

**ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ**

**Storia naturale dell'infezione da HIV:  
contributo dell'*Italian Seroconversion Study***

Benedetta Longo, Patrizio Pezzotti,  
Maria Dorrucci, Giovanni Rezza

*Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate*

ISSN 1123-3117

**Rapporti ISTISAN**

**04/19**

Istituto Superiore di Sanità

**Storia naturale dell'infezione da HIV: contributo dell'*Italian Seroconversion Study*.**

Benedetta Longo, Patrizio Pezzotti, Maria Dorrucci, Giovanni Rezza

2004, iv, 40 p. Rapporti ISTISAN 04/19

Questo rapporto è nato con l'intento di fornire una descrizione del contributo dell'*Italian Seroconversion Study*, studio ideato e finanziato dall'Istituto Superiore di Sanità da oltre 15 anni. La coorte dell'*Italian Seroconversion Study* è una coorte prospettica, longitudinale, multicentrica. Il principale criterio di arruolamento consiste nella disponibilità di un test sierologico per HIV negativo seguito da un test positivo. La data di sieroconversione è stimata come il punto di mezzo tra le date dei 2 test sierologici. Obiettivo principale della coorte è quello di contribuire alla conoscenza della storia naturale dell'infezione da HIV, di valutare l'effetto di popolazione delle terapie antiretrovirali sul tempo di incubazione dell'AIDS e sulla sopravvivenza delle persone con infezione da HIV, e di individuare i determinanti e i marcatori di progressione della malattia nonché le eventuali modificazioni che questi hanno subito nel corso degli anni. La coorte partecipa, inoltre, da alcuni anni al progetto CASCADE (*Concerted Action on Seroconversion to AIDS and Death in Europe*), gestito dal *Medical Research Council* di Londra e finanziato dalla Comunità Europea.

*Parole chiave:* Studio di coorte, Storia naturale, Infezione da HIV

Istituto Superiore di Sanità

**Natural history of HIV infection: contribution of the *Italian Seroconversion Study*.**

Benedetta Longo, Patrizio Pezzotti, Maria Dorrucci, Giovanni Rezza

2004, iv, 40 p. Rapporti ISTISAN 04/19 (in Italian)

The aim of this report is to provide insights on the scientific contribution of the Italian Seroconversion Study, a study conceived and funded by the Istituto Superiore di Sanità, which has been lasting from more than 15 years. The cohort of the Italian Seroconversion Study is a prospective, longitudinal, multicentric cohort. Criteria for participants' enrolment consist of the availability of a documented HIV negative test, followed by an HIV positive one. The seroconversion date is estimated as the midpoint in time between the last negative and the first positive test. The main objective of the cohort is: to contribute to the knowledge of the natural history of HIV infection, to evaluate the population effectiveness of antiretroviral therapy on AIDS incubation time and on survival of HIV infected individuals, and to identify determinants and markers of disease progression, as well as their eventual changes over time. Since few years ago, this cohort is part of a collaborative project called CASCADE (*Concerted Action on Seroconversion to AIDS and Death in Europe*), which is run by the Medical Research Council of London and funded by European Community.

*Key words:* Cohort study, Natural history, HIV infection

Per informazioni su questo documento scrivere a: [g.rezza@iss.it](mailto:g.rezza@iss.it); [benedetta.longo@iss.it](mailto:benedetta.longo@iss.it)

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: [www.iss.it](http://www.iss.it).

---

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*  
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro* e *Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2004

All' *Italian Seroconversion Study* collaborano o hanno collaborato i seguenti referenti e centri:

**Istituto Superiore di Sanità, Roma**

*G. Rezza, P. Pezzotti, M. Dorrucchi, B. Longo, M. Pappagallo, S. Boros, C. Valdarchi, M. Zazzara, M.B. Alliegro, A. Petrucci, A. Cozzi Lepri*

**Ospedale Amedeo di Savoia, Torino**

*B. Salassa*

**Università di Torino, Torino**

*A. Sinicco, M. Sciandra*

**Centro Antivenereo (CAVE), Milano**

*R. Zerboni, S. Muratori, G. Tarantini, M. Cusini, C. Bernardi*

**Università degli studi, Milano**

*M. Galli, S. Santambrogio, A. Cappelletti*

**Ospedale San Raffaele, Milano**

*A. Lazzarin, L. Ciaffi, N. Ceserani*

**Università di Brescia, Brescia**

*F. Castelli, L. Tomasoni*

**Ospedale di Bolzano, Bolzano**

*R. Pristerà*

**Centro di Riferimento Oncologico, Aviano**

*U. Tirelli, G. Nasti, G. Vultaggio, F. Martellotta*

**Università di Genova, Genova**

*G. Mazzaello, A. Canessa*

**Università di Bologna, Bologna**

*V. Colangeli, E. Ricchi, F. Chiodo*

**Ospedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia**

*M.A. Ursitti, S. Gafà, R. Corradini*

**Ospedale Civile, Piacenza**

*F. Alberici, P. Viale, A. Faggi, A. Donisi*

**Ospedale di Livorno, Livorno**

*M. Barbanera*

**Università La Sapienza di Roma, Roma**

*F. Aiuti, R.M. Rosso, M. Carlesimo*

**IRCCS L. Spallanzani, Roma**

*M. Zaccarelli, D. Zinzi, D. Serraino*

**Università Cattolica, Roma**

*L. Ortona, A. de Luca*

**Ospedale San Gallicano, Roma**

*M. Giuliani*

**Università di Bari, Bari**

*G. Angarano, G. Buccoliero, J. Fiore, M. Tateo*



# INDICE

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Introduzione</b> .....                                                        | 1  |
| <b>Caratteristiche dello studio</b> .....                                        | 2  |
| Razionale .....                                                                  | 2  |
| Obiettivi .....                                                                  | 2  |
| Disegno .....                                                                    | 3  |
| Raccolta dati .....                                                              | 3  |
| Collaborazioni internazionali.....                                               | 4  |
| Prospettive future.....                                                          | 5  |
| <b>Pubblicazioni dell’<i>Italian Seroconversion Study</i></b> .....              | 7  |
| Tempo di incubazione, sopravvivenza e determinanti di progressione clinica ..... | 7  |
| Storia naturale nei tossicodipendenti.....                                       | 7  |
| Categoria di esposizione .....                                                   | 8  |
| Età .....                                                                        | 8  |
| Sesso .....                                                                      | 8  |
| Coinfezione con altri virus.....                                                 | 9  |
| HIV/HCV .....                                                                    | 9  |
| HIV-1/HTLV-II nei tossicodipendenti.....                                         | 9  |
| Herpes varicella/zoster e progressione in AIDS.....                              | 9  |
| HSV-2/HIV .....                                                                  | 10 |
| HHV-6/HIV .....                                                                  | 10 |
| HHV-8/HIV .....                                                                  | 11 |
| HHV-8 e sarcoma di Kaposi.....                                                   | 11 |
| Incidenza del sarcoma di Kaposi e sieroprevalenza dell’infezione da HHV-8.....   | 11 |
| HHV-8 ed encefalopatia da HIV .....                                              | 12 |
| Sarcoma di Kaposi e invecchiamento.....                                          | 12 |
| Infezioni multiple da herpesvirus .....                                          | 12 |
| Marcatori predittivi di progressione clinica.....                                | 13 |
| Predittori precoci di progressione nei tossicodipendenti.....                    | 13 |
| Tasso di decremento dei linfociti CD4+.....                                      | 13 |
| Marcatori immunologici di progressione in AIDS.....                              | 14 |
| Trend temporale dei CD4+ alla sieroconversione.....                              | 14 |
| Velocità del decremento dei CD4+ .....                                           | 15 |
| Tasso di declino dei CD4+ come determinante indipendente di progressione.....    | 15 |
| Determinanti di progressione in AIDS dopo l’avvento dell’AZT .....               | 16 |
| Andamento dell’HIV-RNA plasmatico durante l’infezione da HIV .....               | 16 |
| Glicoproteina 90K.....                                                           | 17 |
| Malattia acuta da HIV.....                                                       | 17 |
| Gravidanza in donne sieropositive.....                                           | 18 |
| <i>Long-term non progressor</i> .....                                            | 18 |
| “Progressori lenti e veloci”: un confronto .....                                 | 18 |
| Andamento dei marcatori immunologici negli LTNP.....                             | 19 |
| Terapia antiretrovirale e progressione clinica.....                              | 19 |
| Marcatori di risposta alla monoterapia con AZT .....                             | 19 |
| Monoterapia con AZT e progressione in AIDS .....                                 | 19 |
| Risposta all’HAART e durata dell’infezione da HIV .....                          | 20 |
| <i>Population effectiveness</i> e terapia antiretrovirale.....                   | 20 |

|                                                                                                      |        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Tumori e HIV .....                                                                                   | 21     |
| Incidenza dei tumori nei soggetti con infezione da HIV .....                                         | 21     |
| Tumori negli uomini con HIV o a rischio di HIV .....                                                 | 21     |
| Carcinoma invasivo della cervice uterina prima e dopo l'HAART .....                                  | 22     |
| Neuropatie periferiche e HIV.....                                                                    | 22     |
| <i>Bias</i> , coorti prevalenti e progressione clinica .....                                         | 22     |
| Imputazione multipla e stima dell'incidenza dell'infezione da HIV .....                              | 23     |
| Anno di sieroconversione e progressione clinica negli studi di coorte.....                           | 24     |
| <br><b>Pubblicazioni del progetto CASCADE .....</b>                                                  | <br>26 |
| Terapia antiretrovirale.....                                                                         | 26     |
| Sopravvivenza prima e dopo l'introduzione dell'HAART.....                                            | 26     |
| Sopravvivenza e studi osservazionali .....                                                           | 29     |
| HAART e tumori in HIV .....                                                                          | 30     |
| Infezione acuta da HIV .....                                                                         | 30     |
| Intervallo del test per l'HIV, fattori demografici e progressione clinica.....                       | 30     |
| Effetto della terapia antiretrovirale durante la sieroconversione sulla progressione di malattia ... | 31     |
| Rischio di AIDS.....                                                                                 | 31     |
| Rischio di AIDS e rischi competitivi .....                                                           | 31     |
| Rischio di AIDS a breve termine .....                                                                | 32     |
| Risposta a breve termine dei CD4+ dopo l'inizio dell'HAART .....                                     | 33     |
| Tubercolosi e progressione dell'HIV .....                                                            | 33     |
| Durata dell'infezione e progressione in AIDS .....                                                   | 34     |
| Linfociti CD4+ alla sieroconversione e loro declino .....                                            | 34     |
| <br><b>Bibliografia.....</b>                                                                         | <br>36 |

## INTRODUZIONE

Gli studi osservazionali longitudinali hanno avuto un'importanza determinante per la conoscenza dell'infezione da HIV. È grazie anche a questi studi che sono state identificate le modalità di trasmissione dell'infezione, che è stata stimata la probabilità di trasmissione per contatto con caso indice, valutato il tempo di latenza tra il momento dell'infezione e la comparsa degli anticorpi contro il virus (nota come sieroconversione), stimato il tempo di incubazione della malattia conclamata, per convenzione definita come AIDS, e identificati i cofattori e marcatori associati alla progressione della malattia. Questi studi sono stati importanti anche per lo sviluppo e l'applicazione di nuove tecniche di analisi statistica e per una riflessione sul disegno degli studi epidemiologici. Inoltre, hanno fatto da *trait d'union* tra la "ricerca di base" e la sanità pubblica, e sono diventati un punto di riferimento nella valutazione dell'efficacia a livello di popolazione (*effectiveness*) delle strategie terapeutiche che si sono rese progressivamente disponibili.

Anche in Italia esistono studi osservazionali di tipo longitudinale che hanno dato un importante contributo alla conoscenza dell'infezione da HIV; l'obiettivo di questo rapporto è quello di fornire una descrizione del contributo dell'*Italian Seroconversion Study*, studio ideato e finanziato dall'Istituto Superiore di Sanità da oltre 15 anni.

Dopo una descrizione dello studio (razionale, obiettivi, disegno, raccolta dati, e collaborazioni internazionali), si presenta una breve sintesi delle pubblicazioni prodotte sia nell'ambito dell'*Italian Seroconversion Study* che del progetto CASCADE (*Concerted Action on SeroConversion to AIDS and Death in Europe*) nato nel 1997 con lo scopo di studiare la storia dell'HIV su scala più ampia. I riassunti delle pubblicazioni non sono disposti in ordine cronologico, bensì raggruppati in maniera ragionata, sulla base del tema e del contributo conoscitivo fornito. Le pubblicazioni qui riportate comprendono quelle pubblicate fino agli inizi del 2004.

## CARATTERISTICHE DELLO STUDIO

### Razionale

Nella seconda metà degli anni '80, in Italia era ormai chiaro che si stava verificando un'epidemia su larga scala di infezioni da HIV nelle persone che facevano uso di droga (nel caso italiano quasi esclusivamente eroina) per via endovenosa e che si infettavano soprattutto attraverso lo scambio di siringhe. Di fatto, l'Italia è stato uno dei primi Paesi nei quale questa modalità di trasmissione ha rappresentato la principale via di diffusione della malattia. All'epoca, vari studi osservazionali erano già iniziati, principalmente negli USA, in Gran Bretagna e nei Paesi scandinavi, con l'obiettivo principale di valutare la progressione clinica e i potenziali cofattori ad essa associati. Questi studi si limitavano però ad analizzare soprattutto i maschi infettatisi attraverso rapporti omosessuali o con la somministrazione di emoderivati (persone con emofilia). C'era quindi la necessità di iniziare uno studio longitudinale in grado di valutare la progressione clinica nelle persone infettatesi con modalità diverse (sessuale e droga per via endovenosa). In particolare, i due diversi meccanismi di trasmissione facevano pensare che la quantità di virus realmente trasmessa potesse essere molto diversa e fosse quindi in grado di influenzare la progressione clinica. Inoltre, era stata avanzata l'ipotesi che le persone infettatesi attraverso l'uso di droga per via endovenosa potessero avere un tasso di progressione verso l'AIDS più rapido e una sopravvivenza inferiore in conseguenza di uno stile di vita disordinato, ad una frequenza maggiore di coinfezioni virali e batteriche, nonché ad un potenziale effetto negativo della droga sul sistema immunitario.

### Obiettivi

Obiettivo principale della coorte dell'*Italian Seroconversion Study* è quello di contribuire alla conoscenza della storia naturale dell'infezione da HIV e alle sue modifiche nel tempo e in particolare:

1. stimare il tasso di progressione verso l'AIDS, a partire dalla sier conversione, nonché la sopravvivenza globale, in persone con infezione da HIV;
2. identificare eventuali determinanti di progressione clinica (es. caratteristiche demografiche o comportamentali, coinfezione con altri agenti virali, ecc.);
3. identificare parametri clinici e laboratoristici (es. conta dei linfociti CD4+, carica virale, ecc.) predittivi di evoluzione della malattia da HIV;
4. descrivere le dinamiche naturali o indotte dal trattamento antiretrovirale dei linfociti CD4+ e della carica virale (HIV-RNA) misurata con metodiche PCR;
5. fornire le conoscenze necessarie per la formulazione di modelli matematici utilizzabili ai fini di sanità pubblica (es. stima della distribuzione dei tempi di incubazione dell'AIDS) e sviluppare metodologie statistiche avanzate per l'analisi dei dati longitudinali;
6. valutare l'andamento dell'uso e l'effetto di popolazione delle terapie antiretrovirali;
7. utilizzare i dati raccolti in questo studio per la valutazione di alcuni *bias* (quali *survival bias* e *right censoring bias*) negli studi di coorte.



## Disegno

La selezione dei centri partecipanti non ha seguito dei criteri di campionamento probabilistico. Sono infatti stati coinvolti centri clinici di malattie infettive che avevano già un'esperienza notevole con pazienti HIV-positivi e che avevano un contatto diretto con centri di screening per l'HIV – cioè SERT (Servizi Tossicodipendenze), centri per la diagnosi e il trattamento di malattie veneree.

La valutazione della progressione clinica richiedeva chiaramente un disegno di studio di tipo longitudinale prospettico. Tuttavia, già molti centri seguivano pazienti HIV-positivi con continuità e quindi si pensò che un arruolamento retrospettivo fosse praticabile. Per limitare le potenziali distorsioni date da un arruolamento retrospettivo in cui i pazienti più sintomatici erano quelli più facilmente identificabili in quegli anni, l'arruolamento fu ristretto a pazienti che alla prima diagnosi di HIV non avevano sviluppato l'AIDS. Inoltre lo studio fu ristretto a quei pazienti HIV-positivi che avevano precedentemente effettuato un test per la diagnosi di HIV risultato negativo. L'intervallo tra i due test inizialmente richiesto era di meno di 18 mesi, ma col tempo è stato allargato a 24. Di fatto ad oggi non ci sono più restrizioni su questo intervallo anche se la gran parte dei pazienti arruolati hanno un intervallo inferiore ai 24 mesi. La scelta di effettuare uno studio con pazienti HIV-positivi seguiti dal momento della sierconversione fu dovuto soprattutto a due ragioni. La prima era di tipo metodologico: questo studio avrebbe permesso di limitare distorsioni normalmente presenti in studi basati su pazienti HIV-positivi senza una data di sierconversione nota (coorti prevalenti). La seconda era sfortunatamente legata alle caratteristiche dell'epidemia: nella seconda metà degli anni '80 molti pazienti ritenuti a rischio di infezione da HIV venivano testati ripetutamente e, nonostante l'applicazione di strategie volte alla prevenzione dell'infezione, molti sierconvertivano. Non era quindi difficile identificare un numero elevato di pazienti con queste caratteristiche.

I centri clinici attualmente facenti parte della coorte sono 17, di cui 10 al Nord, 6 al Centro e 1 al Sud.

## Raccolta dati

Per ogni paziente viene compilata una scheda semestrale per la raccolta dei dati demografici (sesso ed età) e dei parametri clinico-immunologici, nonché di alcuni dati comportamentali.

Nel corso degli anni la scheda di raccolta dati è stata modificata più volte e con essa hanno subito delle modificazioni anche le informazioni richieste.

L'ultima versione della scheda, elaborata intorno al 2002 e revisionata l'ultima volta nel 2003 prevede la raccolta di informazioni riguardo ai seguenti dati:

- data dell'ultimo test per l'HIV negativo e del primo test positivo (in mancanza anche di uno solo di questi dati il paziente viene giudicato non arruolabile);
- generalità anagrafiche (data e luogo di nascita);
- modalità di trasmissione dell'infezione;
- luogo ove verosimilmente si è verificata l'infezione (nazione);
- eventuale esecuzione di profilassi post-esposizione;
- stato attuale del paziente (vivo, morto, perso, trasferito);
- solo per le donne: pap-test, gravidanze e loro esito;
- eventi clinici;
- terapia antiretrovirale, profilassi per infezioni opportunistiche e altri tipi di terapia;
- esami ematochimici, compresi trigliceridi, colesterolo totale, HDL e LDL;

- parametri viroimmunologici (HIV-RNA e linfociti TCD4 e TCD8);
- notizie sulla coinfezione con l'epatite B e C;
- notizie generiche sull'eventuale presenza di epatopatia (stadiazione, trattamento, presenza di fattori di rischio quali abuso di alcool o psicofarmaci);
- notizie sul decesso sono raccolte a parte sulla "scheda decesso", in modo da avere informazioni il più possibile precise e dettagliate sulle cause e modalità di morte.

