

ΜΠΣ ΒΙΟΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΜΗΜΑ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΠΕΡΣΕΦΟΝΗ ΤΑΛΙΜΤΖΗ

Μακροχρόνια εξέλιξη του λόγου CD4/CD8 σε HIV οροθετικούς υπό συνδυασμένη
αντιρετροϊκή θεραπεία και συσχέτιση του με κλινικές εκβάσεις.

ΑΘΗΝΑ, 2018

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στη

ΒΙΟΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ

που απονέμει η Ιατρική Σχολή και το Τμήμα Μαθηματικών του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Εγκρίθηκε την από την εξεταστική επιτροπή:

<u>ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ</u>	<u>ΒΑΘΜΙΔΑ</u>	<u>ΥΠΟΓΡΑΦΗ</u>
Γ. ΤΟΥΛΟΥΜΗ (Επιβλέπουσα)	ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
Ν. ΠΑΝΤΑΖΗΣ	ΕΔΙΠ
Φ. ΣΙΑΝΝΗΣ	ΕΠ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
Κατάλογος Σχημάτων	v
Κατάλογος Πινάκων	v
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Ιός της Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας.....	1
1.1.1 Ορισμός	1
1.1.2 Προέλευση	1
1.1.3 Κύκλος ζωής του HIV	2
1.1.4 Φυσική Ιστορία του HIV	3
1.1.4.1 Πρωτοπαθής λοίμωξη	3
1.1.4.2 Ασυμπτωματική HIV λοίμωξη	3
1.1.4.3 Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας	4
1.1.5 Τρόποι μετάδοσης.....	5
1.2 Αντιρετροϊκή θεραπεία	6
1.2.1 Ορισμός	6
1.2.2 Κλάσεις αντιρετροϊκών φαρμάκων.....	6
1.2.3 Ιστορία της αντιρετροϊκής θεραπείας	7
1.2.4 Συνδυασμένη Αντιρετροϊκή Θεραπεία	7
1.2.5 Κατευθυντήριες Οδηγίες χορήγησης της αντιρετροϊκής θεραπείας.....	8
1.3 Υποκαταστάτες δείκτες	8
1.3.1 Ορισμός	8
1.3.2 Αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων	9
1.3.3 Ιικό φορτίο.....	10
1.3.4 Λόγος CD4/CD8	10
1.4 Σκοπός της μελέτης	12
2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	14
2.1 Γενικές Πληροφορίες Μεθοδολογίας	14
2.1.1 Μοντέλα Μεικτών Επιδράσεων	14
2.1.2 Ανάλυση Επιβίωσης	16
2.1.3 Ανταγωνιστικοί Κίνδυνοι.....	20
2.1.4 Γραμμική Παρεμβολή.....	23
2.2 Υλικό	23
2.3 Στατιστική Ανάλυση	25
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	28

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	46
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	50
ABSTRACT	52
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	55
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	64

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα	Σελίδα
1 Φυσική ιστορία της HIV λοίμωξης υπό απουσία αντιρετροϊκής θεραπείας	5
2 Λόγος CD4/CD8 των HIV οροθετικών ασθενών υπό αντιρετροϊκή θεραπεία	11
3 Διάγραμμα ροής για την επιλογή των ασθενών	28
4 Παρατηρούμενες τιμές των μετρήσεων CD4 (cells/mm ³) από την έναρξη της cART.....	30
5 Παρατηρούμενες τιμές των μετρήσεων CD8 (cells/mm ³) από την έναρξη της cART.....	30
6 Παρατηρούμενες τιμές του λόγου CD4/CD8 από την έναρξη της cART.	31
7 Προβλεπόμενες τιμές του λόγου CD4/CD8 από την έναρξης της cART	31
8 Γραφική απεικόνιση της εκτίμησης των κινδύνων των μονοπαραγοντικών μοντέλων για το λόγο CD4/CD8	36
9 Γραφική απεικόνιση της εκτίμησης των κινδύνων των μονοπαραγοντικών μοντέλων για τον αριθμό των CD4 κυττάρων	36

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας	Σελίδα
1 Δημογραφικά – κλινικά χαρακτηριστικά των 2868 ασθενών	29
2 Αριθμός συμβάντων ανά κατηγορία	33
3 Δημογραφικά-κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών ανά κατηγορία συμβάντος	34
4 Μονοπαραγοντικά μοντέλα αναλογικών κινδύνων Cox των μεταβλητών που συνδέονται με την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE.....	35
5 Μονοπαραγοντικά μοντέλα αναλογικών κινδύνων Cox για την κατάλληλη μορφή του λόγου CD4/CD8.....	37
6 Μονοπαραγοντικά μοντέλα αναλογικών κινδύνων Cox για την κατάλληλη μορφή του αριθμού των CD4 κυττάρων	37
7 Πολυπαραγοντικά μοντέλα αναλογικών κινδύνων Cox για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE.....	38
8 Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση CVD ή NADM ή LIVER ή RENAL ή NADD.....	39
9 Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση CVD, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και	

ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή NADM ή LIVER ή RENAL ή NADD	40
10 Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση NADM, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή CVD ή LIVER ή RENAL ή NADD	40
11 Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση LIVER, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή CVD ή NADM ή RENAL ή NADD	41
12 Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση RENAL, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή CVD ή NADM ή LIVER ή NADD	41
13 Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση NADD, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή CVD ή NADM ή LIVER ή RENAL.....	42
14 Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση CVD ή RENAL, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή NADM ή LIVER ή NADD.....	42
15 Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση CVD ή RENAL ή NADM, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή LIVER ή NADD.	43
16 Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση CVD ή RENAL, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή NADM ή LIVER ή NADD, λαμβάνοντας υπόψη το λόγο CD4/CD8 ως κατηγορική μεταβλητή	43
17 Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση CVD ή RENAL ή NADM, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή LIVER ή NADD, λαμβάνοντας υπόψη το λόγο CD4/CD8 ως κατηγορική μεταβλητή.....	44

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ιός της Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας

1.1.1 Ορισμός

Ο Ιός της Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας (Human Immunodeficiency Virus – HIV) ανήκει στην οικογένεια των ανθρώπινων ρετροϊών, δηλαδή έχει ως γενετικό υλικό το RNA, και οδηγεί, αν παραμείνει αθεράπευτος, στο Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσολογικής Ανεπάρκειας (Acquired Immunodeficiency Syndrome – AIDS). Ο HIV προσβάλλει το ανθρώπινο ανοσοποιητικό σύστημα και συγκεκριμένα τα CD4 + λεμφοκύτταρα, τα οποία βοηθούν το ανοσοποιητικό σύστημα στην καταπολέμηση των μολύνσεων. Μέσω αυτών των κυττάρων, ο ιός αναπαράγεται και μεταλλάσσεται με γρήγορο ρυθμό και σταδιακά οδηγεί στην κατάρρευση του ανοσοποιητικού (<https://www.hiv.gov/hiv-basics/overview/about-hiv-and-aids/what-are-hiv-and-aids>). Όταν ένα άτομο μολυνθεί με τον ιό HIV, με τα μέχρι τώρα δεδομένα, παραμένει φορέας του HIV εφόρου ζωής.

Υπάρχουν δύο τύποι του ιού HIV, ο HIV-1 και ο HIV-2, με τον τύπο HIV-1 να είναι ο επικρατέστερος παγκοσμίως, ενώ ο τύπος HIV-2 περιορίζεται κυρίως στη Δυτική Αφρική. Η βασική διαφορά μεταξύ των δύο τύπων είναι ότι ο HIV-2 χαρακτηρίζεται από χαμηλή μεταδοτικότητα και μειωμένη πιθανότητα εξέλιξής του σε AIDS (Nyamweya et al., 2013).

1.1.2 Προέλευση

Οι επιστήμονες ανακάλυψαν ότι η πηγή μόλυνσης των ανθρώπων από τον ιό HIV είναι ένας τύπος χιμπατζή από την Κεντρική Αμερική, λόγω των ομοιοτήτων που έχει με τον ιό της ανοσοανεπάρκειας των πιθήκων (Simian Immunodeficiency Virus - SIV). Ο ιός πιστεύεται ότι πέρασε στους ανθρώπους όταν αυτοί άρχισαν να κυνηγούν τους χιμπατζήδες για το κρέας τους και ήρθαν σε επαφή με το μολυσμένο αίμα τους. Υπάρχουν μελέτες οι οποίες δείχνουν πως η μετάδοση από τους πιθήκους στον άνθρωπο έγινε ήδη από τα τέλη του 1800. Για πολλές δεκαετίες, ο ιός εξαπλωνόταν με αργούς ρυθμούς σε όλη την Αφρική και αργότερα σε άλλα μέρη του κόσμου (<https://www.cdc.gov/hiv/basics/whatishiv.html>).

Το σύνδρομο AIDS, που αφορά κλινικές καταστάσεις που έχουν συσχετιστεί με τον ιό HIV, παρατηρήθηκε για πρώτη φορά κλινικά το 1981 στην Αμερική, όταν ένας μεγάλος αριθμός ομοφυλόφιλων ανδρών πέθανε από ευκαιριακές λοιμώξεις και σπάνιες μορφές καρκίνου. Στα μέσα του 1982, τα ίδια συμπτώματα παρατηρήθηκαν σε άτομα από την Αϊτή και σε αιμοροφιλικούς. Στα τέλη του ίδιου έτους, το CDC (Centers for Disease control and Prevention) εισήγαγε για πρώτη φορά τον όρο AIDS. Περιστατικά AIDS άρχισαν να εμφανίζονται και στην Ευρώπη (Greene, 2007). Το 1983, το CDC κατέγραψε περιπτώσεις ετεροφυλοφιλικής μετάδοσης του HIV, ενώ μια Γαλλική ερευνητική ομάδα κατάφερε να απομονώσει το ιό HIV (Barre-Sinoussi et al., 1983). Το 1984 ο ιός HIV ταυτοποιήθηκε ως υπαίτιος για την ανάπτυξη του AIDS (Gallo et al., 1983).

1.1.3 Κύκλος ζωής του HIV

Ο ιός HIV προσβάλλει και καταστρέφει τα CD4 κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Ο ιός χρησιμοποιώντας τους μηχανισμούς των κυττάρων αυτών πολλαπλασιάζεται, κάνοντας αντίγραφα του εαυτού του, και εξαπλώνεται σε όλο το σώμα. Αυτή η διαδικασία, η οποία αποτελείται από 4 στάδια, ονομάζεται κύκλος ζωής του ιού.

Ο κύκλος ζωής του HIV αποτελείται από τα εξής στάδια:

1. Δέσμευση και Σύντηξη (Binding and Fusion): Αρχικά, ο ιός HIV προσκολλάται στα CD4 κύτταρα και εισέρχεται στο εσωτερικό των κυττάρων.
2. Μετατροπή και Ενσωμάτωση (Conversion and Integration): Με την είσοδο του στα κύτταρα, ο ιός μεταλλάσσει το γενετικό του υλικό έτσι ώστε να μπορέσει να προσβάλλει και να ελέγξει τον πυρήνα των κυττάρων.
3. Αναπαραγωγή (Replication): Μόλις ενωθεί με τον πυρήνα, αρχίζει να χρησιμοποιεί το μηχανισμό των CD4 κυττάρων για να δημιουργήσει μακριές αλυσίδες HIV-πρωτεϊνών. Αυτές οι αλυσίδες πρωτεϊνών αποτελούν τη βάση για την παραγωγή περισσότερης ποσότητας HIV ιού.
4. Συναρμολόγηση, Εκβλάστηση και Ωρίμανση (Assembly, Budding and Maturation): Τα νέα HIV σωματίδια που δημιουργήθηκαν, απελευθερώνονται από τα CD4 κύτταρα στο αίμα και είναι έτοιμα να μολύνουν άλλα κύτταρα. Έτσι, όλη αυτή η διαδικασία ξεκινάει από την αρχή (<https://www.avert.org/about-hiv-aids/how-infects-body>).

1.1.4 Φυσική Ιστορία του HIV

Χωρίς θεραπεία, ο HIV ιός μειώνει τον αριθμό των CD4 κυττάρων στο σώμα και το άτομο γίνεται πιο ευάλωτο σε ευκαιριακές λοιμώξεις και ασθένειες που σχετίζονται με τον καρκίνο. Με τον καιρό, ο ιός, υπό έλλειψη αντιρετροϊκής θεραπείας, καταστρέφει το μεγαλύτερο αριθμό των CD4 κυττάρων με αποτέλεσμα το σώμα να μην μπορεί να καταπολεμήσει τις λοιμώξεις και τη νόσο. Μπορεί να χρειαστούν έως και 10-15 χρόνια για να εξασθενήσει το ανοσοποιητικό και να μην μπορεί να αμυνθεί καθόλου. Ωστόσο, η ταχύτητα με την οποία ο HIV εξελίσσεται ποικίλλει και εξαρτάται από την ηλικία, την υγεία και το ιστορικό του κάθε ατόμου. Συνήθως τα HIV+ άτομα με τη πάροδο του χρόνου, περνάνε από τρία βασικά στάδια με διαφορετικά πιθανά συμπτώματα και επιπτώσεις σε κάθε στάδιο: Την πρωτοπαθή HIV λοίμωξη (Acute HIV infection), την ασυμπτωματική HIV λοίμωξη ή λανθάνουσα κατάσταση (Clinical latency) και τέλος το Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας (Acquired Immunodeficiency Syndrome – AIDS).

