

SISTEMA IMMUNITARIO, HIV E INVECCHIAMENTO

Giugno 2013

Questo report è stato scritto per Treatment Action Group da **Richard Jefferys** e **Tim Horn** e redatto da Andrea Benzacar.

Grazie al Dr. Steven Deeks e a Matt Sharp per la revisione e i commenti.

Treatment Action Group ringrazia la Kent Richard Hoffmann Foundation, Gilead Sciences e Janssen Therapeutics per avere sostenuto questo lavoro.

Traduzione italiana di Dora – HIVforum.info

Treatment Action Group (TAG) è un think tank indipendente per la ricerca e la politica dell'AIDS, che combatte per un miglior trattamento, un vaccino e una cura per l'AIDS.

TAG lavora per fare in modo che tutte le persone con HIV ricevano terapie salvavita, cure e informazioni. Noi siamo attivisti a favore di terapie basate sulla scienza, che lavorano per l'espansione e l'accelerazione della ricerca e per un efficace coinvolgimento della comunità insieme alle istituzioni di ricerca e a quelle politiche.

TAG promuove una azione collettiva aperta da parte di tutte le comunità interessate, gli scienziati e coloro che definiscono le politiche per giungere alla fine dell'AIDS.

Treatment Action Group
261 Fifth Avenue, Suite 2110
New York, NY 10016-7701
1.212.253.7922 tel
1.212.253.7923 fax
tag@treatmentactiongroup.org
www.treatmentactiongroup.org
ISBN 978-0-9837221-6-8

Aging seems to be the only available way to live a long life.
—Daniel François Esprit Auber (1782–1871)

Sistema Immunitario, HIV e Invecchiamento

Introduzione

Una decina di anni fa, era quasi inconcepibile che la questione dell'invecchiare con l'infezione da HIV emergesse come una preoccupazione importante. Ma ora è divenuto chiaro che la terapia antiretrovirale combinata (ART) è in grado di sopprimere la replicazione del virus per molti anni – verosimilmente per tutta la vita – nella maggior parte delle persone che hanno accesso ai farmaci e le infezioni opportunistiche, che un tempo erano la prima causa di malattia, là dove il trattamento è disponibile sono in gran parte scomparse. Morbilità e mortalità per infezione da HIV sono crollate e la sopravvivenza delle persone HIV-positive si approssima sempre più a quella dei loro pari HIV-negativi.^{1,2} Con lo spettro dell'AIDS che è stato finalmente scacciato dall'orizzonte più prossimo, l'attenzione si è rivolta ai problemi di salute che si possono incontrare lungo la strada.

Quelle più incombenti sono le patologie tipicamente associate all'invecchiamento. Fra queste, problemi cardiovascolari, renali ed epatici; perdita ossea e aumentato rischio di fratture; fragilità; deterioramento cognitivo; cancro. Si stanno accumulando prove che il rischio di questi disturbi è elevato nelle persone HIV-positive e, in certi casi, possono verificarsi a un'età mediamente più giovane rispetto a quella in cui si osservano tipicamente in popolazioni HIV-negative simili.³ Poiché la proporzione di persone con HIV più anziane sta crescendo (vedere figura 1), si pone la pressante necessità di capire come una vasta gamma di fattori possano contribuire a questo fenomeno; e questi fattori includono l'infiammazione, la disregolazione immunitaria, la politerapia, le tossicità dei farmaci nel lungo periodo, le coinfezioni e comorbidità che hanno una prevalenza sproporzionata fra le persone con HIV, quali l'epatite B e C, i disturbi connessi all'uso corrente o pregresso di sostanze, lo stress e la depressione.

È importante sottolineare che l'aumento del rischio di patologie associate all'età riferito nelle persone con HIV (confrontato con le loro controparti HIV-negative) è relativamente piccolo. Inoltre, sussistono delle incongruenze fra gli studi e ci sono discussioni ad oggi non risolte su fino a che punto l'infezione da HIV sia un fattore di rischio indipendente per patologie specifiche.

Pertanto, mentre c'è ragione di allarme e preoccupazione, non c'è ragione di panico ed è verosimile che molte persone HIV-positive non dovranno affrontare un rischio supplementare significativo di problemi legati all'invecchiamento. Come raccomandazione generale, le persone HIV-positive dovrebbero considerare i fattori legati allo stile di vita, che oggi si sa che possono migliorare lo stato di salute quando si raggiunge la vecchiaia; e cioè: fare esercizio quotidiano, seguire una dieta sana, mantenere pressione sanguigna e colesterolo a dei livelli bassi, evitare l'abuso di sostanze e gli eccessivi aumenti di grasso.

L'obiettivo di questo breve report è di sintetizzare la conoscenza scientifica attualmente disponibile riguardo alle connessioni immunologiche fra HIV e invecchiamento e di offrire un'introduzione ad alcune delle questioni non risolte che vengono affrontate – o devono essere affrontate – dalla ricerca.

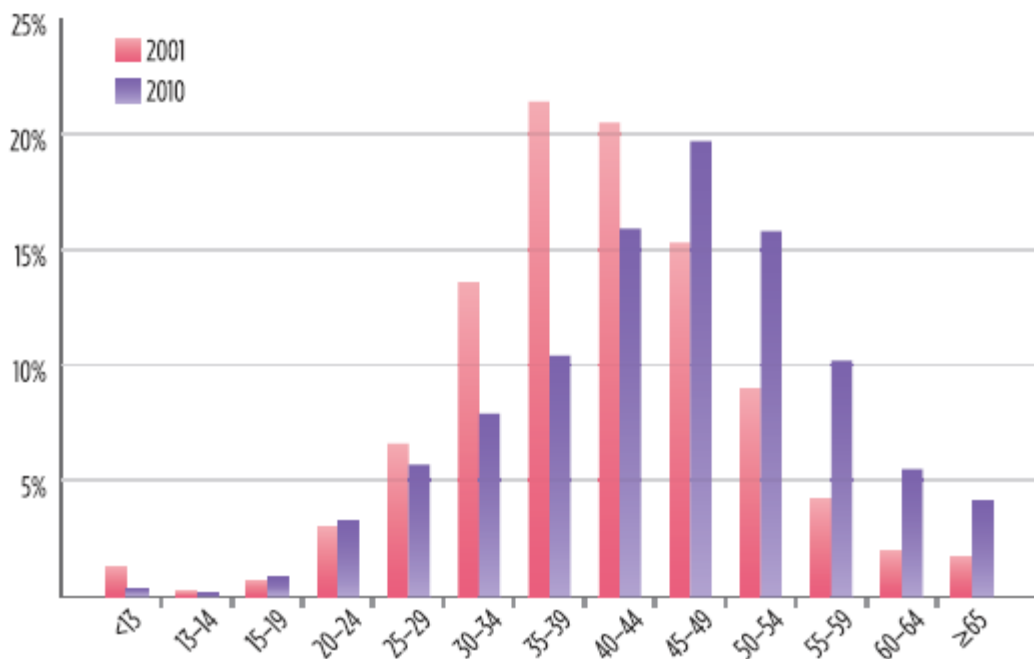


Figura 1. La distribuzione per età delle persone che vivono con l’HIV negli Stati Uniti, basata sulla percentuale di individui in ciascuna categoria d’età nel 2011⁴ confrontata con il 2010 (dati provenienti da aree con segnalazioni confidenziali basate sul nome).⁵ L’aumento della popolazione di individui più anziani che vivono con l’HIV è un fenomeno globale. Si stima che nell’Africa sub-sahariana ci siano 3 milioni di persone con HIV che hanno 50 e più anni, più del 13% del totale dei casi di HIV nella regione.⁶ Dati recenti dello Swiss HIV Cohort Study mostrano in Europa tendenze simili.⁷

Il dibattito sull’“invecchiamento precoce” o l’“invecchiamento accelerato”

Negli ultimi anni, ci sono state grandi discussioni fra i ricercatori sul fatto se l’infezione da HIV o la terapia antiretrovirale siano associate a un invecchiamento più rapido, con espressioni quali “invecchiamento precoce” o “invecchiamento accelerato” che erano fra i termini dal suono più angosciante che venivano sbandierati più di frequente sia dagli articoli scientifici, sia dalle storie raccontate dai media. Al di fuori del campo della ricerca sull’HIV, l’esempio più conosciuto di invecchiamento prematuro è una rara condizione genetica chiamata progeria, che colpisce i bambini. Come ha fatto notare l’endocrinologo Carl Grunfeld, praticamente nulla di quel che è stato descritto nelle persone HIV-positive presenta qualche somiglianza con le manifestazioni della progeria. Inoltre, le prove di una malattia associata all’invecchiamento che si presenta a un’età più giovane nelle persone con infezione da HIV sono, al momento, confuse e talvolta contraddittorie. L’aspetto principale che questo report cerca di evidenziare è che esistono prove convincenti che l’infezione da HIV non trattata causa uno sviluppo più rapido di un profilo del sistema immunitario invecchiato e che diverse delle caratteristiche di un **sistema immunitario** invecchiato (quali la deplezione delle cellule naive e un rapporto CD4:CD8 invertito) siano le più lente a normalizzarsi quando la replicazione dell’HIV viene soppressa dalla terapia. Quindi, secondo l’opinione di TAG, una delle questioni-chiave non è se l’HIV causi invecchiamento precoce, ma piuttosto in che misura un profilo di sistema immunitario invecchiato contribuisca ai disturbi dell’invecchiamento – sia nelle persone HIV-positive, sia negli anziani HIV-negativi.

Invecchiamento e patogenesi dell'HIV

Uno dei primi report che associavano l'età con la prognosi dell'infezione da HIV fu pubblicato nel 1987: in una coorte di emofiliaci, l'età più avanzata era associata in modo significativo ad una più rapida progressione verso l'AIDS.⁸ Nei due decenni successivi, questa scoperta è stata più volte confermata in tutte le popolazioni.^{9,10,11,12,13,14,15} Si è anche rapidamente dimostrato che l'età aveva un impatto indipendente sul numero dei linfociti T CD4.¹⁶ Sono inoltre stati notati dei parallelismi fra le manifestazioni cliniche dell'AIDS e l'invecchiamento – quali il deterioramento cognitivo, l'atrofia muscolare e la fragilità – e ciò ha spinto alcuni ricercatori ad ipotizzare che la base comune potesse essere immunologica.¹⁷ Tuttavia, a quei tempi, c'erano pochi dati sui cambiamenti immunologici che si verificano durante l'invecchiamento naturale e sui loro rapporti con la salute.

Negli ultimi anni, ha iniziato ad emergere un quadro più chiaro del ruolo del sistema immunitario nell'invecchiamento. A grandi linee, le evidenze suggeriscono che si verifichi un logoramento graduale delle risorse del sistema immunitario, causato in parte dalle molte e diverse infezioni cui un individuo è esposto durante la vita, con le infezioni croniche – quei patogeni che sono controllati, ma non rimossi dal corpo – che svolgono un ruolo particolarmente importante. L'esempio chiave è il citomegalovirus (CMV), che è stato regolarmente associato con disfunzione immunitaria e mortalità (con follow-up da più di due fino a sei anni) in persone molto anziane.¹⁸ Ed è stato ipotizzato anche un possibile contributo dell'infezione da Epstein-Barr virus (EBV).¹⁹

Poiché in età avanzata il sistema immunitario diventa meno competente, pare anche che debba lavorare di più e che ciò porti a uno stato di infiammazione cronica, che è stato descritto come "inflamm-aging".²⁰ Un progresso particolarmente importante in questo campo di ricerca è stato l'identificazione di un gruppo di fattori, che erano fortemente predittivi di mortalità più precoce in una coorte svedese di persone anziane (> 85 anni), noti come "profilo di rischio immunologico" o "fenotipo di rischio immunologico" (IRP – vedere box 1).²¹ La ricerca sta adesso indagando se l'IRP si applichi anche ad altre popolazioni, comprese quelle di 60 e più anni.²²

Mentre l'identificazione dell'IRP fra le persone più anziane ha avuto grande influenza sulla ricerca sull'invecchiamento, ad oggi gli studi hanno coinvolto solo piccole coorti europee, con la maggior parte della ricerca fatta più di un decennio fa, utilizzando test immunologici meno sofisticati rispetto a quelli ora disponibili. Non è chiaro se l'IRP sia predittivo di morbilità e mortalità anche in altri contesti in tutto il mondo. Studi limitati in Africa suggeriscono che i livelli di origine di attivazioni immunitarie siano più alti, mentre i numeri di linfociti T naive e i rapporti CD4:CD8 sono più bassi;^{23, 24, 25} è importante che le ricerche future indaghino se questo si associ ad una più breve aspettativa di vita, e come la variabilità geografica si incroci con l'infezione da HIV e l'invecchiamento.