## Collaborazioni internazionali

L'*Italian Seroconversion Study* ha partecipato, con la sua coorte, a diverse collaborazioni internazionali quali la *Multicohort Analysis Project* (MAP), il progetto CASCADE, l'*International Collaboration on HIV and Cancer* e il progetto "CASCADE virology".

Durante il MAP workshop, effettuato nel 1993, sono state effettuate diverse analisi congiunte con dati provenienti da diverse coorti. Hanno partecipato al workshop, oltre all'*Italian Seroconversion Study*, altri 4 studi di coorte: la *Edinburgh City Hospital cohort*, la *London Royal Free Hospital Haemophilia cohort*, la *National Cancer Institute (NCI) cohort* e la *Toronto Sexual Contact study cohort*.

CASCADE è una collaborazione finanziata dalla Comunità Europea e nata nell'aprile 1997 per raccogliere insieme i dati provenienti dalle principali coorti di sieroconvertiti presenti in Europa, Nord America e Australia. L'obiettivo principale è quello di rispondere a domande sulla storia naturale dell'infezione da HIV alle quali non è possibile rispondere attraverso i singoli studi.

Nell'ambito dell'*International Collaboration on HIV and Cancer*, sono stati analizzati congiuntamente dati da molte coorti per valutare l'evoluzione temporale del rischio di sviluppare diversi tipi di neoplasie associate all'infezione da HIV. I dati provenivano da 23 studi di coorte presenti in Nord America, Europa e Australia che seguono prospetticamente soggetti con infezione da HIV. Fra queste coorti sono comprese le 19 facenti parte di CASCADE.

Il progetto "CASCADE virology", nato in seno del progetto CASCADE, è finanziato sempre dalla Comunità Europea dal 2002 ma separatamente dal progetto CASCADE e prevede la raccolta di campioni biologici per determinare attraverso tecniche di biologia molecolare i sottotipi virali e le mutazioni genetiche associate alle resistenze ai farmaci antiretrovirali presenti al momento della sieroconversione. Obiettivi principali dello studio sono:

- 1) valutare quanto la presenza di resistenze ai farmaci antiretrovirali al momento della sieroconversione possa influenzare la progressione della malattia;
- 2) valutare se diversi sottotipi virali possano influenzare la progressione della malattia. Altri obiettivi secondari sono la stima della prevalenza dei sottotipi virali dell'HIV, delle forme ricombinanti e delle resistenze ai farmaci antiretrovirali in persone con data di sieroconversione nota, mai esposte a terapie antiretrovirali.

Oltre a queste collaborazioni formalmente definite, in alcuni studi, i dati dell'*Italian Seroconversion Study* sono stati analizzati congiuntamente a quelli di altre coorti longitudinali quali:

- *DMI-2*

Coorte multicentrica del Sud-Est della Francia, comprendente i dati di tutti i soggetti HIV positivi che hanno accesso alle cure ospedaliere in Francia: 2976 uomini seguiti tra il primo gennaio 1988 e il 31 gennaio 1998 all'Ospedale Universitario di Nizza.

- *Comunità di San Patrignano*

Coorte di 4347 uomini ex-tossicodipendenti (HIV positivi o meno) arruolati tra il 1982 e il 1997 nella Comunità, a Rimini, nel Nord Italia.

- *ALIVE*  
Coorte chiusa di tossicodipendenti (HIV positivi o meno) arruolati tra la fine del 1988 e l'inizio del 1989 a Baltimora, Maryland, USA. I pazienti sono seguiti semestralmente per effettuare prelievi, controllo medico e raccogliere storia clinica e comportamentale.
- *Group on AIDS Incubation and HIV Survival (GAIHS)*  
Coorte di circa 13000 sieroconvertiti provenienti da 38 studi presenti in Europa, Nord America e Australia.
- *AIDS Outreach Intervention Project (Chicago)*  
Studio di coorte longitudinale che segue dagli anni ottanta soggetti tossicodipendenti.
- *Montefiore Medical Center (Bronx, New York)*  
Studio di coorte longitudinale che segue dagli anni ottanta soggetti tossicodipendenti.
- *RFHHC (Royal Free Hospital Haemophilia Cohort)*  
Coorte di 111 uomini emofilici che hanno contratto l'infezione da HIV tra il 1979 e il 1985 in seguito a trasfusione di emoderivati. Test retrospettivi su campioni di siero congelato e l'introduzione di emoderivati sterilizzati nel 1985, hanno permesso di stabilire la data di sieroconversione in 83 individui con un errore massimo di 2 anni.

## Prospettive future

Lo studio di pazienti con infezione da HIV seguiti dal momento della sieroconversione è lo strumento epidemiologico ideale per il monitoraggio continuo delle modificazioni nel tempo del periodo di incubazione della malattia conclamata e della sopravvivenza. L'evoluzione continua dell'epidemia dell'infezione da HIV verosimilmente porterà ad un cambiamento nelle caratteristiche genetiche del virus circolante in Italia, anche per la continua pressione farmacologica alla quale è sottoposto. In tal senso il progetto "CASCADE virology" ha già indicato nei suoi obiettivi le prospettive future anche per lo studio *Italian Seroconversion Study*.

Nel corso dell'anno 2004, in particolare, sono previsti quattro studi.

Il primo sarà volto a stimare la sopravvivenza globale, in persone con infezione da HIV e a valutare, in particolare, l'incidenza cumulativa, a partire dalla sieroconversione, dei decessi non AIDS correlati in epoca HAART, mediante l'uso di modelli di rischi competitivi. Verrà anche valutato se l'introduzione dell'HAART ha aumentato la probabilità di decesso per cause non correlate all'AIDS e se questa probabilità aumenta in tutte le categorie di esposizione.

Il secondo studio sarà volto ad indagare, a livello di popolazione, come variano i determinanti di progressione, quali l'età alla sieroconversione, dopo l'introduzione dell'HAART, e se il loro effetto è ugualmente importante per la progressione causa-specifica di tutte le patologie definenti l'AIDS.

Il terzo studio riguarderà la progressione clinica dei pazienti HIV positivi coinfectati con l'HCV.

Il quarto studio consisterà nell'analisi di alcuni marcatori sierologici di risposta verso specifiche proteine virali (es. anticorpi anti-Tat, anti-Gag e anti-Nef).

Infine, durante il prossimo anno, ci proponiamo di completare lo studio "CASCADE virology", intrapreso nel 2003 e finanziato da fondi europei, volto alla determinazione della circolazione dei sottotipi non-B dell'HIV-1 e delle resistenze ai farmaci antiretrovirali nelle nuove infezioni da HIV in Europa.

In collaborazione con il Servizio di Epidemiologia dell'IRCSS L. Spallanzani è inoltre in corso un progetto sullo studio dei tumori nei soggetti HIV positivi, con i seguenti obiettivi:

- 1) confronto dell'incidenza specifica per tipo di tumore, età e sesso *vs* popolazione generale;
- 2) verso immunodepressi per trapianto d'organo (dati provenienti dal registro nazionale trapiantati);
- 3) tossicodipendenza e tumori: incidenza e fattori di rischio (ai dati della nostra coorte verranno affiancati quelli di una coorte sieroprevalente francese);
- 4) andamento del grado di immunodepressione e sviluppo di tumori di origine infettiva.

## **PUBBLICAZIONI DELL'ITALIAN SEROCONVERSION STUDY**

La conoscenza della storia naturale dell'infezione da HIV è di fondamentale importanza per i medici, gli operatori sanitari, gli ufficiali implicati nella sanità pubblica e anche per i soggetti sieropositivi. L'identificazione dei cofattori biologici e comportamentali in grado di modificare la storia naturale di questa infezione, così come l'identificazione dei marcatori clinici e di laboratorio che potrebbero avere un significato prognostico nello sviluppo dell'AIDS, sono aspetti importanti in quanto potrebbero influenzare il momento in cui cominciare la terapia.

Diverse caratteristiche (tra cui la categoria di esposizione, l'età e il sesso) potrebbero modificare la progressione della malattia. In particolare, la storia naturale dell'infezione da HIV e i fattori predittivi di progressione in AIDS nei tossicodipendenti potrebbero differire da quelli osservati nelle altre categorie di esposizione a causa di una distribuzione differente in termini di età e di sesso in questa categoria, nonché per il fatto che l'uso continuato di droghe per via iniettiva sembra alterare la funzione linfocitaria portando quindi ad una progressione più rapida verso l'AIDS.

Di seguito è riportata una rassegna delle principali pubblicazioni prodotte dall'*Italian Seroconversion Study* presentate per argomento. I temi trattati sono: tempo di incubazione, sopravvivenza e determinanti di progressione clinica; coinfezione con altri virus; marcatori predittivi di progressione clinica; malattia acuta da HIV; gravidanza in donne sieropositive; *long-term non progressor*; terapia antiretrovirale e progressione clinica; tumori e HIV; neuropatie periferiche e HIV; *bias*, coorti prevalenti e progressione clinica.

### **Tempo di incubazione, sopravvivenza e determinanti di progressione clinica**

#### **Storia naturale nei tossicodipendenti**

Fino al 1989 erano pochi gli studi di coorte condotti su soggetti tossicodipendenti con infezione da HIV seguiti a partire dalla sier conversione, dato che la maggior parte dei lavori riguardavano maschi omosessuali ed emofiliaci. Questi studi sono stati condotti allo scopo di acquisire informazioni più accurate sulla storia naturale dell'infezione e per conoscerne meglio i cofattori e i marcatori di progressione nei soggetti tossicodipendenti.

Sempre allo scopo di meglio comprendere il tasso di progressione dell'infezione da HIV nei tossicodipendenti, questi ultimi sono stati comparati con un gruppo di maschi omosessuali.

Il tasso di progressione clinica osservato nella coorte non differisce da quello già riportato da altri autori sui maschi omosessuali. L'AIDS è un evento poco probabile nei primi 12 mesi di infezione, mentre la sua incidenza aumenta significativamente a partire da due anni dalla sier conversione. Cofattori, quali l'infezione con il virus dell'epatite B, il tipo di droga utilizzato, l'uso continuato di eroina anche dopo la sier conversione, non sembrano influenzare la progressione dell'infezione da HIV verso l'AIDS. A parte la durata dell'infezione, non sembra che al momento vi siano altri fattori associati alla progressione della malattia in AIDS (1).

Nei tossicodipendenti, il rischio di andare incontro all'AIDS a 6 anni dalla sier conversione è di circa il 23% e l'incidenza annuale di AIDS aumenta con la durata dell'infezione da HIV:

l'incremento maggiore si osserva a partire da cinque anni dall'infezione. Inoltre il tasso di progressione clinica non differisce tra tossicodipendenti attivi e pregressi e tra tossicodipendenti e maschi omosessuali (2).

A due e tre anni dalla sieroconversione rispettivamente il 98% e il 93% dei tossicodipendenti e il 95% e l'84% degli omosessuali non aveva ancora sviluppato l'AIDS. L'incidenza di AIDS nei due gruppi non è risultata essere significativamente differente. Il rischio di sviluppare l'AIDS dopo quattro anni di infezione è stato del 13,8% nei tossicodipendenti e del 16,2% negli omosessuali, con una differenza non significativa. In entrambi i gruppi il rischio aumentava dopo 24 mesi dalla sieroconversione (3).

## **Categoria di esposizione**

Il periodo di incubazione dell'infezione da HIV non differisce in modo significativo nelle diverse categorie di esposizione (omosessuali, eterosessuali, tossicodipendenti), né tra i due sessi (2-7).

Allo scopo di rispondere ad una delle questioni rimasta aperta su possibili cofattori in grado di modificare il tasso di progressione clinica: ovvero se le somiglianze osservate in termini di tasso di progressione tra le varie categorie di trasmissione rimangano tali anche per regioni geografiche e per caratteristiche demografiche differenti, sono stati comparati i dati provenienti dall'*Italian Seroconversion Study* con quelli della coorte ALIVE.

La stima dei tassi di progressione dell'HIV tra queste due popolazioni di tossicodipendenti, con diversa composizione in termini di età, razza e tipo di droga iniettata, ha mostrato che, anche tenendo conto dell'effetto dell'età, il tasso di progressione in AIDS è simile nelle due coorti. Questo risultato è notevole se si considera che i tossicodipendenti italiani utilizzavano soprattutto eroina mentre quelli di Baltimora utilizzavano in gran parte più di un tipo di sostanza, con  $\frac{3}{4}$  di essi che alternavano eroina a cocaina (8).

## **Età**

Un fattore risultato univocamente determinante nell'influenzare il rischio di progressione clinica è stato l'età al momento della sieroconversione. Infatti la probabilità di sviluppare AIDS aumenta con l'aumentare dell'età alla sieroconversione (2-7). Le differenze osservate tra le varie categorie di trasmissione sono dovute soprattutto all'effetto confondente dell'età.

La presenza di alcuni cofattori può accelerare la progressione verso la malattia conclamata. Questi possono anticipare o accelerare, ad esempio, la curva di caduta dei linfociti CD4+. Il più importante fattore di anticipazione della immunodepressione è l'età al momento della sieroconversione. Altre variabili (sesso, modalità di trasmissione) non sembrano invece influenzare l'evoluzione clinica. Per quanto riguarda i tossicodipendenti, l'uso continuativo di sostanze stupefacenti non sembra influenzare l'evoluzione clinica. Per quanto attiene agli indicatori di tipo clinico prognostici di evoluzione in AIDS, la malattia acuta da HIV agisce in modo negativo (9).

## **Sesso**

Il rischio di progressione in AIDS, di morte per AIDS e di linfocitopenia ( $CD4^+ < 200/mm^3$ ) dal momento della sieroconversione è simile fra uomini e donne appartenenti alle stesse categorie di trasmissione. Sia negli uomini che nelle donne il rischio di sviluppare l'AIDS prima che i linfociti  $CD4^+$  siano scesi sotto i  $200/mm^3$  è minimo. L'AIDS si sviluppa ad un valore

mediano stimato di CD4+ simile in entrambi i sessi (10) Il rischio di sviluppare l'AIDS è più alto tra i maschi omosessuali proprio perché hanno un'età più avanzata al momento della sier conversione e tale differenza scompare dopo aver controllato per l'età (2).

## **Coinfezione con altri virus**

### **HIV/HCV**

Le interazioni tra HCV e HIV sono complesse, anche perché i meccanismi associati alla risposta immunitaria nei confronti dell'HCV non sono ancora completamente chiari. Diversi studi hanno dimostrato che la prevalenza degli anticorpi anti-HCV tra i soggetti HIV+ è molto eterogenea a seconda delle categorie di esposizione. Dato che la coinfezione con HCV è molto frequente tra i tossicodipendenti, è importante stabilire se questa possa, direttamente o indirettamente, influenzare la progressione clinica verso l'AIDS. Esistono già dei dati che supportano l'ipotesi che l'infezione da HIV modifichi il decorso di quella da HCV, mentre resta una questione dibattuta se l'HCV influenzi o meno la progressione della malattia da HIV. A tale scopo sono stati comparati gli end-point "progressione in AIDS" e "CD4+<100/mm<sup>3</sup>" tra soggetti sieropositivi per HIV soltanto e soggetti coinfezati HIV/HCV.

I risultati ottenuti mostrano come la coinfezione con HCV non influenzi la progressione clinica e immunologica della malattia da HIV (11, 12).

### **HIV-1/HTLV-II nei tossicodipendenti**

Le infezioni da HTLV-I e II sono indistinguibili mediante test sierologici standard con ELISA ma possono essere differenziate mediante test sierologici che utilizzano proteine ricombinanti. Sia l'HTLV-I che il II possono essere trasmessi per via parenterale e sebbene condividano simile struttura nucleotidica e via di trasmissione, la loro patogenicità rimane poco chiara. L'HTLV-I è stato definitivamente associato alla leucemia/linfoma a cellule T dell'adulto e alla mielopatia associata all'HTLV-I/paraparesi spastica tropicale mentre nessuna patologia è stata ancora associata con sicurezza all'HTLV-II. Nonostante ciò, è stata posta l'attenzione su un possibile ruolo di HTLV-II come modificatore di progressione della malattia da HIV. Primo perché l'infezione è endemica tra i tossicodipendenti e i loro partner negli Stati Uniti; secondo poiché studi in vitro hanno indicato che l'esposizione alle proteine dell'envelope di HTLV-I e HTLV-II attivano le cellule T andando a stimolare la replicazione dell'HIV-1. Queste osservazioni suggeriscono che l'interazione di questi virus potrebbe portare ad una riduzione del periodo di incubazione e ad una più rapida progressione della malattia da HIV-1.

A tale scopo è stata attuata un'analisi congiunta dei dati della nostra coorte con quelli di altre 3 coorti di tossicodipendenti americani. I risultati hanno mostrato come in realtà la coinfezione con il virus HTLV-II non influenzi la progressione dell'infezione da HIV nei tossicodipendenti, in termini di rapidità di progressione verso l'AIDS e di decesso AIDS-relato. Inoltre i coinfezati, dopo la sier conversione per l'HIV-1, non presentano un tasso di declino dei linfociti CD4+ (in % e in numero assoluto) più rapido (13).

### **Herpes varicella/zoster e progressione in AIDS**

Il rischio di herpes zoster nei soggetti sieropositivi per HIV è circa nove volte superiore a quello nei sieronegativi. Tuttavia studi condotti per stabilire la relazione tra comparsa

dell'infezione da herpes zoster e stadio dell'infezione da HIV hanno portato a risultati discordanti. Inoltre non è ancora chiaro se il rischio di AIDS aumenti dopo un episodio di herpes zoster. Questo studio è stato condotto per stimare l'incidenza e i determinanti di herpes zoster e per valutare se il rischio di progressione in AIDS sia maggiore negli individui con coinfezione HIV/VZV rispetto a quelli con sola infezione da HIV, tenendo conto del livello di CD4 raggiunto.