1.1.4.1 Πρωτοπαθής λοίμωξη

Μετά από 2 με 4 εβδομάδες από τη στιγμή της μόλυνσης, μερικοί άνθρωποι εμφανίζουν συμπτώματα παρόμοια με αυτά της γρίπης, τα οποία μπορεί να διαρκέσουν για λίγες εβδομάδες. Αυτό συμβαίνει γιατί ο οργανισμός προσπαθεί να αντισταθεί στη μόλυνση και να παράξει HIV αντισώματα. Ορισμένα από τα συμπτώματα σε αυτό το στάδιο είναι η υψηλή θερμοκρασία, τα εξανθήματα στο δέρμα, ο πονόλαιμος και οι πρησμένοι αδένες, οι στομαχικές διαταραχές, οι ενοχλήσεις και οι πόνοι. Όμως, μόνο αυτά δεν αποτελούν αξιόπιστο τρόπο για να αντιληφθεί κάποιος ότι έχει μολυνθεί από τον ιό HIV. Μερικά άτομα μπορεί να μην εμφανίζουν καθόλου συμπτώματα. Ο πιο αξιόπιστος τρόπος διάγνωσης είναι μέσω του HIV τεστ (<https://www.cdc.gov/hiv/basics/whatisshiv.html>)

1.1.4.2 Ασυμπτωματική HIV λοίμωξη

Κατά τη διάρκεια του σταδίου αυτού, ο ιός είναι ακόμα ενεργός αλλά αναπαράγεται σε χαμηλούς ρυθμούς. Τα άτομα με ασυμπτωματική HIV λοίμωξη μπορεί να μην εμφανίσουν συμπτώματα που σχετίζονται με τη λοίμωξη. Η περίοδος αυτή μπορεί να διαρκέσει μια δεκαετία ή και περισσότερα χρόνια ανάλογα με το αν κάποιος λαμβάνει αντιρετροϊκή

θεραπεία ή όχι, την ηλικία, το ιατρικό ιστορικό και άλλα. Τα άτομα σε αυτό το στάδιο μπορούν να μεταδώσουν τον ιό, ακόμα και εκείνα που λαμβάνουν αντιρετροϊκή αγωγή και διατηρούν σε χαμηλά επίπεδα τον ιό στο αίμα τους αλλά όχι σε μη-ανιχνεύσιμα όρια.

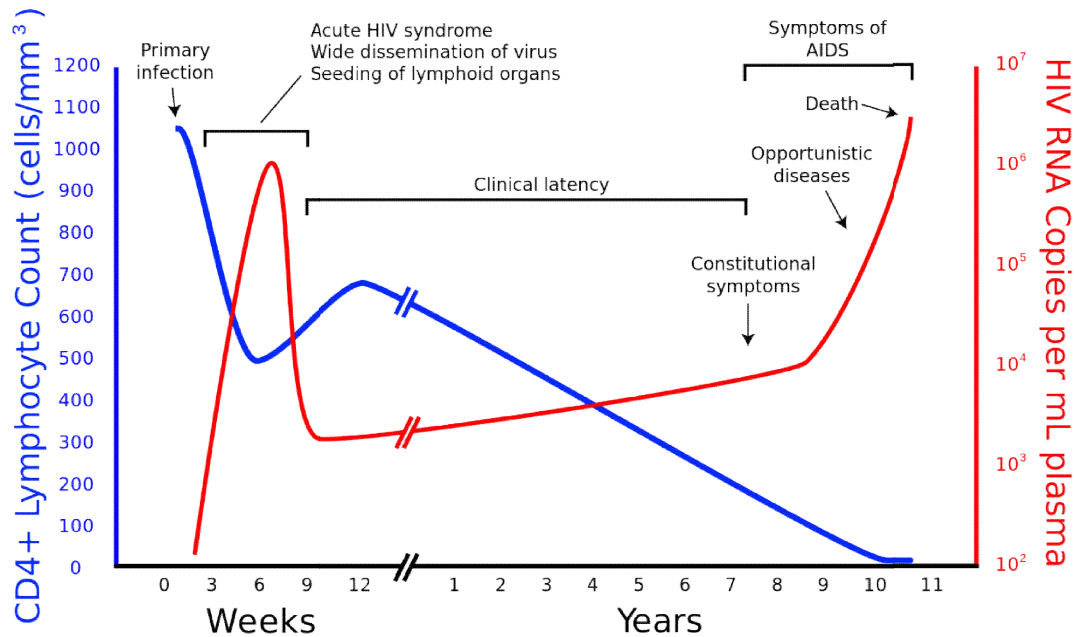
Στο τέλος αυτής της φάσης, το ιικό φορτίο του ατόμου αρχίζει να αυξάνεται και ο αριθμός των κυττάρων CD4 αρχίζει να μειώνεται (Σχήμα 1). Καθώς συμβαίνει αυτό, το άτομο μπορεί να αρχίσει να εμφανίζει ορισμένα συμπτώματα καθώς τα επίπεδα ιού αυξάνονται στο σώμα και το άτομο μεταβαίνει στο επόμενο στάδιο (<https://www.cdc.gov/hiv/basics/whatisshiv.html>).

1.1.4.3 Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας

Το Σύνδρομο Επίκτητης Ανοσοανεπάρκειας (Acquired Immunodeficiency Syndrome – AIDS) αποτελεί το τελικό και πιο σοβαρό στάδιο της HIV λοίμωξης. Σε αυτό το στάδιο, το ανοσοποιητικό σύστημα έχει καταστραφεί σε μεγάλο βαθμό με αποτέλεσμα, τα άτομα να είναι ευάλωτα σε ευκαιριακές λοιμώξεις. Ένα άτομο διαγιγνώσκεται με AIDS όταν αναπτύξει κάποιο από τα νοσήματα που καθορίζουν το AIDS. Στον Αμερικάνικο ορισμό του ECDC, στην κατηγορία του AIDS εντάσσονται επίσης και τα άτομα με αριθμό CD4 λεμφοκυττάρων <200 κύτταρα/ mm^3 . Χωρίς θεραπεία, τα άτομα που έχουν αναπτύξει AIDS επιβιώνουν περίπου για 3 χρόνια.

Ορισμένα από τα νοσήματα που χαρακτηρίζουν το AIDS είναι η πνευμονία από πνευμονικόστη, το σύνδρομο απίσχνασης (απώλεια βάρους) από HIV, η φυματίωση, το σάρκωμα Καπόζι και άλλες μορφές καρκίνου. Αν ένα άτομο με HIV διαγνωσθεί με κάποιο από αυτά (ακόμα και αν ο αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων είναι πάνω από 200), τότε θεωρείται ότι ανέπτυξε AIDS (<https://el.wikipedia.org/wiki/AIDS#AIDS>).

Στο σχήμα 1 παρουσιάζονται γραφικά τα τρία στάδια της HIV λοίμωξης.



Σχήμα 1: Φυσική ιστορία της HIV λοίμωξης υπό απουσία αντιρετροϊκής θεραπείας (<https://en.wikipedia.org/wiki/HIV>).

1.1.5 Τρόποι μετάδοσης

Οι πιο συχνοί τρόποι μετάδοσης του ιού HIV είναι μέσω της σεξουαλικής επαφής χωρίς προφυλακτικό με κάποιο HIV οροθετικό άτομο ή με την κοινή χρήση μη αποστειρωμένων συριγγών. Η μετάδοση του ιού γίνεται μέσω ορισμένων υγρών του σώματος, όπως το αίμα, το σπέρμα, τις κολπικές εκκρίσεις και το μητρικό γάλα, όταν αυτά έρθουν σε επαφή με βλεννογόνο μεμβράνη ή κατεστραμμένο ιστό ή κατευθείαν με το αίμα. Άλλοι τρόποι μετάδοσης του ιού είναι από τη μητέρα στο παιδί κατά την εγκυμοσύνη, τον τοκετό και το θηλασμό, από μεταγγίσεις αίματος που δεν έχει ελεγχθεί και από μη επαγγελματικό τατουάζ και τρύπημα αυτιών όταν τα εργαλεία που χρησιμοποιούνται δεν έχουν αποστειρωθεί κατάλληλα.

Ο ιός δεν μεταδίδεται με τη χειραψία, το φιλί και την αγκαλιά, το σάλιο, τα δάκρυα και τον ιδρώτα. Επίσης, δε μεταδίδεται με τα τσιμπήματα από κουνούπια, τσιμπούρια και άλλα έντομα, τη συγκατοίκηση με ένα οροθετικό άτομο και την από κοινού χρήση τουαλέτας, ντουζ ή άλλων κοινόχρηστων χώρων (<http://www.keelpno.gr/el-gr/νοσήματα/θέματα/υγείας/λοιμώδη/νοσήματα/hivaidσάλλασεξουαλικώςμεταδιδόμενα/νοσήματα/hivaidσ/hivaidσfaq.aspx#metadosi>).

1.2 Αντιρετροϊκή θεραπεία

1.2.1 Ορισμός

Δεν υπάρχει θεραπεία που να οδηγεί στην εκρίζωση του HIV, όμως με την κατάλληλη φαρμακευτική αγωγή μπορεί να τεθεί υπό έλεγχο. Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση του ιού HIV ονομάζονται αντιρετροϊκά (antiretroviral – ARV) και προστατεύουν το ανοσοποιητικό σύστημα εμποδίζοντας τον ιό να πολλαπλασιαστεί, γεγονός που μειώνει την ποσότητα του HIV στον οργανισμό και δίνει τη δυνατότητα στο ανοσοποιητικό να αναρρώσει (<https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/factsheets/21/51/hiv-treatment--the-basics>).

Η χρήση αντιρετροϊκής θεραπείας (antiretroviral therapy -ART) συνιστάται σε όλα τα HIV οροθετικά άτομα, ανεξάρτητα από το πόσο χρόνο πριν είχαν μολυνθεί με τον ιό ή πόσο υγιείς είναι (ανεξαρτήτως δηλαδή του αριθμού των CD4 λεμφοκυττάρων). Η ART δεν μπορεί να εκριζώσει τον ιό HIV αλλά βοηθάει τα άτομα με HIV να ζουν υγιή για πολλά χρόνια και μειώνει σημαντικά την πιθανότητα μετάδοσης του ιού, όταν λαμβάνεται σωστά και με συνέπεια (<https://www.hiv.gov/hiv-basics/staying-in-hiv-care/hiv-treatment/hiv-treatment-overview>).

1.2.2 Κλάσεις αντιρετροϊκών φαρμάκων

Τα αντιρετροϊκά φάρμακα ταξινομούνται σε έξι διαφορετικές κλάσεις ανάλογα με το στάδιο του κύκλου ζωής το HIV το οποίο στοχεύουν:

- Νουκλεοσιδικοί αναστολείς ανάστροφης μεταγραφάσης (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors – NRTIs),
- Μη νουκλεοσιδικοί αναστολείς ανάστροφης μεταγραφάσης (Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors – NNRTIs)
- Αναστολείς πρωτεάσης (Protease Inhibitors – PIs),
- Αναστολείς σύντηξης (Fusion Inhibitors),
- Αναστολείς εισόδου (Entry Inhibitors) ή ανταγωνιστές CCR5 (CCR5 Antagonists) και
- Αναστολείς ιντεγκράσης (Integrase Strand Transfer Inhibitors – INSTIs)

1.2.3 Ιστορία της αντιρετροϊκής θεραπείας

Το 1987 εγκρίθηκε από τον Οργανισμό Ελέγχου Φαρμάκων και Τροφίμων (Food & Drug Administration – FDA) το πρώτο φάρμακο, το AZT, το οποίο ανήκε στην κλάση των NRTIs φαρμάκων. Παρά τις παρενέργειες και τους περιορισμούς, το φάρμακο χορηγήθηκε σε ασθενείς που βρίσκονταν σε προχωρημένο στάδιο του ιού HIV, καθώς η χορήγησή του είχε συνδεθεί με μεγαλύτερο χρόνο επιβίωσης στις 24 εβδομάδες. Λίγα χρόνια αργότερα, το 1992, εισήχθησαν ακόμα τρία φάρμακα της κλάσης αυτής, τα οποία δεν χρησιμοποιούνται ευρέως σήμερα. Το επόμενο βήμα ήταν η χορήγηση συνδυασμού NRTIs φαρμάκων. Τα αποτελέσματα από το συνδυασμό αυτών των φαρμάκων ήταν ενθαρρυντικά όσον αφορά τα CD4+ κύτταρα, καθώς ο αριθμός τους αυξανόταν, και ο χρόνος επιβίωσης ήταν καλύτερος, ωστόσο η θετική επίδρασή τους δε διαρκούσε πολύ καθώς τα άτομα ανέπτυσαν ανοχή και, επιπλέον, η ανεκτικότητα παρέμενε χαμηλή. Το 1996 έγινε το επόμενο μεγάλο βήμα με την ανάπτυξη φαρμάκων από δύο διαφορετικές κλάσεις: NNRTIs και PIs, οι οποίες είχαν άμεση επίδραση στον ιό HIV. Το 2003 εγκρίθηκαν τα πρώτα φάρμακα της κλάσης Fusion Inhibitors, ενώ το 2007 τα πρώτα φάρμακα των κλάσεων Entry Inhibitors και INSTIs. Μέχρι σήμερα έχουν εγκριθεί 25 αντιρετροϊκά φάρμακα και στις 6 κλάσεις φαρμάκων (Vella et al., 2012).

1.2.4 Συνδυασμένη Αντιρετροϊκή Θεραπεία

Ο συνδυασμός τουλάχιστον τριών φαρμάκων από δύο διαφορετικές κλάσεις φαρμάκων ονομάζεται συνδυασμένη αντιρετροϊκή θεραπεία (Combination Antiretroviral Therapy – cART) ή αντιρετροϊκή θεραπεία υψηλής δραστηριότητας (Highly Active Antiretroviral Therapy – HAART) (https://en.wikipedia.org/wiki/Management_of_HIV/AIDS, DeSalvador-Guillouëtetal., 2015). Ο συνδυασμός αυτός εισήχθη για πρώτη φορά το 1996 και οδήγησε στη δραστική μείωση του αριθμού θανάτων από το AIDS. Συνήθως, αποτελείται από δύο φάρμακα της κλάσης NRTIs και ένα τρίτο δραστικό φάρμακο από διαφορετική κλάση (Cihlar and Fordyce, 2016).