Questi progressi nella ricerca sull'invecchiamento hanno messo in evidenza numerosi sorprendenti parallelismi con la patogenesi dell'infezione da HIV (vedere box 1), ed offrono una nuova lente attraverso la quale guardare precedenti risultati della ricerca. La dimostrazione della pressione cronica esercitata sul sistema immunitario dalla presenza dell'HIV è stata documentata prima ancora che il virus fosse identificato; i primi report di casi di AIDS includevano dati che mostravano livelli elevati di attivazione dei linfociti T, misurati mediante il marker di attivazione CD38 (che

allora era noto come T10).²⁶ Una ricercatrice della University of California, Los Angeles, Janis Giorgi, ha anche dimostrato che l'espressione del CD38 sui CD8 era un forte predittore della velocità di progressione della malattia,²⁷ una scoperta seminale che è stata ripetutamente confermata in successivi studi indipendenti.^{28,29} È anche stato dimostrato che gli alti livelli di attivazione dei linfociti T in persone con HIV non trattato si accompagnano ad aumenti nelle citochine infiammatorie, come l'IL-6, il TNF- α e l'interferone alfa.³⁰ Quindi, mentre lo stadio finale dell'infezione da HIV è caratterizzato da deficienza immunitaria, è preceduto da una graduale erosione delle risorse del sistema immunitario causata da attivazione cronica, un processo che può avere un parallelo nel ruolo, da poco descritto, del CMV nell'aggravare il declino immunitario in persone HIV-negative molto anziane.

Dal momento che l'impatto dell'infezione da HIV sul sistema immunitario rispecchia per molti aspetti quello dell'invecchiamento, è possibile che delle manifestazioni che rievocano l'invecchiamento accelerato nelle persone HIV-positive siano totalmente dipendenti dal virus. Tuttavia, ci sono molti altri fattori che possono contribuire. I farmaci antiretrovirali hanno una gamma ben descritta di tossicità che potrebbero plausibilmente svolgere un ruolo, per esempio il danno ai mitocondri, che nelle cellule producono energia (un possibile effetto collaterale degli inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa, NRTI),³¹ l'aumento dei livelli di colesterolo e trigliceridi (causato da alcuni inibitori della proteasi),³² lo sviluppo di obesità addominale centrale (che può essere fonte di IL-6 e altre citochine infiammatorie³³) e la resistenza all'insulina (cui possono contribuire sia gli NRTI, sia gli inibitori della proteasi).³⁴ Esistono, inoltre, dei fattori di rischio che possono avere una maggiore prevalenza nelle persone HIV-positive, come i disturbi connessi all'uso corrente o pregresso di sostanze, il fumo, lo stress, la depressione e i disturbi del sonno.^{35, 36, 37, 38}

Box 1: Alterazioni del sistema immunitario nell'invecchiamento e nell'infezione da HIV

Profilo di rischio immunitario (IRP)	Infezione da HIV
<ul style="list-style-type: none"> • Rapporto CD4:CD8 invertito • Diminuzione delle risposte proliferative e della produzione di IL-2 da parte dei linfociti T • Aumento dei livelli di linfociti T CD8+ CD28- (cellule senescenti) • Alti livelli di citochine infiammatorie • Infezione da CMV 	<ul style="list-style-type: none"> • Rapporto CD4:CD8 invertito • Diminuzione delle risposte proliferative e della produzione di IL-2 da parte dei linfociti T • Aumento dei livelli di linfociti T CD8+ CD28- (cellule senescenti) • Alti livelli di citochine infiammatorie • Restringimento del repertorio dei linfociti T • Diminuzione dei telomeri nei linfociti T
Altre alterazioni del sistema immunitario associate all'età	
<ul style="list-style-type: none"> • Restringimento del repertorio dei linfociti T • Diminuzione dei telomeri nei linfociti T 	

La ricerca sulla senescenza immunitaria nell'HIV

Senescenza immunitaria è un termine generale usato per descrivere il profilo immunologico visto nelle persone più anziane. La parola *senescente* si applica anche alle cellule del sistema immunitario che mostrano segni di disfunzione legata all'età. Anche se la relazione fra immunosenescenza e salute è emersa solo relativamente di recente (e rimane per certi versi controversa), è da molti anni che i ricercatori stanno indagando questo fenomeno nelle persone con HIV.

A metà 1990, Rita Effros, della University of California, Los Angeles, fu la prima a portare le prove che i CD8 stavano raggiungendo uno stato noto come senescenza replicativa nelle persone con HIV.³⁹ Senescenza replicativa significa che le cellule si sono divise così tante volte che non si dividono più, divenendo così disfunzionali e incapaci di svolgere il loro importante dovere di sorveglianza ed eliminazione delle cellule infettate da patogeni (è questo ruolo che ha fatto guadagnare ai CD8 il nome con cui sono comunemente conosciuti: "linfociti T killer").

Le prove della senescenza derivavano dalla valutazione della lunghezza dei telomeri nei CD8. I telomeri sono delle sorte di cappucci specializzati che proteggono le estremità di ciascun cromosoma ed evitano la degradazione del DNA quando i cromosomi sono copiati durante la divisione della cellula (comunemente, i telomeri vengono paragonati ai puntali, i piccoli cappucci che proteggono le stringhe delle scarpe per evitare che si sfilaccino). Nel corso di molte divisioni cellulari, i telomeri si accorciano, e l'articolo della Effros ha segnalato che i telomeri nei CD8 prelevati a persone con HIV (in era pre-HAART) avevano lunghezza simile a quella dei CD8 prelevati a persone di 100 e più anni.

Effros ha anche dimostrato che la perdita dell'espressione di una molecola sulla superficie della cellula, il CD28, serve come marker della senescenza replicativa dei CD8.⁴⁰ Queste scoperte concordavano con molti studi indipendenti, che avevano documentato l'accumularsi di CD8 privi di CD28 (CD28-negativi) nell'infezione da HIV, sia in adulti, sia in bambini.^{41, 42} La presenza di queste cellule è vista con preoccupazione poiché, oltre ad essere meno capaci di proliferare, hanno la tendenza a produrre alti livelli di citochine infiammatorie.^{43, 44}

Un altro parallelismo chiave fra infezione da HIV e invecchiamento naturale riguarda la perdita delle cellule immunitarie naive. Le cellule principali del sistema immunitario adattivo – i linfociti T CD4 e CD8 e i linfociti B – si dividono nel corpo ciascuna in due grandi gruppi: le cellule naive, che non hanno ancora incontrato un antigene cui rispondere, e le cellule memoria, che discendono da cellule naive che in qualche momento del passato hanno incontrato un antigene e gli hanno risposto. Quando le persone invecchiano, il numero delle cellule naive diminuisce e le cellule memoria che hanno risposto a molti diversi patogeni incontrati durante la vita si accumulano. La ricerca ha rivelato una molto più rapida deplezione dei CD4, CD8 e linfociti B naive nelle persone con HIV rispetto ai controlli HIV-negativi.^{45, 46, 47} Più di recente, è stato sostenuto che il declino nel numero delle cellule naive costituisce un parallelismo ancora più stretto fra HIV e invecchiamento rispetto all'accumularsi di CD8 senescenti.⁴⁸

Esistono diversi meccanismi attraverso i quali l'HIV causa questa accelerazione nella perdita della naïveté immunologica. La replicazione continua del virus attiva in modo persistente le cellule naive, inducendole a differenziarsi in cellule memoria (e quindi sottraendole al gruppo delle cellule naive).⁴⁹ L'attivazione immunitaria cronica si associa con una sorta di danno cicatriziale del tessuto dei linfonodi chiamato fibrosi, che si è visto che limita la produzione di fattori necessari al mantenimento del numero delle cellule naive⁵⁰ (la fibrosi del tessuto linfatico non è stata ben

studiata nelle persone HIV-negative, ma le prove a disposizione fanno pensare che sia più prevalente in chi ha più di 60 anni⁵¹). Il virus contribuisce anche all'esaurimento delle cellule staminali ematopoietiche (HSC), che danno vita ai linfociti T e B naive in fabbriche di cellule localizzate nel midollo osseo. I livelli di HSC circolanti nelle persone con HIV somigliano a quelli delle persone HIV-negative di più di 75 anni.⁵²

Dopo che i linfociti T sono stati prodotti nel midollo, si spostano nel timo (di qui la "T" nel loro nome), un organo collocato dietro lo sterno, che agisce sostanzialmente come un campo di addestramento. La produzione di linfociti T naive da parte del timo diminuisce rapidamente dopo l'infanzia mediante un processo naturale chiamato *involutione timica*, e gradualmente rallenta fino a diventare un gocciolio durante la vecchiaia. L'infezione da HIV aggrava questo effetto dell'età, indebolendo la funzionalità del timo fin dai primi stadi dell'infezione.⁵³ La diminuzione di cellule naive e l'aumento di cellule memoria specifiche per le infezioni croniche (che si verificano sia durante l'invecchiamento, sia nell'infezione da HIV) portano ad avere un repertorio di linfociti T meno diversificato (per diversificato si intende con linfociti T in grado di rispondere a molti antigeni diversi).^{54, 55, 56}

Ma ad essere colpite non sono soltanto le cellule del sistema immunitario adattivo. Alcuni studi hanno iniziato a guardare alle componenti del sistema immunitario innato, scoprendo che i monociti negli uomini con HIV di 45 anni o meno sono simili a quelli di persone HIV-negative di più di 65 anni, hanno una funzionalità ridotta e telomeri accorciati.⁵⁷

Due altre caratteristiche che ora sappiamo essere associate all'invecchiamento immunologico sono state documentate nelle persone con HIV, inizialmente, nei primi casi pubblicati, in persone con AIDS, prima di essere approfonditamente documentate in anziani HIV-negativi: l'inversione del rapporto CD4:CD8 (normalmente sul 2:1, ma tipicamente < 1 nell'infezione da HIV non trattata), e la perdita della funzionalità dei CD4, in particolare della capacità dei linfociti T di proliferare in risposta a una stimolazione e di produrre la citochina interleuchina-2 (IL-2).⁵⁸

Il peggioramento dell'invecchiamento immunologico a causa dell'infezione da HIV offre una possibile spiegazione dell'associazione fra età e rischio di progressione della malattia descritta prima. Le persone più anziane partono con un sistema immunitario che è già stato consumato nel corso del tempo, così l'HIV aggrava i deficit associati all'età che sono già presenti.⁵⁹

La senescenza immunitaria nell'era di un efficace trattamento dell'HIV

La soppressione della replicazione dell'HIV mediante la ART porta tipicamente a un declino dell'attivazione immunitaria, una ripresa del numero dei CD4 del sangue periferico e una ricostituzione delle funzioni immunitarie chiave, quali le risposte proliferative ai patogeni opportunisti.⁶⁰ Tuttavia, alcuni aspetti della immunosenescenza possono persistere: la ripresa dei CD4 naive è lenta (possono volerci anni) e dipende sia dall'età, sia dal numero dei CD4 al momento di inizio della terapia.^{61, 62} I CD8 senescenti (e, per quanto non si accumulino nella stessa misura, anche i CD4)⁶³ sembrano riluttanti a svanire, anche se i dati disponibili sono ancora molto pochi e servono degli studi più a lungo termine.⁶⁴ I livelli di infiammazione arretrano parallelamente all'attivazione immunitaria, ma in genere rimangono al di sopra di quelli riscontrati in persone HIV-negative simili.⁶⁵ Mettendo in evidenza l'importanza dell'età, i parametri immunitari dei bambini in ART da tempo si avvicinano molto di più a quelli delle loro controparti HIV-negative, benché il numero dei CD8 attivati e totali rimanga leggermente elevato, così come la proporzione di CD4 memoria.⁶⁶

ART e senescenza

Ad oggi, uno degli studi più lunghi sull'impatto della ART sui CD8 senescenti è stato presentato al 19° Congresso sui Retrovirus e le Infezioni Opportunistiche (CROI) nel marzo 2012. In una coorte di donne HIV-positive seguite per una media di 15,6 mesi dopo l'inizio della ART, i ricercatori hanno trovato che la proporzione di CD8 senescenti declinava in media di circa il cinque per cento all'anno. I livelli di CD4 senescenti erano molto più bassi, ma non sono scesi in modo significativo durante lo stesso periodo. La proporzione di CD4 e CD8 attivati è diminuita molto più rapidamente (circa del 2 e del 12% all'anno).⁶⁷