L'herpes zoster si verifica a livelli di CD4+ maggiori delle altre infezioni opportunistiche minori; tuttavia la sua incidenza aumenta col ridursi dei linfociti CD4+. L'incidenza di herpes zoster è maggiore tra gli individui che hanno acquisito l'infezione da HIV tramite rapporti sessuali, anche dopo aver aggiustato per il numero dei linfociti CD4+. Andrà valutato in seguito se questo risultato sia dovuto ad una differente esposizione ad altri agenti in grado di influenzare la riattivazione di VZV. Il VZV comunque di per sé non influenza il decorso clinico dei pazienti con infezione da HIV, sebbene la presenza di febbre durante il primo episodio possa portare ad una più rapida progressione in AIDS, anche dopo aver controllato per il numero di CD4+.(14)

## **HSV-2/HIV**

Vi sono numerosi studi che riportano come le ulcere genitali, incluse quelle da herpes simplex, rappresentino un importante fattore di rischio sia per l'acquisizione che per la trasmissione dell'HIV e che la compromissione del sistema immunitario indotta dall'HIV porta ad una forma di herpes genitale ulcerativa grave, persistente e ricorrente. Tuttavia non è stato ancora studiato in dettaglio l'effetto dell'HSV sulla progressione della malattia da HIV. Nell'intento di valutare se la coinfezione HSV/HIV sia associata ad una progressione più rapida della malattia da HIV, sono stati ricercati gli anticorpi anti-HSV-2 su campioni di plasma prelevati in prossimità della sieroconversione per l'HIV ed è stato calcolato il tempo dalla sieroconversione per HIV alla prima diagnosi di AIDS, o alla data di morte/ fine studio.

L'infezione genitale da HSV-2 non influenza la progressione della malattia da HIV, ovvero l'evidenza sierologica o clinica di infezione da HSV-2 in un individuo HIV+ non è associata ad una più rapida progressione verso l'AIDS (15).

Numerosi studi, nell'intento di ricercare le interazioni tra l'HIV e l'HSV in vitro, hanno provato l'esistenza di una attivazione reciproca dei due virus o un effetto stimolante dell'HSV sulla replicazione dell'HIV attraverso vari meccanismi. In seguito a questi risultati è stato inserito il trattamento dell'infezione da HSV nella terapia dell'infezione da HIV allo scopo di ridurre sia la replicazione dell'HSV che il suo effetto stimolante sull'HIV con l'obiettivo di ottenere un beneficio in termini di sopravvivenza. Tuttavia i risultati ottenuti sono discordanti. Tali risultati provengono da studi condotti su coorti prevalenti e non sono perciò in grado di misurare cambiamenti nella durata del periodo libero da AIDS ma possono riscontrare solo modificazioni della sopravvivenza tra la diagnosi di AIDS e il decesso con follow-up di breve durata. Inoltre tali studi non aggiustano per la terapia antiretrovirale, la quale può essere somministrata contemporaneamente all'acyclovir rappresentando essa stessa la vera ragione dell'aumento della sopravvivenza.

Per ovviare a questi limiti e per far luce sulla questione è stato condotto questo studio, il quale ha dimostrato come il trattamento con acyclovir apparentemente non prolunghi in modo significativo la progressione verso l'AIDS tra i soggetti HSV2/HIV+, mentre il maggior beneficio in termini di sopravvivenza è dovuto alla terapia antiretrovirale (16).



## HHV-6/HIV

L'HHV-6 ha in comune con l'HIV un tropismo primario per le cellule TCD4<sup>+</sup> e può accelerarne l'effetto citopatico in linfociti coinfectati con HIV. Inoltre, la dimostrazione in vitro delle interazioni che si verificano tra HHV-6 e HIV suggerisce che la coinfezione con questo herpesvirus T linfotropico possano giocare un potenziale ruolo immunopatogenetico nella progressione della malattia da HIV. A tutt'oggi si hanno solo poche informazioni provenienti da studi di coorte prospettici con risultati tra l'altro conflittuali. Alcuni studi infatti mostrano che vi è un declino dei CD4<sup>+</sup> più rapido tra i soggetti coinfecti rispetto a quelli infettati col solo HIV mentre altri non mostrano differenze nella progressione in AIDS tra i due gruppi. Si tratta tuttavia di studi su un numero limitato di soggetti senza controllo per il potenziale ruolo di distorsione giocato dalla durata dell'infezione da HIV. In questo studio si è cercato di determinare se la positività per HHV-6 e i differenti livelli di anticorpi IgG possano predire la progressione della malattia da HIV in AIDS.

I risultati hanno dimostrato che la coinfezione HIV/HHV-6 in realtà non è associata alla progressione clinica della malattia da HIV; in accordo con questi dati anche un livello molto elevato di anticorpi IgG anti HHV-6 non porta ad uno sviluppo più rapido dell'immunodepressione HIV-relata (17).

## HHV-8/HIV

### HHV-8 e sarcoma di Kaposi

Studi sierologici hanno oramai confermato il ruolo dell'HHV-8 come determinante di sarcoma di Kaposi (SK) nei soggetti HIV-positivi. Si conosce ancora poco sul ruolo di altri possibili cofattori, oltre all'HHV-8, coinvolti nello sviluppo del sarcoma di Kaposi nei pazienti coinfecti. In effetti i primi studi sui fattori di rischio per il sarcoma riguardavano individui con infezione da HIV prima che fosse nota l'esistenza dell'HHV-8. Questo studio è stato progettato per fornire una stima accurata del rischio di sviluppare il SK tra i coinfecti HIV/HHV-8 su un periodo di 10 anni e per identificare i possibili cofattori per lo sviluppo di tale malattia su un campione di 366 pazienti appartenenti a differenti categorie di esposizione.

I risultati dello studio mostrano come a 10 anni dalla sier conversione, circa il 30% dei soggetti risultati positivi per gli anticorpi anti-HHV8 sviluppino il sarcoma di Kaposi. L'incidenza di sarcoma è bassa nei primi tre anni dalla sier conversione per HIV e aumenta drasticamente dopo 7 anni. Il rischio di sarcoma di Kaposi aumenta con l'aumentare del titolo anticorpale per HHV-8 con punte superiori al 40% entro 10 anni dalla sier conversione nei soggetti con titoli di 1:125 o più. Questi dati suggeriscono che il tempo di incubazione per il sarcoma è in genere variabile e lungo. Solo un individuo HHV-8 negativo al momento del primo test ha sviluppato il sarcoma nel periodo di studio; tuttavia, su un campione prelevato un anno prima della diagnosi, sono stati riscontrati gli anticorpi anti-HHV-8.

Tra i pazienti HHV8<sup>+</sup> non è stato riscontrato un eccesso di rischio per altre infezioni opportunistiche e il declino dei CD4<sup>+</sup> è simile a quello dei pazienti HHV-8<sup>-</sup>. Il rischio di sarcoma di Kaposi aumenta al diminuire dei linfociti CD4 e non è stata riscontrata una riduzione nel rischio di sarcoma nei pazienti trattati con farmaci antierpetici, quali ganciclovir o foscarnet (18).

### Incidenza del sarcoma di Kaposi e sieroprevalenza dell'infezione da HHV-8

Già prima dell'introduzione della terapia antiretrovirale combinata si è assistito ad una riduzione nella proporzione dei casi di sarcoma di Kaposi sul totale dei casi di patologie indicative di AIDS.

Tuttavia studi longitudinali su individui sieropositivi per HIV hanno dimostrato che questo declino potrebbe essersi verificato anche in concomitanza di un incremento del tasso di incidenza del SK, ed essere causato da un incremento più elevato dell'incidenza di altre patologie definenti l'AIDS. Sono state anche riportate una riduzione nei tassi cumulativi di SK dopo la diagnosi di AIDS e una comparsa più tardiva del SK. La riduzione del SK potrebbe essere data da un periodo di incubazione più breve rispetto alle altre patologie indice e perciò da un picco precoce, oppure da un declino nell'incidenza o da una ridotta incidenza e/o virulenza di un cofattore quale per esempio l'HHV-8. Questo studio è stato condotto allo scopo di valutare l'andamento temporale del SK e le dinamiche alla base del suo potenziale declino. È stato anche analizzato l'effetto dell'anno di sieroconversione per HIV e dell'anno di calendario sul rischio di sviluppare il SK. Infine, per valutare se la prevalenza dei cofattori per lo sviluppo del SK sia cambiata nel tempo, è stato studiato anche l'andamento temporale della sieroprevalenza per HHV-8.

Lo studio conclude che, sebbene il tasso di incidenza del SK sia aumentato fino al 1995, l'incidenza relativa è diminuita per l'aumento maggiore del tasso delle altre malattie definenti AIDS. Il fatto che il rischio di sviluppare il SK dopo la sieroconversione per HIV rimanga stabile nel tempo è in accordo con l'andamento stabile della sieroprevalenza per HHV-8. La riduzione drammatica dei tassi di incidenza del SK dopo il 1995 coincide con l'avvento della terapia antiretrovirale combinata (19).

### **HHV-8 ed encefalopatia da HIV**

Studi biologici suggeriscono che la coinfezione con l'HHV-8 possa proteggere dall'encefalopatia HIV-relata. Infatti l'HHV-8 codifica una proteina in grado di bloccare l'infezione da HIV-1 inibendone l'ingresso nelle cellule della microglia. Tuttavia altri studi smentiscono tale ipotesi. Allo scopo di meglio valutare il potenziale ruolo protettivo della coinfezione con HHV-8, sono stati analizzati i fattori di rischio per l'encefalopatia da HIV.

I risultati hanno mostrato che il sesso maschile, l'utilizzo di droga per via endovenosa e un basso livello di CD4+ sono associati all'encefalopatia da HIV, mentre non è stata riscontrata una differenza significativa nel rischio di sviluppare l'encefalopatia HIV-relata tra soggetti HHV-8 positivi e HHV-8 negativi (20).

### **Sarcoma di Kaposi e invecchiamento**

Nella popolazione generale l'incidenza dei più frequenti tipi di tumori aumenta all'aumentare dell'età sia negli uomini che nelle donne e nelle diverse aree geografiche. Questo fatto si spiega sia con il modello multistadio della carcinogenesi sia, almeno in parte, col progressivo calo della risposta immunitaria con l'avanzare dell'età. Dal momento che i soggetti con infezione da HIV hanno una speranza di vita maggiore dopo l'introduzione dell'HAART, è attualmente possibile studiare attentamente la relazione tra immunodepressione, invecchiamento e tumori. In questo studio è stata analizzata la relazione tra l'invecchiamento e il SK, prendendo in considerazione la durata dell'infezione da HIV, il livello di immunosoppressione e, per un sottogruppo all'interno della popolazione in studio, la prevalenza dell'infezione da HHV-8.

Tra i soggetti con infezione da HIV, non vi è una relazione lineare tra età e rischio di SK poiché questo aumenta fino ai 45-49 anni e poi diminuisce. Questi dati sono confermati anche dopo aver controllato per durata dell'infezione, per livello di immunodepressione e per presenza di HHV-8 nel sottogruppo di pazienti per i quali era disponibile questa informazione. Questi risultati sono in accordo anche con quelli provenienti da studi cross-sectional che mostrano come soggetti HIV-positivi, soprattutto omosessuali, siano ad elevato rischio di infezione da HHV-8 e SK e che in questo gruppo di popolazione l'età è un predittore indipendente di infezione da HHV-8 (21).

## Infezioni multiple da herpesvirus

L'effetto delle infezioni da herpesvirus sulla progressione della malattia da HIV rimane controverso, poiché alcuni studi mostrano una progressione più rapida mentre altri non mostrano alcun effetto. Inoltre, non è stato ancora indagato se vi sia un effetto delle infezioni multiple con più di un tipo di virus erpetico sulla progressione della malattia da HIV. Questo studio, ristretto ad un sottogruppo della coorte di 359 soggetti, è stato ideato con l'obiettivo di stabilire i tassi di progressione dell'infezione da HIV dopo aver stratificato per la presenza di infezione da parte di cinque diversi tipi di herpesvirus. Ciascun paziente è stato testato per la presenza degli anticorpi contro HSV-2, CMV, HHV-6, HHV-7 e HHV-8. Dopo aver tenuto conto dell'età alla sierconversione e della presenza delle altre infezioni erpetiche, solo l'infezione con HHV-8 si è rivelata significativamente associata alla progressione della malattia. Il rischio, aggiustato per l'età, di progressione in AIDS con sarcoma di Kaposi e verso l'immunodepressione ( $CD4^+ < 200$  cell/ $\mu$ l) aumentava all'aumentare del numero di coinfezioni erpetiche, sebbene in modo non significativo. L'infezione concomitante con più di un virus erpetico non sembra aver un effetto significativo sul decorso dell'infezione da HIV, fatta eccezione per la nota associazione tra HHV-8 e sarcoma di Kaposi. Tuttavia, anche dopo aver escluso il sarcoma di Kaposi dalle diagnosi definienti l'AIDS, resta un lieve incremento di rischio per i soggetti con quattro infezioni erpetiche (22).

## Marcatori predittivi di progressione clinica

### Predittori precoci di progressione nei tossicodipendenti

Sebbene studi preliminari suggeriscano che il tasso di progressione clinica nei tossicodipendenti non sia diverso dal quello osservato nei maschi omosessuali, la storia naturale dell'infezione da HIV e i fattori che predicono la progressione in AIDS in questa categoria non sono stati ancora adeguatamente studiati. La progressione della malattia nei tossicodipendenti, infatti, potrebbe differire per una diversa distribuzione di sesso ed età, oppure perché l'uso continuato di droghe per via endovenosa altera la funzione linfocitaria. Differenze negli indicatori di progressione non sono inoltre da escludere a priori, in quanto i valori al *baseline* di alcuni parametri di laboratorio (linfociti, beta2-microglobulina) potrebbero essere alterati dall'uso di droghe. Questo studio è stato condotto allo scopo di determinare il rischio di sviluppare l'AIDS nei tossicodipendenti HIV+ e di identificare i predittori precoci e i fattori di rischio per l'evoluzione della malattia in questa popolazione.

Nei tossicodipendenti, un basso numero di linfociti  $CD4^+$  alla prima visita è associato all'età al momento della sierconversione, con un rapido declino dei linfociti  $CD4^+$  per i soggetti con età più avanzata. L'età al momento della sierconversione è un predittore di progressione più rapida verso l'AIDS, e il suo effetto si estrinseca attraverso un declino precoce dei linfociti  $CD4^+$ . Questo elemento sembra giocare un ruolo più importante di fattori comportamentali quali l'utilizzo attivo di droghe per via endovenosa (23).

Fra i parametri biologici, la conta dei linfociti  $CD4^+$  (numero assoluto e percentuale) risulta essere il miglior indicatore di durata dell'infezione da HIV e di progressione clinica. Le evidenze sul potere predittivo di altri marcatori, quali la beta2-microglobulina e le IgA, rimangono contraddittorie, anche se un loro innalzamento sembra in grado di predire la progressione verso l'AIDS indipendentemente dal numero dei  $CD4^+$  (9).

## Tasso di decremento dei linfociti CD4+

La storia naturale dell'infezione da HIV-1 è caratterizzata dalla diminuzione del numero dei linfociti CD4+; la velocità con cui si manifesta la deplezione cellulare è però soggetta ad un'ampia variabilità e non è chiaro se ciò dipenda unicamente dal tempo trascorso dalla sieroconversione o se sia anche imputabile a possibili cofattori. La maggior parte degli studi volti ad approfondire questo argomento sono stati condotti su coorti prevalenti, soggette perciò a possibili *bias*. Obiettivo di questo studio era quello di descrivere l'andamento del livello dei linfociti CD4+ nel tempo, a partire dalla sieroconversione, in sottogruppi definiti in base alla modalità di trasmissione, all'età e al sesso.

Il decremento medio dei linfociti CD4+ è più rapido nel primo anno dopo la sieroconversione e successivamente rallenta con una perdita media per anno di circa 50 cellule/mmc. Inoltre, nonostante le differenze iniziali, dopo il primo anno dalla sieroconversione, l'andamento della diminuzione dei linfociti CD4+ è simile nei diversi sottogruppi e sembra quindi non dipendere dai cofattori considerati (sesso, età e modalità di trasmissione) (24).

La durata del cosiddetto periodo di incubazione dell'infezione da HIV è, almeno per i primi 5-10 anni dall'infezione, determinata soprattutto dalla velocità con la quale si sviluppa una grave linfocitopenia. Indipendentemente dal numero di anni di sieropositività, pazienti con un numero di linfociti CD4+ maggiore hanno un rischio molto piccolo di sviluppare AIDS (0,3 per 100 persone anno) e un rischio ancora più piccolo di morire di AIDS (0,03 per 100 persone anno per valori di CD4+>250/mmc). Tutto questo indipendentemente dalla categoria a rischio. Questi risultati confermano il ruolo principale svolto dalla rapida deplezione dei linfociti CD4+ nei confronti dello sviluppo dell'AIDS conclamato (25).

## Marcatori immunologici di progressione in AIDS

Nel passato la maggior parte delle informazioni disponibili sul tasso di incidenza di infezione da HIV provenivano indirettamente dai registri AIDS. Dato il lungo periodo di incubazione della malattia, e le conoscenze limitate sull'incidenza di nuove infezioni provenienti da studi longitudinali, sono stati utilizzati programmi di test anonimi e non "linkati" per ottenere informazioni sulla sieroprevalenza di infezione da HIV in diversi gruppi sentinella. Tuttavia, se si possedessero dei marcatori in grado di stimare la durata della sieropositività, sarebbe possibile stimare i tassi di sieroincidenza, a partire da semplici indagini di prevalenza, evitando così *bias* di *self-referral testing* tramite indagini di tipo anonimo non "linkato". Nelle migliori condizioni, queste indagini sono in grado di fornire solo qualche aliquota di siero congelato, in genere in campione singolo e non come prelievi seriati. Qualunque marcatore candidato dovrebbe perciò essere misurabile su una piccola quota di plasma congelato, economico, e avere un andamento costante nel tempo senza sostanziali variazioni tra differenti popolazioni e categorie di esposizione. Il MAP workshop, collaborazione internazionale che riunisce i dati provenienti da 5 coorti, ha valutato a questo proposito l'emoglobina, le IgA sieriche e la beta2microglobulina.

Un basso numero di linfociti CD4+ rilevato in controlli successivi, un basso valore di emoglobina e alti livelli di IgA sieriche e di beta2-microglobulina sono risultati associati ad un aumentato rischio di progressione in AIDS. I CD4+ offrono sempre un'informazione prognostica migliore rispetto agli altri markers; le IgA e la beta2-microglobulina hanno un valore prognostico solo se utilizzate insieme. La beta2-microglobulina non fornisce significative informazioni aggiuntive all'associazione tra rilevazioni seriali di CD4+ e di IgA. Le IgA e la beta2-microglobulina, misurabili in piccoli volumi di sangue congelato, sebbene siano predittive di progressione in AIDS se utilizzate congiuntamente, non sono necessariamente utili nello stimare il tempo trascorso dalla sieroconversione (26).