Η cART περιορίζει την αναπαραγωγή του ιού HIV και μειώνει την συγκέντρωση του ιικού φορτίου στο πλάσμα σε ποσότητες οι οποίες δεν είναι ανιχνεύσιμες για παρατεταμένη χρονική περίοδο. Επιπλέον, επιτρέπει τα προβλήματα στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος που έχουν προκληθεί από τον ίο να αντιστραφούν, ακόμα και όταν η αυτή

αρχίσει να λαμβάνεται στα τελευταία στάδια όπου έχει εμφανιστεί το AIDS (Guihot et al., 2011).

1.2.5 Κατευθυντήριες Οδηγίες χορήγησης της αντιρετροϊκής θεραπείας

Το 1996, η Διεθνής Κοινότητα AIDS δημοσίευσε τις πρώτες κατευθυντήριες οδηγίες για να βοηθήσει τους κλινικούς ιατρούς στη χορήγηση της αντιρετροϊκής θεραπείας (Carpenter, 1996). Λίγα χρόνια μετά από τη δημοσίευση των οδηγιών και την ευρεία χρήση cART παρατηρήθηκε δραματική μείωση στη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα από τον ιό HIV, μετατρέποντάς τον σε μια χρόνια ελεγχόμενη κατάσταση.

Από το 2006, τόσο ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization – WHO), όσο και το Ευρωπαϊκό Κέντρο Πρόληψη και Ελέγχου Νόσων (European Centre for Disease Prevention and Control - ECDC) εκδίδουν οδηγίες για το πότε θα πρέπει να αρχίσει ένα HIV οροθετικό άτομο θεραπεία και με τι σχήματα. Μέχρι το 2015, ένας HIV οροθετικός ασθενής ξεκινούσε την αντιρετροϊκή θεραπεία όταν οι μετρήσεις CD4 έπεφταν κάτω από 500 cells/mm³ ή ανήκε σε μία από τις ευπαθείς ομάδες (παιδιά, έγκυες γυναίκες, συλλοίμωξη με φυματίωση ή ηπατίτιδα Β). Από το 2015 και μετά, συνιστάται όλοι τα HIV οροθετικά άτομα να λαμβάνουν αντιρετροϊκή αγωγή από τη στιγμή που διαγιγνώσκονται με τον ιό HIV, ανεξαρτήτως από τον αριθμό των CD4 (www.who.int).

1.3 Υποκαταστάτες δείκτες

1.3.1 Ορισμός

Ως υποκαταστάτες δείκτες (surrogate marker) θεωρούνται εργαστηριακές εξετάσεις που αποτελούν δείκτες της εξέλιξης μιας νόσου. Συνήθως χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση και την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας μιας θεραπείας καθώς οι αλλαγές που παρατηρούνται σε έναν τέτοιο δείκτη μπορούν γρήγορα να δείξουν εάν η θεραπεία θα έχει μακροπρόθεσμα οφέλη (Peto, 1996).

Η επιλογή των κατάλληλων δεικτών για την εξέλιξη μιας νόσου οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πιθανά υποκατάστατα για κλινικές εκβάσεις είναι πολύ σημαντική, ειδικά όσον αφορά ασθένειες με μακρά περίοδο επώασης, για τους ακόλουθους λόγους:

- i. Παρέχουν σημαντικές γνώσεις σχετικά με τη φυσική ιστορία και την παθογένεια της νόσου,
- ii. χρησιμοποιούνται ως υποκατάστατα σημεία σε κλινικές δοκιμές ελαχιστοποιώντας το χρόνο παρακολούθησης αλλά και τον απαραίτητο αριθμό ατόμων, καθώς παρατηρείται μεγαλύτερος και σε συντομότερο χρόνο αριθμός εκβάσεων όταν αυτές ορίζονται με βάση τον υποκατάστατο δείκτη και
- iii. χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό ασθενών υψηλού κινδύνου για τους οποίους μπορεί να ενδείκνυται η εντατικοποίηση της θεραπείας.

Ο ιδανικός δείκτης πρέπει να είναι σε θέση να προβλέψει την εξέλιξη της νόσου, να ανταποκρίνεται στη θεραπεία και να εξηγεί τη διακύμανση των κλινικών αποτελεσμάτων λόγω της θεραπείας (Touloumi and Hatzakis, 2000).

Για τον ιό HIV, ως υποκαταστάτες δείκτες θεωρούνται ο αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων, το ιικό φορτίο (viral load) και ο λόγος CD4/CD8.

1.3.2 Αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων

Τα CD4 κύτταρα είναι ένα είδος T-λεμφοκυττάρων τα οποία συμβάλλουν στην προστασία του οργανισμού από μολύνσεις. Ο αριθμός των CD4 κυττάρων στο αίμα αποτελεί ένδειξη της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος. Ο αριθμός των κυττάρων αυτών σε ένα υγιές άτομο κυμαίνεται μεταξύ 800 με 1500 κυττάρων/mm³ (cells/mm³).

Μόλις ο ιός HIV επιτεθεί στο ανοσοποιητικό σύστημα, καταστρέφει τα CD4 κύτταρα με αποτέλεσμα ο αριθμός τους να μειωθεί σημαντικά. Όταν ο αριθμός των κυττάρων πέσει κάτω από τα 200 cells/mm³, αυξάνεται ο κίνδυνος ανάπτυξης κλινικού AIDS και άλλων σοβαρών ασθενειών. Για το λόγο αυτό, ο αριθμός των CD4 κυττάρων πρέπει να ελέγχεται συχνά.

Όταν ένα άτομο ξεκινήσει να λαμβάνει αντιρετροϊκή θεραπεία, ο αριθμός των CD4 κυττάρων αυξάνεται. Ο ρυθμός με τον οποίο συμβαίνει αυτό διαφέρει από άτομο σε άτομο (<http://www.aidsmap.com/CD4-cell-counts/page/1044596/>).

1.3.3 Ιικό φορτίο

Το ικό φορτίο του HIV (HIV – Viral Load ή HIV - RNA) είναι η ποσότητα του ιού που υπάρχει στο αίμα. Όσο πιο υψηλό είναι το ικό φορτίο, τόσο μεγαλύτερη ποσότητα του HIV που βρίσκεται στον οργανισμό, γεγονός που υποδεικνύει ότι το ανοσοποιητικό σύστημα χάνει την ικανότητά του να πολεμάει τον ιό. Μία ποσότητα των 10000 αντιγράφων/ml (copies/ml) θεωρείται μικρή, ενώ μία ποσότητα των 100000 copies/ml θεωρείται πολύ μεγάλη.

Με την έναρξη της αντιρετροϊκής θεραπείας το ικό φορτίο αρχίζει να πέφτει και τέσσερις με έξι μήνες μετά την έναρξη θεραπείας το αν το ικό φορτίο έχει μειωθεί σε μη ανιχνεύσιμα αποτελεί ένδειξη για το αν η συγκεκριμένη θεραπεία που λαμβάνει το άτομο είναι αποτελεσματική ή όχι.

Μη ανιχνεύσιμο ικό φορτίο σημαίνει ότι η ποσότητα του ιού στο αίμα δεν είναι ανιχνεύσιμη με τα συγκεκριμένα τεστ που χρησιμοποιούνται. Ο ιός, όμως, υπάρχει ακόμα στο αίμα και χρειάζεται η συνεχής λήψη της θεραπείας ώστε να διατηρείται υπό έλεγχο. Κάθε ένα από τα τεστ που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο του ιικού φορτίου έχει ένα όριο κάτω από το οποίο δεν μπορεί να ανιχνεύσει το γενετικό υλικό του ιού HIV. Το όριο αυτό συνήθως είναι τα 50 copies/ml. Όταν παρακολουθείται το ικό φορτίο θα πρέπει να χρησιμοποιείται το ίδιο τεστ και η ίδια εργαστηριακή τεχνική, γιατί τα αποτελέσματα μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τον τύπο του τεστ (<http://www.aidsmap.com/Viral-load/page/1327496/>).

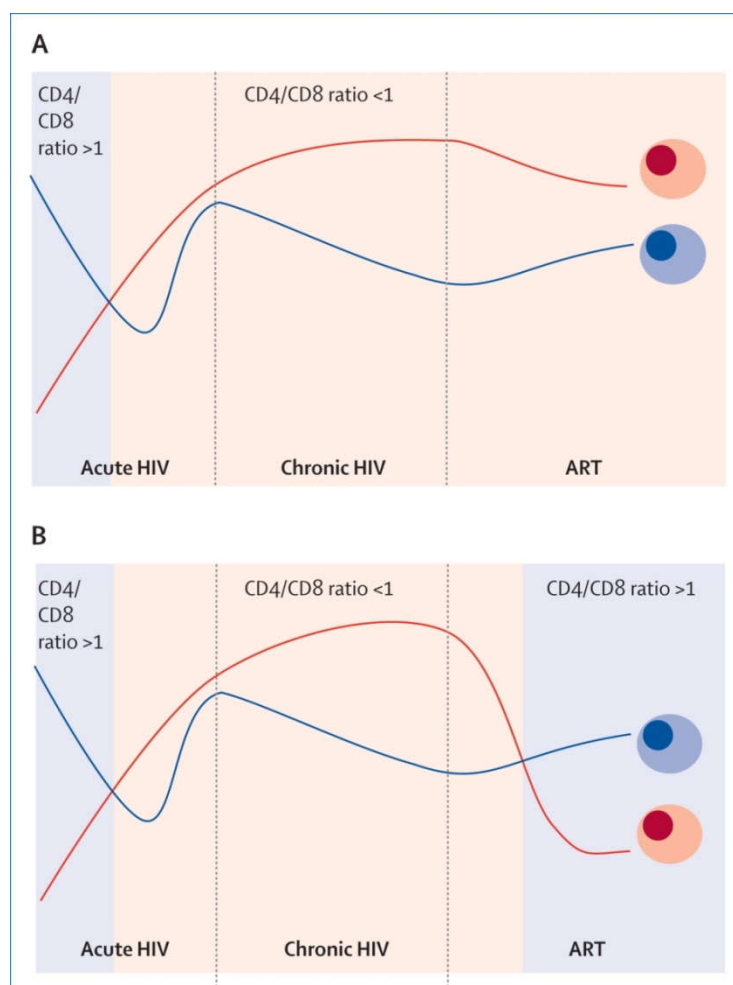
1.3.4 Λόγος CD4/CD8

Ο λόγος CD4/CD8 αποτελεί αντανάκλαση της κατάστασης του ανοσοποιητικού συστήματος του ανθρώπου και οι τιμές του κυμαίνονται από 1 έως 4. Σε ένα υγιές άτομο ο λόγος αυτός παίρνει τιμές μεγαλύτερες του ένα, καθώς αυτό έχει μεγαλύτερο αριθμό CD4 κυττάρων από ότι CD8 κυττάρων. Όσο μεγαλώνει ο άνθρωπος, η άμυνα του ανοσοποιητικού γίνεται πιο αδύναμη και ο λόγος CD4/CD8 τείνει να ελαττώνεται (<http://www.aidsmap.com/CD4CD8-ratio/page/1733224/>).

Μόλις ένα άτομο μολυνθεί από τον ιό HIV αρχίζει η σταδιακή μείωση του αριθμού των CD4 κυττάρων και η αύξηση των CD8 κυττάρων με αποτέλεσμα ο λόγος CD4/CD8 να αντιστρέφεται και να παίρνει τιμές μικρότερες του ένα (Σχήμα 2). Η μείωση των CD4

κυττάρων και η συνεχής αύξηση των CD8 κυττάρων ευθύνονται για τη δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, η οποία οδηγεί σε υψηλά ποσοστά νοσηρότητας και θνησιμότητας. Ως εκ τούτου, ο λόγος CD4/CD8 θεωρείται ένας δείκτης εξέλιξης της HIV λοίμωξης (Peto, 1996, Taylor, 1989).

Παρόλο που η cART επιτυγχάνει την καταστολή του HIV ιικού φορτίου επιτρέποντας την ομαλοποίηση των CD4 μετρήσεων, η ομαλοποίηση και επαναφορά του λόγου CD4/CD8 στα επιθυμητά επίπεδα συμβαίνει σπάνια στα HIV οροθετικά άτομα, ακόμα και μετά από αρκετά χρόνια λήψης αντιρετροϊκής θεραπείας (Σχήμα 2) (Leung et al., 2013).



Σχήμα 2: Λόγος CD4/CD8 των HIV οροθετικών ασθενών υπό αντιρετροϊκή θεραπεία

Σχήμα 2(A): Η HIV λοίμωξη συνδέεται με την απώλεια των κυττάρων CD4 και τη συσσώρευση των κυττάρων CD8, με αποτέλεσμα χαμηλές τιμές του λόγου CD4/CD8, η ομαλοποίηση του οποίου δεν επιτυγχάνεται πάντα κατά τη διάρκεια της αποτελεσματικής ART.

Σχήμα 2(B): Η κανονικοποίηση του λόγου CD4/CD8 σχετίζεται με χαμηλά επίπεδα ανοσοποιητικής ενεργοποίησης και καλή ολική πρόγνωση (Serrano-Villar and Deeks, 2015).