Nel giugno 2012, è stato pubblicato uno studio più completo sui CD4 e i CD8 CD28-negativi in uomini e donne HIV-positivi. Nelle persone con infezione cronica, dopo 96 settimane di trattamento la proporzione di CD4 e CD8 CD28-negativi è diminuita in media del 7,1 e del 9,6%, ma è rimasta più alta che nei controlli HIV-negativi.⁶⁸

Attualmente, alcune delle prove più forti che l'immunosenescenza può colpire la salute delle persone con HIV sono indirette: l'età più avanzata e un assortimento di marker di senescenza sono regolarmente associati a scarsa ripresa dei CD4 nonostante la soppressione dell'HIV; in questo caso, si parla di risposta discordante o di non-risposta immunologica.^{69, 70, 71} Molti studi hanno dimostrato che le persone in questa situazione presentano un rischio di malattia più elevato rispetto a individui che hanno aumenti dei CD4 più consistenti.^{72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79} Queste scoperte equivalgono alla valutazione dell'aspettativa di vita basata sulle popolazioni e confrontando le persone con HIV in terapia e le loro controparti HIV-negative: un numero di CD4 del sangue periferico $> 500/\text{mm}^3$ si associa a un'aspettativa di vita simile, mentre un numero di CD4 $< 500/\text{mm}^3$ si correla con un aumentato rischio di morte.^{80, 81} Per esempio, una analisi di 3.280 partecipanti HIV-positivi a due grandi trial clinici, tutti in terapia e con viremie sopresse, ha trovato che ci sono stati 28 decessi fra le persone con CD4 compresi fra 350 e 499/ mm^3 , mentre 16 decessi sarebbero stati attesi in una popolazione HIV-negativa comparabile. Nel più ampio gruppo di partecipanti con CD4 superiori a 500/ mm^3 , il numero delle morti (34) ha collimato esattamente con la mortalità attesa dei confronti HIV-negativi.⁸²

In conformità a questi dati, uno studio recente esteso per un periodo molto lungo sugli aumenti dei CD4 in persone in ART seguite per 12 anni ha suggerito che la ripresa più lenta nelle persone con più di 50 anni sia una ragione sufficiente per incorporare l'attenzione all'età nelle linee guida per il trattamento dell'HIV.⁸³ Nel marzo 2012, le *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1 Infected Adults and Adolescents* sono state aggiornate in modo da includere una nuova sezione sulla cura della persone più anziane con HIV, in cui si raccomanda esplicitamente l'inizio della ART in persone di 50 e più anni senza riguardo per il numero dei CD4, "perché il rischio di complicanze non-AIDS correlate può aumentare e la risposta immunologica alla ART può essere ridotta nei pazienti con infezione da HIV più anziani".⁸⁴ Le linee guida, tuttavia, notano che questa è una raccomandazione limitata, basata sull'opinione di esperti tenendo conto della letteratura corrente su invecchiamento e infezione da HIV. Un trial randomizzato e controllato denominato START (Strategic Timing of Antiretroviral Treatment), attualmente in corso, sta valutando l'inizio immediato della ART rispetto a un inizio differito in un'ampia popolazione che spazia in età diverse; i risultati di questo trial dovrebbero fornire prove più chiare sui rischi e i benefici di un inizio immediato della ART nelle persone più anziane con HIV.

Circa le associazioni più dirette fra immunosenescenza e salute nelle persone con HIV, i dati stanno iniziando a comparire solo adesso. Il gruppo di ricerca di Rita Effros ha segnalato che proporzioni più alte di CD8 CD28-negativi erano associate a una più rapida progressione della malattia in uomini arruolati nel Multicenter AIDS Cohort Study (MACS)⁸⁵, ma si trattava di un'analisi retrospettiva, che riguardava campioni conservati, mentre servono degli studi prospettici. Uno studio che coinvolgeva 115 donne di 40 e più anni nel Women's Interagency HIV Study (WIHS) ha trovato una associazione significativa fra la proporzione di CD8 sia attivati, sia senescenti e la presenza di lesioni dell'arteria carotidea,⁸⁶ un segnale di disturbo cardiovascolare. Di nuovo, tuttavia, si è trattato di un'indagine retrospettiva su campioni raccolti in un singolo momento – riferito a un'analisi trasversale – ed è necessaria una ricerca prospettica per avere una comprensione più chiara delle associazioni osservate. Ciò nondimeno, gli autori dello studio affermano "prese tutte insieme, queste associazioni sono coerenti con un modello in cui l'infezione da HIV comporta attivazione immunitaria, invecchiamento immunologico accelerato e insorgenza prematura di CVD [disturbo cardiovascolare]". Inoltre, essi segnalano che nelle persone HIV-negative si è dimostrato che il CMV contribuisce al disturbo cardiovascolare seguendo meccanismi simili.⁸⁷

Un altro studio, questa volta su uomini, ha trovato che diversi parametri di immunosenescenza – compresi più bassi livelli di CD4 e CD8 naive e più alte proporzioni di linfociti T CD28-negativi – sono legati allo sviluppo del sarcoma di Kaposi (KS), nonostante la soppressione dell'HIV grazie alla terapia antiretrovirale.⁸⁸ Il KS in questi casi assomiglia alla forma "classica", in genere benigna, descritta in anziani HIV-negativi,⁸⁹ di contro alla forma aggressiva che si è vista nell'AIDS. Mentre serve più ricerca, questi risultati suggeriscono che l'invecchiamento del sistema immunitario possa essere un fattore di rischio per il KS classico, condiviso da giovani con HIV e anziani HIV-negativi.

Infiammazione

Alcuni dei dati più importanti e autorevoli sulle relazioni fra infiammazione e salute nelle persone con HIV sono stati ricavati dal trial Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART), che si proponeva di indagare se una ART intermittente, decisa in base ai CD4, poteva essere efficace quanto un trattamento continuato. Il trial aveva arruolato 5.472 persone, che erano state assegnate casualmente o a un braccio di “conservazione dei farmaci” (in cui la ART veniva iniziata quando il numero dei CD4 scendeva al di sotto dei 250/mm³ e interrotta quando superava i 350/mm³), o a un braccio di “soppressione virale”, in cui la ART veniva assunta in modo continuativo. L’età mediana dei partecipanti era 43 anni nel braccio di conservazione dei farmaci e 44 in quello di soppressione virale e il tempo mediano in ART prima dell’arruolamento era di sei anni per entrambi i gruppi.

I risultati dello SMART, che furono pubblicati dal *New England Journal of Medicine* nel 2006, furono inequivocabili: la ART intermittente era associata a un rischio di malattia o di morte raddoppiato.⁹⁰ I ricercatori, in qualche modo, furono sorpresi di vedere che poche (~8%) delle patologie che si presentarono erano infezioni opportunistiche; piuttosto, si videro soprattutto disturbi cardiovascolari, renali ed epatici – problemi più comunemente associati con l’invecchiamento (uno scienziato che si occupa di invecchiamento, Russell Tracy, ha sottolineato che questi risultati ricordano quelli documentati in un ampio studio su persone HIV-negative di più di 65 anni⁹¹). Da notare che, oltre la media di 18 mesi di follow-up, questi eventi si sono verificati solo in una piccola minoranza dei partecipanti: ci sono stati 120 casi di malattie opportunistiche o di morte fra i 2.720 partecipanti nel braccio intermittente, di contro a 47 fra le 2.752 persone nel braccio continuo. Invece, di casi di disturbi cardiovascolari, renali ed epatici ce ne sono stati rispettivamente 65 e 39.

Per dare un fondamento a questi risultati, i ricercatori dello SMART hanno collaborato con Lewis Kuller, uno scienziato della University of Pennsylvania che ha decenni di esperienza nell’indagare i legami fra infiammazione e malattia, in particolare le malattie dell’invecchiamento. Kuller ha osservato una serie di marker del sangue legati all’infiammazione e ad anomalie nella coagulazione nei partecipanti allo SMART per stabilire se c’erano associazioni con i risultati del trial. I risultati dimostrarono che alti livelli di una sostanza coinvolta nella coagulazione, il D-dimero, e la citochina IL-6 erano fortemente predittivi di mortalità.⁹² L’interruzione della ART era legata a un aumento dei livelli di entrambi questi marker, che sono connessi anche al disturbo cardiovascolare e alla mortalità nelle persone HIV-negative.^{93, 94, 95, 96} Una analisi successiva ha confrontato i livelli nei partecipanti allo SMART con quelli di una coorte affine di persone HIV-negative e ha dimostrato che erano in media significativamente più alti persino fra coloro che prendevano la ART.⁹⁷

Questi studi dimostrano che l’infiammazione predice cattive condizioni di salute nelle persone con HIV, coerentemente con la ricerca nelle popolazioni HIV-negative. Ma una differenza chiave è che l’effetto di piccoli aumenti dell’infiammazione è molto più forte nelle persone con HIV che in quelle HIV-negative. Inoltre, l’età media delle coorti con HIV in cui si è dimostrato che l’infiammazione è associata alla morbilità e mortalità è più bassa rispetto alle coorti che hanno fornito le basi della maggior parte della letteratura che esiste al di fuori del campo dell’HIV.

Implicazioni cliniche

Può sembrare che questo abbozzo dei parallelismi immunologici fra HIV e invecchiamento dipinga una quadro assai fosco, ma è chiaro che la prolungata soppressione del virus e l'incremento dei CD4 riducono notevolmente il rischio di conseguenze negative sulla salute, anche se in certi casi i marker immunitari che fanno pensare a un'età più avanzata persistono. Le domande chiave della ricerca sollevate dai dati immunologici sono se le persone con HIV in ART sperimentino un aumento nell'incidenza o nella prevalenza di malattie legate all'età in confronto a persone HIV-negative simili, e se questo rischio aumenti a un'età più giovane.

Rispondere a queste domande è difficile. Nonostante siano state fatte molte analisi da studi osservazionali di coorte, non è semplice definire che cosa sia un gruppo HIV-negativo di controllo comparabile, né è facile aggiustare i dati per i fattori confondenti e i bias di screening che sono presenti quando si confrontano pazienti con patologie croniche con persone della popolazione generale (un esempio immediato di possibile fattore confondente è che è più probabile che le persone con HIV fumino, quindi questo deve essere tenuto in considerazione, ma altri fattori possono essere più difficili da identificare). Tuttavia, questi studi di coorte hanno fornito dati importanti sulle manifestazioni cliniche dell'HIV e dell'invecchiamento.

Queste scoperte dovrebbero essere viste come un punto di partenza per impostare studi longitudinali e sperimentazioni cliniche, che sono necessari per valutare meglio questi marker biologici in quanto marker surrogati della progressione delle patologie legate all'età e dell'efficacia dei trattamenti e per capire l'utilità per le persone con HIV delle migliori pratiche di gestione delle comorbidità, che sono utilizzate (e sono state validate) per l'invecchiamento della popolazione in generale.

Fra i pochi dati caso-controllo ad oggi disponibili, esistono due studi europei che indicano tassi significativamente più alti di patologie singole e multiple legate all'età fra le persone con HIV in ART, rispetto a dei controlli HIV-negativi simili da un punto di vista demografico.

In uno studio retrospettivo trasversale italiano, che doveva valutare i dati relativi all'assistenza fra il 2002 e il 2009, i tassi di disturbo cardiovascolare, ipertensione, insufficienza renale, fratture ossee e diabete erano significativamente più alti fra le 2.854 persone con HIV in terapia rispetto agli 8.526 controlli corrispondenti per età, sesso e razza, scelti da un registro nazionale.⁹⁸ Anche la prevalenza di disturbi multipli legati all'età era più alta fra persone con HIV più giovani – il tasso fra le persone con HIV fra 41 e 50 anni (9,0%) era simile a quello dei controlli fra 51 e 60 anni (6,6%). Il fatto che in questo studio le persone con HIV fossero da tempo in terapia era per certi versi inusuale, poiché poco più dei due terzi di questi pazienti erano giunti all'ospedale da cui era stata formata la coorte per problemi metabolici (lipodistrofia, per esempio), mentre 850 partecipanti frequentavano lo stesso ospedale per l'assistenza di routine. In ogni caso, un confronto fra questi due gruppi non ha rivelato differenze significative nei tassi di comorbidità.