## Trend temporale dei CD4+ alla sieroconversione

In seguito all'allarme sollevato da alcuni autori sul rilevamento di valori di CD4+ alla sieroconversione sempre più bassi, e nell'intento di escludere/confermare l'ipotesi che si stia assistendo alla comparsa progressiva di ceppi di HIV sempre più virulenti, è stato condotto uno studio tenendo conto dei potenziali *bias* che potrebbero alterare i risultati dell'indagine. Prima di tutto, poiché la data di sieroconversione è basata essenzialmente su una stima (il punto di mezzo del tempo trascorso tra l'ultimo test negativo e il primo positivo, ovvero del "lag time") e poiché il numero di linfociti CD4+ scende velocemente nei primi 12-18 mesi seguenti la sieroconversione, è importante fare attenzione che la variazioni di andamento temporale dei CD4+ non siano dovute a variazioni dei lag time considerati. Secondariamente, poiché è dimostrato esservi una forte associazione tra età e tasso di declino dei CD4+, è fondamentale tener conto dell'andamento nel tempo dell'età alla sieroconversione. Infine si ricorda che esiste un'ampia variabilità sia inter che intra laboratorio nell'esecuzione della conta assoluta dei CD4+ e che l'introduzione nel 1988 della terapia antiretrovirale notoriamente provoca un transitorio innalzamento di linfociti CD4+, fatto che nelle analisi di tendenza temporale potrebbe mascherare l'eventuale passaggio verso ceppi più virulenti di HIV. È stata quindi eseguita un'analisi tenendo conto solo del primo valore di linfociti CD4+ dopo la sieroconversione e aggiustando simultaneamente per potenziali fattori di confondimento quali il lag time, caratteristiche demografiche e categoria di esposizione e per potenziali variazioni di laboratorio.

Il valore dei CD4+ misurato nei primi 12-18 mesi dalla sieroconversione rimane stabile nel tempo, sia in numero assoluto che in percentuale, negli otto anni consecutivi di osservazione (1985-1992), suggerendo indirettamente che negli ultimi anni non ci sono state modificazioni nella virulenza dell'HIV in Italia (27).

## Velocità del decremento dei CD4+

È stato ipotizzato che il tasso di declino dei linfociti CD4+ acceleri parallelamente al diminuire del numero di cellule, sebbene la letteratura statistica dimostri il contrario.

Allo scopo di chiarire se vi sia, nel tasso di declino dei CD4+, una tendenza generale ad accelerare in corrispondenza di valori più bassi, è stato condotto questo studio, il quale ha dimostrato che, sebbene esista un'ampia variabilità tra i pattern di declino dei linfociti CD4+ tra i diversi individui, il tasso di riduzione non tende, in genere, ad accelerare in presenza di un numero inferiore di CD4+ (28).

## Tasso di declino dei CD4+ come determinante indipendente di progressione

Alcuni autori affermano che se il valore dei linfociti CD4+ è noto, il tempo trascorso dalla sieroconversione aggiunge poche informazioni riguardo al calcolo del rischio di progressione in AIDS, ovvero che, una volta noto l'attuale valore dei CD4+, il precedente tasso di declino dei linfociti CD4+ potrebbe non apportare ulteriori informazioni. Tuttavia, se è vero che il tempo dalla sieroconversione correla col tasso di declino dei CD4+, è anche vero che fornisce informazioni solo probabili sulla storia della discesa dei CD4+. Sono necessari modelli che incorporano stime accurate di tale declino per rispondere alla domanda: "dato un determinato valore di CD4+, c'è una differenza nel rischio di sviluppare l'AIDS a seconda del precedente pattern individuale di declino dei CD4+?" e se sì, per quantificare questo effetto. Alcuni autori dimostrano che il valore più recente di CD4+ è sufficiente nel predire una diagnosi di AIDS. Al

contrario, è stato suggerito che il pattern sottostante di declino dei CD4+ possa fornire un indicatore più potente di progressione clinica rispetto ai CD4+ di per sé.

In questo studio sono stati utilizzati i dati dell'*Italian Seroconversion Study* e della RFHHC (coorte londinese di emofilici) per definire se il tasso di declino dei CD4+ sia un determinante di progressione, indipendentemente dal valore più recente di CD4+. L'utilizzo di entrambe le coorti ha permesso di studiare il fenomeno in individui appartenenti a tutte le categorie di esposizione: tossicodipendenti per via endovenosa, contatti sessuali e recipienti di emoderivati contaminati.

L'andamento dei linfociti CD4+ nel tempo racchiude informazioni prognostiche aggiuntive e indipendenti a quelle della misurazione più recente dei CD4+, sebbene già questi ultimi da soli abbiano un valore predittivo sufficiente nella pratica clinica. In particolare, i soggetti con un declino più rapido dei CD4+ hanno un maggior rischio di progressione, anche quando vengono controllati per il numero attuale di linfociti CD4+. L'effetto del precedente declino rimane significativo anche dopo aver aggiustato per la presenza di trattamento antiretrovirale in monoterapia (29).

Utilizzando modelli di Markov, di ordine crescente dal primo al terzo, è stata osservata una forte "memoria" del processo. A livello di marcatori di progressione di malattia, come i linfociti CD4+, si deve tener conto non solo dei valori più recenti ma anche di quelli passati. Nel descrivere la storia naturale dell'AIDS e nel produrre stime sulle dinamiche della patologia andrebbe quindi prestata attenzione all'utilizzo della catena di Markov (30).

## **Determinanti di progressione in AIDS dopo l'avvento dell'AZT**

Tra gli obiettivi principali della coorte vi è quello di valutare l'associazione tra tempo trascorso dall'inizio della terapia antiretrovirale prima dell'evento AIDS e rischio di sviluppare l'AIDS, nonché quello di investigare sui possibili differenti effetti della terapia con AZT nei vari gruppi di esposizione.

I risultati hanno mostrato che i tossicodipendenti tendono a cominciare la terapia antiretrovirale significativamente più tardi e a livelli di CD4+ più bassi degli omosessuali e dei contatti eterosessuali.

Il rischio relativo di progressione in AIDS è, nei primi 12 mesi dall'inizio della terapia antiretrovirale con zidovudina, di circa 0,6 rispetto a quello dei pazienti non trattati. Questo effetto è particolarmente pronunciato nei maschi omosessuali che, se considerati a parte, presentano un RR di AIDS di 0,3 nei primi 12 mesi dall'inizio della terapia (12).

## **Andamento dell'HIV-RNA plasmatico durante l'infezione da HIV**

È noto che la determinazione quantitativa dell'HIV-RNA, assieme al valore dei linfociti CD4+, rappresenta un importante indicatore prognostico di AIDS e di decesso. Inoltre, la carica virale possiede un valore prognostico anche poco dopo la sierconversione. I pochi studi pubblicati su soggetti con data di sierconversione nota mostrano differenze nei livelli globali di carica virale tra i sierconvertiti che sono rapidamente andati incontro all'AIDS e quelli che invece sono rimasti asintomatici. Gli studi esistenti su determinazioni longitudinali della viremia a partire dalla sierconversione sono stati condotti su un numero limitato di maschi omosessuali ed è quindi necessario confermare se risultati simili si osservino anche tra le altre categorie di esposizione. Inoltre, sebbene il declino dei CD4+ dopo la sierconversione vari a seconda dell'età, la relazione tra viremia ed età subito dopo la sierconversione e nel tempo non è stata ancora chiarita.

Per rispondere a questi quesiti ancora irrisolti è stato condotto questo studio che ha dimostrato che un'elevata viremia nei primi due anni successivi la sierconversione è associata

ad un basso numero di CD4+ e al sesso maschile ma non all'età al momento della sierconversione o all'utilizzo di droga per via endovenosa. La viremia nei primi due anni di infezione predice la progressione in AIDS (con o senza CD4+<200/mm<sup>3</sup>). La carica virale mostra un andamento non lineare, con un declino del 52% nei primi 18 mesi dopo la sierconversione e un aumento del 23% per anno successivamente. I maschi e i soggetti che sviluppano AIDS durante il follow-up presentano una viremia più elevata nel corso della malattia. Le persone che vanno incontro ad AIDS hanno un incremento più rapido della carica virale di quelli che rimangono AIDS-free ( $p=0,01$ ). Nel follow-up a lungo termine la viremia subisce un aumento graduale e sostenuto nel tempo. Il livello di viremia e il tasso di incremento annuale costituiscono dei forti predittori di progressione di malattia (31).

## **Glicoproteina 90K**

La glicoproteina 90K possiede un effetto stimolante su alcune cellule del sistema immunitario; per questo motivo si ritrova a concentrazioni elevate nel siero di persone affette da vari tipi di tumori, di infezioni epatiche virali croniche, in corso di cirrosi e di infezione da HIV. È stato dimostrato che questa glicoproteina è in grado di predire lo sviluppo di AIDS nei soggetti sieropositivi e quello di tumori nei soggetti sieronegativi. Tuttavia, fino ad ora nessuno studio ha valutato il valore prognostico della 90K nei riguardi della progressione in AIDS o le sue modificazioni nel tempo tenendo conto dell'intervallo trascorso dalla sierconversione; di conseguenza non è stato possibile utilizzare la 90K come indicatore di maturità dell'infezione da HIV.

In questo studio i valori di 90K rilevati sia a ridosso della sierconversione che tardivamente si sono rivelati altamente predittivi di progressione in AIDS, anche dopo aver aggiustato per la conta dei linfociti CD4+ e per la viremia. Il livello della 90K (U/ml) aumenta del 10% ogni anno con andamento lineare. I tossicodipendenti nel corso della malattia presentano livelli di 90K più elevati degli etero e omosessuali. Livelli elevati di 90K sono altamente predittivi di sierconversione remota mentre bassi livelli sono poco predittivi di una sierconversione recente. La glicoproteina 90K risulta quindi essere, ai fini clinici, un utile strumento prognostico con inoltre una buona capacità di indentificare le infezioni remote. Come marcatore di maturità di infezione è simile alla conta dei linfociti CD4+, col vantaggio di poter essere rilevata su siero invece che su sangue intero fresco, e mediante un saggio enzimatico semplice, poco costoso e disponibile in commercio (32).

## **Malattia acuta da HIV**

La maggior parte degli studi sull'incidenza della sindrome retrovirale è stata condotta su gruppi di maschi omosessuali mentre sono riportati in letteratura solo pochi casi in soggetti tossicodipendenti. Le ragioni di ciò possono essere dovute in parte alla difficoltà di arruolamento e successivamente di compliance di questa categoria all'interno di studi di coorte e in parte al fatto che i sintomi caratteristici della sindrome sono non specifici e in certa misura sovrapponibili a quelli dati dall'utilizzo/sospensione di droghe per via endovenosa e a quelli causati da altre infezioni che notoriamente colpiscono questi soggetti. Inoltre il significato clinico del riscontro di una sindrome acuta retrovirale è basato sull'osservazione, in maschi omosessuali, che il tasso di progressione in AIDS è molto più rapido in quelli che sviluppano la sindrome rispetto agli altri sierconvertiti. Allo scopo di validare la sindrome retrovirale acuta e

il suo valore prognostico in un'ampia popolazione di tossicodipendenti, sono stati studiati 391 soggetti inizialmente sieronegativi con data di sieroconversione nota.

Le analisi hanno dimostrato che la presenza concomitante, riferita dal paziente, di febbre e di almeno un altro sintomo costituzionale nei 6 mesi precedenti la sieroconversione è altamente suggestiva di infezione acuta da HIV tra i tossicodipendenti. La copresenza di febbre e linfadenomegalia potrebbe aumentare la specificità della definizione di caso (33).

Per quanto riguarda il significato prognostico, sebbene il livello di linfociti CD4+ nel primo anno dalla sieroconversione sia simile, il tasso di declino dei CD4+ dopo il primo anno dalla sieroconversione è più rapido negli individui con sindrome acuta retrovirale ( $p < 0,001$ ). Tra i tossicodipendenti con infezione da HIV, la presenza della sindrome acuta è associata ad un tasso di progressione in AIDS più rapido e ad una più rapida immunodepressione HIV-relata. Il tempo di sopravvivenza dal momento della diagnosi di AIDS e il numero di linfociti CD4+ al momento della diagnosi di AIDS sono invece simili (34).

## **Gravidanza in donne sieropositive**

La gravidanza è di per sé associata ad una risposta immunitaria in parte alterata; per questo motivo, numerosi studi hanno esaminato le caratteristiche immunologiche in corso di gravidanza nelle donne sieropositive, portando però a conclusioni discordanti riguardo all'effetto della gravidanza sul tasso di progressione in AIDS. Obiettivo di questo studio è stato quello di stimare l'incidenza e l'esito della gravidanza in donne sieropositive con data di sieroconversione nota e di confrontare il rischio di progressione di malattia delle donne con infezione da HIV gravide e non gravide.

Il 28,9% delle donne della coorte è andata incontro ad almeno una gravidanza nel giro di 8 anni dalla sieroconversione. Confrontando le donne con gravidanza a quelle senza, non sono state trovate differenze significative nel rischio di sviluppare l'AIDS, patologie HIV-correlate, o valori di  $CD4+ < 100$  cellule/mm<sup>3</sup>, anche dopo aver aggiustato per possibili fattori di confondimento. È stata anche valutata la possibilità di un effetto transitorio della gravidanza sul rischio di AIDS (durante la gravidanza, e a 3 mesi, 6 mesi e un anno dopo il parto o l'aborto), e ancora non sono state trovate differenze in termini di progressione di malattia. Concludendo, la gravidanza iniziata prima o dopo la sieroconversione per HIV non sembra influenzare la progressione della malattia (35).

## ***Long-term non progressor***

### **“Progressori lenti e veloci”: un confronto**

Una delle caratteristiche peculiari dell'infezione da HIV è rappresentata dall'estrema variabilità nella durata del tempo di incubazione, che può andare da pochi mesi a diversi anni. Alcuni individui, infatti, sviluppano l'AIDS entro pochi mesi dall'infezione, mentre altri sono ancora asintomatici e/o con buoni livelli di linfociti CD4+ dopo 13 o 14 anni. Al momento non vi sono elementi sufficienti a chiarire se questi soggetti, definiti LTNP, vadano anch'essi incontro all'AIDS dopo un più lungo periodo di incubazione, o se, almeno in alcuni di essi, il processo evolutivo che lentamente porta alla distruzione del sistema immunitario tenda realmente ad arrestarsi.



In questo studio, i *Long-Term Non Progressor* (LTNP) sono stati confrontati con i *progressor* in termini di andamento temporale dei linfociti CD4+ e dei principali parametri biologici. La definizione di LTNP è stata ricavata dalle quattro attualmente presenti in letteratura, scegliendo quella in grado di individuare un maggior numero di pazienti nella nostra coorte (7 o più anni di infezione senza eventi critici: AIDS, terapia anti-retrovirale, CD4+<500/mm<sup>3</sup>, mugugno, herpes zoster o leucoplachia).

La perdita mediana dei CD4+ per gli LTNP è stata di 2,8 cellule/mm<sup>3</sup> per mese, per i “progressori moderati” (senza AIDS ma sintomatici o con meno di 500 CD4+/mm<sup>3</sup> entro 7 anni dalla sierconversione) di 4,9/mm<sup>3</sup>/mese, e per i “progressori rapidi” (presenza di AIDS entro 7 anni dalla sierconversione) di 7,9/mm<sup>3</sup>/mese. Il numero dei CD4+ è risultato costantemente più elevato negli LTNP rispetto agli altri due gruppi. Il valore mediano dei CD8+ negli LTNP è risultato maggiore rispetto agli altri due gruppi durante il primo anno dalla sierconversione e dal quarto in poi. L’andamento temporale dei parametri immunologici ha mostrato una migliore risposta immunitaria negli LTNP rispetto agli altri due gruppi sin dalla sierconversione.(36)

## **Andamento dei marcatori immunologici negli LTNP**

La proporzione degli LTNP all’interno della nostra coorte, sebbene vari a seconda della definizione utilizzata, sembra essere particolarmente piccola (2-4%) e del tutto simile a quella riportata in altri studi di coorte, con scarsa sovrapposizione tra le differenti definizioni.

Gli LTNP non sembrano differire dagli altri sierconvertiti in termini di caratteristiche demografiche e mostrano un andamento migliore dei parametri immunologici (CD4+, CD8+ e CD4+/CD8+) rispetto ai progressori “moderati” e ai progressori “rapidi”. Questo risultato probabilmente è dovuto ad una progressione più lenta dell’infezione più che ad un suo arresto definitivo, come suggerito dal riscontro, in molti degli LTNP, di un tasso di modificazione dei CD4 negativo, anche se moderato (37).

## **Terapia antiretrovirale e progressione clinica**

### **Marcatori di risposta alla monoterapia con AZT**

Numerosi trial clinici e studi epidemiologici osservazionali hanno dimostrato un beneficio, seppur limitato nel tempo, della monoterapia con zidovudina in termini di progressione in AIDS e di mortalità. Obiettivo di questo studio è stato quello di valutare gli indicatori di risposta alla zidovudina in termini di progressione in AIDS e di morte.

Le variabili misurate al momento dell’inizio della terapia con AZT in grado di predire una progressione più rapida verso l’AIDS sono risultate essere il numero di CD4+, la presenza di sintomi costituzionali e l’antigenemia p24, così come un’importante riduzione dei CD4+ dopo l’inizio del trattamento. Risultati simili sono stati ottenuti per la mortalità. Inoltre, in un sottogruppo di pazienti testati, l’antigenemia p24 è risultata associata ad alti livelli di viremia plasmatica. Il numero mediano di copie di HIV-RNA era di circa 28.000/ml tra gli individui p24+ e di circa 7700 cp/ml tra quelli p24- (38).

### **Monoterapia con AZT e progressione in AIDS**

Dopo l’introduzione della zidovudina, sono stati condotti numerosi studi con l’intento di valutare i suoi effetti e la durata dei benefici ottenuti e sebbene ne siano scaturiti molti risultati,

mancono ancora alcune informazioni importanti. Per prima cosa, a causa dell'interruzione precoce del placebo nei trial clinici controllati, vi sono pochi dati disponibili sull'efficacia a lungo termine di questo trattamento. Secondo, dato che la maggior parte delle persone arruolate nei trial clinici controllati e negli studi osservazionali erano maschi omosessuali, non è stato possibile stimare eventuali differenze nell'utilizzo e nei benefici della terapia prima della comparsa dell'AIDS per categoria specifica di trasmissione. Questo studio è stato condotto allo scopo di valutare l'associazione tra tempo trascorso dall'inizio della terapia antiretrovirale (rappresentata nella maggior parte dei casi da monoterapia con zidovudina) e rischio di AIDS in una coorte di soggetti appartenenti in gran parte alla categoria dei tossicodipendenti. Inoltre è stata studiata l'associazione tra inizio della terapia con zidovudina e progressione in AIDS per categoria di esposizione, per valutare se esistano delle differenze.