1.4 Σκοπός της μελέτης

Παρά το γεγονός ότι ο αριθμός των CD4 λεμφοκυττάρων και το ιικό φορτίο του HIV είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι δείκτες για την παρακολούθηση της HIV λοίμωξης, ο λόγος CD4/CD8 γίνεται ολοένα και περισσότερο ένας πολύτιμος δείκτης για τη λειτουργία και το γηρασμό του ανοσοποιητικού συστήματος (Bruno et al., 2017). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι χαμηλές τιμές του λόγου CD4/CD8 σχετίζονται τόσο με την ανάπτυξη κλινικού AIDS, όσο και με αυξημένη, μη σχετιζόμενη με το AIDS νοσηρότητα (Mussini et al., 2015, Hema et al., 2016, Serrano-Villar, Pérez-Elías et al., 2014). Ωστόσο, τιμές μικρότερες του ένα παρουσιάζονται όχι μόνο στα άτομα που έχουν μολυνθεί από τον ιό HIV, αλλά και σε ηλικιωμένα άτομα καθώς και στο 5% περίπου του υγιούς πληθυσμού (Amadori et al., 1995). Για το λόγο αυτό, ο λόγος CD4/CD8 θεωρείται και υποκαταστάτης δείκτης του γηρασμού του ανοσοποιητικού συστήματος.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της μακροχρόνιας εξέλιξης του λόγου CD4/CD8 σε HIV οροθετικά άτομα μετά την έναρξη της cART. Παράλληλα θα αξιολογηθεί η σχέση των διαχρονικών επιπέδων του λόγου CD4/CD8 με τη θνησιμότητα και άλλα νοσήματα (σχετιζόμενη και μη σχετιζόμενη με το AIDS νοσηρότητα).

Στη συνέχεια, πρόκειται να παρατεθεί αναλυτικά το θεωρητικό υπόβαθρο των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων. Επιπλέον θα γίνει ανάλυση και παράθεση των αποτελεσμάτων, καθώς και η σύγκριση αυτών με αντίστοιχα αποτελέσματα άλλων μελετών.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1 Γενικές Πληροφορίες Μεθοδολογίας

2.1.1 Μοντέλα Μεικτών Επιδράσεων

Τα διαχρονικά δεδομένα είναι μια συλλογή επαναλαμβανόμενων μετρήσεων για το ίδιο άτομο σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τα οποία μπορούν να συλλεχθούν είτε προοπτικά, παρακολουθώντας τα άτομα στο πέρασμα του χρόνου, είτε αναδρομικά, ανατρέχοντας σε ιστορικά αρχεία. Οι μελέτες που χρησιμοποιούν τέτοια δεδομένα έχουν ως σκοπό την περιγραφή των αλλαγών που συμβαίνουν στο πέρασμα του χρόνου και τη διερεύνηση των παραγόντων που τις επηρεάζουν (Diggle, 2013).

Η στατιστική ανάλυση των διαχρονικών δεδομένων είναι συχνά πολύπλοκη και απαιτούνται ειδικές στατιστικές μέθοδοι οι οποίες θα λαμβάνουν υπόψη τη συσχέτιση που υπάρχει μεταξύ των παρατηρήσεων του ίδιου ατόμου. Μία τέτοια μέθοδος είναι τα μοντέλα μεικτών επιδράσεων (mixed – effects models) ή μεικτά μοντέλα (mixed models), τα οποία περιέχουν ταυτόχρονα όρους σταθερών αλλά και τυχαίων επιδράσεων. Ως σταθερές επιδράσεις (fixed effects) ορίζονται οι παράγοντες οι οποίοι επιδρούν με τον ίδιο τρόπο σε όλα τα άτομα και επηρεάζουν τη μέση τιμή της εξαρτημένης μεταβλητής, ενώ ως τυχαίες επιδράσεις ορίζονται οι παράγοντες των οποίων οι επιδράσεις ποικίλουν τυχαία από άτομο σε άτομο και επηρεάζουν τη διακύμανση της εξαρτημένης μεταβλητής. Η δυνατότητα να λαμβάνονται υπόψη τόσο οι σταθερές, όσο και οι τυχαίες επιδράσεις παρέχει στο μοντέλο ευελιξία για τον καθορισμό των επιδράσεων πολλών παραγόντων (Detry and Ma, 2016).

Τα δεδομένα που αφορούν τα μεικτά μοντέλα θεωρούνται ομαδοποιημένα (clustered data). Οι ομάδες ή οι συστάδες (clusters) δημιουργούνται από τις επαναλαμβανόμενες μετρήσεις που προέρχονται από το ίδιο άτομο σε διαφορετικές χρονικές στιγμές. Οι παρατηρήσεις μεταξύ των ομάδων ή των συστάδων είναι ανεξάρτητες, αλλά οι παρατηρήσεις μέσα σε κάθε συστάδα είναι εξαρτημένες επειδή ανήκουν στο ίδιο άτομο.

Συνεπώς, δημιουργούνται δύο πηγές διακύμανσης: η διακύμανση μεταξύ των συστάδων (between – subjects) και η διακύμανση μέσα στην ίδια συστάδα (within – subjects).

Η γενική μορφή του γραμμικού μεικτού μοντέλου είναι:

$$Y_i = X_i * \beta + Z_i * b_i + e_i \quad (2.1)$$

Όπου β είναι ένα $(p \times 1)$ διάνυσμα των παραμέτρων των σταθερών επιδράσεων και b_i είναι ένα $(q \times 1)$ διάνυσμα των παραμέτρων των τυχαίων επιδράσεων, X_i είναι ένας $(n_i \times p)$ πίνακας των συμμεταβλητών που αποτελούν τις σταθερές επιδράσεις και Z_i είναι ένας $(n_i \times q)$ πίνακας των συμμεταβλητών που αποτελούν τις τυχαίες επιδράσεις, με $q \leq p$ και οι στήλες του πίνακα Z_i είναι, συνήθως, μια υποομάδα των στηλών του πίνακα X_i . Για τις τυχαίες επιδράσεις b_i θεωρείται ότι ακολουθούν πολυπαραγοντική κανονική κατανομή με μέση τιμή 0 και πίνακα συνδιακυμάνσεων G , δηλαδή $E(b_i) = 0$ και $Cov(b_i) = G$. Τέλος, e_i είναι ένα $(n_i \times 1)$ διάνυσμα των ανεξάρτητων σφαλμάτων, τα οποία ακολουθούν κανονική κατανομή με $E(e_i) = 0$ και $Cov(e_i) = W$. Τα διανύσματα b_i και e_i δε συσχετίζονται μεταξύ τους. Το i είναι ο αριθμός των ατόμων της μελέτης, το n_i είναι ο αριθμός των παρατηρήσεων ανά άτομο, το p ο αριθμός των σταθερών επιδράσεων και το q ο αριθμός των τυχαίων επιδράσεων. Επιπροσθέτως, τα Y_i ακολουθούν πολυπαραγοντική κανονική κατανομή με $E(Y_i) = X_i * \beta$ και $Var(Y_i) = ZGZ' + W$ (Detry and Ma, 2016).

Η πιο απλή περίπτωση μεικτού μοντέλου είναι το γραμμικό μοντέλο, όπου θεωρείται ότι η μέση τιμή του δείκτη μεταβάλλεται γραμμικά (fixed effect), ενώ επιτρέπονται τυχαίες διακυμάνσεις των τιμών του δείκτη κατά το χρόνο μηδέν (random intercept model).

Η μορφή αυτού του μοντέλου είναι:

$$Y_{ij} = \beta_0 + b_{0i} + \beta_1 * t_{ij} + e_{ij} \quad (2.2)$$

Οι παρατηρήσεις Y_{ij} ποικίλουν γύρω από μια διαφορετική τιμή για κάθε άτομο. Αυτές οι τιμές αποτελούν τις διακλαδώσεις ή σημεία τομής (intercepts) της γραμμής γύρω από την οποία ποικίλουν οι αντιδράσεις του κάθε ατόμου, όπου το b_{0i} αναπαριστά την απόκλιση

του i σημείου του ατόμου από το σημείο του πληθυσμού (β_0). Το σύνολο αυτών των σημείων αποτελούν ένα δείγμα των σημείων του πληθυσμού, γεγονός που υποδεικνύει ότι υπάρχει μεταβλητότητα μεταξύ των ατόμων (between – subject variability).

Μια άλλη μορφή του μοντέλου είναι αυτή που, επιπλέον, επιτρέπει διαφορετική κλίση για κάθε γραμμή του κάθε ατόμου γύρω από την οποία ποικίλουν οι αντιδράσεις του (random slope).

Η μορφή αυτού του μοντέλου (random intercept and slope model) είναι:

$$Y_{ij} = \beta_0 + b_{0i} + (\beta_1 + b_{1i}) * t_{ij} + e_{ij} \quad (2.3)$$

Με αυτόν τον τρόπο, κάθε άτομο-συστάδα διαφέρει όχι μόνο στα αρχικά επίπεδα (όταν $t_{ij} = 0$) του δείκτη, αλλά και στο ρυθμό με τον οποίο αλλάζει ο δείκτης με την πάροδο του χρόνου (Fitzmaurice, Laird and Ware, 2011).

2.1.2 Ανάλυση Επιβίωσης

Η ανάλυση επιβίωσης αποτελεί ένα σύνολο μεθόδων για την ανάλυση δεδομένων όπου η μεταβλητή έκβασης είναι ο χρόνος μέχρι την εμφάνιση ενός συμβάντος ενδιαφέροντος (time to event). Αυτό το συμβάν μπορεί να είναι ο θάνατος, η εμφάνιση μιας νόσου, ο γάμος, το διαζύγιο (Despa S., Cornell Statistical Consulting Unit). Ο χρόνος μέχρι το συμβάν είναι μια μεταβλητή η οποία περιγράφει την κλινική πορεία (serial time) του κάθε ατόμου που συμμετέχει σε μία μελέτη, με αρχή και τέλος οποιαδήποτε χρονική στιγμή μέσα στο χρόνο διεξαγωγής της μελέτης. Για παράδειγμα, ο χρόνος μπορεί να ξεκινήσει τη στιγμή που ένα άτομο εισέρχεται στη μελέτη ή που αρχίζει τη θεραπεία και να τελειώνει τη στιγμή που εμφανίζει το συμβάν ενδιαφέροντος ή το άτομο φεύγει από τη μελέτη (Rich et al., 2010).

Σε μια μελέτη ανάλυσης επιβίωσης, δεν εμφανίζουν όλα τα άτομα που συμμετέχουν το συμβάν ενδιαφέροντος. Αυτό μπορεί να συμβεί όταν το άτομο χάνεται από την παρακολούθηση ή τα απαιτούμενα δεδομένα δεν είναι διαθέσιμα ή, ακόμα και αν η μελέτη τελειώσει πριν το άτομο εμφανίσει το συμβάν, δηλαδή επέζησαν μέχρι το τέλος της μελέτης αλλά δεν υπάρχουν πληροφορίες για το τι συνέβη μετέπειτα. Σε αυτή την

περίπτωση, το άτομο θεωρείται αποκομμένο (censored) και ο συνολικός χρόνος επιβίωσής του δεν μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια. Τα άτομα αυτά δεν εξαιρούνται από τη μελέτη, αλλά συνεισφέρουν μέχρι τη στιγμή που ήταν υπό παρακολούθηση.

Η μέθοδος εκτίμησης Kaplan – Meier είναι ένας απλός τρόπος υπολογισμού της επιβίωσης στην πάροδο του χρόνου, λαμβάνοντας υπόψη τα άτομα που είναι αποκομμένα. Η καμπύλη επιβίωσης Kaplan – Meier ορίζεται ως η αθροιστική πιθανότητα επιβίωσης σε ένα δεδομένο χρονικό διάστημα, ενώ η πιθανότητα επιβίωσης εκτιμάται σε πολλά μικρά διαστήματα. Υπάρχουν τρεις υποθέσεις που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση αυτή:

Ανά πάσα στιγμή οι ασθενείς που έχουν θεωρηθεί ως αποκομμένοι έχουν τις ίδιες πιθανότητες επιβίωσης με αυτούς που συνεχίζουν να παρακολουθούνται (τυχαία αποκοπή- random withdrawal).

Οι πιθανότητες επιβίωσης είναι ίδιες για όλα τα άτομα, ανεξαρτήτως της χρονικής στιγμής που εισήλθαν στη μελέτη.

Το συμβάν συμβαίνει σε καθορισμένο χρόνο.

Η πιθανότητα επιβίωσης σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή υπολογίζεται από τον παρακάτω τύπο:

$$\hat{S}(t) = \prod_{j:\tau_j < t} \frac{r_j - d_j}{r_j} \quad (2.4)$$

Όπου τ_j είναι οι διακεκριμένοι χρόνοι που παρατηρούνται στο δείγμα, d_j είναι ο αριθμός των συμβάντων τη χρονική στιγμή τ_j και r_j είναι ο αριθμός των ατόμων που βρίσκονται "σε κίνδυνο" ακριβώς πριν τη χρονική στιγμή j κατά την οποία έγινε το συμβάν. Για κάθε ένα χρονικό διάστημα, η πιθανότητα επιβίωσης υπολογίζεται ως ο αριθμός των ατόμων που επιβιώνουν διαιρούμενα με τον αριθμό των ατόμων που βρίσκονται σε κίνδυνο. Τα άτομα που έχουν εμφανίσει το συμβάν ή πεθάνει ή αποχωρήσει δεν υπολογίζονται ως "σε κίνδυνο". Η συνολική πιθανότητα επιβίωσης μέχρι αυτό το χρονικό διάστημα υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας τις πιθανότητες επιβίωσης όλων των προηγούμενων χρονικών διαστημάτων (Kishore et al., 2010).