In uno studio di coorte prospettico olandese, la prevalenza di almeno una patologia collegata all'età è stata del 74% fra 489 persone con HIV, rispetto al 60% dei 452 controlli corrispondenti per età.⁹⁹ Un aspetto nuovo di questo studio riguardava l'uso di scansioni ad autofluorescenza per misurare gli AGE, i prodotti finali della glicazione avanzata, sulla pelle dei partecipanti alla coorte. I livelli degli AGE – proteine non funzionali e strutture lipidiche coinvolte in patologie legate all'età come l'Alzheimer, il disturbo cardiovascolare e l'infarto – erano più alti nelle persone con HIV e sono risultati associati in modo indipendente con una più alta prevalenza di malattie legate all'età. Tuttavia, data la natura trasversale di questi dati, non è stato possibile stabilire se i livelli

aumentati di AGE erano una possibile causa o un effetto delle patologie legate all'età nei volontari HIV-positivi partecipanti allo studio.

Un'ampia quantità di dati caso-controllo sono stati prodotti dal Veterans Aging Cohort Study (VACS-8) su 8 città americane, che ha arruolato più di 7.000 persone con HIV e corrispondenti controlli HIV-negativi a partire dal 2002. Fra più di 150 analisi e sotto-studi pubblicati su questa coorte nella letteratura medica, il VACS-8 ha documentato l'aumento del rischio di disturbi cardiovascolari,^{100, 101} di malattie polmonari,¹⁰² di diminuzione della funzionalità fisica,¹⁰³ di fratture,^{104, 105} di disturbi renali¹⁰⁶ e di cancro¹⁰⁷ nei veterani HIV-positivi rispetto ai controlli corrispondenti HIV-negativi. Tuttavia, una analisi che si chiedeva se attacchi cardiaci e insufficienza renale terminale si verificassero a un'età più giovane nei veterani HIV-positivi non ha rilevato alcun elemento di prova che sia così. L'analisi ha indagato anche i tumori non-AIDS e ha scoperto che questi possono verificarsi a un'età in media leggermente inferiore – la differenza era di sette mesi rispetto ai veterani HIV-negativi.¹⁰⁸

Anche se il VACS supera alcune limitazioni di altre analisi di coorte sull'età – compresi le piccole dimensioni del campione, l'assenza di campioni di confronto simili da un punto di vista demografico, la scarsa presenza di persone di colore e di adulti più anziani – ha però delle limitazioni tutte sue. Anzitutto, non seleziona i pazienti in prospettiva in base alle patologie legate all'età e non conduce revisioni dei diagrammi estese, ma invece si basa su codici diagnostici ICD-9 specifici, ma insensibili. In secondo luogo, la generalizzabilità dei dati del VACS può essere messa in discussione: i pazienti più giovani e le donne con HIV sono sottorappresentati nella coorte,¹⁰⁹ e il tasso di mortalità è più alto che nelle altre coorti.¹¹⁰

L'Indice VACS: quantificare il rischio di progressione della malattia nell'era della ART

Proprio come un indice come il Framingham si è dimostrato utile nella ricerca e nella gestione clinica, perché permette di stimare il rischio di infarto del miocardio o di morte nella popolazione HIV-negativa, così lo sviluppo e la convalida di un indice multivariato del rischio per le persone con HIV è stato prioritario. Il VACS, sotto la direzione di Amy Justice MD, della Yale School of Medicine, ha raccolto la sfida con la costruzione di un Indice VACS per punti,¹¹¹ che dà meno peso ai fattori che possono essere facilmente modificati con l'uso della ART, come il numero dei CD4 e la viremia, e uguale o maggior peso ai fattori più chiaramente associati alla morbilità e mortalità nell'attuale era di gestione dell'HIV: anomalie nei marker dell'età e del sistema degli organi, soprattutto l'emoglobina, la presenza di infezione da HCV, e i marker composti della funzionalità epatica e renale (per esempio, FIB-4, livelli di AST/ALT, tasso stimato di filtrazione glomerulare).

In una analisi recente volta a stabilire se l'Indice VACS era rilevante al di fuori dei partecipanti allo studio VACS, Justice e colleghi hanno utilizzato i dati di un'ampia "coorte di coorti" nord-americana chiamata NA-ACCORD per confrontare le stime di mortalità a cinque anni, usando sia l'Indice VACS, sia un indice ristretto che si basa solo sull'età, il numero dei CD4 e la misurazione della viremia.¹¹² Nel complesso, l'Indice VACS ha dato una predizione più significativa della mortalità per una qualsiasi causa fra i pazienti HIV-positivi in ART rispetto all'indice ristretto, con un 53% di pazienti che sono stati riclassificati a livelli di rischio diversi in modo sostanziale quando si usava l'Indice VACS (22% in un gruppo a più alto rischio e 31% in un gruppo a rischio più basso). L'alta capacità di discriminazione dell'Indice VACS si è mantenuta anche quando l'esposizione alla ART è

stata aumentata e anche in sottopopolazioni chiave, in particolare in chi aveva bassi livelli di HIV RNA e in chi aveva più di 50 anni.

Rispetto all'indice ristretto, l'Indice VACS si correla anche meglio con i marker infiammatori, compresi l'interleuchina-6, il CD14 solubile e il D-dimero. L'età, il numero dei CD4 e la viremia, messi a confronto con l'emoglobina, sono risultati meno correlati con questi marker infiammatori.

L'Indice VACS è uno strumento che viene ancora costantemente definito. La scelta dei fattori di rischio da inserire nell'indice da parte dei ricercatori si basa sulla ricerca precedente, che ha convalidato ciascuna associazione dei marker con la morbilità e la mortalità delle persone con HIV. Nuovi marker, come i profili lipidici, l'ipertensione e il fumo, così come i marker infiammatori descritti sopra che non sono sempre disponibili, o il cui costo è rimborsato con maggiore difficoltà, continuano ad essere esplorati, perché potrebbero permettere di migliorare la capacità di discriminazione dell'Indice.

Più informazioni sull'Indice VACS qui: <http://www.vacohort.org/index.aspx>.

Lo studio MACS si è soprattutto concentrato sulla prevalenza del fenotipo fragile – una sindrome descritta per la prima volta nel 2001 riguardo ad adulti più anziani della popolazione generale.¹¹³ Nelle persone con HIV, si tratta presumibilmente dell'equivalente contemporaneo della sindrome da deperimento AIDS-correlata; ha cinque caratteristiche principali: perdita di peso non intenzionale, debolezza, scarsa resistenza ed energia, basso livello di attività fisiche, lentezza nel camminare. Si ritiene che gli adulti che soddisfano tre di questi criteri abbiano un aumentato rischio di caduta, di disabilità, di una ripresa più lenta e meno completa, di eventi avversi durante i ricoveri in ospedale e di mortalità.

Sulla base della descrizione originale del fenotipo fragile, una serie di articoli hanno concluso che è significativamente più probabile che gli uomini con HIV nello studio MACS avessero un "fenotipo simil-fragile", se confrontati con uomini HIV-negativi corrispondenti per età, razza e livello di istruzione;¹¹⁴ che la prevalenza aumenta in modo esponenziale in associazione a CD4 inferiori a 400;¹¹⁵ e che sintomi persistenti di fenotipo simil-fragile prima dell'uso della ART sono associati a prognosi peggiore dopo l'inizio della terapia.¹¹⁶ Ma – ed è incoraggiante – almeno uno studio ha avanzato l'ipotesi che una ART che ha successo sia in grado di invertire la fragilità connessa all'HIV, almeno in certi casi.¹¹⁷

Una delle più temute conseguenze dell'invecchiamento sono i disturbi cognitivi. Alcuni studi hanno confrontato i tassi di incidenza e prevalenza dei deficit neurocognitivi fra le persone con HIV e i corrispondenti controlli, giungendo a dei risultati contrastanti. In una analisi dello studio MACS su 2.083 uomini con HIV e 2.083 uomini HIV-negativi seguiti fra il 1 luglio 1996 e il 1 luglio 2011, l'incidenza di diagnosi di disturbi neurologici è stata significativamente più alta fra le persone con HIV in terapia antiretrovirale che nella coorte di volontari non infetti in ogni fascia d'età (< 40, 40-49, 50-60, > 60).¹¹⁸ Fra gli aspetti più estremi dei disturbi neurologici, la demenza è una diffusa comorbilità dell'invecchiamento. Di contro, dei dati trasversali raccolti da una coorte a San Francisco hanno trovato poche prove di una associazione fra HIV ed età sulle prestazioni neuropsicologiche, con solo delle differenze marginali fra le persone con HIV e una popolazione di controllo formata da individui con simile provenienza socioeconomica.¹¹⁹ Per certi versi, queste

differenze possono riflettere diverse storie terapeutiche e diverse durate dell'infezione; ad oggi, nessuno studio ha indagato questi problemi in persone che hanno iniziato un regime di ART moderno e ottimale.

Meno studi hanno indagato in modo specifico i problemi dell'invecchiamento in coorti di consumatori di droghe per via endovenosa (IDU). Ma una preoccupazione particolarmente rilevante in questa popolazione è l'HCV, il virus dell'epatite C, ed è stato dimostrato che gli IDU coinfecti con HIV e HCV presentano fibrosi epatica di severità paragonabile a quella di persone infette da HCV soltanto, ma di 9,2 anni più vecchie. Questa scoperta è coerente con l'idea che l'infezione da HIV possa ridurre la sorveglianza immunitaria nei confronti dell'HCV in modo simile agli effetti di un'età più avanzata in persone HCV-positive, ma HIV-negative.¹²⁰

Anche se esiste una letteratura molto più vasta sulle singole patologie associate all'età nelle persone HIV-positive di quanto si possa dar conto in questo report, una spiegazione possibile dell'assenza di chiarezza su quanto il rischio possa essere aumentato a un'età più giovane è che gli studi di popolazione devono ancora includere misure precise dell'invecchiamento immunologico. Questo tipo di analisi potrebbero aiutare a capire se ci sono segmenti della popolazione HIV-positiva in cui il rischio è più elevato a causa di una maggiore immunosenescenza (come paiono suggerire le ricerche che dimostrano associazioni fra marker infiammatori, morbilità e mortalità). Questa è una questione importante cui la ricerca dovrà dedicarsi in futuro.

Farmaci antiretrovirali e invecchiamento

I possibili effetti della tossicità antiretrovirale sul processo di invecchiamento non possono essere ignorati.¹²¹ Anche se degli studi hanno indicato che l'attivazione immunitaria e l'infiammazione persistenti, insieme ai fattori di rischio dipendenti dallo stile di vita, sono associate in modo indipendente alle malattie dell'invecchiamento nelle persone con HIV, i dati suggeriscono anche che le tossicità dei farmaci e delle classi di farmaci possano contribuire, almeno in certi casi.

Sfortunatamente, molti articoli pubblicati fino ad oggi – soprattutto quelli dedicati alla disfunzione dei mitocondri causata dalla ART e allo stress ossidativo – non tengono conto delle perturbazioni immunologiche (per esempio, pochi CD4 naive, rapporti CD4:CD8 invertiti, molti CD8 CD28-negativi senescenti) che possono persistere in coloro che raggiungono la soppressione dell'HIV RNA e aumenti dei CD4 grazie alla ART. Pertanto, la questione non è se siano l'HIV o la ART ad essere associati all'invecchiamento, ma piuttosto in che modo essi contribuiscano a quello che è probabilmente un processo multifattoriale.

Anche se l'associazione fra l'uso di un inibitore nucleosidico della trascrittasi inversa (NRTI) e la tossicità per il DNA mitocondriale (mtDNA) è ben nota, almeno due studi hanno indagato la disfunzionalità dell'mtDNA quale fattore che contribuisce all'invecchiamento precoce nelle persone con HIV.

Uno studio della Università di Newcastle ha messo in evidenza il fatto che gli NRTI possono portare a un accumulo progressivo di mutazioni somatiche nell'mtDNA, come si vede nelle fibre muscolari che mancano di citocromo-c ossidasi (COX) - un enzima essenziale, necessario alla produzione di energia – che rispecchiano quelle in genere associate all'invecchiamento.¹²² Mentre 10 persone HIV-negative e 12 HIV-positive che non avevano mai preso ART avevano fibre muscolari normali, le 21 persone con HIV trattate con NRTI presentavano una frequenza aumentata di deficit di COX nelle fibre muscolari (fino al 9,8%) – raggiungendo o superando i livelli attesi nelle persone sane più anziane – e la gravità del deficit era predetta in modo forte dall'esposizione cumulata a NRTI durante la vita.