I risultati hanno mostrato che i tossicodipendenti in stadio pre-AIDS cominciano la terapia con zidovudina significativamente più tardi delle altre categorie di rischio, anche dopo aver aggiustato per numero di CD4+. I risultati di questo studio non randomizzato confermano che la terapia antiretrovirale ha un beneficio clinico solo a breve termine, poiché già dopo un anno di trattamento, indipendentemente dalla categoria di esposizione, il rischio relativo di progressione in AIDS tende ad aumentare fino ad 1. L'associazione tra terapia antiretrovirale e rischio ridotto di progressione in AIDS risulta più stretta tra i maschi omosessuali che tra i tossicodipendenti, forse a causa di una differente risposta alla terapia o di una possibile diversa compliance al trattamento delle due categorie (39).

## **Risposta all'HAART e durata dell'infezione da HIV**

L'efficacia dell'HAART è stata dimostrata da diversi trial clinici mentre numerosi studi osservazionali condotti tra coorti di soggetti sieropositivi ne hanno dimostrato l'efficienza in termini di riduzione del rischio di andare incontro ad AIDS, infezioni opportunistiche e decesso. Nonostante ciò, non è ancora chiaro quale sia il momento più adatto per cominciare l'HAART. Sebbene numerosi studi osservazionali abbiano valutato i predittori di risposta clinica, virologica e immunologica all'HAART, non sono stati in grado di stabilire se il momento di inizio della terapia, in termini di tempo trascorso dalla sieroconversione, abbia un effetto sulla prognosi; per quanto questa informazione possa essere considerata clinicamente poco rilevante, dato che la maggior parte delle volte la data di sieroconversione non è nota, potrebbe tuttavia dare delle informazioni sui fattori che influenzano la risposta alla terapia e, indirettamente, sulla patogenesi dell'infezione da HIV. Obiettivo di questo studio è stato quello di valutare se il momento di inizio dell'HAART, rispetto alla sieroconversione, possa influenzare la risposta alla terapia.

I risultati hanno mostrato che il 65,3% dei pazienti in HAART presenta un declino della viremia sotto la soglia di rilevazione (<500 cp/ml) e il 66,4% un incremento di >100 CD4/mm<sup>3</sup>. La durata dell'infezione da HIV (dal momento della sieroconversione) non sembra avere un ruolo indipendente importante nel determinare le risposte virologiche e immunologiche all'HAART. Il tempo necessario per ottenere una risposta immunologica è più breve tra i soggetti naive, sebbene questa differenza non sia statisticamente significativa. Lo stadio clinico al momento dell'inizio della terapia, è associato ad un miglioramento immunologico significativo: i pazienti nello stadio B hanno una probabilità di miglioramento immunologico inferiore, mentre quelli in stadio C hanno la probabilità maggiore. Per quanto riguarda il tempo necessario per ottenere la soppressione della viremia, l'essere naive predice in modo significativo una più rapida progressione del virus a livelli non determinabili, rispetto all'aver precedentemente seguito una doppia terapia. Sorprendentemente non si sono osservate differenze tra gli individui naive e quelli con precedente monoterapia. Inoltre, come atteso, i soggetti con viremia pre-HAART più elevata

hanno una probabilità inferiore di raggiungere una viremia non rilevabile rispetto ai pazienti che cominciano l'HAART con livelli inferiori di HIV-RNA (40).

### **Population effectiveness e terapia antiretrovirale**

A partire dal 1996 numerosi Paesi industrializzati hanno riportato una riduzione nell'incidenza di ospedalizzazioni per HIV, di nuovi casi di AIDS e di decessi per AIDS e questa tendenza ha coinciso proprio con l'introduzione della terapia antiretrovirale di combinazione. Questa ipotesi è supportata da numerosi trial clinici e studi osservazionali, ma vi sono solo poche informazioni provenienti da coorti di sieroconvertiti, le quali offrono un'opportunità unica di identificare i determinanti del tasso di progressione in AIDS e della mortalità, tenendo conto della durata dell'infezione. Questo studio è stato condotto per verificare se le nuove combinazioni di farmaci antiretrovirali aumentano la sopravvivenza e per valutare i cambiamenti nel tempo del numero medio di CD4+ e della sopravvivenza.

Dopo aver aggiustato per anno di sieroconversione, età al momento della sieroconversione e tempo trascorso tra il primo test per HIV positivo e l'ultimo negativo è stata osservata nel 1997 una riduzione del rischio di morte rispetto al periodo precedente il 1991, probabilmente dovuta alla terapia antiretrovirale di associazione. Inoltre, dopo aver aggiustato per età alla sieroconversione, tempo trascorso tra l'ultimo test negativo e il primo positivo, conta dei CD4+, sintomi HIV-relati e utilizzo di profilassi anti-PCP, è stata osservata una riduzione statisticamente significativa del rischio di decesso in chi faceva terapia di associazione con due farmaci (solo per decesso per ogni causa) e con tre farmaci rispetto a chi non faceva terapia. Concludendo, la terapia di associazione è un determinante di sopravvivenza e può spiegare il declino dei casi di AIDS e di mortalità osservato in Italia e negli altri Paesi industrializzati (41).

## **Tumori e HIV**

### **Incidenza dei tumori nei soggetti con infezione da HIV**

Attualmente sono 3 i tumori inclusi nella definizione di caso di AIDS: il sarcoma di Kaposi, alcuni LNH (il linfoma cerebrale primitivo, il linfoma di Burkitt e il linfoma non-Hodgkin di alto grado a cellule B-immunoblastico) e il carcinoma invasivo della cervice uterina. Alcuni studi clinici ed epidemiologici suggeriscono che l'infezione da HIV possa aumentare il rischio di sviluppare non solo questi tipi di tumori ma anche altri, in particolare il linfoma di Hodgkin. Tuttavia questa ipotesi rimane controversa.

Questo studio che ha mostrato come tra i soggetti HIV positivi il rischio di sviluppare il sarcoma di Kaposi e il LNH risulti rispettivamente 1051 e 157 volte superiore a quello presente nella popolazione generale. Il linfoma di Hodgkin (LH) si presenta con una frequenza circa 38 volte superiore a quella della popolazione generale e ha un tasso di incidenza standardizzato particolarmente elevato tra i maschi omosessuali (SIR=103). I risultati mettono in risalto l'opportunità di inserire anche questa patologia nella definizione di caso di AIDS (42).

### **Tumori negli uomini con HIV o a rischio di HIV**

Globalmente, si stima che il 9% dei casi di tumore diagnosticati nei Paesi sviluppati sia da attribuirsi a cause infettive. Investigare la relazione tra agenti infettivi, soppressione delle difese immunitarie e comparsa di tumori risulta di grande interesse ora che il numero di persone che

convivono con l'infezione da HIV è divenuto così elevato. Questo studio è stato condotto proprio per aiutare ad elucidare lo spettro completo dei tumori negli uomini con HIV o a rischio di HIV nel sud Europa mediante l'analisi di dati provenienti, oltre che dall'*Italian Seroconversion Study*, anche dal database DMI-2 e da quello della Comunità di San Patrignano (due coorti prevalenti).

Lo studio ha dimostrato un aumento statisticamente significativo del tasso di incidenza standardizzato per il LH (8,7), per l'epatocarcinoma (11,0) e per il tumore delle ghiandole salivari. Inoltre vi è un eccesso di rischio di tumore al polmone nei tossicodipendenti, ma non nei maschi omosessuali. Considerando il rischio di tutti i tumori non definenti AIDS tra gli uomini HIV positivi con meno di 50 anni, è stato trovato un eccesso di circa 2 volte rispetto alla popolazione generale. Un rischio simile è stato riscontrato anche tra i tossicodipendenti HIV-negativi, dovuto in gran parte al tumore del polmone e al LH.

Questi risultati confermano che l'infezione da HIV aumenta il rischio di LH, e amplifica il rischio di epatocarcinoma e di tumore delle ghiandole salivari, sebbene non sia ancora chiaro se quest'ultima associazione sia reale o determinata da altri cofattori, quali infezioni virali. Il riscontro di un rischio elevato di tumore al polmone nei tossicodipendenti sia HIV-positivi che negativi sposta l'attenzione sui comportamenti personali non legati all'infezione da HIV (43).

## **Carcinoma invasivo della cervice uterina prima e dopo l'HAART**

Dopo l'introduzione dell'HAART l'incidenza delle patologie definenti l'AIDS si è ridotta. Riguardo ai tumori definenti l'AIDS, un decremento è stato osservato nell'incidenza del sarcoma di Kaposi, mentre la riduzione dell'incidenza per il LNH non è stata significativa. Per il carcinoma invasivo della cervice uterina i dati a disposizione sono pochi e discordanti. Obiettivo di questo studio è stato quello di stabilire se l'incidenza del carcinoma della cervice sia cambiata dopo l'introduzione dell'HAART tra le donne con durata dell'infezione da HIV nota.

In effetti, nel periodo 1981-1995, si è osservato un incremento nell'incidenza del carcinoma invasivo della cervice e delle altre patologie definenti AIDS; questo incremento è proseguito solo per il carcinoma della cervice mentre l'incidenza delle altre patologie è diminuita a partire dal 1996. Resta da stabilire se il persistere di questo incremento anche dopo l'HAART sia dovuto ad una riduzione della mortalità competitiva per altre patologie definenti AIDS (44).

## **Neuropatie periferiche e HIV**

Sebbene le neuropatie periferiche colpiscano spesso i pazienti con infezione da HIV e siano stati descritti diversi tipi di neuropatie a differenti stadi di infezione, dalla sier conversione all'AIDS, esistono relativamente pochi studi di stima dell'incidenza delle neuropatie periferiche tra soggetti sieropositivi appartenenti a differenti gruppi di popolazione.

All'interno della coorte sono stati seguiti in maniera approfondita dal punto di vista neurologico 621 pazienti provenienti da 4 centri clinici. L'incidenza delle neuropatie periferiche si è dimostrata essere di 5,5 casi per 1000 anni persona di follow-up con un quadro di neuropatia sensoriale in tutti i casi e di coinvolgimento motorio nel 73,7% di questi. L'incidenza di neuropatia periferica è elevata tra i pazienti con infezione acuta da HIV, sebbene in questo studio il numero di pazienti con infezione acuta non fosse molto alto. Durante la fase asintomatica invece l'incidenza di neuropatia periferica è bassa, con una tendenza ad aumentare col progredire dell'infezione da HIV (45).

## Bias, coorti prevalenti e progressione clinica

In questo studio la coorte *Italian Seroconversion Study* è stata utilizzata per valutare i *bias* che possono verificarsi nell'analizzare i dati di coorti prevalenti, dalle quali provengono la maggior parte delle informazioni disponibili sulla progressione dell'infezione da HIV. I *bias* analizzati sono stati l'*onset bias* e il *differential lenght-biased sampling*. Il primo si verifica quando la covariata di interesse è associata alla data di calendario dell'infezione. Se per esempio il rischio di AIDS aumenta all'aumentare del tempo dall'infezione e se i soggetti con covariata appartenenti alla coorte prevalente tendono ad avere una data di sieroconversione più remota, allora avranno un rischio maggiore di AIDS dovuto non tanto all'azione del cofattore quanto piuttosto alla differente data di esordio dell'infezione. Per quanto riguarda il secondo *bias*, questo si verifica quando le modalità di arruolamento dei pazienti nella coorte prevalente tende ad escludere quei soggetti che hanno già sviluppato la malattia. Infatti tali coorti prevalenti saranno sempre in un certo qual modo private di quei pazienti che hanno una malattia ad evoluzione più rapida, poiché hanno già sviluppato la malattia o perché sono già morti.

A questo proposito sono state selezionate, a partire dalla nostra coorte, una serie di coorti pseudoprevalenti. Per ogni coorte pseudoprevalente è stato calcolato il rischio relativo di AIDS associato con una data covariata e comparato col rischio di AIDS associato alla stessa covariata nella coorte sieroincidente.

Dalle analisi è emerso che i *bias* del tipo *differential length* presenti nelle coorti prevalenti non alterano necessariamente le stime dell'impatto delle covariate sul tasso di progressione in AIDS, sebbene vi possano essere delle circostanze nelle quali ciò possa accadere. Sono invece stati osservati dei *bias* del tipo *onset*, anche se questi tendono ad attenuarsi mano a mano che la data di infezione si fa più remota nel tempo.

Concludendo, almeno nella situazione di epidemia di HIV tra i tossicodipendenti, iniziata relativamente di recente, considerando i casi di AIDS diagnosticati nei primi 10 anni dalla sieroconversione, l'influenza circa i predittori di progressione in AIDS ricavati da coorti sieroprevalenti non sono necessariamente affetti da *bias* di lunghezza o da effetti di *onset*. Per le covariate strettamente relate alla data di infezione, l'*onset bias* può divenire chiaramente un problema per le coorti arricchite di sieroconvertiti recenti; tuttavia il *bias* si riduce col maturare dell'infezione nella coorte. Questi risultati suggeriscono che l'informazione sui predittori di progressione in AIDS derivati da studi passati di coorti prevalenti è verosimilmente valida (46).

## Imputazione multipla e stima dell'incidenza dell'infezione da HIV

All'inizio dell'epidemia, il sistema di controllo dell'infezione d HIV consisteva nel riferire i casi di AIDS conclamato, dato che la disponibilità del test per l'HIV era limitata. Tuttavia, poiché l'AIDS presenta un lungo periodo di incubazione, un sistema di sorveglianza basato sulla notifica dei casi di AIDS non può offrire una rappresentazione del tutto aggiornata dell'epidemia da HIV. Per questo motivo negli anni '80 alcuni Paesi hanno istituito un sistema di sorveglianza per le diagnosi di HIV; tuttavia tale sistema produce delle curve di incidenza che sono una rappresentazione alterata dell'attuale incidenza dell'infezione da HIV: infatti la maggior parte delle diagnosi di HIV identificano casi prevalenti e le modificazioni dell'epidemia, che riflettono i cambiamenti in fattori quali il sesso, i gruppi di esposizione, le politiche sanitarie e l'accesso al test, non permettono di stabilire un intervallo costante tra l'infezione e la diagnosi di HIV. Per ovviare ai limiti dei sistemi attuali di sorveglianza, alcuni autori hanno sviluppato delle tecniche statistiche per stimare l'incidenza dell'HIV combinando i dati di incidenza dell'AIDS e del periodo di incubazione. Più recentemente, sono stati utilizzati i

dati di soggetti prevalenti con infezione da HIV allo scopo di sviluppare dei metodi per calcolare la durata dell'infezione con l'obiettivo di aumentare il potere della stima del periodo di incubazione. Questi metodi, che richiedono l'utilizzo di coorti sieroincidenti, sono basati sull'ipotesi che alcune variabili biologiche possano fungere da predittori di "maturità" dell'infezione.

I risultati dello studio hanno mostrato che i linfociti CD4+ e le piastrine sono dei buoni predittori di maturità dell'infezione da HIV e che possono essere utilizzati per attribuire una data di sieroconversione a soggetti per i quali questa non sia nota. A questo scopo sono stati analizzati i dati provenienti dall'*Italian Seroconversion Study* per sviluppare un modello di regressione di Weibull per il tempo dalla sieroconversione in funzione dei marcatori ematologici. Il modello è stato utilizzato per attribuire il tempo trascorso dalla sieroconversione a soggetti provenienti da una coorte prevalente, ricavata dal sistema di sorveglianza dell'HIV della regione Lazio. Il range del presunto periodo di sieroconversione in 2599 soggetti HIV-prevalenti era 1972-1992; le prime sieroconversioni si sono verificate tra i tossicodipendenti. Il picco di incidenza è stato raggiunto nel 1986 con 340 infezioni. Tra gli uomini il tempo mediano stimato tra la sieroconversione e la diagnosi di HIV è più breve nei tossicodipendenti (30 mesi) che nei non tossicodipendenti (36 mesi). Questa differenza è inferiore per le donne (26,6 vs 28,4 nelle tossicodipendenti e nelle non tossicodipendenti). Questo metodo permette di stimare le curve di incidenza dell'HIV basate sulla popolazione utilizzando dati provenienti dal sistema di sorveglianza. I risultati confermano l'ipotesi che l'epidemia nel Lazio sia comparsa inizialmente tra i tossicodipendenti, con un intervallo di tempo più breve tra l'infezione e la prima visita in questo sottogruppo (47).

## Anno di sieroconversione e progressione clinica negli studi di coorte

Questo studio è stato condotto per rispondere alla provocazione avanzata da altri autori secondo i quali negli ultimi anni la progressione clinica dell'infezione da HIV avrebbe subito un'accelerazione.

Normalmente, quando si conduce un'analisi di sopravvivenza, il tempo di osservazione viene troncato nel momento in cui un soggetto raggiunge l'evento in studio o, nel caso in cui il soggetto non sviluppi l'evento prima della fine dello studio, al termine dello studio. Tale tipologia di troncamento prende il nome di *right censored*. Tuttavia, se i soggetti in studio non sono seguiti regolarmente ma effettuano le visite con discontinuità e se viene applicato il *right censored*, il follow-up di un paziente potrebbe essere troncato in modo differente se questo ha sierconvertito all'inizio dell'epidemia o poco prima della fine dello studio. Di conseguenza, i soggetti con sieroconversione datata e quindi con follow-up più lungo, potrebbero sembrar progredire più lentamente solo perché sono stati considerati a rischio per un periodo di tempo maggiore. Se la frequenza delle visite non è regolare, potrebbe verificarsi un *bias* quando l'evento scelto non viene controllato mediante tecniche incrociate con altre fonti di informazione (registri di AIDS, di decesso, ecc.).

In questo studio si è tentato di dimostrare, attraverso delle simulazioni, che le analisi di sopravvivenza che utilizzano la classica metodica di troncamento per stimare l'effetto dell'anno di sieroconversione, producono stime falsate di questo effetto quando la struttura delle visite all'interno della coorte è intermittente.

Quando si tenta di stabilire l'effetto dell'anno di sieroconversione sulla progressione dell'HIV utilizzando analisi di sopravvivenza in studi di coorte che prevedano una frequenza irregolare di visite ambulatoriali, la scelta della strategia di troncamento diventa cruciale. In caso di visite sono intermittenti, troncando alla data dell'ultima visita, è possibile infatti dimostrare un'influenza molto significativa dell'anno di sieroconversione sulla progressione

dell'HIV, quando in realtà non vi è alcuna associazione sottostante. Al contrario, quando il tempo di sopravvivenza di tutti i pazienti viene troncato dopo un anno di follow-up, non si riscontra alcuna associazione. Quindi, prima di affermare che ceppi più virulenti di HIV o l'utilizzo della terapia stanno modificando la storia naturale dell'infezione da HIV andrebbero prese in considerazione differenti strategie di troncamento (48).