Οι εκτιμήσεις που προέρχονται από τη μέθοδο Kaplan – Meier απεικονίζονται σε ένα γράφημα το οποίο ονομάζεται καμπύλη Kaplan – Meier (Kaplan – Meier curve). Το γράφημα αυτό αποτελείται από οριζόντιες και κάθετες γραμμές οι οποίες βρίσκονται ανάμεσα σε δύο άξονες: τον άξονα Χ ο οποίος απεικονίζει το χρόνο μετά την είσοδο στη μελέτη και τον άξονα Υ ο οποίος απεικονίζει τις εκτιμώμενες πιθανότητες επιβίωσης. Η καμπύλη επιβίωσης σχεδιάζεται ως συνάρτηση βημάτων (step function). Το μήκος των οριζόντιων γραμμών αντιπροσωπεύει τη διάρκεια της επιβίωσης στο διάστημα μέχρι να εμφανιστεί το συμβάν και παραμένει αμετάβλητο μεταξύ των συμβάντων, ακόμα και αν υπάρχουν αποκομμένα δεδομένα. Οι κάθετες γραμμές είναι περισσότερο διακοσμητικές. Όμως, οι κάθετες αποστάσεις μεταξύ των οριζόντιων γραμμών δείχνουν τη μεταβολή της αθροιστικής πιθανότητας όσο η καμπύλη προχωράει στο χρόνο (Rich et al., 2010, Kishore et al., 2010).

Οι καμπύλες επιβίωσης Kaplan – Meier χρησιμοποιούνται για την περιγραφική σύγκριση των χρόνων επιβίωσης μεταξύ δύο ομάδων. Η στατιστική σύγκριση γίνεται με τη δοκιμασία log-rank, η οποία εξετάζει αν υπάρχει διαφορά μεταξύ των χρόνων επιβίωσης των δύο ομάδων και βασίζεται στην υπόθεση των αναλογικών κινδύνων. Για το log-rank τεστ υπολογίζεται ο αναμενόμενος αριθμός συμβάντων για κάθε ομάδα, έστω E_1 και E_2 αντίστοιχα, ενώ O_1 και O_2 αντίστοιχα είναι ο συνολικός αριθμός των παρατηρούμενων συμβάντων σε κάθε ομάδα. Το στατιστικό τεστ δίνεται από τον παρακάτω τύπο:

$$\chi^2 (\text{log-rank}) = \frac{(O_1 - E_1)^2}{E_1} + \frac{(O_2 - E_2)^2}{E_2} \quad (2.5)$$

Όπου E_i είναι το άθροισμα του αριθμού των αναμενόμενων συμβάντων, τη χρονική στιγμή που εμφανίζεται κάθε συμβάν σε οποιαδήποτε από τις δύο ομάδες, λαμβάνοντας υπόψη και τις δύο ομάδες μαζί. Τη χρονική στιγμή του συμβάντος σε οποιαδήποτε από τις δύο ομάδες, ο αριθμός των αναμενόμενων συμβάντων είναι το γινόμενο του κινδύνου εμφάνισης του συμβάντος εκείνη τη χρονική στιγμή με το συνολικό αριθμό των ατόμων που είναι ζωντανά στην αρχή του χρόνου του συμβάντος σε αυτή την ίδια ομάδα χρόνο (Zwiener et al., 2011).

Η δοκιμασία log-rank εξετάζει αν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των χρόνων επιβίωσης δύο ομάδων. Η διερεύνηση της επίδρασης ανεξάρτητων μεταβλητών στο κίνδυνο θανάτου γίνεται με τη χρήση των μοντέλων αναλογικών κινδύνων του Cox (Cox Proportional Hazards model).

Το μοντέλο αναλογικού κινδύνου Cox είναι ανάλογο με ένα μοντέλο πολλαπλής παλινδρόμησης και επιτρέπει τη σύγκριση των χρόνων επιβίωσης μεταξύ συγκεκριμένων ομάδων ασθενών ενώ παράλληλα επιδρούν και άλλοι παράγοντες (οι οποίοι ονομάζονται και συμμεταβλητές – covariates). Η εξαρτημένη μεταβλητή (dependent variable) του μοντέλου αυτού είναι ο "στιγμιαίος κίνδυνος". Ο στιγμιαίος κίνδυνος (hazard) $\lambda(t)$ είναι η πιθανότητα να βιώσει ένας ασθενής ένα συμβάν τη χρονική στιγμή t δεδομένου ότι έχει επιβιώσει μέχρι τη στιγμή t ή ο κίνδυνος θανάτου εκείνη τη χρονική στιγμή (Zwiener et al., 2011).

Στο μοντέλο του Cox δεν γίνεται καμία παραδοχή σχετικά με την κατανομή πιθανότητας του κινδύνου. Ωστόσο, η υπόθεση της αναλογικότητας των κινδύνων υπονοεί ότι εάν ο κίνδυνος σε μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή για μια ομάδα είναι δύο φορές μεγαλύτερος του κινδύνου μιας άλλης ομάδας, τότε θα είναι δύο φορές μεγαλύτερος και σε οποιαδήποτε άλλη χρονική στιγμή. Ο λόγος κινδύνου (hazard ratio) είναι ανεξάρτητος του χρόνου. Η παραδοχή ότι ο λόγος κινδύνου παραμένει σταθερός με την πάροδο του χρόνου ισχύει υπό τον όρο ότι ο κίνδυνος της μιας ομάδας είναι ανάλογος με τον κίνδυνο της άλλης ομάδας (υπόθεση αναλογικών κινδύνων). Αν και ο κίνδυνος μπορεί να ποικίλλει με την πάροδο του χρόνου, οι διακυμάνσεις στην πάροδο του χρόνου θα πρέπει να είναι οι ίδιες και στις δύο ομάδες. Η υπόθεση των αναλογικών κινδύνων μπορεί να ελεγχθεί χρησιμοποιώντας τις καμπύλες Kaplan – Meier.

Η γενική μορφή του μοντέλο είναι:

$$\lambda(t; X) = \lambda_0(t) * \exp(\beta_1 * X_1 + \beta_2 * X_2 + \dots + \beta_p * X_p) \quad (2.6)$$

Όπου X_1, X_2, \dots, X_p είναι οι παράγοντες των οποίων την επίδραση θέλουμε να εξετάσουμε και $\lambda_0(t)$ είναι η συνάρτηση κινδύνου (baseline hazard) όταν όλοι οι

παράγοντες είναι μηδέν. Οι συντελεστές $\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_p$ δείχνουν την επίδραση των παραγόντων και εκτιμώνται από τα δεδομένα (Bewick et al., 2004).

Σε πολλές περιπτώσεις, οι παράγοντες που εξετάζονται αλλάζουν με την πάροδο του χρόνου (χρονικά μεταβαλλόμενες μεταβλητές - time-dependent covariates). Οι παράγοντες αυτοί μπορεί να είναι δύο ειδών:

- Ενδογενείς παράγοντες: αλλάζουν την τιμή τους με την πάροδο του χρόνου αλλά επιπλέον σχετίζονται άμεσα με την συμπεριφορά του ατόμου και μετρώνται επανειλημμένα όσο ο ασθενής βρίσκεται υπό παρακολούθηση.
- Εξωγενείς παράγοντες: οι τιμές που παίρνουν με την πάροδο του χρόνου σχετίζονται με έναν εξωγενή αλλά προκαθορισμένο κανόνα που όμως δεν σχετίζεται άμεσα με το άτομο. Για παράδειγμα τα επίπεδα της ατμοσφαιρικής ρύπανσης ή η ηλικία του ατόμου.

Για να διερευνηθεί ένας παράγοντας που είναι ακόμη άγνωστος στην αρχή του χρόνου επιβίωσης ή που αλλάζει με την πάροδο του χρόνου θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί ένα μοντέλο Cox το οποίο θα λαμβάνει υπόψη την εξάρτηση με το χρόνο. Ως συνέπεια, η υπόθεση των αναλογικών κινδύνων δεν ισχύει.

Η μορφή του μοντέλου είναι:

$$\lambda_i(t; X_i) = \lambda_0(t) * \exp\left(\sum_{j=1}^n \beta_j * X_{ij}(t)\right) \quad (2.7)$$

Όπου $\lambda_0(t)$ είναι ο κίνδυνος (baseline hazard) όταν όλοι οι παράγοντες είναι μηδέν σε όλες τις χρονικές στιγμές t . Η χρήση αυτού του μοντέλου προϋποθέτει ότι οι πληροφορίες για τους παράγοντες είναι διαθέσιμες σε κάθε χρονική στιγμή.

2.1.3 Ανταγωνιστικοί Κίνδυνοι

Στην ανάλυση επιβίωσης μετράτε ο χρόνος μέχρι την εμφάνιση ενός συμβάντος. Συχνά όμως ένα άτομο μπορεί να εμφανίζει περισσότερα από ένα διαφορετικά συμβάντα, από τα οποία μόνο ένα χαρακτηρίζεται ως το συμβάν ενδιαφέροντος. Τα υπόλοιπα ονομάζονται ανταγωνιστικοί κίνδυνοι (competing risks) και μπορεί να αποτρέπουν την εμφάνιση του

κυρίως συμβάντος. Σε αυτή την περίπτωση, υπολογίζεται η πιθανότητα αποτυχίας η οποία οφείλεται στο συμβάν ενδιαφέροντος παρουσία των ανταγωνιστικών κινδύνων.

Μία μέθοδος που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της πιθανότητας αποτυχίας είναι η μέθοδος εκτίμησης Kaplan – Meier, όπου οι αποτυχίες που οφείλονται στους ανταγωνιστικούς κινδύνους αντιμετωπίζονται ως αποκομμένα δεδομένα. Αυτή η προσέγγιση όμως παραβιάζει τη βασική υπόθεση της μεθόδου Kaplan – Meier: την υπόθεση της ανεξαρτησίας της κατανομής του χρόνου των ανταγωνιστικών συμβάντων. Στην περίπτωση όπου οι κατανομές του χρόνου των ανταγωνιστικών συμβάντων είναι ανεξάρτητες από την κατανομή του χρόνου του συμβάντος ενδιαφέροντος, σε κάθε χρονική στιγμή ο κίνδυνος του συμβάντος ενδιαφέροντος είναι ο ίδιος τόσο για τα άτομα που έχουν βιώσει ένα ανταγωνιστικό γεγονός, όσο και για τα άτομα που δεν έχουν ακόμη αποτύχει και εξακολουθούν να βρίσκονται υπό παρακολούθηση. Ωστόσο, όταν ένα άτομο θεωρείται αποκομμένο λόγω ανταγωνιστικού κινδύνου, δεν πρόκειται να εμφανίσει το συμβάν ενδιαφέροντος. Δεδομένου ότι τα άτομα τα οποία δεν θα εμφανίσουν ποτέ το συμβάν αντιμετωπίζονται σα να μπορούν εν δυνάμει να το εμφανίσουν (είναι αποκομμένα), η μέθοδος Kaplan-Meier υπερεκτιμά την πιθανότητα αποτυχίας και επομένως υποεκτιμά την αντίστοιχη πιθανότητα επιβίωσης (Putter et al., 2007).

Στα δεδομένα ανταγωνιστικών κινδύνων, η τυπική προσέγγιση περιλαμβάνει τη χρήση του εκτιμητή Alan για τον υπολογισμό της αθροιστικής επίπτωσης κάθε ανταγωνιστικού συμβάντος (ενώ οι εκτιμητές Kaplan – Meier για να υπολογιστεί ξεχωριστά η πιθανότητα για κάθε ένα τύπο συμβάντος θα πρέπει να αποφεύγονται για το λόγο που εξηγήθηκε ανωτέρω). Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση διαφόρων παραγόντων στον κίνδυνο έκβασης εφαρμόζονται μοντέλα αντίστοιχα με αυτά που αναφέρθηκαν νωρίτερα (Cox proportional hazards models). Πρακτικά, σε αυτά τα μοντέλα, τα άτομα που εμφάνισαν τα υπόλοιπα εκτός αυτού του άμεσου ενδιαφέροντος ανταγωνιστικά συμβάντα αντιμετωπίζονται ως αποκομμένα παρόμοια με εκείνα που είναι αποκομμένα λόγω απώλειας από την παρακολούθηση ή αποχώρησης. Αυτή η μέθοδος εκτίμησης της πιθανότητας αποτυχίας ονομάζεται συνάρτηση κινδύνου που οφείλεται σε συγκεκριμένη αιτία (cause – specific hazard function).

Η μορφή της συνάρτησης είναι:

$$\lambda_k(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{\text{Prob}(t \leq T \leq t + \Delta t, D = k | T \geq t)}{\Delta t} \quad (2.8)$$

Όπου T είναι ο χρόνος έως την αποτυχία από το συμβάν ενδιαφέροντος D . Επομένως, η συνάρτηση κινδύνου που οφείλεται σε συγκεκριμένη αιτία δίνει το στιγμιαίο ποσοστό αποτυχίας που οφείλεται στο συμβάν D στον χρόνο t , δεδομένου ότι τα άτομα δεν έχουν εμφανίσει το συγκεκριμένο συμβάν μέχρι εκείνη τη χρονική στιγμή.

Το αντίστοιχο μοντέλο κινδύνου που οφείλεται σε συγκεκριμένη αιτία (cause – specific hazard model) με βάση το μοντέλο αναλογικού κινδύνου Cox έχει τη μορφή:

$$\lambda_k(t; X) = \lambda_{k,0}(t) * \exp\left(\sum_{i=1}^p \beta_{ik} X_i\right) \quad (2.9)$$

Όπου X_1, X_2, \dots, X_p είναι οι παράγοντες των οποίων την επίδραση θέλουμε να εξετάσουμε και $\lambda_{k,0}(t)$ είναι ο κίνδυνος που οφείλεται στη συγκεκριμένη αιτία k (baseline cause – specific hazard of cause k) όταν όλοι οι παράγοντες είναι μηδέν σε όλες τις χρονικές στιγμές t . Οι συντελεστές $\beta_{1k}, \beta_{2k}, \dots, \beta_{pk}$ δείχνουν την επίδραση των παραγόντων στην αιτία k .