In precedenza, dei ricercatori dell'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) francese avevano riferito che la stavudina e la zidovudina, due NRTI analoghi della timidina, inducono disfunzionalità dell'mtDNA e aumentano la produzione di specie reattive dell'ossigeno nei fibroblasti (cellule del tessuto connettivo), con conseguente rallentamento della divisione cellulare.¹²³ Inoltre, dei marker di senescenza sono stati trovati – *in vitro* – in adipociti esposti per sette giorni ad analoghi della timidina e in campioni di tessuti adiposi di persone HIV-positive con lipodistrofia, che ricevevano regimi contenenti stavudina o lamivudina.

Per quanto riguarda gli NRTI non-timidinici, è stato dimostrato *in vitro* che il tenofovir inibisce l'attività della telomerasi nelle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) attivate (ma non in quelle non attivate), a concentrazioni terapeutiche.¹²⁴ Resta da studiare se questo indebolimento dell'attività della telomerasi comporti un più rapido accorciamento della lunghezza dei telomeri nelle cellule attivate *in vivo*, o abbia una qualche conseguenza sull'invecchiamento.

Anche gli inibitori della proteasi (IP) sono stati coinvolti.¹²⁵ Valutando gli effetti del ritonavir o del ritonavir/lopinavir sulle cellule endoteliali delle arterie coronarie umane, uno studio INSERM ha scoperto che gli IP inducevano marker di senescenza, stress ossidativo e infiammazione nei campioni. I marker di senescenza erano aumentati anche nelle PBMC di persone con HIV che ricevevano un regime che includeva IP. Gli autori hanno ipotizzato che la senescenza fosse

associata con l'accumulo nelle PBMC e nelle cellule endoteliali di prelamina A, che è noto che distrugge la mitosi e causa danno al DNA nelle cellule della muscolatura liscia, così rischiando di causare instabilità del genoma e senescenza prematura. Tuttavia, uno studio più recente dell'ente di ricerca sull'AIDS francese (ANRS) ha messo in discussione questi risultati: in una analisi di 35 persone HIV-positive in regime di ART con IP non è stata raccolta nessuna prova di un accumulo di prelamina A.¹²⁶

Molti studi hanno indagato specificamente se ci siano prove che la ART possa contribuire alla mortalità in coorti di persone HIV-positive, come ci si potrebbe aspettare se il suo uso accelerasse in modo significativo il processo di invecchiamento. I dati ad oggi disponibili non mostrano prove di un effetto negativo sulla mortalità.^{127, 128}

Al di là del ruolo che specifici antiretrovirali possono svolgere nella patogenesi e nell'eziologia dell'invecchiamento, ci sono questioni cliniche importanti che potrebbero sorgere nei pazienti più anziani o in chi ha patologie dipendenti dall'età o altre comorbidità. Oltre alla possibilità di una minore ripresa dei CD4 nonostante la soppressione virale indotta dalla ART,^{66, 67, 68} c'è la possibilità di rilevanti differenze farmacocinetiche rispetto a quanto avviene nelle persone con HIV più giovani, a causa del metabolismo epatico e dell'eliminazione renale alterati¹²⁹ e di un aumentato rischio di interazioni farmacologiche e di eventi avversi, soprattutto quando molti farmaci servono a gestire HIV, coinfezioni e complicanze legate all'invecchiamento.¹³⁰

CHARPA e la richiesta di un'agenda su HIV e invecchiamento

Nell'aprile 2010, una coalizione di associazioni di comunità, fra cui TAG, ha sponsorizzato l'HIV Research Catalyst Forum (HRCF), che ha raccolto più di 200 attivisti e sostenitori per discutere diverse questioni su trattamento e prevenzione dell'HIV. Una delle sessioni dell'HRCF è stata dedicata a HIV e invecchiamento e chi vi ha partecipato ha stabilito di formare una coalizione informale, che è stata chiamata Coalition for HIV and Aging Research and Policy Advocacy (CHARPA).

Nell'autunno 2010, CHARPA ha organizzato una raccolta di firme per una lettera al National Institute of Allergy and Infectious Diseases, in cui si sottolineava l'importanza della ricerca su HIV e invecchiamento e che ha portato a un incontro con l'Office of AIDS Research (OAR) presso i National Institutes of Health per discutere della questione. L'incontro con l'OAR ha avuto luogo l'8 dicembre 2010. Il risultato è stata la formazione di un comitato all'OAR chiamato HIV and Aging Working Group, che aveva il compito di definire lo stato delle conoscenze e che, nel luglio 2012, ha reso pubblico un report con dettagliate raccomandazioni per la ricerca futura. Il report è stato pubblicato sul *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* ed è disponibile gratuitamente online.¹³¹

Implicazioni per le terapie

Gli studi sulle aspettative di vita, che indicano l'importanza di raggiungere livelli di CD4 di $500/\text{mm}^3$ o superiori, così come i dati sui marker infiammatori, suggeriscono con forza che la ricerca sugli interventi che si rivolgono alla ripresa dei CD4 e all'infiammazione elevata debba avere la priorità. Sono in studio una gamma di possibili candidati: è stato dimostrato che la citochina IL-7 ha aumentato in modo significativo i livelli di CD4 e CD8 sia naive, sia memoria,¹³² e un'analisi recente suggerisce che potrebbe anche in parte ridurre i marker infiammatori.¹³³ Gli studi iniziali di un approccio di terapia genica sviluppato da Sangamo Biosciences, che prevede infusioni di CD4 modificati in modo da privarli del corecettore CCR5, hanno mostrato miglioramenti dei rapporti CD4:CD8 maggiori di quelli osservati con la sola ART.¹³⁴

Un'ampia gamma di anti-infiammatori sono sotto osservazione in studi sulla patogenesi e la terapia, compresi le statine, gli inibitori COX-2, gli antagonisti del recettore II dell'angiotensina, gli agonisti del recettore attivato del perossisoma gamma (PPA-g), e farmaci come il sevelamer, una sostanza capace di legare i fosfati, che può impedire la diffusione dei batteri intestinali nella circolazione (un problema noto come traslocazione microbica, che può contribuire all'infiammazione nella malattia da HIV).

Perché questa ricerca avanzi rapidamente, tuttavia, è necessaria una stretta collaborazione fra case farmaceutiche e gruppi biotecnologici con poca o nessuna esperienza nella ricerca sull'HIV (o interesse nel mercato dell'HIV), reti di ricerca sull'HIV e di ricercatori indipendenti, e enti regolatori. Alcuni aspetti di questa ricerca rispecchiano il lavoro fatto con le persone più anziane HIV-negative; per esempio il trial VITamin D and Omega-3 (VITAL) sta indagando se l'integrazione con questi possibili anti-infiammatori è in grado di ridurre il rischio di cancro, di malattie cardiache e di infarto in uomini sopra i 50 anni e in donne sopra i 55.¹³⁵

Forse l'intervento meno tecnologico che è stato suggerito per ridurre l'immunosenescenza è un esercizio moderato, che da tempo si sa essere benefico per la salute e la longevità. Benché sia un territorio ancora nuovo, diversi studi hanno sostenuto che l'esercizio può causare la diminuzione dei livelli di linfociti T senescenti.^{136, 137} Anche nel campo delle modificazioni dello stile di vita, un ampio trial ha portato prove che la dieta mediterranea può ridurre in modo significativo l'incidenza di disturbi cardiovascolari, suggerendo che la dieta possa essere benefica per le persone con HIV.¹³⁸

Il possibile contributo delle tossicità dei farmaci, benché al momento sia ampiamente teorico, ciò nondimeno dà forza all'idea che lo sviluppo della ART non dovrebbe essere messo all'ultimo posto; servono farmaci migliori e si dovrebbero progettare nuovi regimi di prima linea senza NRTI e IP. Parallelamente, il significato ultimo dell'eliminazione della ART – una cura dell'infezione da HIV – deve rimanere una priorità della ricerca.

È anche necessaria una ricerca clinica che guidi una pratica basata sulle prove, che sia tesa a prevenire e gestire le patologie legate all'invecchiamento. Fra gli obiettivi di questa ricerca:

- La definizione di modalità di prevenzione e trattamento sicure ed efficaci delle coinfezioni (soprattutto dell'HCV), dei tumori, dei disturbi cardiovascolari e polmonari; dei danni epatici e renali; della diminuzione della densità minerale ossea e dell'aumento del rischio di fratture; dei disturbi neurologici e del declino neurocognitivo;
- La definizione di interventi per ridurre i fattori di rischio comportamentali delle comorbilità connesse all'invecchiamento (come il tabacco o l'uso di droghe);

- Lo sviluppo di strategie per minimizzare i rischi della polifarmacia; e
- La standardizzazione di approcci utili a superare le barriere strutturali, psicosociali e socioeconomiche che impediscono alle persone con HIV più anziane e a coloro che più sono a rischio di complicazioni di salute legate all'invecchiamento di avere accesso alle strutture sanitarie e di rimanervi connessi.

Le raccomandazioni dell'OAR HIV and Aging Working Group abbracciano tutte le questioni discusse qui, con maggiori dettagli tecnici, ed è fondamentale che gli attivisti facciano in modo che tutte le strade delineate nella mappa completa dell'OAR per la ricerca futura siano seguite. Se così sarà, possiamo realisticamente sperare che ci si occuperà di quello che resta del rischio di morbilità e mortalità premature per le persone con HIV.

BIBLIOGRAFIA

1. Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Mortality of HIV-infected patients starting potent antiretroviral therapy: comparison with the general population in nine industrialized countries. *Int J Epidemiol*. 2009 Dec;38(6):1624–33. doi: 10.1093/ije/dyp306.
2. Lohse N, Hansen AB, Pedersen G, et al. Survival of persons with and without HIV infection in Denmark, 1995–2005. *Ann Intern Med*. 2007;146:2:87–95. Available from: <http://annals.org/article.aspx?articleid=731925>. (Accessed 2013 January 20)
3. Effros RB, Fletcher CV, Gebo K, et al. Aging and infectious diseases: workshop on HIV infection and aging: what is known and future research directions. *Clin Infect Dis*. 2008 Aug 15;47(4):542–53. doi: 10.1086/590150.
4. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.). HIV/AIDS Surveillance Report, 2004. Atlanta: Department of Health and Human Services (U.S.), Centers for Disease Control and Prevention. Vol. 16, 2005. Available from: <http://www.cdc.gov/hiv/surveillance/resources/reports/2004report>. (Accessed 2013 February 28)
5. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.). HIV Surveillance Report, 2011. Atlanta: Department of Health and Human Services (U.S.), Centers for Disease Control and Prevention. Vol. 23, 2012. Available from: <http://www.cdc.gov/hiv/topics/surveillance/resources/reports>. (Accessed 2013 February 28)
6. Negin J, Cumming RG. HIV infection in older adults in sub-Saharan Africa: extrapolating prevalence from existing data. *Bull World Health Organ*. 2010 Nov 1; 88(11):847–853. doi: 10.2471/BLT.10.076349.
7. Hasse B, Ledergerber B, Furrer H, et al. Morbidity and Aging in HIV-Infected Persons: The Swiss HIV Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2011 Dec;53(11):1130–9. doi: 10.1093/cid/cir626.
8. Eyster ME, Gail MH, Ballard JO, Al-Mondhiry H, Goedert JJ. Natural history of human immunodeficiency virus infections in hemophiliacs: effects of T-cell subsets, platelet counts, and age. *Ann Intern Med*. 1987 Jul;107(1):1–6. Abstract available from: <http://annals.org/article.aspx?articleid=701973>. (Accessed 2013 April 12)
9. Blaxhult A, Granath F, Lidman K, Giesecke J. The influence of age on the latency period to AIDS in people infected by HIV through blood transfusion. *AIDS*. 1990; 4(2):125–9. Abstract available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Abstract/1990/02000/The_influence_of_age_on_the_latency_period_to_AIDS.5.aspx. (Accessed 2013 April 12)
10. Kelly GE, Stanley BS, Weller IV. The natural history of human immunodeficiency virus infection: a five year study in a London cohort of homosexual men. *Genitourin Med*. 1990 Aug;66(4):238–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1194520/pdf/genitmed00046-0010.pdf>. (Accessed 2013 April 12)
11. Eskild A, Magnus P, Nilsen O, Holme I. Survival of AIDS patients in Norway. *Scand J Soc Med*. 1990 Sep;(18)3:231–5. doi: 10.1177/140349489001800313.
12. Ship JA, Wolff A, Selik RM. Epidemiology of acquired immune deficiency syndrome in persons aged 50 years or older. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1991;4(1):84–8. Abstract available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1984059>. (Accessed 2013 April 14)
13. Carré N, Deveau C, Belanger F, et al. Effect of age and exposure group on the onset of AIDS in heterosexual and homosexual HIV-infected patients. *AIDS*. 1994 Jun; 8(6):797–802. Abstract available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Abstract/1994/06000/Effect_of_age_and_exposure_group_on_the_onset_of.12.aspx. (Accessed 2013 April 12)
14. Brettell RP, McNeil AJ, Gore SM, Bird AG, Leen CS, Richardson A. The Edinburgh City Hospital Cohort: analysis of enrollment, progression and mortality by baseline covariates. *QJM*. 1995 Jul;88(7):479–91. Abstract available from: <http://qjmed.oxfordjournals.org/content/88/7/479.abstract>. (Accessed 2013 April 12)
15. Del Amo J, Petruckevitch A, Phillips A, et al. Disease progression and survival in HIV-1-infected Africans in London. *AIDS*. 1998 Jul 9;12(10):1203–9. Available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/1998/10000/Disease_progression_and_survival_in_HIV_1_infected.13.aspx. (Accessed 2013 April 12)
16. Phillips AN, Lee CA, Elford J, et al. More rapid progression to AIDS in older HIV-infected people: the role of CD4+ T-cell counts. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1991; 4(10):970–5. Abstract available from: http://journals.lww.com/jaids/Abstract/1991/10000/More_Rapid_Progression_to_AIDS_in_Older.8.aspx. (Accessed 2013 February 12)