La strategia di troncamento può rappresentare una sorgente importante e non ovvia di *bias*. Nel caso in cui il criterio di inclusione in un'analisi di sopravvivenza sia un follow-up di almeno un anno (ovvero il tempo trascorso tra la sieroconversione e la data di chiusura dello studio) il follow-up di un dato paziente potrebbe essere troncato in modo differente a seconda che la sua sieroconversione sia avvenuta più o meno recentemente rispetto alla data di chiusura dello studio. Perciò l'analisi potrebbe subire un *bias* dovuto all'esclusione dal gruppo con sieroconversione recente di quei pazienti la cui malattia ha probabilmente progredito lentamente (49).

## PUBBLICAZIONI DEL PROGETTO CASCADE

La coorte dell'*Italian Seroconversion Study*, assieme alle principali coorti di sieroconvertiti presenti in Europa, Nord America e Australia, è inserita nell'archivio dati del progetto CASCADE (nato nel 1997 e finanziato dalla Comunità Europea), allo scopo di studiare la storia naturale dell'HIV su più ampia scala.

Di seguito è riportata una rassegna delle principali pubblicazioni prodotte da CASCADE presentata per argomento. I temi trattati sono: terapia antiretrovirale; HAART e tumori HIV; infezione acuta da HIV; rischio di AIDS; risposta a breve termine dei CD4+ dopo l'inizio dell'HAART; tubercolosi e progressione dell'HIV; durata dell'infezione e progressione in AIDS; linfociti CD4+ alla sieroconversione e loro declino.

### Terapia antiretrovirale

#### Sopravvivenza prima e dopo l'introduzione dell'HAART

Grazie a numerosi studi condotti su varie coorti di sieroconvertiti si è appreso molto riguardo ai determinanti di progressione della malattia da HIV-1. Tuttavia, le differenze tra le varie coorti in termini di metodologia, di range di età alla sieroconversione e di gruppi di esposizione dei partecipanti, hanno ostacolato la piena comprensione di tali risultati, fino a renderli apparentemente inconsistenti.

Vi sono ancora numerosi quesiti specifici che restano senza risposta: "L'età alla sieroconversione predice la progressione della malattia da HIV-1 in tutte le categorie di esposizione?"; "L'effetto dell'età è ugualmente importante in tutte le categorie di esposizione?"; "Dopo aver controllato per l'età alla sieroconversione, la modalità attraverso cui è stata contratta l'infezione influenza il tasso di progressione clinica o la mortalità?" e infine "L'effetto dell'età alla sieroconversione è quantitativamente simile lungo tutto il periodo successivo alla sieroconversione?". Per stabilire l'effetto della categoria di esposizione e dell'età alla sieroconversione sulla progressione dell'HIV-1 prima e dopo l'avvento dell'HAART, è nata una collaborazione internazionale che raccoglie insieme i dati provenienti da 38 coorti di sieroconvertiti europee, australiane e del nord America per un totale di 13.030 soggetti.

I risultati emersi da questa collaborazione hanno mostrato come prima del 1996, ovvero prima dell'avvento dell'HAART, i determinanti principali di sopravvivenza e di sviluppo di AIDS in Europa, Nord America e Australia fossero il tempo trascorso dalla sieroconversione e l'età al momento della sieroconversione. Per contro, la categoria di esposizione e del sesso non avevano un effetto apprezzabile sulla sopravvivenza o sul periodo di incubazione (non tenendo conto del sarcoma di Kaposi, notoriamente più frequente nei maschi omosessuali). Per ogni 10 anni di incremento dell'età alla sieroconversione, il rischio di decesso è 1,47 volte e quello di progressione in AIDS è 1,32 volte (sarcoma di Kaposi escluso) (50).

Quando il cambiamento della sopravvivenza in soggetti HIV-1+ viene monitorato nel tempo, il fatto di includere nell'analisi i cosiddetti "long-term survivors" può portare a sovrastimare la sopravvivenza nei periodi più recenti del calendario. Questo è quello che si verifica nella maggior parte delle coorti prevalenti poiché i marcatori di laboratorio non sempre sono capaci di aggiustare del tutto per la durata dell'infezione. Per tener conto di questo effetto è necessario conoscere la data della sieroconversione. A tutt'oggi sono pochi gli studi condotti sui sieroconvertiti in grado di stimare l'impatto dell'HAART sulla sopravvivenza e nessuno riporta



l'attesa attuale di sopravvivenza. In questo studio la sopravvivenza delle persone a rischio durante il periodo pre-HAART è stata comparata a quella delle persone a rischio nel periodo successivo all'introduzione dell'HAART.

Lo studio ha dimostrato che nel periodo 1997-98 (periodo HAART) la sopravvivenza attesa per i soggetti con HIV è sostanzialmente migliore rispetto a quella osservata nel periodo 1986-1996 (periodo pre-HAART), in tutti i gruppi di età. Anche la stima della sopravvivenza a 10 anni dalla sieroconversione è sostanzialmente migliore nel secondo periodo (51).

Sebbene vi siano pochi dubbi circa il miglioramento del decorso clinico dei pazienti con HIV dopo l'introduzione dell'HAART, si conosce ancora poco sugli effetti a lungo termine degli attuali schemi terapeutici, soprattutto riguardo alla loro tossicità. Gli studi fino ad ora condotti nell'intento di dimostrare il cambiamento nella sopravvivenza dei soggetti in HAART con durata di infezione nota sono di piccole dimensioni. In questo studio sono stati analizzati i dati riguardanti circa 6000 soggetti seguiti da 19 coorti europee e australiane di sieroconvertiti.

I risultati hanno dimostrato che il rischio di decesso è più basso del 65% nel periodo 1997-1999 rispetto ai tre precedenti periodi (pre-1989; 1989-94; 1995-96), senza differenze evidenti tra questi tre periodi.

L'età più avanzata è associata in modo significativo con un aumento del 44% nel rischio di decesso, per ogni 10 anni in più di età. L'aumento del rischio con l'età è meno evidente tra gli omosessuali che nelle altre categorie a rischio. I pazienti con un intervallo tra l'ultimo test negativo e il primo positivo per HIV maggiore o uguale ad un mese presentano un rischio di decesso inferiore a quello dei pazienti con un intervallo inferiore ad un mese. Non vi sono prove che la categoria di trasmissione e il sesso siano associati alla sopravvivenza. L'età più avanzata è associata ad una maggiore probabilità di cominciare più precocemente la terapia antiretrovirale, mentre i tossicodipendenti endovena hanno una probabilità inferiore di cominciare la terapia rispetto agli omosessuali ( $RR=0,79$ ), anche dopo aver tenuto conto dell'effetto di altri confondenti. Le persone con un intervallo tra l'ultimo test negativo e il primo positivo per HIV inferiore al mese hanno una probabilità maggiore di iniziare la terapia di quelli con un intervallo di un mese o più. Il momento di inizio della terapia antiretrovirale è indipendente dal sesso, mentre è fortemente associato all'anno di calendario e mostra una tendenza nel tempo verso un inizio sempre più vicino alla sieroconversione ( $trend<0,0001$ ) con un rischio relativo di cominciare di 4,01 per gli anni 1997-99 rispetto agli anni 1989-94. Il numero medio di CD4+ al momento dell'inizio della terapia è di 205 cell/mm<sup>3</sup> con una differenza tra le diverse coorti (nei tossicodipendenti olandesi la media è di 135 e nella coorte di Aquitania è di 292;  $p<0,0001$ ). Il fatto che la terapia venga iniziata in tempi più ravvicinati alla sieroconversione nei soggetti più avanti con l'età, ma allo stesso livello di CD4+ tra tutti i gruppi di età, non sorprende e probabilmente è dovuto al fatto che il calo dei CD4+ è più rapido nei soggetti più anziani. Riassumendo, nel periodo 1997-99 vi è una riduzione significativa e sostanziale del rischio di decesso e una tendenza significativa ad iniziare più precocemente la terapia antiretrovirale. Sebbene i tossicodipendenti abbiano una probabilità inferiore di iniziare la terapia, la loro sopravvivenza non sembra differire da quella delle altre categorie di esposizione (52).

L'età è il principale determinante di mortalità nella maggior parte delle malattie, infezione da HIV compresa. Inoltre, qualsiasi popolazione è soggetta all'invecchiamento, dovuto all'effetto dell'età sulla mortalità in assenza di infezione da HIV. L'aggiustamento per la mortalità di fondo nella valutazione dell'effetto dell'età sulla malattia stessa richiede delle stime dei tassi specifici di mortalità per età in assenza di malattia nella popolazione in esame. Poiché spesso questi dati non sono disponibili, vengono utilizzati i tassi di mortalità della popolazione generale. Inoltre, quando si considera l'effetto dell'età, il principale fattore di interesse è l'età al momento dell'infezione o all'esordio della malattia, mentre spesso gli studi sull'infezione da

HIV si basano su coorti prevalenti, ove la data di sieroconversione non è nota. Quando si valuta l'effetto di altri fattori sulla progressione clinica non è ancora chiaro se il fatto di aggiustare per l'età all'ingresso nella coorte prevalente corrisponda in modo adeguato ad aggiustare per l'età non nota alla sieroconversione.

In questo studio viene passato in rassegna ciò che è noto riguardo all'effetto dell'età alla sieroconversione sulla progressione della malattia da HIV e sulla sopravvivenza prima dell'introduzione dell'HAART e successivamente vengono descritte le metodiche appropriate di aggiustamento per la mortalità sottostante. In seguito viene analizzato se l'HAART modifichi l'effetto dell'età alla sieroconversione sulla mortalità e viene stimata l'influenza dell'età nelle coorti prevalenti con riguardo alla mancata conoscenza dell'età alla sieroconversione. Infine vengono discussi i meccanismi attraverso i quali l'età alla sieroconversione potrebbe influenzare la progressione clinica e il decesso. A questo scopo sono stati utilizzati i dati pubblicati dal *Collaborative Group on AIDS Incubation and HIV Survival* e da CASCADE.

Nell'intento di studiare l'effetto dell'età alla sieroconversione sulla progressione della malattia da HIV e sulla sopravvivenza prima della diffusione dell'HAART, si è voluto tener conto del tasso di mortalità per fascia di età applicando varie metodiche. L'utilizzo del tasso di mortalità standardizzato (SMR) è risultato essere poco appropriato per comparare la mortalità specifica per malattia con quella della popolazione tra i vari gruppi di età, a meno che la frequenza degli eventi non si verifichi in modo proporzionale tra i vari gruppi. Il SMR risulta invece più utile nel comparare il contributo relativo specifico per malattia rispetto alla mortalità globale per differenti malattie all'interno di gruppi specifici di età. Al contrario, l'eccesso di mortalità specifico per malattia può essere comparato tra diversi gruppi di età senza fare assunzioni di proporzionalità. Tuttavia, l'aggiustamento per la mortalità generale richiede che siano disponibili i tassi di mortalità della popolazione specifici per gruppo ed è perciò probabile che ci si ritrovi ad aggiustare per gli effetti dell'età, del sesso e, probabilmente per l'anno di calendario a rischio.

I risultati hanno dimostrato che il rischio di decesso aumenta all'aumentare dell'età alla sieroconversione, soprattutto nel periodo pre-HAART, e con il tempo trascorso dalla sieroconversione, sia nel periodo pre- che post-HAART. Negli ultimi anni vi è stata una riduzione sostanziale nel rischio di morte rispetto al periodo pre-HAART per tutte le età al momento della sieroconversione e per tempo trascorso dalla sieroconversione. Dopo aver aggiustato per queste due variabili, la riduzione media nel rischio di decesso durante il periodo 1997-99 è stata del 64% rispetto al periodo precedente. Ogni 10 anni vi è un incremento stimato nel rischio di decesso del 45% per il periodo pre-HAART e del 20% per quello HAART. Sebbene questi risultati suggeriscano una riduzione dell'effetto dell'età alla sieroconversione nel secondo periodo, la differenza tra questi incrementi non è significativa ( $p=0,1$ ). Per capire se l'associazione tra età alla sieroconversione e progressione della malattia per anno di calendario stia cambiando e se questo fenomeno sia dovuto all'HAART, è necessario un follow-up più lungo. Poiché la maggior parte dei dati disponibili sull'infezione da HIV provengono da coorti sieroprevalenti, dove non è nota né la data di sieroconversione né il tempo trascorso tra la sieroconversione e l'entrata nello studio (entrambi forti predittivi di progressione di malattia e di decesso), si è osservato che l'aggiustamento per un noto marcatore di progressione di malattia (quale per es. i CD4+) o la misurazione del tempo da un dato valore di questo marcatore, se abbinato all'aggiustamento per età all'ingresso nello studio, migliora in modo verosimile l'accuratezza del modello (53).

Prima dell'introduzione dell'HAART, i principali determinanti di progressione e di sopravvivenza in corso di infezione da HIV-1, nei Paesi sviluppati, erano l'età alla sieroconversione e la durata dell'infezione. Sebbene dal 1996 in poi vi sia stata una netta riduzione nel rischio di progressione verso l'AIDS e il decesso, l'efficacia a livello di

popolazione dell'HAART è influenzata da numerosi fattori, quali l'accesso alla terapia e il momento in cui questa viene iniziata, l'aderenza, l'utilizzo di precedenti schemi terapeutici subottimali e la presenza di infezioni, quali l'epatite C. Ne consegue che il miglioramento in termini di sopravvivenza non dovrebbe essere uniforme in tutti i gruppi di soggetti infettati.

Se da un canto è noto che il numero di CD4+ e l'HIV-RNA sono dei marcatori fortemente prognostici nei soggetti HIV+, non è ancora chiaro quale sia l'effetto delle caratteristiche demografiche dopo la diffusione dell'HAART. Obiettivo di questo studio è stato quello di studiare i cambiamenti nel rischio di AIDS e decesso e il ruolo prognostico delle caratteristiche demografiche, dopo il 1996, anno di introduzione dell'HAART. Poiché, quando la durata dell'infezione da HIV-1 non è nota, la stima del cambiamento della sopravvivenza negli anni di calendario potrebbe essere distorta, sono stati utilizzati i dati provenienti da un gruppo di 22 coorti di soggetti con data di sieroconversione disponibile.

Per stimare l'effetto dell'anno di calendario sul tempo trascorso dalla sieroconversione alla diagnosi di AIDS e al decesso è stato utilizzato il modello di Cox; inoltre sono stati comparati gli effetti dell'età alla sieroconversione, della categoria di esposizione, del sesso e della presenza di infezione acuta da HIV nei periodi pre-1997 (pre-HAART); 1997-98 (utilizzo limitato dell'HAART) e 1999-2001 (utilizzo diffuso dell'HAART).

Rispetto ai dati pre-1997, l'hazard ratio (HR) di decesso passa velocemente da 0,47 nel 1997 a 0,16 nel 2001. Analogamente, la proporzione di tempo-persone in HAART aumenta dal 22% nel 1997 al 57% nel 2001. Al contrario di quanto osservato nell'era pre-HAART, nel 1999-2001 i tossicodipendenti hanno una mortalità significativamente più elevata rispetto ai soggetti omosessuali (HR 4,28). Tuttavia, mentre il rischio di AIDS nel periodo pre-1997 era significativamente più elevato nei soggetti con  $\geq 45$  anni alla sieroconversione rispetto a quelli con 16-24 anni (2,03), nel 1999-2001 la differenza di rischio in base all'età è minima (HR=1,17; CI 95% 0,60-2,30); (interazione  $p=0,06$ ). Un'analoga attenuazione dell'effetto dell'età non è stata invece osservata studiando la sopravvivenza ( $p=0,63$ ).

In seguito all'introduzione dell'HAART, la sopravvivenza delle persone con HIV-1 ha continuato ad aumentare mentre l'importanza dell'età e della categoria di esposizione come determinante di progressione sembra essere cambiata (54).

## Sopravvivenza e studi osservazionali

Le prime coorti a pubblicare i risultati dell'impatto dell'HAART sulla sopravvivenza comprendevano soggetti con infezione da HIV prevalente, mentre i risultati provenienti da coorti di sieroconvertiti restano pochi e riportano, fra l'altro, una caduta ritardata e meno drammatica del rischio di decesso. Questo studio è stato condotto per tentare di comprendere se le coorti di sieroconvertiti siano intrinsecamente differenti da quelle prevalenti in termini di variazione nella progressione clinica nelle diverse popolazioni o se un aggiustamento all'interno delle coorti prevalenti per marcatori di laboratorio possa a tutti gli effetti fornire delle informazioni sulla durata dell'infezione. La stima del cambiamento nel tempo della sopravvivenza ricavata da una coorte di sieroconvertiti è stata perciò confrontata con quella ricavata da una coorte pseudoprevalente, utilizzando i dati provenienti da 19 coorti di sieroconvertiti europee e australiane.

È stato analizzato il rischio relativo di decesso dalla sieroconversione per HIV per anno di calendario dal 1° gennaio 1991. Le analisi sono poi state ripetute ignorando la data di sieroconversione ma aggiustando per il primo valore di CD4+ disponibile, mimando perciò una coorte prevalente. Le stime ottenute mediante la coorte pseudoprevalente sono state successivamente comparate a quelle ottenute con la coorte di sieroconvertiti. Nelle analisi basate sul tempo di sieroconversione, la stima dell'effetto dell'anno di calendario ha mostrato

una riduzione marcata della mortalità solo nel periodo 1997-99, senza evidente andamento lineare nel periodo 1991-96 ( $p\text{-trend}=0,85$ ). Utilizzando l'approccio della coorte pseudoprevalente invece è stata osservata una tendenza significativa in termini di riduzione del rischio dal 1991 al 1996 ( $p\text{-trend}=0,002$ ). Risultati simili sono stati ottenuti ripetendo le analisi e utilizzando come data di inizio della coorte il 1° gennaio 1988. La mancanza di informazioni circa la durata dell'infezione può portare ad alterare e ad esagerare le stime nel miglioramento della sopravvivenza nel tempo e l'aggiustamento per la durata dell'infezione nelle coorti prevalenti, attraverso i marcatori di laboratorio, non sembra essere sufficiente a compensare questa carenza (55).

## HAART e tumori in HIV

Nonostante vi siano numerose evidenze sulla capacità dell'HAART di ridurre significativamente la mortalità per AIDS, non è ancora del tutto chiaro il suo impatto sul tasso di incidenza dei tumori nei soggetti con infezione da HIV. In questo studio sono stati comparati i tassi di incidenza del sarcoma di Kaposi, del linfoma non Hodgkin, del morbo di Hodgkin, del carcinoma invasivo della cervice uterina e di altri tumori in 48000 soggetti sieropositivi negli anni precedenti e successivi l'introduzione dell'HAART. I dati provengono da una collaborazione internazionale tra 23 coorti del nord America, Europa e Australia.