Το μοντέλο αυτό επιτρέπει τις επιδράσεις των παραγόντων να διαφοροποιούνται ανάλογα με το συμβάν. Η ερμηνεία των επιδράσεων αυτών απαιτεί προσοχή. Όταν ένα άτομο, που έχει ήδη εμφανίσει ένα συμβάν, εμφανίζει νέο συμβάν k (υπό την προϋπόθεση ότι οι ανταγωνιστικοί κίνδυνοι δεν είναι αμοιβαίως εξαιρεταίοι), οι παράμετροί του συγκρίνονται με τις παραμέτρους όλων των άλλων ατόμων που δεν έχουν εμφανίσει ακόμα κάποιο συμβάν και βρίσκονται υπό παρακολούθηση (Austin et al., 2016).

2.1.4 Γραμμική Παρεμβολή

Η γραμμική παρεμβολή (linear interpolation) είναι μία απλή μαθηματική μέθοδος με την οποία προσδιορίζεται η τιμή μιας συνάρτησης για ένα τυχαίο σημείο x , όταν για τη συνάρτηση είναι γνωστές ορισμένες μόνο τιμές x_i στο πεδίο ορισμού της.

Έστω ότι είναι γνωστά δύο σημεία με συντεταγμένες (x_0, y_0) και (x_1, y_1) . Τότε η γραμμική παρεμβολή θεωρεί ότι τα σημεία αυτά ενώνονται μεταξύ τους με μία ευθεία.

Επομένως, για ένα σημείο x στο διάστημα (x_0, x_1) , η τεταγμένη y προκύπτει από την εξίσωση:

$$\frac{y - y_0}{x - x_0} = \frac{y_1 - y_0}{x_1 - x_0} \quad (2.10)$$

Η παραπάνω εξίσωση είναι μια ειδική μορφή πολυωνυμικής παρεμβολής με $n=1$.

Λύνοντας την εξίσωση (2.10) ως προς y , το οποίο είναι η άγνωστη τιμή στο x , προκύπτει:

$$y = y_0 + (x - x_0) * \frac{y_1 - y_0}{x_1 - x_0} \quad (2.11)$$

Η γραμμική παρεμβολή σε ένα σύνολο δεδομένων $(x_0, y_0), (x_1, y_1), \dots, (x_n, y_n)$ αποτελείται από κομμάτια γραμμικών παρεμβολών μεταξύ κάθε ζεύγους δεδομένων (https://en.wikipedia.org/wiki/Linear_interpolation).

2.2 Υλικό

Τα δεδομένα προήλθαν από την πολυκεντρική μελέτη AMACS (Athens Multicenter Aids Cohort Study). Η AMACS είναι μια πολυκεντρική, ανοιχτή και σε εξέλιξη προοπτική μελέτη, η οποία ξεκίνησε το 1996 με την οικονομική υποστήριξη του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕΕΛΠΝΟ) με σκοπό τη δημιουργία μιας μεγάλης βάσης δεδομένων για τα άτομα με HIV λοίμωξη. Στα δεδομένα της AMACS περιλαμβάνονται τόσο βασικά δημογραφικά (φύλο, ηλικία, εκπαιδευτικό επίπεδο κλπ) και κλινικά χαρακτηριστικά των ατόμων κατά την ένταξη τους στη μελέτη, όσο και διαχρονικά δεδομένα για τη λήψη

αντιρετροϊκής θεραπείας, τα επίπεδα CD4 και CD8, το ιικό φορτίο, συννοσηρότητες, θανάτους και τις αιτίες θανάτου, καθώς και πολλά άλλα σχετιζόμενα με τον HIV δεδομένα.

Οι HIV οροθετικοί ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη έπρεπε να λαμβάνουν συνδυασμένη αντιρετροϊκή θεραπεία (cART) βασισμένη σε boostedPI, NNRTI ή INSTI φάρμακα, την οποία ξεκίνησαν μετά το 2000 χωρίς προηγούμενη εμπειρία σε αντιρετροϊκά (naive). Επιπλέον, έπρεπε να είχαν τουλάχιστον μία διαθέσιμη μέτρηση σε ολικό αριθμό CD4, CD8 λεμφοκυττάρων και ιικού φορτίου HIV-RNA μέσα στους τελευταίους έξι μήνες πριν από την ημερομηνία έναρξη της cART (baseline) και τουλάχιστον μία διαθέσιμη μέτρηση CD4, CD8 λεμφοκυττάρων και HIV-RNA μέσα στους επόμενους έξι μήνες από την ημερομηνία έναρξη της θεραπείας. Τέλος έπρεπε να ανήκουν σε μία από τις παρακάτω ομάδες κινδύνου: άνδρες που έχουν σεξουαλική επαφή με άνδρες (ΑΣΑ), άνδρες/γυναίκες που έχουν σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες (ΑΣΓ) και γυναίκες ή άνδρες χρήστες ενδοφλέβιων ουσιών (XEN).

Ο χρόνος παρακολούθησης (follow-up) των ασθενών ξεκινούσε από την έναρξη της cART μέχρι την εμφάνιση του συμβάντος ενδιαφέροντος ή την τελευταία χρονικά από τις παρακάτω ημερομηνίες: ημερομηνία τελευταίας διαθέσιμης μέτρησης CD4, CD8 ή HIV-RNA ή ημερομηνία τελευταία κλινικής επίσκεψης.

Το συμβάν ενδιαφέροντος (outcome) ήταν οποιοδήποτε συμβάν εμφανιζόταν χρονικά πρώτο μετά την έναρξη της cART και ανήκε σε μία από τις δύο κατηγορίες: (1) AIDS ή θάνατος ο οποίος οφείλεται στο AIDS και (2) μη σχετιζόμενο με το AIDS συμβάν ή θάνατος. Τα μη σχετιζόμενα με το AIDS νοσήματα (Serious Non-AIDS defining events – SNAE) χωρίζονται σε θανατηφόρα και μη θανατηφόρα νοσήματα. Ως θανατηφόρο SNAE θεωρείται οποιοσδήποτε θάνατος δεν μπορεί να αποδοθεί στο AIDS, συμπεριλαμβανομένων των θανάτων λόγω ατυχημάτων ή βίας, καθώς και εκείνων από άγνωστη αιτία. Τα μη θανατηφόρα SNAE συνίστανται σε (1) καρδιαγγειακή νόσο (έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό επεισόδιο, νόσο στεφανιαίας αρτηρίας που απαιτεί αγγειοπλαστική ή χειρουργική επέμβαση παράκαμψης), (2) νεφρική νόσο τελικού σταδίου που απαιτεί αιμοκάθαρση ή νεφρική μεταμόσχευση, (3) μη αντιρροπούμενη ηπατική νόσο, και (4) όλους τους καρκίνους που δεν καθορίζουν το AIDS (Non-AIDS defining malignancies – NADM), εξαιρουμένων των καρκίνων δέρματος βασικών και πλακωδών κυττάρων (Babiker et al., 2012).

Επομένως, τα μη σχετιζόμενα με το AIDS νοσήματα χωρίστηκαν σε τέσσερις κατηγορίες: (1) καρδιαγγειακά νοσήματα ή θάνατοι που οφείλονταν σε καρδιαγγειακά νοσήματα, (2) NADM ή θάνατοι που οφείλονταν σε NADM, (3) νοσήματα του ήπατος ή θάνατοι που οφείλονταν σε ηπατικά νοσήματα και (4) νεφρικά νοσήματα ή θάνατοι που οφείλονταν σε νεφρικά νοσήματα. Οι αιτίες θανάτου κατηγοριοποιήθηκαν με βάση το Cause of Death (CoDE) project protocol (Protocol: Coding Causes of Death in HIV, Version 2.3, 2013).

2.3 Στατιστική Ανάλυση

Αρχικά, έγινε αντιστοίχιση των CD4 και CD8 μετρήσεων στις ίδιες ημερομηνίες για κάθε ασθενή. Για τις ημερομηνίες στις οποίες έλλειπε μία από τις δύο μετρήσεις ή και οι δύο, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της γραμμικής παρεμβολής για τον προσδιορισμό των αντίστοιχων τιμών.

Για την περιγραφική ανάλυση των συνεχών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκαν η διάμεση τιμή (Median) και το ενδοτεταρτημοριακό εύρος (IQR) και για τις κατηγορικές μεταβλητές η απόλυτη τιμή και η σχετική συχνότητα (N, %).

Για τη διερεύνηση της μακροχρόνιας εξέλιξης του λόγου CD4/CD8 χρησιμοποιήθηκαν τα μοντέλα μεικτών επιδράσεων με τυχαίες σταθερές (random intercept) και κλίσεις (random slopes). Ο λόγος CD4/CD8 μετασχηματίστηκε με το φυσικό λογάριθμο και ο χρόνος εισήχθη στο μοντέλο ως κατά διαστήματα γραμμικός με κόμβους σε δύο προκαθορισμένα σημεία, στους 3 μήνες και 48 μήνες, ώστε να δίνεται η δυνατότητα διαφορετικών ρυθμών μεταβολής στην εξέλιξη του λόγου. Με βάση αυτό το μοντέλο, εκτιμήθηκαν οι προβλεπόμενες μέσες τιμές του λογαριθμισμένου λόγου CD4/CD8, οι οποίες στη συνέχεια αντι-λογαριθμίστηκαν. Με τις αντι-λογαριθμισμένες γεωμετρικές μέσες τιμές δημιουργήθηκε γράφημα στο οποίο παρουσιάζεται η προβλεπόμενη διαχρονική εξέλιξη του λόγου CD4/CD8 μετά την έναρξη cART.

Η ηλικία (ως συνεχής, ως τετράγωνο της συνεχούς και ως κατηγορική: <29, 30-39, 40-49, 50+), το φύλο, το έτος έναρξης της cART (ως κατηγορική: 2000-2007, 2008-2013, 2014-2017), ο τύπος της θεραπείας cART, καθώς και ο τρόπος μετάδοσης (ΑΣΑ, ΓΣΑ, και ΧΕΝ) συμπεριλήφθηκαν αρχικά σε μονοπαραγοντικά μοντέλα Cox, ώστε να επιλεγούν εκείνες οι μεταβλητές που σχετίζονται σημαντικά (p -τιμή < 0.05) με το συμβάν ενδιαφέροντος: AIDS/DEATH ή SNAE (οποιοδήποτε από τα τρία εμφανίστηκε χρονικά πρώτο). Έπειτα, για τη

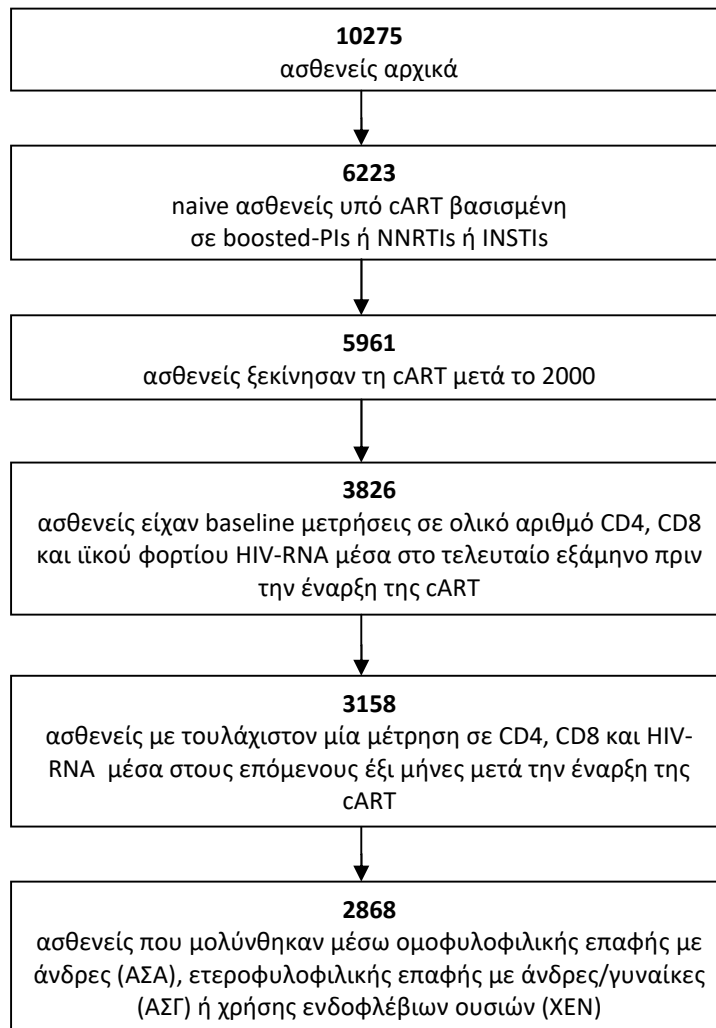
διερεύνηση της σχέσης του λόγου CD4/CD8 ως χρονικά μεταβαλλόμενη μεταβλητή και του πρώτου χρονικά συμβάντος AIDS/DEATH ή SNAE σχηματίστηκαν διάφορα μονοπαραγοντικά μοντέλα Cox, λαμβάνοντας υπόψη το λόγο CD4/CD8 σε μία από τις παρακάτω μορφές: συνεχής μεταβλητή, φυσικός λογάριθμος της συνεχούς μεταβλητής, κατηγορική μεταβλητή (<0.39, 0.4-0.69, 0.7-0.99, >1) ή cubic splines. Η ίδια μονοπαραγοντική ανάλυση έγινε και για τον αριθμό των CD4 κυττάρων ως χρονικά μεταβαλλόμενη μεταβλητή. Οι τιμές των CD4 κυττάρων συμπεριλήφθηκαν στο μοντέλο σε μία από τις παρακάτω μορφές: συνεχής μεταβλητή, τετραγωνική ρίζα της συνεχούς μεταβλητής, κατηγορική μεταβλητή (<99, 100-199, 200-349, 350-499, >500) ή cubic splines. Η επιλογή του καταλληλότερου μονοπαραγοντικού μοντέλου Cox τόσο για την επίδραση του λόγου CD4/CD8, όσο και των τιμών των CD4 έγινε με βάση το κριτήριο Akaike (Akaike information criteria – AIC), σύμφωνα με το οποίο το μοντέλο με τη μικρότερη AIC τιμή είναι το καλύτερο, σε συνδυασμό με τη γραφική απεικόνιση της εκτίμησης των κινδύνων που προέκυψαν από τα μοντέλα.