17. Margolick JB, Chopra RK. Relationship between the immune system and frailty: pathogenesis of immune deficiency in HIV infection and aging. *Aging (Milano)*. 1992 Sep;4(3):255–7.
18. Larbi A, Franceschi C, Mazzatti D, Solana R, Wikby A, Pawelec G. Aging of the immune system as a prognostic factor for human longevity. *Physiology (Bethesda)*. 2008 Apr;23:64–74. doi: 10.1152/physiol.00040.2007.
19. Wikby A, Ferguson F, Forsey R, et al. An immune risk phenotype, cognitive impairment, and survival in very late life: impact of allostatic load in Swedish octogenarian and nonagenarian humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005 May;60(5):556–65. doi: 10.1093/gerona/60.5.556. Abstract available from: <http://biomedgerontology.oxfordjournals.org/content/60/5/556.abstract>.
20. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci*. 2000 Jun;908:244–54. Review. Abstract available from: doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x.
21. Pawelec G, Ferguson F, Wikby A. The SENIEUR protocol after 16 years. *Mech Ageing Dev*. 2001 Feb;122(2):132–134.
22. Wills M, Akbar A, Beswick M, et al. Report from the second cytomegalovirus and immunosenescence workshop. *Immun Ageing*. 2011 Oct 28;8(1):10. doi: 10.1186/1742-4933-8-10.
23. Messele T, Abdulkadir M, Fontanet AL, et al. Reduced naïve and increased activated CD4 and CD8 cells in healthy adult Ethiopians compared with their Dutch counterparts. *Clin Exp Immunol*. 1999 Mar;115(3):443–450. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1905237>. (Accessed 2013 February 1)
24. Clerici M, Butto S, Lukwiya M, et al. Immune activation in Africa is environmentally-driven and is associated with upregulation of CCR5. Italian-Ugandan AIDS Project. *AIDS*. 2000 Sep 29;14(14):2083–92. Available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2000/09290/Immune_activation_in_Africa_is.3.aspx. (Accessed 2013 February 1)
25. Kassa A, Tsegaye A, Petros B, et al. Distribution of lymphocyte subsets in healthy human immunodeficiency virus-negative adult Ethiopians from two geographic locales. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001 Nov;8(6):1171–6. Available from: [Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC96245](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC96245). (Accessed 2013 February 1)
26. Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, et al. Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med*. 1981 Dec 10;305(24):1425–31. doi: 10.1056/NEJM198112103052401.
27. Giorgi JV, Liu Z, Hultin LE, Cumberland WG, Hennessey K, Detels R. Elevated levels of CD38+ CD8+ T cells in HIV infection add to the prognostic value of low CD4+ T cell levels: results of 6 years of follow-up. The Los Angeles Center, Multicenter AIDS Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1993 Aug;6(8):904–12. Abstract available from: http://journals.lww.com/jaids/Abstract/1993/08000/Elevated_Levels_of_CD38_CD8_T_Cells_in_HIV.7.aspx. (Accessed 2013 April 12)
28. Sousa AE, Carneiro J, Meier-Schellersheim M, Grossman Z, Victorino RM. CD4 T cell depletion is linked directly to immune activation in the pathogenesis of HIV-1 and HIV-2 but only indirectly to the viral load. *J Immunol*. 2002 Sep 15;169(6):3400–6. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/169/6/3400.long>. (Accessed 2013 April 12)
29. Perfetto SP, Malone JD, Hawkes C, et al. CD38 expression on cryopreserved CD8+ T cells predicts HIV disease progression. *Cytometry*. 1998 Oct 1;33(2):133–7. doi: 10.1002/(SICI)1097-0320(19981001)33:2<133::AID-CYTO7>3.0.CO;2-K.
30. Emilie D, Galanaud P. Cytokines and AIDS. *Rev Prat*. 1993 Mar 1;43(5):565–8. Abstract available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7688134>. (Accessed 2013 April 13)
31. Glover E, Martin J, Mocellin NJ, Elston D, Smaill F, Tarnopolsk MA. Exercise capacity and markers of mitochondrial function in HIVinfected patients on NRTI therapy. *Antivir Ther*. 2009;14 Suppl 2:A61.
32. Effros RB, Graham LS, Parhami F, Tintut Y. T-lymphocytes and bone loss in HIV disease: role of chronic stimulation and oxidized lipids. *Antivir Ther*. 2009;14 Suppl 2:A16.
33. Johnson JA, Albu JB, Engelson ES, et al. Increased systemic and adipose tissue cytokines in patients with HIV-associated lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004 Feb;286(2):E261–71. Abstract available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14532165>. (Accessed 2013 April 13)
34. Hruz PW. Molecular mechanisms for insulin resistance in treated HIV-infection. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011 Jun;25(3):459–68. doi: 10.1016/j.beem.2010.10.017.
35. Brief DJ, Bollinger AR, Vielhauer MJ, et al. Understanding the interface of HIV, trauma, post-traumatic stress disorder, and substance use and its implications for health outcomes. *AIDS Care*. 2004;16 Suppl 1:S97–120. Abstract available from: <http://dx.doi.org/10.1080/09540120412301315259>.

36. Rahmanian S, Wewers ME, Koletar S, Reynolds N, Ferketich A, Diaz P. Cigarette smoking in the HIV-infected population. *Proc Am Thorac Soc*. 2011 Jun;8(3):313–9. doi: 10.1513/pats.201009-058WR.
37. Simms VM, Higginson IJ, Harding R. What palliative care-related problems do patients experience at HIV diagnosis? A systematic review of the evidence. *J Pain Symptom Manage*. 2011 May 25. Abstract available from: [http://www.jpmsjournal.com/article/S0885-3924\(11\)00158-8/abstract](http://www.jpmsjournal.com/article/S0885-3924(11)00158-8/abstract). (Accessed 2013 April 13)
38. Reid S, Dwyer J. Insomnia in HIV infection: a systematic review of prevalence, correlates, and management. *Psychosom Med*. 2005 Mar–Apr;67(2):260–9. doi: 10.1097/01.psy.0000151771.46127.df.
39. Effros RB, Allsopp R, Chiu CP, et al. Shortened telomeres in the expanded CD28-CD8+ cell subset in HIV disease implicate replicative senescence in HIV pathogenesis. *AIDS*. 1996 Jul;10(8):F17–22. Abstract available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Citation/1996/07000/Shortened_telomeres_in_the_expanded_CD28_CD8__cell.1.aspx. (Accessed 2013 April 13)
40. Effros RB. Loss of CD28 expression on T lymphocytes: a marker of replicative senescence. *Dev Comp Immunol*. 1997 21;6:471–8. Abstract available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9463780>. (Accessed 2013 January 2)
41. Choremi-Papadopoulou H, Viglis V, Gargalianos P, Kordossis T, Iniotaki-Theodoraki A, Kosmidis J. Downregulation of CD28 surface antigen on CD4+ and CD8+ T lymphocytes during HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1994 Mar;7(3):245–53. Abstract available from: http://journals.lww.com/jaids/Abstract/1994/03000/Downregulation_of_CD28_Surface_Antigen_on_CD4__and.5.aspx. (Accessed 2013 April 13)
42. Jennings C, Rich K, Siegel JN, Landay A. A phenotypic study of CD8+ lymphocyte subsets in infants using three-color flow cytometry. *Clin Immunol Immunopathol*. 1994 Apr;71(1):8–13. Abstract available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8137561>. (Accessed 2013 April 13)
43. Eylar EH, Lefranc CE, Yamamura Y, et al. HIV infection and aging: enhanced Interferon- and Tumor Necrosis Factor-alpha production by the CD8+ CD28- T subset. *BMC Immunol*. 2001;2:10. doi: 10.1186/1471-2172-2-10.
44. Zanni F, Vescovini R, Biasini C, et al. Marked increase with age of type 1 cytokines within memory and effector/cytotoxic CD8+ T cells in humans: a contribution to understand the relationship between inflammation and immunosenescence. *Exp Gerontol*. 2003 Sep;38(9):981–7. Abstract available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0531-5565\(03\)00160-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0531-5565(03)00160-8).
45. Connors M, Kovacs JA, Krevat S, et al. HIV infection induces changes in CD4+ T-cell phenotype and depletions within the CD4+ T-cell repertoire that are not immediately restored by antiviral or immune-based therapies. *Nat Med*. 1997 May;3(5):533–40. Abstract available from: doi: 10.1038/nm0597-533.
46. Roederer M, Dubs JG, Anderson MT, Raju PA, Herzenberg LA, Herzenberg LA. CD8 naive T cell counts decrease progressively in HIV-infected adults. *J Clin Invest*. 1995 May;95(5):2061–6. Abstract available from: doi: 10.1172/JCI117892.
47. Moir S, Malaspina A, Ho J, et al. Normalization of B cell counts and subpopulations after antiretroviral therapy in chronic HIV disease. *J Infect Dis*. 2008 Feb 15;197(4):572–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1086/526789>.
48. Appay V, Fastenackels S, Katlama C, et al. Old age and anti-CMV immunity are associated with altered T cell reconstitution in HIV-1 infected patients. *AIDS*. 2011 Sep 24;25(15):1813–22 Available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2011/09240/Old_age_and_anti_cytomegalovirus_immunity_are.2.aspx. (Accessed 2013 April 12)
49. Hazenberg MD, Hamann D, Schuitemaker H, Miedema F. T cell depletion in HIV-1 infection: how CD4+ T cells go out of stock. *Nat Immunol*. 2000 Oct;1(4):285–9. Abstract available from: doi: 10.1038/79724.
50. Zeng M, Southern PJ, Reilly CS, et al. Lymphoid tissue damage in HIV-1 infection depletes naïve T cells and limits T cell reconstitution after antiretroviral therapy. *PLoS Pathog*. 2012 Jan;8(1):e1002437. doi:10.1371/journal.ppat.1002437.
51. Hadamitzky C, Spohr H, Debertin AS, Guddat S, Tsokos M, Pabst R. Age-dependent histoarchitectural changes in human lymph nodes: an underestimated process with clinical relevance? *J Anat*. 2010 May;216(5):556–62. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-7580.2010.01213.x>.
52. Sauce D, Larsen M, Fastenackels S, et al. HIV disease progression despite suppression of viral replication is associated with exhaustion of lymphopoiesis. *Blood*. 2011 May 12;117(19):5142–51. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-01-331306>.