Dopo aver aggiustato per coorte di studio, sesso, età alla sieroconversione, tempo dalla sieroconversione e categoria di trasmissione dell'HIV, sia il sarcoma di Kaposi che il linfoma non Hodgkin mostrano una riduzione del tasso di incidenza nel periodo 1997-99 rispetto a quello precedente.

Il sarcoma di Kaposi mostra il declino maggiore ( $RR=0,32$ ) seguito dal linfoma cerebrale primitivo ( $RR=0,42$ ) e dal linfoma immunoblastico ( $RR=0,57$ ), mentre il linfoma di Burkitt ( $RR=1,18$ ) e il carcinoma della cervice ( $RR=1,87$ ) non appaiono ridotti. Nei soggetti con infezione da HIV, il sarcoma di Kaposi e il linfoma cerebrale primitivo, in generale, si verificano in presenza di un numero di CD4+ considerevolmente più basso rispetto al linfoma di Burkitt e al carcinoma della cervice. Questa osservazione suggerisce che i tumori che si verificano a livelli più bassi di CD4+ sono anche quelli che mostrano un declino maggiore nell'incidenza dopo l'introduzione dell'HAART, supportando indirettamente l'ipotesi che l'immunodepressione possa essere il fattore chiave nello sviluppo di questi tumori nei soggetti con infezione da HIV. Per quanto riguarda gli altri tumori non AIDS-relati, non sono state invece riscontrate modificazioni significative nell'incidenza dopo l'introduzione dell'HAART (56).

## Infezione acuta da HIV

### Intervallo del test per l'HIV, fattori demografici e progressione clinica

È noto che i soggetti che sviluppano una sindrome acuta retrovirale vanno incontro ad una progressione più rapida della malattia. Tuttavia, le informazioni sulla sindrome acuta non sempre sono disponibili. Partendo dal presupposto che lo sviluppo di una sindrome retrovirale possa portare alcuni soggetti a recarsi dal medico, il quale, nel sospetto di una sieroconversione, richiede il test per gli anticorpi anti-HV, si è cercato di testare il valore di un intervallo < 31 giorni tra il primo test HIV positivo e l'ultimo negativo come surrogato della sindrome acuta.

I risultati hanno rivelato che i soggetti con intervallo <31 giorni hanno un rischio di AIDS maggiore (RH 1,42;  $p=0,07$ ) che si riduce di poco dopo aver aggiustato per i fattori al baseline, per anno di calendario di follow-up, per trattamento e per declino dei CD4+, senza per questo influire sulla sopravvivenza. Concludendo, le coorti sieroincidenti, nello studio della progressione in AIDS, in mancanza di informazioni sulla malattia da sieroconversione, potrebbero utilizzare come surrogato, anche se imperfetto, un breve intervallo di tempo tra i due test (57).

### **Effetto della terapia antiretrovirale durante la sieroconversione sulla progressione di malattia**

Poiché non è ancora chiaro se l'uso della terapia antiretrovirale (ARV) durante l'infezione acuta da HIV influenzi o meno il tasso di progressione della malattia da HIV, è stata condotta un'analisi sui dati provenienti da 20 coorti europee e australiane. In particolare sono stati studiati i pazienti la cui sieroconversione era avvenuta tra il 1988 e il 1998 e che avevano cominciato una qualsiasi terapia ARV entro 3 mesi o tra 24 e 48 mesi dalla sieroconversione. I soggetti sono stati suddivisi in 3 gruppi, a seconda del momento in cui era stata cominciata la terapia ARV: 1) nei primi 3 mesi dalla sieroconversione; 2) tra 12 e 24 mesi dalla sieroconversione; 3) dal gruppo 2 è stato selezionato un sottogruppo di pazienti che prima dell'inizio della terapia non avevano ancora sviluppato AIDS e il cui ultimo valore di CD4+ era >350 cell/μl. La maggior parte degli schemi terapeutici effettuati consisteva in mono o biterapia. Come variabili di esito sono stati utilizzati i tempi per raggiungere un livello di CD4+ <200 o <100 cell/μl, e i tempi per sviluppare l'AIDS o per andare incontro al decesso.

L'infezione acuta da HIV è risultata essere più frequente nei soggetti del primo gruppo (73%) rispetto a quelli del secondo (33%). Gli individui del primo gruppo avevano tempi di progressione in AIDS e di sviluppo di immunodepressione (CD4+ <200 cell/μl) intermedi tra quelli riscontrati nel secondo gruppo e nel terzo. Sulla base di queste analisi sembrerebbe che il fatto di iniziare precocemente la terapia ARV in fase di sieroconversione per HIV porti a un tasso di progressione inferiore rispetto a quello osservato in chi comincia dopo 1-2 anni. Tuttavia chi comincia la terapia precocemente avrebbe un'incidenza simile se non maggiore di sviluppare immunodepressione e AIDS rispetto ai soggetti che vengono trattati dopo 1-2 anni con valori basali di CD4+ >350 cell/μl senza aver mai precedentemente sviluppato AIDS. Probabilmente l'effetto di un inizio precoce di terapia viene confuso da diversi fattori, tra cui, in particolare, le ragioni che portano ad iniziare la terapia (58).

## **Rischio di AIDS**

### **Rischio di AIDS e rischi competitivi**

È oramai dimostrato che il periodo di incubazione dell'AIDS prima dell'introduzione dell'HAART dipendeva fortemente dall'età al momento dell'infezione. A livello di sanità pubblica il monitoraggio dei cambiamenti nel tempo del periodo di incubazione continua ad essere importante poiché permette di valutare sia il potenziale effetto negativo della circolazione di differenti sottotipi virali e di ceppi farmaco-resistenti sia l'efficacia delle strategie terapeutiche a livello di popolazione. L'introduzione dell'HAART ha portato ad una riduzione della mortalità e morbidità nei soggetti sieropositivi a livello di popolazione andando perciò ad allungare il periodo di incubazione e la sopravvivenza globale. Tuttavia, sebbene il rischio di

AIDS in generale sia crollato, resta ancora da chiarire l'effetto dell'HAART sulle specifiche patologie definenti l'AIDS. Pochi sono gli studi che hanno cercato di valutare se l'efficacia a livello di popolazione di questa terapia sia simile per tutte le infezioni opportunistiche e i tumori definenti l'AIDS e quasi tutti questi studi erano basati su follow-up di soggetti con infezione da HIV prevalente che tenevano conto di valori specifici di CD4+ piuttosto che della sier conversione, e che non consideravano i rischi competitivi per le malattie definenti l'AIDS e per il decesso prima della diagnosi di AIDS. Obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'effetto del periodo di calendario sul rischio di sviluppare l'AIDS (in generale) e le singole patologie al primo evento definente l'AIDS, nonché il rischio di morire prima della diagnosi di AIDS. Nelle analisi è stato utilizzato un modello di rischio competitivo (*competing risks proportional hazards*) per escludere che un aumento di incidenza di una data patologia definente l'AIDS sia dovuto semplicemente alla riduzione dell'incidenza di un'altra patologia e quindi ad un aumento delle persone potenzialmente a rischio. Le analisi sono state condotte sui dati raccolti da 20 coorti di sier convertiti ed è stato valutato il tempo tra sier conversione e primo evento definente AIDS e tra sier conversione e decesso in assenza di AIDS per ogni periodo di calendario (pre-1991; 1991-1993; 1994-1996; 1997-2001), dopo aver stratificato per coorte e aggiustato per categoria di trasmissione, sesso, età alla sier conversione, storia di infezione acuta. I risultati sono stati poi comparati con quelli ottenuti utilizzando un modello di "hazards causa-specifico".

Nel periodo 1997-2001 è stata osservata una riduzione significativa, in termini di rischio, della maggior parte delle patologie definenti AIDS mentre il rischio di decesso in assenza di AIDS è rimasto stabile. Risultati simili sono stati ottenuti utilizzando il modello causa-specifico. La progressione verso l'AIDS o il decesso è diminuita notevolmente nel periodo 1997-2001 rispetto a quello 1994-96. L'avvento dell'HAART probabilmente ne è in parte responsabile. Utilizzando il modello di rischio competitivo si ha una visione più precisa delle modificazioni dell'andamento delle patologie definenti l'AIDS nel tempo. Risultati simili sono stati ottenuti anche utilizzando l'approccio causa-specifico; tuttavia le riduzioni del rischio osservate dal momento in cui è stata introdotta l'HAART sono sostanziali per la maggior parte delle patologie definenti l'AIDS, soprattutto per le più frequenti. Laddove la dipendenza tra gli eventi è più forte o dove il rischio di alcuni eventi aumenta, i risultati tra i due modelli possono arrivare a differire in modo sostanziale. Risultati contrastanti possono essere ottenuti da studi differenti utilizzando approcci metodologici non omogenei (59).

## Rischio di AIDS a breve termine

Una delle informazioni fondamentali di cui tener conto quando si deve decidere se cominciare o meno la terapia antiretrovirale (ARV) è rappresentata dal rischio che il paziente presenta di progressione in AIDS prima della visita successiva. In realtà non è ancora noto quale sia il rischio di AIDS a breve termine (6 mesi), valutato sulla base del numero dei CD4+ e sui valori dell'HIV-RNA plasmatico o viremia (VL), in pazienti non trattati o in pazienti trattati nell'era della monoterapia (ovvero prima del settembre 1995), soprattutto se con CD4+ <200 cell/μl. A questo scopo è stato stimato il rischio di AIDS in 3226 soggetti con valori noti di CD4+ e VL prima dell'inizio della terapia. Su un totale di 5126 anni persona di follow-up, 219 soggetti hanno sviluppato l'AIDS: In quelli che avevano CD4+ <200 cell/μl il rischio a 6 mesi era 4,9%; 12,7%; 17,7% e 22,4% per gruppi con VL rispettivamente di <10000 cp/ml; 10000-29999; 30000-99999 e ≥ 100000 cp/ml. Per i soggetti con CD4+ tra 200 e 349 cell/μl il rischio era di 0,5%; 1,6%; 3,2% e 4,7% per i 4 rispettivi gruppi di VL. Infine, i soggetti con CD4+ ≥350 cell/μl avevano un rischio rispettivamente di 0,2%; 0,5%; 0,9% e 2,2%. Risultati simili

sono stati ottenuti limitando l'analisi agli individui non trattati. I soggetti più anziani avevano inoltre un rischio maggiore di AIDS a parità di CD4+ e VL rispetto a quelli più giovani.

Questi dati potrebbero fornire delle informazioni utili per i medici che devono decidere se e quando cominciare una terapia ARV in soggetti con infezione da HIV (60).

## **Risposta a breve termine dei CD4+ dopo l'inizio dell'HAART**

L'HAART ha portato dei benefici sorprendenti ai soggetti sieropositivi nei Paesi sviluppati. Il quesito da porsi non è più quindi se cominciare la terapia, quanto piuttosto quando cominciarla. I problemi legati alla necessità di proseguire l'HAART per tutta la vita, assieme alla sua elevata tossicità, hanno portato a rimandare sempre più l'inizio della terapia. Tuttavia questo ritardo potrebbe portare ad un danno irreversibile del sistema immunitario. Perciò, a tutt'oggi, non è chiaro quale sia il momento ottimale per cominciare l'HAART e inoltre vi sono dati insufficienti per determinare la relazione tra CD4+ pre-terapia e risposta immunitaria.

In questo studio è stato valutato l'effetto degli anni dalla sieroconversione e dei CD4+ pre-HAART sulla successiva risposta immunitaria a breve termine dopo l'inizio dell'HAART.

I risultati emersi dimostrano che nei soggetti naive, è più probabile avere una risposta dei CD4+ a breve termine (incremento superiore a 100 cellule/mm<sup>3</sup> a 6 mesi) quando l'HAART viene iniziata nel primo anno dalla sieroconversione, rispetto a 2-5 anni dopo. Sebbene esista un razionale biologico nel giustificare una risposta immunitaria migliore in chi comincia l'HAART durante il primo anno di infezione, il cambiamento naturale dei CD4+ subito dopo la sieroconversione potrebbe confondere qualsiasi effetto della terapia. Nei soggetti naive non sembra esservi una risposta migliore nell'iniziare l'HAART a livelli di CD4+ >350 cell/mm<sup>3</sup> piuttosto che a valori compresi tra 201 e 350 CD4+/mm<sup>3</sup>, mentre una terapia iniziata a valori di CD4+ sotto le 200 cellule/mm<sup>3</sup> riduce la probabilità di risposta in termini di CD4+ rispetto ai soggetti che cominciano a valori compresi tra 201 e 350 cellule/mm<sup>3</sup>. Risultati simili si ottengono nei soggetti pre-trattati. Inoltre, in questo gruppo di pazienti, la risposta dei CD4+ è meno probabile se i CD4+ al nadir sono inferiori a quelli riscontrati al momento dell'inizio dell'HAART per differenze superiori alle 150 cellule/mm<sup>3</sup> rispetto a nessuna differenza. Livelli di viremia plasmatica più elevati sono associati in modo indipendente e significativo ad una maggior probabilità di risposta a breve termine dei CD4+ sia negli individui naive che in quelli pre-trattati.

Quando si deve decidere se cominciare o meno la terapia, si dovrebbe tener conto del valore più recente dei CD4+ pre-HAART e del tempo trascorso dalla sieroconversione. Tuttavia spesso la data di quest'ultima non è nota. Indipendentemente dalla durata dell'infezione, la risposta immunitaria è fortemente correlata all'ultimo valore dei CD4+ pre-HAART. Iniziare l'HAART nel primo anno dalla sieroconversione migliorerebbe quindi la risposta immunitaria a breve termine, mentre dopo il primo anno, cominciare l'HAART prima di raggiungere i 200 CD4/mm<sup>3</sup> porterebbe pochi vantaggi (61).

## **Tubercolosi e progressione dell'HIV**

Sebbene sia stato dimostrato in vitro che la tubercolosi amplifica la replicazione dell'HIV, non vi sono a tutt'oggi dimostrazioni che confermino tale osservazione a livello di popolazione. Gli studi condotti in questa direzione hanno portato a risultati contrastanti e non coinvolgevano

pazienti con data di sieroconversione per HIV nota. In questo studio sono stati analizzati dati provenienti da 19 coorti europee e australiane di sieroconvertiti nell'intento di esaminare l'effetto della tubercolosi sulla progressione dell'HIV comparando i pazienti con tubercolosi a quelli senza.

La tubercolosi è risultata essere la patologia iniziale definente AIDS nel 5,6% dei pazienti e la patologia definente AIDS in generale nel 5,7% dei casi. Il rischio di decesso associato alla tubercolosi come patologia iniziale, rispetto ai pazienti senza AIDS, non è diverso da quello osservato in caso di sarcoma di Kaposi e candidosi esofagea/polmonite da *P.carinii*, mentre è inferiore rispetto a quello presente per le altre infezioni opportunistiche, per il linfoma non Hodgkin ad alto grado e per il carcinoma invasivo della cervice uterina. Il rischio di morte più basso è quello osservato tra i soggetti senza diagnosi di AIDS. Nei Paesi ove è disponibile la terapia per la tubercolosi, la progressione dell'HIV nei soggetti con tubercolosi non è più veloce di quella dei soggetti con altre condizioni definenti AIDS e con infezione da HIV della stessa durata (62).

## **Durata dell'infezione e progressione in AIDS**

Sebbene alcuni studi abbiano suggerito che i soggetti con livelli di CD4+ simili ma durata di infezione diversa abbiano un tasso di progressione in AIDS paragonabile, altri studi hanno mostrato come, dopo aver aggiustato per CD4+, il tempo trascorso dalla sieroconversione svolga ancora un effetto significativo, con un rischio minore nei primi 3 anni dopo la sieroconversione che si annulla successivamente.

L'obiettivo di questo studio era quello di comprendere se esistesse un effetto residuo del tempo trascorso dalla sieroconversione sul rischio di AIDS, dopo aver aggiustato per CD4+ e di quantificare questo effetto in termini di incremento di rischio.

È stato individuato un effetto significativo del tempo dalla sieroconversione sul rischio di AIDS anche dopo aver aggiustati per CD4+. I soggetti che hanno raggiunto una soglia di 350 CD4+/mmc hanno un incremento del rischio di sviluppare AIDS del 6% (3%-9%) ( $p=0,01$ ) per ogni anno trascorso dalla sieroconversione, effetto che appare essere non lineare. Nei primi 4 anni, per ogni anno trascorso dalla sieroconversione, vi è un aumento dell'11% di rischio di sviluppare l'AIDS; tale incremento di rischio non si osserva invece dopo il quarto anno di infezione.

Quando si considera il rischio di progressione in AIDS in un soggetto con un determinato livello di CD4+, il fatto di conoscere la data di sieroconversione, aggiunge poche informazioni. Tuttavia, questo effetto differisce in modo significativo tra le varie patologie indicative di AIDS. In particolare, si osserva un'associazione più forte con la progressione in sarcoma di Kaposi e micobatteriosi disseminate non tubercolari e una più debole con i linfomi, la PCP e l'infezione da HSV rispetto all'effetto globale (63).

## **Linfociti CD4+ alla sieroconversione e loro declino**

Sebbene sia noto che un'età più avanzata alla sieroconversione sia associata ad una progressione più rapida verso l'AIDS e il decesso, non è stato ancora dimostrato se vi sia un effetto dell'età sul declino dei CD4+.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di stabilire l'effetto dell'età alla sieroconversione, del sesso, dell'anno di calendario alla sieroconversione, e dell'intervallo tra l'ultimo test



negativo e il primo positivo come surrogato di infezione primaria, sul numero di CD4+ alla sieroconversione e sul loro declino nel corso dell'infezione da HIV-1 dalla sieroconversione allo sviluppo di AIDS o al decesso, in assenza di HAART.

A questo scopo sono state analizzati, mediante misurazioni ripetute di linfociti CD4+, 5739 pazienti prima dell'inizio dell'HAART o prima della diagnosi di AIDS utilizzando dei modelli di effetto random.

I CD4+ alla sieroconversione differivano in modo significativo a seconda del sesso, del gruppo di esposizione e dell'età, con valori più elevati riscontrati nelle donne, nei maschi emofilici e in quelli tossicodipendenti, così come nei soggetti con età >40 anni. Il tasso di declino dei CD4+ non differisce in base al sesso; perciò la differenza in termini di CD4+ tra uomini e donne è stabile lungo tutto il periodo di incubazione dell'HIV. Tra la pendenza dei CD4+ e l'età alla sieroconversione esiste una relazione monotonica, con pendenze più ripide nei soggetti più anziani. A 5 anni dalla sieroconversione, la differenza mediana nei CD4+ tra i soggetti più anziani (>40 anni) e quelli più giovani (16-20 anni) è di circa 90 cellule/ $\mu$ l. Il tasso medio di declino dei CD4+ è significativamente più ripido nei soggetti diagnosticati in corso di infezione acuta. Non vi è evidenza di una perdita di CD4+ più rapida nei soggetti sieroconvertiti dopo il 1994. Ad eccezione dei maschi emofilici, che tendono ad avere un tasso di declino dei CD4+ in media più ripido, la pendenza media dei CD4+ non differisce in base alla categoria di esposizione.