Στην ανάλυση ευαισθησίας, χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση ανταγωνιστικών κινδύνων για κάθε ένα από τα παρακάτω συμβάντα ξεχωριστά: AIDS/DEATH, καρδιαγγειακή ασθένεια (Cardiovascular disease - CVD), μη σχετιζόμενες με το AIDS κακοήθειες (Non-AIDS Defining Malignancies – NADM), ασθένεια ήπατος (Liver disease - LIVER), ασθένεια νεφρών (Renal disease - RENAL) ή μη σχετιζόμενη με το AIDS θνησιμότητα (Non-AIDS Defining Death - NADD). Ο λόγος CD4/CD8 συμπεριλήφθηκε στα μοντέλα ως χρονικά μεταβαλλόμενη μεταβλητή σε μία από τις παρακάτω μορφές: φυσικός λογάριθμος ή κατηγορική μεταβλητή (<0.29, 0.3-0.79, >0.8). Ο αριθμός των CD4 κυττάρων συμπεριλήφθηκε στο μοντέλο επίσης ως χρονικά μεταβαλλόμενη μεταβλητή με τη μορφή τετραγωνικής ρίζας.

Για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα STATA 13.0. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο 5%.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τους 10275 HIV – οροθετικούς οι οποίοι είχαν εγγραφεί στη βάση δεδομένων της AMACS μέχρι την 31η Οκτωβρίου 2017, 2868 ασθενείς πληρούσαν τα κριτήρια επιλογής και συμπεριλήφθηκαν τελικά στην ανάλυση (Σχήμα 3). Το 85.39% των ασθενών ήταν άνδρες, περίπου το 66% ήταν ΑΣΑ και η διάμεση ηλικία ήταν τα 36 έτη. Το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών ακολουθούσαν cART βασισμένη σε boosted-PI. Ο διάμεσος λόγος CD4/CD8 τη στιγμή έναρξης της cART ήταν 0.29. Τέλος, ένα μικρό ποσοστό των ασθενών, 8.86%, είχαν AIDS κατά τη χρονική στιγμή έναρξης της cART (Πίνακας 1).



Σχήμα 3: Διάγραμμα ροής για την επιλογή των ασθενών.

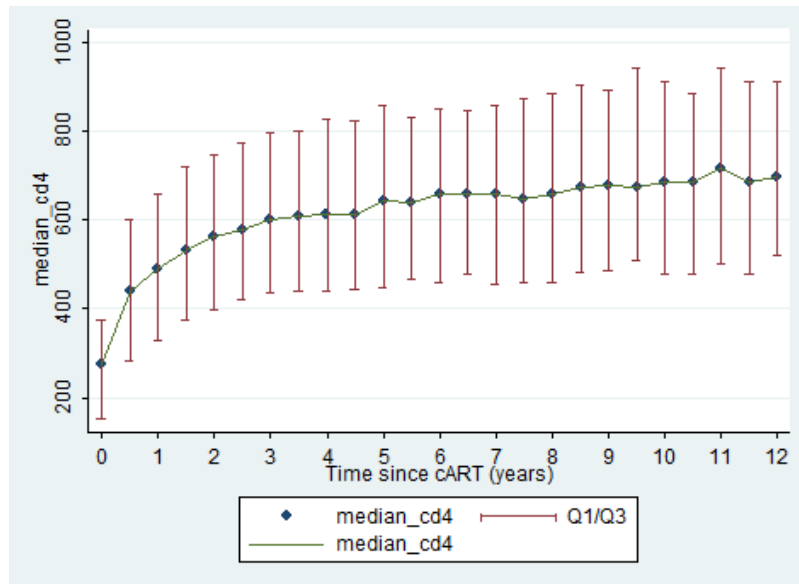
Πίνακας 1: Δημογραφικά – κλινικά χαρακτηριστικά των 2868 ασθενών.

N (%)	
Φύλο	
Άνδρες	2.449 (85.39)
Γυναίκες	419 (14.61)
Τρόπος μετάδοσης	
ΑΣΑ	1.888 (65.83)
ΑΣΓ	733 (25.56)
ΧΕΝ	247 (8.61)
Έτος έναρξης cART	
2000 – 2007	840 (29.29)
2008 – 2013	1633 (56.94)
2014 – 2017	395 (13.77)
Είδος της πρώτης cART	
NNRTI	1230 (42.89)
INSTI	213 (7.43)
Boosted – PI	1.425 (49.69)
AIDS κατά την έναρξη της cART	
Ναι	254 (8.86)
Όχι	2614 (91.14)
Median (IQR)	
Ηλικία (έτη)	35.95 (30.36, 43.85)
Baseline CD4 (cells/ mm³)	276 (152, 373.5)
Baseline CD8 (cells/ mm³)	848 (576, 1210)
Baseline λόγος CD4/CD8	0.29 (0.17, 0.45)
Baseline HIV – RNA (copies/mL)	47150 (10413, 158169)

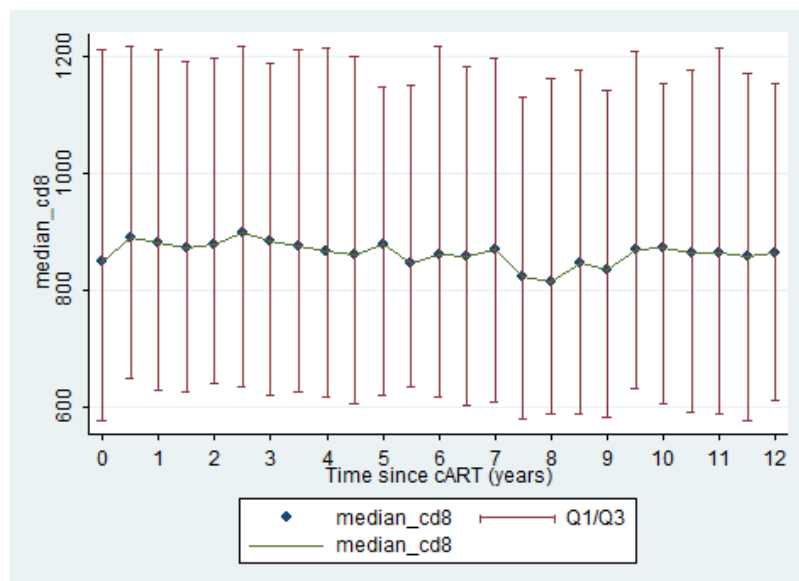
ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Από την έναρξη της cART παρατηρείται αύξηση στον αριθμό των CD4 κυττάρων (Σχήμα 4) και μείωση στον αριθμό των CD8 κυττάρων (Σχήμα 5). Στο Σχήμα 6 φαίνεται η διαχρονική τάση του παρατηρούμενου λόγου CD4/CD8 από την έναρξη της cART, με χρόνο παρακολούθησης έως τα 12 χρόνια, η οποία ακολουθεί εκείνη των CD4. Υπάρχει μία αυξητική τάση στις τιμές του λόγου CD4/CD8, οι οποίες όμως παραμένουν μικρότερες του ένα. Το γεγονός αυτό αντικατοπτρίζεται και στο Σχήμα 7, όπου φαίνονται οι προβλεπόμενες τιμές του λόγου CD4/CD8, οι οποίες προήλθαν από το μοντέλο μεικτών

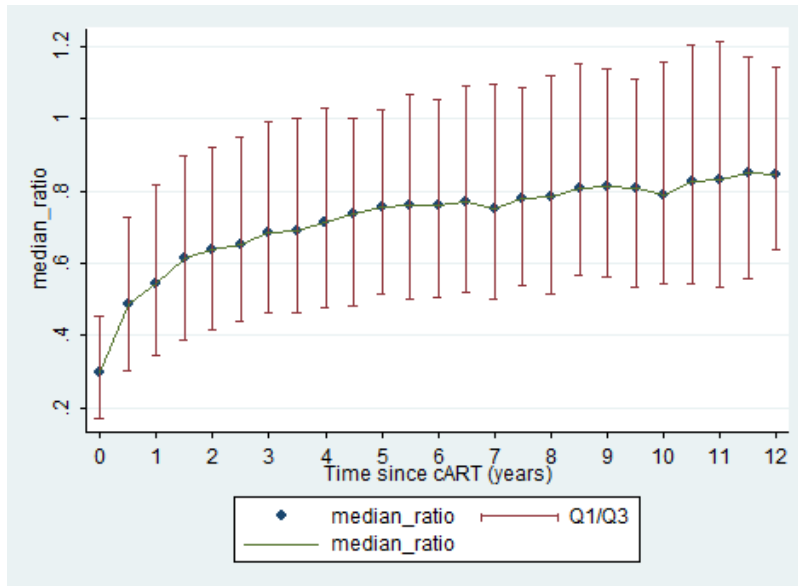
επιδράσεων, με κόμβους σε δύο προκαθορισμένα σημεία, στους 3 μήνες και 48 μήνες (4 χρόνια). Τους πρώτους τρεις μήνες από την έναρξη της cART παρατηρείται απότομη αύξηση των προβλεπόμενων τιμών του λόγου CD4/CD8, η οποία συνεχίζεται σχεδόν με τον ίδιο ρυθμό μέχρι τους 48 μήνες. Μετά τους 48 μήνες, ο ρυθμός της αύξησης μειώνεται αισθητά με αποτέλεσμα να μην επιτυγχάνεται η επαναφορά του λόγου CD4/CD8 στα φυσιολογικά επίπεδα (τιμές > 1).



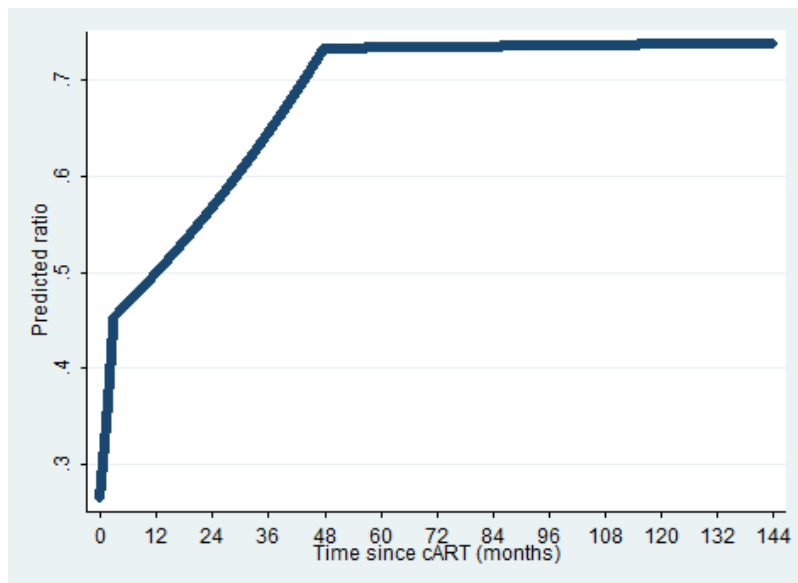
Σχήμα 4: Παρατηρούμενες τιμές των μετρήσεων CD4 (cells/mm³) από την έναρξη της cART.



Σχήμα 5: Παρατηρούμενες τιμές των μετρήσεων CD8 (cells/mm³) από την έναρξη της cART.



Σχήμα 6: Παρατηρούμενες τιμές του λόγου CD4/CD8 από την έναρξη της cART.



Σχήμα 7: Προβλεπόμενες τιμές του λόγου CD4/CD8 από την έναρξης της cART.

Από τους 2868 HIV οροθετικούς ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη, ένα μεγάλο ποσοστό, 34.44%, εμφάνισαν AIDS ή πέθαναν από AIDS-σχετιζόμενες αιτίες μετά την έναρξη της cART. Όσον αφορά τα μη σχετιζόμενα με το AIDS νοσήματα, το 24% περίπου των ασθενών εμφάνισαν καρδιαγγειακό νόσημα ή πέθαναν από κάποιο καρδιαγγειακό νόσημα, ενώ το 21% των ασθενών πέθανε από μη σχετιζόμενες με το AIDS αιτίες μετά την έναρξη της cART (Πίνακας 2).