53. Dion ML, Poulin JF, Bordi R, et al. HIV infection rapidly induces and maintains a substantial suppression of thymocyte proliferation. *Immunity*. 2004 Dec;21(6):757–68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.10.013>.
54. Wack A, Cossarizza A, Heltai S, et al. Age-related modifications of the human alphabeta T cell repertoire due to different clonal expansions in the CD4+ and CD8+ subsets. *Int Immunol*. 1998 Sep;10(9):1281–8. doi: 10.1093/intimm/10.9.1281.
55. Gorochov G, Neumann AU, Kereveur A, et al. Perturbation of CD4+ and CD8+ T-cell repertoires during progression to AIDS and regulation of the CD4+ repertoire during antiviral therapy. *Nat Med*. 1998 Feb;4(2):215–21. Abstract available from: doi: 10.1038/nm0298-215.
56. Baum PD, Young JJ, Schmidt D, et al. Blood T-cell receptor diversity decreases during the course of HIV infection, but the potential for a diverse repertoire persists. *Blood*. 2012 Apr 12;119(15):3469–77. doi: 10.1182/blood-2011-11-395384.
57. Hearps AC, Maisa A, Cheng WJ, et al. HIV infection induces age-related changes to monocytes and innate immune activation in young men that persist despite combination antiretroviral therapy. *AIDS*. 2012 Apr 24;26(7):843–53. Abstract available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Abstract/2012/04240/HIV_infection_induces_age_related_changes_to.9.aspx. (Accessed 2013 April 17)
58. Murray HW, Welte K, Jacobs JL, Rubin BY, Mertelsmann R, Roberts RB. Production of and in vitro response to interleukin 2 in the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Invest*. 1985 Nov;76(5):1959–64. Available from: <http://www.jci.org/articles/view/112194/files/pdf>. (Accessed 2013 April 18)
59. Rickabaugh TM, Kilpatrick RD, Hultin LE, et al. The dual impact of HIV-1 infection and aging on naïve CD4 T-cells: additive and distinct patterns of impairment. *PLoS One*. 2011 Jan 26;6(1):e16459. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0016459>.
60. Autran B, Carcelain G, Li TS, et al. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science*. 1997 Jul 4;277(5322):112–6. Abstract available from: <http://dx.doi.org/10.1126/science.277.5322.112>.
61. Hoffman RM, Jamieson BD, Bosch RJ, et al. Baseline immune phenotypes and CD4+ T lymphocyte responses to antiretroviral therapy in younger versus older HIV-infected individuals. *J Clin Immunol*. 2011 Oct;31(5):873–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3194061>. (Accessed 2013 April 17)
62. Robbins GK, Spritzler JG, Chan ES, et al. Incomplete reconstitution of T cell subsets on combination antiretroviral therapy in the AIDS Clinical Trials Group protocol 384. *Clin Infect Dis*. 2009 Feb 1;48(3):350–61. <http://dx.doi.org/10.1086/595888>.
63. Fernandez S, Price P, McKinnon EJ, Nolan RC, French MA. Low CD4+ T-cell counts in HIV patients receiving effective antiretroviral therapy are associated with CD4+ T-cell activation and senescence but not with lower effector memory T-cell function. *Clin Immunol*. 2006 Aug;120(2):163–70. Abstract available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2006.04.570>.
64. Hunt P, Sinclair E, Epling L, et al. T cell senescence and proliferation defects persist in treated HIV-infected individuals maintaining viral suppression and are associated with poor CD4+ T cell recovery (Abstract 316). Poster session presented at: 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2010 February 16–19; San Francisco, CA. Available from: <http://retroconference.org/2010/PDFs/316.pdf>. (Accessed 2013 April 17)
65. Neuhaus J, Jacobs DR Jr, Baker JV, et al. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis*. 2010 Jun 15;201(12):1788–95. <http://dx.doi.org/10.1086/652749>.
66. Weinberg A, Dickover R, Britto P, et al. Continuous improvement in the immune system of HIV-infected children on prolonged antiretroviral therapy. *AIDS*. 2008 Nov 12;22(17):2267–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2748303>. (Accessed 2013 January 12)
67. Kaplan R, Parrinello C, Hodis H, et al. Impact of HAART initiation on immune regulation in aging HIV+ women: women’s interagency HIV study (Abstract 331). Paper presented at: 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2012 March 5–8; Seattle, WA. Abstract available from: <http://www.retroconference.org/2012b/PDFs/331.pdf>. (Accessed 2013 January 12)
68. Tassiopoulos K, Landay A, Collier AC, et al. CD28-negative CD4+ and CD8+ T cells in antiretroviral therapy-naïve HIV-infected adults enrolled in Adult Clinical Trials Group studies. *J Infect Dis*. 2012 Jun 1;205(11):1730–8. Available from: <http://jid.oxfordjournals.org/content/205/11/1730>. (Accessed 2013 April 19)
69. Kaufmann G, Perrin L, Pantaleo G, et al. CD4 T-lymphocyte recovery in individuals with advanced HIV-1 infection receiving potent antiretroviral therapy for 4 years: the Swiss HIV Cohort Study. *Arch Intern Med*. 2003 Oct 13;163(18):2187–95. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=216131>. (Accessed 2013 April 19)

70. Viard JP, Mocroft A, Chiesi A, et al. Influence of age on CD4 cell recovery in human immunodeficiency virus–infected patients receiving highly active antiretroviral therapy: evidence from the EuroSIDA study. *J Infect Dis*. 2001 Apr 15;183(8):1290–4. Available from: <http://jid.oxfordjournals.org/content/183/8/1290.long>. (Accessed 2013 April 19)
71. Kaufmann GR, Bloch M, Finlayson R, Zaunders J, Smith D, Cooper DA. The extent of HIV-1-related immunodeficiency and age predict the long-term CD4 T lymphocyte response to potent antiretroviral therapy. *AIDS*. 2002 Feb 15;16(3):359–67. Available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2002/02150/The_extent_of_HIV_1_related_immunodeficiency_and.7.aspx. (Accessed 2013 April 18)
72. Grabar S, Le Moing V, Goujard C, et al. Clinical outcome of patients with HIV-1 infection according to immunologic and virologic response after 6 months of highly active antiretroviral therapy. *Ann Intern Med*. 2000 Sep 19;133(6):401–10. Abstract available from: <http://annals.org/article.aspx?articleid=713861>. (Accessed 2013 April 18)
73. Piketty C, Weiss L, Thomas F, et al. Long-term clinical outcome of human immunodeficiency virus-infected patients with discordant immunologic and virologic responses to a protease inhibitor-containing regimen. *J Infect Dis*. 2001 May 1;183(9):1328–35. doi:10.1086/319861.
74. Nicastrì E, Chiesi A, Angeletti C, et al. Clinical outcome after 4 years follow-up of HIV-seropositive subjects with incomplete virologic or immunologic response to HAART. *J Med Virol*. 2005 Jun;76(2):153–60. Abstract available from: doi: 10.1002/jmv.20352.
75. Tan R, Westfall AO, Willig JH, et al. Clinical outcome of HIV-infected antiretroviral-naïve patients with discordant immunologic and virologic responses to highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008 Apr 15;47(5):553–8. Available from: http://journals.lww.com/jaids/Fulltext/2008/04150/Clinical_Outcome_of_HIV_Infected.4.aspx. (Accessed 2013 April 17)
76. Marin B, Thiébaud R, Bucher HC, et al. Non-AIDS-defining deaths and immunodeficiency in the era of combination antiretroviral therapy. *AIDS*. 2009 Aug 24;23(13):1743–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3305466>. (Accessed 2013 April 17)
77. Tuboi SH, Pacheco AG, Harrison LH, et al. Mortality associated with discordant responses to antiretroviral therapy in resourceconstrained settings. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010 Jan 1;53(1):70–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2802453>. (Accessed 2013 April 17)
78. Zoufaly A, an der Heiden M, Kollan C, et al. Clinical outcome of HIV-infected patients with discordant virological and immunological response to antiretroviral therapy. *J Infect Dis*. 2011 Feb 1;203(3):364–71. <http://dx.doi.org/10.1093/jinfdis/jiq055>.
79. Lepadula G, Cozzi-Lepri A, Marchetti G, et al. Risk of clinical progression among patients with immunological non response despite virological suppression after combination antiretroviral treatment. *AIDS*. 2012 Nov 28. Abstract available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Abstract/2013/03130/Risk_of_clinical_progression_among_patients_with.10.aspx. (Accessed 2013 April 17)
80. Lewden C, Chene G, Morlat P, et al. HIV-infected adults with a CD4 cell count greater than 500 cells/mm³ on long-term combination antiretroviral therapy reach same mortality rates as the general population. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007 Sep 1;46(1):72–7. Available from: http://journals.lww.com/jaids/Fulltext/2007/09010/HIV_Infected_Adults_With_a_CD4_Cell_Count_Greater.11.aspx. (Accessed 3013 April 18)
81. The Collaboration of Observational HIV Epidemiological Research Europe (COHERE) in EuroCoord, Lewden C, Bouteloup V, et al. All-cause mortality in treated HIV-infected adults with CD4 \geq 500/mm³ compared with the general population: evidence from a large European observational cohort collaboration. *Int J Epidemiol*. 2012 Apr;41(2):433–45. <http://dx.doi.org/10.1093/ije/dyr164>.
82. Rodger A, Lodwick R, Schechter M, et al. Mortality in patients with well-controlled HIV and high CD4 counts in the cART arms of the SMART and ESPRIT randomized clinical trials compared to the general population. *AIDS*. 2013 March 27;27(6): 973–979. Available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2013/03270/Mortality_in_well_controlled_HIV_in_the_continuous.14.aspx. (Accessed 2013 April 17)
83. Li X, Margolick JB, Jamieson BD, Rinaldo CR, Phair JP, Jacobson LP. CD4+ T-cell counts and plasma HIV-1 RNA levels beyond 5 years of highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011 Aug 15;57(5):421–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3293185/>. (Accessed 2013 April 17)
84. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. p. 1-30. Available from: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. (Accessed 2012 May 4)
85. Cao W, Jamieson BD, Hultin LE, Hultin PM, Effros RB, Detels R. Premature aging of T cells is associated with faster HIV-1 disease

- progression. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 Feb 1;50(2):137–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2767229/>. (Accessed 2013 April 17)
86. Kaplan RC, Sinclair E, Landay AL, et al. T cell activation and senescence predict subclinical carotid artery disease in HIV-infected women. *J Infect Dis*. 2011 Feb 15;203(4):452–63. Available from: <http://jid.oxfordjournals.org/content/203/4/452.long>. (Accessed 2013 April 17)
87. Spyridopoulos I, Hoffmann J, Aicher A, et al. Accelerated telomere shortening in leukocyte subpopulations of patients with coronary heart disease: role of cytomegalovirus seropositivity. *Circulation* 2009 Oct 6; 120(14):1364–72. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.854299.
88. Unemori PA, Leslie KS, Hunt PW, et al. Immunosenescence is associated with presence of Kaposi's sarcoma in antiretroviral treated human immunodeficiency virus infection. *AIDS*. 2013 Feb 21. [Epub ahead of print] Abstract available from: http://journals.lww.com/aidsonline/Abstract/publishahead/Immunosenescence_is_associated_with_presence_of.98665.aspx.
89. Radu O, Pantanowitz L. Kaposi sarcoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2013 Feb;137(2):289–94. <http://dx.doi.org/10.5858/arpa.2012-0101-RS>.
90. Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, El-Sadr WM, Lundgren JD, et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med*. 2006 Nov 30;355(22):2283–96. doi: 10.1056/NEJMoa062360.
91. Newman AB, Sachs MC, Arnold AM, et al. Total and cause-specific mortality in the cardiovascular health study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009 Dec;64(12):1251–61. doi: 10.1093/gerona/glp127. (Accessed 2013 March 13)
92. Kuller LH, Tracy R, Belloso W, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med*. 2008 Oct 21;5(10):e203. Available from: <http://www.plosmedicine.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pmed.0050203>. (Accessed 2013 March 13)
93. Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med*. 1999 May;106(5):506–12. Abstract available from: [http://www.amjmed.com/article/S0002-9343\(99\)00066-2/abstract](http://www.amjmed.com/article/S0002-9343(99)00066-2/abstract). (Accessed 2013 March 13)
94. Luc G, Bard JM, Juhan-Vgve I, et al. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Jul 1;23(7):1255–62. Available from: <http://atvb.ahajournals.org/content/23/7/1255.long>. (Accessed 2013 March 13)
95. Danesh H, Whincup P, Walker M, et al. Fibrin D-dimer and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Circulation*. 2001 May 15;103(19):2323–7. Available from: <http://circ.ahajournals.org/content/103/19/2323.full>. (Accessed 2013 January 5)
96. Cohen HJ, Harris T, Piper CF. Coagulation and activation of inflammatory pathways in the development of function decline and mortality in the elderly. *Am J Med*. 2003 Feb 15;114(3):180–87. Abstract available from: [http://www.amjmed.com/article/S0002-9343\(02\)01484-5/abstract](http://www.amjmed.com/article/S0002-9343(02)01484-5/abstract). (Accessed 2013 January 5)
97. Neuhaus J, Jacobs DR Jr, Baker JV, et al. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis*. 2010 Jun 15;201(12):1788–95. Available from: <http://jid.oxfordjournals.org/content/201/12/1788.full>. (Accessed 2013 February 23)
98. Guaraldi G, Orlando G, Zona S, et al. Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared with the general population. *Clin Infect Dis*. 2011 Dec;53(11):1120–6. Available from: <http://cid.oxfordjournals.org/content/53/11/1120.full>. (Accessed 2013 March 1)
99. Schouten J, Wit FW, Stolte IG, et al. Comorbidity and ageing in HIV-1 infection: the ageHIV Cohort Study (Abstract THAB0205). Paper presented at: 19th International AIDS Conference; 2012 July 22–27; Washington, D.C. Abstract available from: <http://pag.aids2012.org/abstracts.aspx?aid=14739>. (Accessed 2013 March 2)
100. Freiberg M, Chang C, Skanderson M, et al. The risk of incident coronary heart disease among veterans with and without HIV and hepatitis C. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2011 Jul 1;4(4):425–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3159506/>. (Accessed 2013 March 13)
101. Butt A, Chang C, Kuller L, et al. Risk of heart failure with human immunodeficiency virus in the absence of prior diagnosis of coronary heart disease. *Arch Intern Med*. 2011 Apr 25;171(8):737–43. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=227171>. (Accessed 2013 March 13)

