA ADIPOCITOKINA I RAZLIČITIH PODTIPOVA
LIPODISTROFIJE KOD BOLESNIKA SA HIV INFEKCIJOM**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 14.02.2018.

Marković Stevan