Questi risultati mostrano come, prima dell'inizio dell'HAART, è di fondamentale importanza, nella valutazione prognostica dei soggetti con infezione da HIV-1, tener conto dei fattori demografici (64).

## BIBLIOGRAFIA

1. Rezza G, Lazzarin A, Angarano G, Sinicco A, Pristerà R, Ortona L, Barbanera M, Gafà S, Tirelli U, Salassa B, Ricchi E, Aiuti F, Menniti-Ippolito F. The natural history of HIV infection in intravenous drug users: risk of disease progression in a cohort of seroconverters. *AIDS* 1989;3:87-90.
2. Rezza G, Dorrucci M, Pezzotti P, Lazzarin A, Angarano G, Sinicco A, Zerboni R, Aiuti F, Pristerà R, Gafà S, Castelli F, Salassa B, Barbanera M, Canessa A, Ortona L, Ricchi E, Viale P, Tirelli U, Zaccarelli M, Alliegro B. The Seroconversion Study on the natural history of HIV infection. In: Nicolosi A (Ed.). *HIV epidemiology: models and methods*. New York: Raven Press Ltd.; 1994. p. 279-91.
3. Rezza G, Lazzarin A, Angarano G, Zerboni R, Sinicco A, Salassa B, Pristerà R, Barbanera M, Ortona L, Aiuti F, Costigliola P, Gafà S, Tirelli U, Pezzotti P, Menniti-Ippolito F, *et al.* Risk of AIDS in HIV seroconverters: a comparison between intravenous drug users and homosexuals males. *Eur J Epidemiol* 1990;6:99-101.
4. Mariotto A.B., Mariotti S, Pezzotti P, Rezza G, Verdecchia A. Estimation of the acquired immunodeficiency syndrome incubation period in intravenous drug users: a comparison with male homosexuals. *Am J Epidemiol* 1992;135:428-37.
5. Pezzotti P, Rezza G, Lazzarin A, Angarano G, Sinicco A, Aiuti F, Zerboni R, Salassa B, Gafà S, Pristerà R *et al.* Influence of gender, age, and transmission category on the progression from HIV seroconversion to AIDS. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1992;5(7):745-7.
6. Dorrucci M, Rezza G, Pezzotti P, Lazzarin A, Angarano G, Sinicco A, Zerboni R, Aiuti F, Pristerà R, Gafà S, Castelli F, Salassa B, Barbanera M, Canessa A, Ortona L, Costigliola P, Viale P, Tirelli U, Zaccarelli M, Alliegro B, Lo Caputo S. Storia naturale dell'infezione da HIV nelle donne. *G Mal Infett Parassit* 1993;45:164-8.
7. Pezzotti P, Phillips AN, Dorrucci M, Cozzi Lepri A, Galai N, Vlahov D, Rezza G. Category of exposure to HIV and age in the progression to AIDS: longitudinal study of 1199 people with known dates of seroconversion. HIV Italian Seroconversion Study Group *BMJ* 1996;7;313(7057):583-6.
8. Pezzotti P, Galai N, Vlahov D, Rezza G, Lyles CM, Astemborski J. for the ALIVE and ISS Groups. Direct comparison of time to AIDS and infectious disease death between HIV seroconverter injection drug users in Italy and the United States: results from the ALIVE and ISS studies. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1999;1;20(3):275-82.
9. Rezza G, Pezzotti P, Dorrucci M, Cozzi Lepri A. Storia naturale dell'AIDS/infezione da HIV. *G Mal Infett Parassit* 1994; Suppl 5;46:435.
10. Cozzi Lepri A, Pezzotti P, Dorrucci M, Phillips AN, Rezza G and the Italian Seroconversion Study. HIV disease progression in 854 women and men infected through injecting drug use and heterosexual sex and followed for up to nine years from seroconversion. Italian Seroconversion Study. *BMJ* 1994;10;309(6968):1537-42.
11. Dorrucci M, Pezzotti P, Phillips AN, Cozzi Lepri AC, Rezza G. Coinfection of hepatitis C virus with human immunodeficiency virus and progression to AIDS. Italian Seroconversion Study. *J Infect Dis* 1995;172(6):1503-8.
12. Rezza G. for the Italian Seroconversion Study. Determinants of progression to AIDS in HIV-infected individuals: an update from the Italian Seroconversion Study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998;suppl 1;17:S13-S16.
13. Hershow RC, Galai N, Fukuda K, Graber J, Vlahov D, Rezza G, Klein RS, Des Jarlais DC, Vitek C, Khabbaz R, Freels S, Zuckerman R, Pezzotti P, Kaplan JE. An international collaborative

- study of the effects of coinfection with human T-lymphotropic virus type II on human immunodeficiency virus type I disease progression in injection drug users *J Infect Dis* 1996;174(2):309-17.
14. Alliegro MB, Dorrucchi M, Pezzotti P, Rezza G, Sinicco A, Barbanera M, Castelli F, Tarantini G, Pettrucci A. Herpes zoster and progression to AIDS in a cohort of individuals who seroconverted to human immunodeficiency virus. Italian HIV Seroconversion Study *Clin Infect Dis* 1996;23(5):990-5.
  15. Suligo B, Dorrucchi M, Volpi A, Andreoni M, Pezzotti P, Rezza G and the Italian Seroconversion Study. Absence of an effect of Herpes simplex virus type 2 infection on HIV disease progression: data from a cohort of HIV-positive individuals with known date of seroconversion. *AIDS* 2001;15(1):133-5.
  16. Suligo B, Dorrucchi M, Volpi A, Andreoni M, Rezza G and the Italian Seroconversion Study. No protective effect of acyclovir on HIV disease progression in a cohort of HSV-2-HIV-infected individuals. *Antivir Ther* 2002;7:289-91.
  17. Dorrucchi M, Rezza G, Andreoni M, Pezzotti P, Nicastrì E, Ventura L, Zignani M, Alliegro MB, Tarantini G, Salassa B, Colangeli V, Mazzarello G, Ursitti MA, Barbanera M, Pristera R, Castelli F, Ortona L for the Italian HIV-Seroconversion Study. Serum IgG antibodies to human herpesvirus-6 (HHV-6) do not predict the progression of HIV disease to AIDS. *Eur J Epidemiol* 1999;15(4):317-22.
  18. Rezza G, Andreoni M, Dorrucchi M, Pezzotti P, Monini P, Zerboni R, Salassa B, Colangeli V, Sarmati L, Nicastrì E, Barbanera M, Pristera R, Aiuti F, Ortona L, Ensoli B for the Italian HIV-Seroconversion Study. Human herpesvirus 8 seropositivity and risk of Kaposi's sarcoma and other acquired immunodeficiency syndrome-related diseases. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(17):1468-74.
  19. Rezza G, Dorrucchi M, Serraino D, Andreoni M, Giuliani M, Zerboni R, Sarmati L, Colangeli V, Salassa B, Monini P, Ensoli B, Pezzotti P. Incidence of Kaposi's sarcoma and HHV-8 seroprevalence among homosexual men with known dates of HIV seroconversion. Italian Seroconversion Study. *AIDS* 2000;28;14(11):1647-53.
  20. Rezza G, Dorrucchi M, Andreoni M, Arpino C, De Luca A, Monini P, Nicastrì E, Alliegro MB, Pezzotti P, Ensoli B for the Italian HIV-Seroconversion Study. Does HHV-8 have a protective role on the development of HIV encephalopathy? *Neurology* 1999;10;53(9):2032-6.
  21. Dorrucchi M, Serraino D, Rezza G and the Italian HIV-Seroconversion Study. The effect of aging on the incidence of Kaposi's sarcoma among HIV-positive individuals with known dates of seroconversion. *Int J Cancer* 2003;104:251-4.
  22. Suligo B, Dorrucchi M, Uccella I, Andreoni M, Rezza G, and the Italian Seroconversion Study. Effect of multiple herpesvirus infections on the progression of HIV disease in a cohort of HIV seroconverters. *J Med Virol* 2003;69:182-7.
  23. The Italian Seroconversion Study. Disease progression and early predictors of AIDS in HIV-seroconverted injecting drug users. *AIDS* 1992;6:421-6.
  24. Pezzotti P, Galai N, Munoz A, Vlahov D, Rezza G per il gruppo Italian Seroconversion Study. Decremento dei linfociti CD4+ nell'infezione da HIV: uno studio longitudinale su 941 individui con data di sieroconversione nota. *GIAIDS* 1994;5,3:93-100.
  25. Phillips AN, Pezzotti P, Cozzi Lepri A, Rezza G and the Italian Seroconversion Study. CD4 lymphocyte count as a determinant of the time from HIV seroconversion to AIDS and death from AIDS: evidence from the Italian Seroconversion Study. *AIDS* 1994;8(9):1299-305.
  26. MAP workshop. Part I. Immunologic markers of AIDS progression: consistency across five HIV-infected cohorts. *AIDS* 1994;8:911-21.

27. Galai N, Cozzi Lepri A, Vlahov D, Pezzotti P, Sinicco A, Rezza G for the HIV Italian Seroconversion Study. Temporal trend of initial CD4 cell count following human immunodeficiency virus seroconversion in Italy, 1985-1992. *Am J Epidemiol* 1996;143:278-82.
28. Cozzi Lepri A, Sabin CA, Pezzotti P, England PD, Phillips AN, Rezza G. Is there a general tendency for CD4 lymphocyte decline to speed up during human immunodeficiency virus infection? Evidence from the Italian Seroconversion Study. *J Infect Dis* 1997;175(4):775-80.
29. Cozzi Lepri A, Sabin CA, Phillips AN, Lee CA, Pezzotti P, Rezza G. The rate of CD4 decline as a determinant of progression to AIDS independent of the most recent CD4 count. The Italian Seroconversion Study. *Epidemiol Infect* 1998;121(2):369-76.
30. Dal Maso L, Gava M, Pezzotti P, Torelli N, Franceschi S, Rezza G. Markov models for HIV disease progression: an unverified assumption. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000;15;25(5):466-8.
31. Lyles CM, Dorrucchi M, Vlahov D, Pezzotti P, Angarano G, Sinicco A, Alberici F, Alcorn TM, Vella S, Rezza G for the Italian HIV Seroconversion Study. Longitudinal human immunodeficiency virus type 1 load in the Italian Seroconversion Study: correlates and temporal trends of virus load. *J Infect Dis* 1999;180(4):1018-24.
32. Dorrucchi M, Iacobelli S, Suligoì B, Pezzotti P, Sinicco A, Angarano G, Tinari N, Rezza G. Longitudinal analysis of the 90K glycoprotein in the Italian HIV-Seroconversion Study: temporal trend and predictability of the maturity of HIV infection. *J Biol Regul Homeost Agents* in press.
33. Rezza G, Dorrucchi M, Pezzotti P, Pristerà R, Serpelloni G. Evaluation of symptoms suggestive of HIV acute disease among injecting drug users. *J Infect* 1995;30(3):263-4.
34. Dorrucchi M, Rezza G, Vlahov D, Pezzotti P, Sinicco A, Nicolosi A, Lazzarin A, Galai N, Gafà S, Pristerà R et al. Clinical characteristics and prognostic value of acute retroviral syndrome among injecting drug users. Italian Seroconversion Study. *AIDS* 1995;9(6):597-604.
35. Alliegro MB, Dorrucchi M, Phillips AN, Pezzotti P, Boros S, Zaccarelli M, Pristerà R, Rezza G. Incidence and consequences of pregnancy in women with known duration of HIV infection. Italian Seroconversion Study Group. *Arch Intern Med* 1997;8-22;157(22):2585-90.
36. Petrucci A, Dorrucchi M, Alliegro MB, Pezzotti P, Rezza G, Sinicco A, Lazzarin A, Angarano A e l'Italian Seroconversion Study". *GIAIDS* 1996; 7(1):15-22.
37. Petrucci A, Dorrucchi M, Alliegro MB, Pezzotti P, Rezza G, Sinicco A, Lazzarin A, Angarano G. How many HIV-infected individuals may be defined as long-term nonprogressors? A report from the Italian Seroconversion Study. Italian Seroconversion Study Group (ISS) *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997;1;14(3):243-8.
38. Rezza G, Galai N, Pezzotti P, Vlahov D, Graham NMH, Viale P, Angarano G and the Italian Seroconversion Study. Markers of response to zidovudine monotherapy among treated HIV seroconverters. *Antivir Ther* 1997;2(3):167-74.
39. Dorrucchi M, Pezzotti P, Phillips AN, Alliegro MB, Rezza G. Antiretroviral treatment and progression to AIDS in HIV seroconverters from different risk groups. HIV Italian Seroconversion Study. *AIDS* 1997;15;11(4):461-7.
40. Pezzotti P, Pappagallo M, Phillips AN, Boros S, Valdarchi C, Sinicco A, Zaccarelli M, Rezza G for the Italian Seroconversion Study. Response to highly active antiretroviral therapy according to duration of HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 2001;26(5):473-9.
41. Dorrucchi M, Balducci M, Pezzotti P, Sinicco A, Alberici F, Rezza G. for the Italian HIV-Seroconversion Study. Temporal changes in the rate of progression to death among Italians with known date of HIV seroconversion: estimates of the population effect of treatment. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999;1;22(1):65-70.

42. Serraino D, Pezzotti P, Dorrucchi M, Alliegro MB, Sinicco A, Rezza G. Cancer incidence in a cohort of human immunodeficiency virus seroconverters. HIV Italian Seroconversion Study Group. *Cancer* 1997;1;79(5):1004-8.
43. Serraino D, Boschini A, Carrieri P, Pradier C, Dorrucchi M, Dal Maso L, Ballarini P, Pezzotti P, Smacchia C, Pesce A, Ippolito G, Franceschi S, Rezza G. Cancer risk among men with, or at risk of, HIV infection in southern Europe. *AIDS* 2000;31;14(5):553-9.
44. Dorrucchi M, Suligoi B, Serraino D, Tirelli U, Rezza G and the Italian HIV-Seroconversion Study. Incidence of invasive cervical cancer in a cohort of HIV-seropositive women before and after the introduction of highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 2001;26(4):377-80.
45. Alliegro MB, Petrucci A, Arpino C, Dorrucchi M, Pezzotti P, Rezza G, Buccoliero G, Tarantini G, Sinicco A, Canessa A. Peripheral neuropathies among patients with HIV infection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;64:414-5.
46. Alcabes P, Pezzotti P, Phillips AN, Rezza G, Vlahov D. Long-term perspective on the prevalent-cohort biases in studies of human immunodeficiency virus progression. *Am J Epidemiol* 1997;1;146(7):543-51.
47. Brancato G, Pezzotti P, Rapiti E, Perucci CA, Abeni D, Babbalacchio A, Rezza G. Multiple imputation method for estimating incidence of HIV infection. The Multicenter Prospective HIV Study. *Int J Epidemiol* 1997;26(5):1107-14.
48. Cozzi Lepri A, Phillips AN, Pezzotti P, Mocroft A, Sabin CA, Porte K, Rezza G. Evaluating the effect of year of seroconversion on HIV progression in cohort studies. Italian Seroconversion Study. *AIDS* 1998;30;12(11):1353-60.
49. Cozzi Lepri A, Phillips AN, Pezzotti P, Rezza G. Is the clinical course of HIV infection changing? Study's censoring strategy may be source of bias. *BMJ* 1997;315(7117):1237.
50. Collaborative Group on AIDS Incubation and HIV Survival including the CASCADE EU Concerted Action. Time from HIV-1 seroconversion to AIDS and death before widespread use of highly-active antiretroviral therapy: a collaborative re-analysis. *Lancet* 2000;355:1131-7.
51. CASCADE Collaboration. Survival after introduction of HAART in people with known duration of HIV-1 infection. *Lancet* 2000;355:1158-9.
52. CASCADE Collaboration. Changes in uptake of antiretroviral therapy and survival in people with known duration of HIV infection in Europe: results from CASCADE. *HIV Med* 2000;1:224-31.
53. Babiker AG, Peto T, Porter K, Walker AS, Darbyshire JH. Age as a determinant of survival in HIV infection. *J Clin Epidemiol* 2001;54:S16-S21.
54. CASCADE Collaboration. Determinants of survival following HIV-1 seroconversion after the introduction of HAART. *Lancet* 2003;362:1267-74.
55. CASCADE Collaboration. Effect of ignoring the time of HIV seroconversion in estimating changes in survival over calendar time in observational studies: results from CASCADE. *AIDS* 2000;14:1899-906.
56. International Collaboration on HIV and Cancer. Highly active antiretroviral therapy and incidence of cancer in human immunodeficiency virus-infected adults. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1823-30.
57. CASCADE European Collaborative Project. The relationships between the HIV test interval, demographic factors and HIV disease progression. *Epidemiol Infect* 2001;127:91-100.
58. CASCADE Collaboration. Estimating the effect of antiretroviral treatment during HIV seroconversion: impact of confounding in observational data. *HIV Med* 2003;4: 332-337.
59. CASCADE Collaboration. Changes over calendar time in the risk of specific first AIDS-defining events following HIV seroconversion, adjusting for competing risks. *Int J Epidemiol* 2002;31:951-8.

60. CASCADE Collaboration. Short term risk of AIDS according to current CD4 cell count and viral load in antiretroviral drug-naïve individuals and those treated in the monotherapy era. *AIDS* 2004;18:51-8.
61. CASCADE Collaboration. Short term CD4 cell response after highly active antiretroviral therapy initiated at different times from seroconversion in 1500 seroconverters. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 2003;32(3):303-10.
62. Del Amo J, Perez-Hoyos S, Hernandez Aguado I, Diez M, Castilla J, Porter K, Concerted Action on Seroconversion to AIDS and Death in Europe (CASCADE) Collaboration. Impact of tuberculosis on HIV disease progression in persons with well documented time of HIV seroconversion. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 2003;33(2):184-90.
63. CASCADE Collaboration. Is the time from HIV seroconversion a determinant of the risk of AIDS after adjustment for updated CD4 cell counts? *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 2001;28:158-65.
64. CASCADE Collaboration. Differences in CD4 cell counts at seroconversion and decline among 5739 HIV-1 infected individuals with well-estimated dates of seroconversion. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 2003;34(1):76-83.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN  
deve essere preventivamente autorizzata.*

*Stampato da Ditta Grafiche Chicca & C. snc  
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

*Roma, settembre 2004 (n. 3) 7° Suppl.*