102. Crothers K, Huang L, Goulet J, et al. HIV infection and risk for incident pulmonary diseases in the combination antiretroviral therapy era. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Feb 1;183(3):388–95. Available from: <http://ajrcm.atsjournals.org/content/183/3/388.long>. (Accessed 2013 March 13)
103. Oursler K, Goulet J, Crystal S, et al. Association of age and comorbidity with physical function in HIV-infected and uninfected patients: results from the Veterans Aging Cohort Study. *AIDS Patient Care STDS*. 2011 Jan;25(1):13–20. doi: 10.1089/apc.2010.0242.
104. Womack J, Goulet J, Gibert C, et al. Increased risk of fragility fractures among HIV infected compared to uninfected male veterans. *PLoS One*. 2011 Feb 16;6(2):e17217. Available from: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0017217>. (Accessed 2013 April 17)
105. Womack J, Goulet J, Gibert C, et al. Physiologic frailty and fragility fracture in HIV infected male veterans. *Clin Infect Dis*. 2013 Mar 13. [Epub ahead of print] Abstract available from: <http://cid.oxfordjournals.org/content/early/2013/01/31/cid.cit056.abstract>. (Accessed 2013 April 17)
106. Medapalli R, Parikh C, Gordon K, et al. Comorbid diabetes and the risk of progressive chronic kidney disease in HIV-infected adults: data from the Veterans Aging Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012 Aug 1;60(4):393–9. Abstract available from: http://journals.lww.com/jaids/Abstract/2012/08010/Comorbid_Diabetes_and_the_Risk_of_Progressive.8.aspx. (Accessed 2013 April 17)
107. Sigel K, Wisnivesky J, Gordon K, et al. HIV as an independent risk factor for incident lung cancer. *AIDS*. 2012 May 15;26(8):1017–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3580210>. (Accessed 2013 April 11)
108. Althoff K, Wyatt C, Gibert C, et al. HIV+ adults are at greater risk for myocardial infarction, non-AIDS cancer, and end-stage renal disease, but events occur at similar ages compared to HIV– adults (Abstract 59). Paper presented at: 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2013 March 3–6; Atlanta, GA. Abstract available from: <http://www.retroconference.org/2013b/Abstracts/47433.htm>. (Accessed 2013 April 11)
109. Justice A, Dombrowski E, Conigliaro J, et al. Veterans Aging Cohort Study (VACS): overview and description. *Med Care* 2006;44 (Suppl 2):13–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3049942>. (Accessed 2013 April 11)
110. Goulet J, Tuz S, Rimland D, et al. Do patterns of comorbidity vary by HIV status, age, and HIV severity? *Clin Infect Dis*. 2007 Dec 15;45(12):1593–1601. Available from: <http://cid.oxfordjournals.org/content/45/12/1593.long>. (Accessed 2013 March 12)
111. The VACS Index assigns 0 points to patients <50 years of age, 12 points to those between 60 and 64, and 27 points to those 65 years of age or older. Whereas a low CD4 T cell count (<50 cells) results in 39 points, a hemoglobin level <10 mg/dL is assigned 38 points. Hepatitis C infection alone assigns 5 points; an elevated FIB-4 (>3.25) adds 25 additional points. An eGFR <30 is assigned 26 points.
112. Justice AC, Freiberg MS, Tracy R, et al. Does an index composed of clinical data reflect effects of inflammation, coagulation, and monocyte activation on mortality among those aging with HIV? *Clin Infect Dis*. 2012 Apr;54(7):984–94. Abstract available from: <http://cid.oxfordjournals.org/content/54/7/984.abstract>. (Accessed 2013 March 17)
113. Fried L, Tangen C, Walston J, et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2001 Mar;56(3):M146–56. Abstract available from: <http://biomedgerontology.oxfordjournals.org/content/56/3/M146.abstract>. (Accessed 2013 March 17)
114. Desquilbet L, Jacobson LP, Fried LP, et al. HIV-1 infection is associated with an earlier occurrence of a phenotype related to frailty. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007 Nov;62(11):1279–86. Abstract available from: <http://biomedgerontology.oxfordjournals.org/content/62/11/1279.abstract>. (Accessed 2013 March 17)
115. Desquilbet L, Margolick JB, Fried LP, et al. Relationship between a frailty-related phenotype and progressive deterioration of the immune system in HIV-infected men. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 Mar 1;50(3):299–306. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2699396>. (Accessed 2013 March 17)
116. Desquilbet L, Jacobson LP, Fried LP, et al. A frailty-related phenotype before HAART initiation as an independent risk factor for AIDS or death after HAART among HIV-infected men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2011 Sep;66(9):1030–8. doi: 10.1093/gerona/glr097.
117. Ianas V, Berg E, Mohler MJ, Wendel C, Klotz SA. *J Int Assoc Provid AIDS Care*. 2013 Feb;12(1):62–6. doi: 10.1177/1545109712457241. Abstract available from: <http://jia.sagepub.com/content/early/2012/10/03/1545109712457241.abstract>. (Accessed 2013 March 20)
118. Mateen FJ, Shinohara RT, Carone M, et al. Neurologic disorders incidence in HIV+ vs HIV– men: Multicenter AIDS Cohort Study, 1996–2011. *Neurology*. 2012 Oct 30;79(18):1873–1880. Abstract available from: <http://www.neurology.org/content/79/18/1873>.

abstract.

119. Valcour V, Paul R, Neuhaus J, Shikuma C. The effects of age and HIV on neuropsychological performance. *J Int Neuropsychol Soc.* 2011 Jan;17(1):190–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3074233>. (Accessed 2013 April 1)
120. Kirk GD, Mehta SH, Astemborski J, et al. HIV, age, and the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a cohort study. *Ann Intern Med.* 2013 Feb 26. doi: 10.7326/0003-4819-158-9-201305070-00604. [Epub ahead of print]
121. Smith R, de Boer R, Budovskaya Y, et al. Premature and accelerated aging: HIV or HAART? *Front Genet.* 2012;3:328. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3556597>. (Accessed 2013 April 3)
122. Payne B, Wilson I, Hateley C, et al. Mitochondrial aging is accelerated by anti-retroviral therapy through the clonal expansion of mtDNA mutations. *Nat Genet.* 2011 Jun 26;43(8):806–10. doi: 10.1038/ng.863.
123. Caron M, Auclair M, Vissian A, Vigouroux C, Capeau J. Contribution of mitochondrial dysfunction and oxidative stress to cellular premature senescence induced by antiretroviral thymidine analogues. *Antivir Ther.* 2008;13(1):27–38. Available from: <http://www.intmedpress.com/serveFile.cfm?sUID=05b2e0e2-425c-43de-b94a-46718b1459e9>. (Accessed 2013 April 17)
124. Leensyah E, Cameron P, Solomon A, et al. Inhibition of telomerase activity by HIV nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitors: a potential factor contributing to HIV-associated accelerated ageing. *J Infect Dis.* 2013 Apr;207(7):1157–65. doi: 10.1093/infdis/jit006.
125. Lefèvre C, Auclair M, Boccard F, et al. Premature senescence of vascular cells is induced by HIV protease inhibitors: implication of prelamin A and reversion by statin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010 Dec;30(12):2611–20. Available from: <http://atvb.ahajournals.org/content/30/12/2611.long>. (Accessed 2013 April 17)
126. Perrin S, Cremer J, Faucher O, et al. HIV protease inhibitors do not cause the accumulation of prelamin A in PBMCs from patients receiving first line therapy: the ANRS EP45 “aging” study. *PLoS One.* 2012;7(12):e53035. doi: 10.1371/journal.pone.0053035.
127. Helleberg M, Kronborg G, Larsen CS, et al. Causes of death among Danish HIV patients compared with population controls in the period 1995–2008. *Infection.* 2012 Dec;40(6):627–34. doi: 10.1007/s15010-012-0293-y.
128. Kowalska JD, Reekie J, Mocroft A, et al. Long-term exposure to combination antiretroviral therapy and risk of death from specific causes: no evidence for any previously unidentified increased risk due to antiretroviral therapy. *AIDS.* 2012 Jan 28;26(3):315–23. doi: 10.1097/QAD.0b013e32834e8805.
129. Sitar DS. Aging issues in drug disposition and efficacy. *Proc West Pharmacol Soc.* 2007;50:16–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18605223>. (Accessed 2013 April 17)
130. Marzolini C, Back D, Weber R, et al. Ageing with HIV: medication use and risk for potential drug-drug interactions. *J Antimicrob Chemother.* 2011 Sep;66(9):2107–11. Available from: <http://jac.oxfordjournals.org/content/66/9/2107.long>. (Accessed 2013 April 17)
131. High K, Brennan-Ing M, Clifford D, et al. HIV and aging: state of knowledge and areas of critical need for research. A report to the NIH Office of AIDS Research by the HIV and Aging Working Group. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012 Jul 1;60 Suppl 1: S1–18. Available from: http://journals.lww.com/jaids/Fulltext/2012/07011/HIV_and_Aging___State_of_Knowledge_and_Areas_of.1.aspx. (Accessed 2013 April 17)
132. Levy Y, Sereti I, Tambussi G, et al. Effects of rhIL-7 on T cell recovery and thymic output in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy: results of a phase I/IIa randomized, placebo controlled, multicenter study. *Clin Infect Dis.* 2012 Jul;55(2):291–300. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3381639>. (Accessed 2013 April 18)
133. Sereti I, Estes J, Thompson W, et al. Gut mucosa T lymphocyte restoration in chronically HIV+ patients treated with recombinant interleukin-7 (Abstract 94). Paper presented at: 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2012 March 5–8; Seattle, WA. Abstract available from: <http://www.retroconference.org/2012b/Abstracts/44601.htm>. (Accessed 2013 April 19)
134. Lalezari J, Mitsuyasu R, Deeks S, et al. Successful and persistent engraftment of ZFN-M-R5-D autologous CD4 T cells (SB-728-T) in aviremic HIV-infected subjects on HAART (Abstract 46). Paper presented at: 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2011 February 27–March 2; Boston, MA. Abstract available from: <http://retroconference.org/2011/Abstracts/41074.htm>. (Accessed 2013 April 19)
135. National Institutes of Health (U.S). Vitamin D and Omega-3 Trial (VITAL). Available from: <http://clinicaltrials.gov/show/NCT01169259>. (Accessed 2013 January 12)

136. Shimizu K, Suzuki N, Imai T, et al. Monocyte and T-cell responses to exercise training in elderly subjects. *J Strength Cond Res.* 2011 Sep;25(9):2565–72. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181fc5e67.
137. Spielmann G, McFarlin BK, O'Connor DP, Smith PJ, Pircher H, Simpson RJ. Aerobic fitness is associated with lower proportions of senescent blood T-cells in man. *Brain Behav Immun.* 2011 Nov;25(8):1521–9. doi: 10.1016/j.bbi.2011.07.226.
138. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a mediterranean diet. *N Engl J Med.* 2013 Apr 4;368(14):1279–90. doi: 10.1056/NEJMoa1200303.