Ο Πίνακας 3 περιέχει τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών ανά κατηγορία συμβάντος. Η διάμεση ηλικία στους ασθενείς που εμφάνισαν AIDS ή πέθαναν από AIDS-σχετιζόμενες αιτίες είναι σημαντικά μικρότερη από εκείνη των ασθενών που εμφάνισαν κάποιο μη σχετιζόμενο με το AIDS νόσημα, 39.80 έτη και 43.27 έτη αντίστοιχα (p -value = $< 0.001 < 0.05$). Ο διάμεσος αριθμός των CD4 και CD8 λεμφοκυττάρων τη στιγμή έναρξης της cART διαφέρει σημαντικά μεταξύ των δύο κατηγοριών, με τους ασθενείς που εμφάνισαν AIDS ή πέθαναν από AIDS-σχετιζόμενες αιτίες να έχουν μικρότερο διάμεσο αριθμό σε CD4 και CD8 από τους ασθενείς που εμφάνισαν κάποιο μη σχετιζόμενο με το AIDS νόσημα ($p < 0.001$ και p -value = 0.001 αντίστοιχα). Ωστόσο, ο διάμεσος λόγος CD4/CD8 τη στιγμή έναρξης της cART δε διαφέρει σημαντικά μεταξύ των δύο κατηγοριών AIDS/DEATH και SNAE (p -value = 0.135). Τα υψηλότερα ποσοστά στο τρόπο μετάδοσης παρατηρούνται στην κατηγορία No event με περίπου 90% στους ΑΣΑ και τους ΧΕΝ και 83.61% στους ΑΣΓ. Τα υψηλά ποσοστά συμβάντων εμφανίζονται στους ΑΣΓ με 6.28% και 10.11% σε AIDS/DEATH και SNAE αντίστοιχα. Στους ΑΣΑ εμφανίζεται χαμηλό ποσοστό, 3.39%, σε AIDS/DEATH και πιο υψηλό ποσοστό, 6.52%, σε SNAE. Ομοίως, στους ΧΕΝ εμφανίζεται πολύ χαμηλό ποσοστό, 1.62%, σε AIDS/DEATH και πιο υψηλό ποσοστό, 8.10%, σε SNAE. Όσον αφορά το είδος της πρώτης cART, τα υψηλότερα ποσοστά παρατηρούνται στην κατηγορία No event με περίπου 90% στη NNRTI αντιρετροϊκή θεραπεία, 97% στην INSTI αντιρετροϊκή θεραπεία και 85.59% στη boosted-PI αντιρετροϊκή θεραπεία. Τα υψηλά ποσοστά συμβάντων εμφανίζονται στην boosted-PI θεραπεία με 5.34% και 9.07% σε AIDS/DEATH και SNAE αντίστοιχα. Στη NNRTI θεραπεία εμφανίζεται χαμηλό ποσοστό, 3.01%, σε AIDS/DEATH και πιο υψηλό ποσοστό, 6.75%, σε SNAE. Ομοίως, στην INSTI θεραπεία εμφανίζεται πολύ χαμηλό ποσοστό, 0.47%, σε AIDS/DEATH και λίγο υψηλότερο ποσοστό, 2.35%, σε SNAE. Τέλος, από το έτος έναρξης της cART παρατηρείται ότι ο αριθμός των συμβάντων, τόσο των AIDS/DEATH όσο και των SNAE, μειώνεται στα πιο πρόσφατα έτη. Τα παραπάνω αποτελέσματα θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη με επιφύλαξη.

Συγκεκριμένα, ενώ τα p-value προήλθαν από cause-specific ανάλυση στην οποία συμπεριλαμβάνεται ο χρόνος μέχρι την εμφάνιση του συμβάντος, τα ποσοστά μεμονωμένα δε λαμβάνουν υπόψη το χρόνο μέχρι την εμφάνιση του συμβάντος, γεγονός που μπορεί να δίνει μια εσφαλμένη εντύπωση των αποτελεσμάτων. Παρακάτω γίνεται μονοαραγοντική ανάλυση για κάθε παράγοντα ξεχωριστά λαμβάνοντας υπόψη το χρόνο μέχρι την εμφάνιση του συμβάντος.

Πίνακας 2: Αριθμός συμβάντων ανά κατηγορία.

	N (%)
AIDS/DEATH	114 (34.44)
Cardiovascular Disease (CVD)	79 (23.87)
Non-AIDS Defining Malignancies (NADM)	34 (10.27)
Liver Disease (LIVER)	22 (6.65)
Renal Disease (RENAL)	12 (3.63)
Non-AIDS Defining Deaths (NADM)	70 (21.15)

Πίνακας 3: Δημογραφικά-κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών ανά κατηγορία συμβάντος.

	AIDS/DEATH (Total=114) Median (IQR)	SNAE (Total=217) Median (IQR)	No event (Total=2535) Median (IQR)	p-value*
Ηλικία (έτη)	39.80 (32.96,48.22)	43.27 (35.01,52.77)	35.50 (30.08,42.91)	<0.001
Baseline CD4 (cells/ mm³)	91 (31,229)	205 (83,304)	285 (176,383)	<0.001
Baseline CD8 (cells/ mm³)	634 (390,1026)	787 (464,1083)	859 (597,1228)	0.001
Baseline λόγος CD4/CD8	0.13 (0.06,0.32)	0.24 (0.13,0.39)	0.31 (0.18,0.46)	0.135
Baseline HIV – RNA (copies/mL)	99295.5 (35028,363222)	68700 (19000,300000)	41900 (9990,149881)	0.417
	N (%)	N (%)	N (%)	p-value*
Φύλο				0.920
Άνδρες	94 (3.84)	182 (7.44)	2171 (88.72)	
Γυναίκες	20 (4.77)	35 (8.35)	364 (86.87)	
Τρόπος μετάδοσης				0.002
ΑΣΑ	64 (3.39)	123 (6.52)	1700 (90.09)	
ΑΣΓ	46 (6.28)	75 (10.11)	612 (83.61)	
XEN	4 (1.62)	20 (8.10)	223 (90.28)	
Έτος έναρξης της cART				0.658
2000 – 2007	60 (7.14)	110 (13.10)	670 (79.76)	
2008 – 2013	50 (3.07)	98 (6.01)	1483 (90.93)	
2014 – 2017	4 (1.01)	9 (2.28)	382 (96.71)	
Είδος της πρώτης cART				<0.001
NNRTI	37 (3.01)	83 (6.75)	1110 (90.24)	
INSTI	1 (0.47)	5 (2.35)	207 (97.18)	
Boosted – PI	76 (5.34)	129 (9.07)	1218 (85.59)	

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, XEN: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

*overall p-value από cause-specific model για snae με ανταγωνιστικό κίνδυνο AIDS/DEATH

Στη μονοπαραγοντική ανάλυση, οι παράγοντες που σχετίζονταν σημαντικά με το συμβάν ενδιαφέροντος (AIDS/DEATH ή SNAE) ήταν η ηλικία (over all p-value < 0.001 < 0.05), ο τρόπος μετάδοσης (over all p-value < 0.001 < 0.05), ο τύπος της πρώτης cART (over all p-value < 0.001 < 0.05, AIC = 4856.143) και η χρονιά έναρξης της cART (over all p-value = 0.006 < 0.05, AIC = 4876.196) (Πίνακας 4). Επειδή ο τύπος έναρξης της cART συσχετιζόταν σημαντικά με το έτος έναρξης της cART (Pearson χ^2 , p-τιμή < 0.001 < 0.05), στα

πολυπαραγοντικά μοντέλα συμπεριλήφθηκε μόνο ο τύπος της πρώτης cART, καθώς είχε την μικρότερη AIC τιμή.

Πίνακας 4: Μονοπαραγοντικά μοντέλα αναλογικών κινδύνων Cox των μεταβλητών που συνδέονται με την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE.

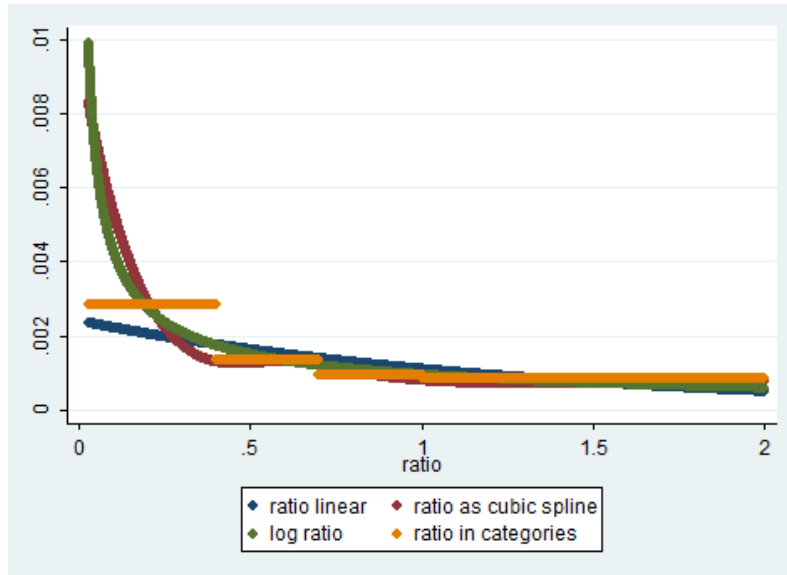
	Hazard Ratio	95% Conf. Interval	p-value
Ηλικία (έτη)	1.04	1.04-1.05	<0.001
Φύλο			
Άνδρες	1	-	
Γυναίκες	1.08	0.81-1.44	0.612
Τρόπος μετάδοσης			
ΑΣΑ	1.	-	
ΑΣΓ	1.59	1.27-2.021	<0.001
ΧΕΝ	1.36	0.89-2.09	0.157
Έτος έναρξης cART			
2000 – 2007	1	-	
2008 – 2013	0.76	0.60-0.96	0.022
2014 – 2017	0.44	0.24-0.78	0.005
Είδος της πρώτης cART			
NNRTI	1	-	
INSTI	0.54	0.24-1.23	0.143
Boosted – PI	1.75	1.39-2.20	<0.001

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

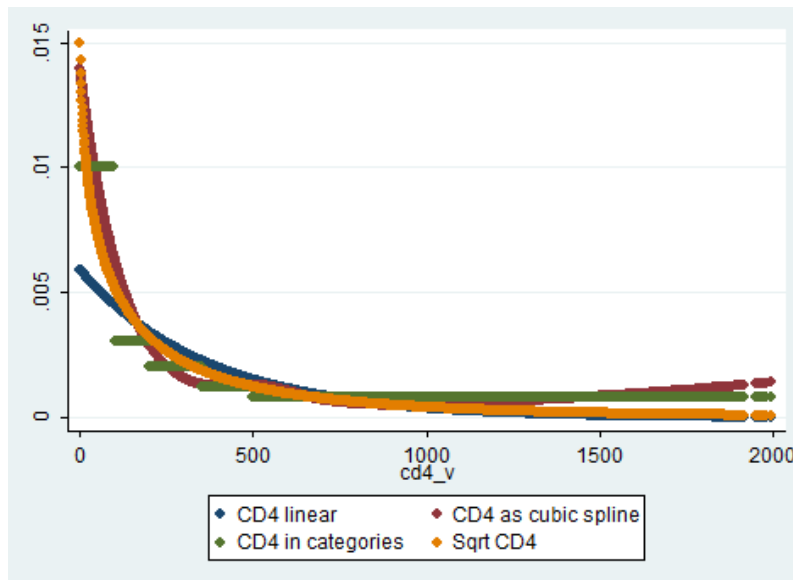
Από τη μονοπαραγοντική ανάλυση για την επιλογή της κατάλληλης μορφής του λόγου CD4/CD8 ως χρονικά μεταβαλλόμενης μεταβλητής για το πρώτο χρονικά συμβάν AIDS/DEATH ή SNAE, προέκυψε ότι το μοντέλο στο οποίο ο λόγος CD4/CD8 είχε συμπεριληφθεί ως cubic splines ήταν καλύτερο από τα υπόλοιπα, καθώς είχε τη μικρότερη AIC τιμή (AIC = 4780.876) (Πίνακας 5) και γραφικά φαινόταν να εφαρμόζει καλύτερα στα δεδομένα (Σχήμα 8). Η ερμηνεία όμως των cubic splines δεν είναι εύκολη, επομένως επιλέχθηκε το δεύτερο καλύτερο μοντέλο, αυτό με το λογαριθμισμένο λόγο CD4/CD8.

Η ίδια μονοπαραγοντική ανάλυση για την επιλογή της κατάλληλης μορφής του αριθμού των CD4 κυττάρων ως χρονικά μεταβαλλόμενης μεταβλητής για το πρώτο χρονικά συμβάν AIDS/DEATH ή SNAE έδειξε ότι το καλύτερο μοντέλο ήταν αυτό στο οποίο ο αριθμίων των CD4 κυττάρων είχε συμπεριληφθεί ως cubic splines, καθώς είχε τη μικρότερη AIC τιμή (AIC = 4705.357) (Πίνακας 6) και γραφικά φαινόταν να εφαρμόζει καλύτερα στα δεδομένα

(Σχήμα 9). Η ερμηνεία όμως των cubic splines δεν είναι εύκολη, επομένως επιλέχθηκε το δεύτερο καλύτερο μοντέλο, αυτό με την τετραγωνική ρίζα του αριθμού των CD4 κυττάρων.



Σχήμα 8: Γραφική απεικόνιση της εκτίμησης των κινδύνων των μονοπαραγοντικών μοντέλων για το λόγο CD4/CD8.



Σχήμα 9: Γραφική απεικόνιση της εκτίμησης των κινδύνων των μονοπαραγοντικών μοντέλων για τον αριθμό των CD4 κυττάρων.

Πίνακας 5: Μονοπαραγοντικά μοντέλα αναλογικών κινδύνων Cox για την κατάλληλη μορφή του λόγου CD4/CD8.

Ratio	AIC
Linear	4861.785
Cubic splines	4780.876
Categorical	4824.975
Logarithm	4788.882

Πίνακας 6: Μονοπαραγοντικά μοντέλα αναλογικών κινδύνων Cox για την κατάλληλη μορφή του αριθμού των CD4 κυττάρων.

CD4	AIC
Linear	4758.388
Cubic splines	4705.357
Categorical	4724.466
Square root	4718.025

Στο πολυπαραγοντικό μοντέλο αναλογικών κινδύνων Cox, ο λογαριθμισμένος λόγος CD4/CD8 φαίνεται να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE με HR = 0.58 (95% CI = 0.52 – 0.66, p-value < 0.001 < 0.05), απουσία των CD4 κυττάρων. Η σημαντική αυτή σχέση χάνεται όταν στο μοντέλο λαμβάνονται υπόψη οι τρέχουσες τιμές των CD4, με HR = 0.97 (95% CI = 0.81 – 1.16, p-value = 0.858 > 0.05) (Πίνακας 7). Επιπροσθέτως, με βάση την τιμή AIC, το καλύτερο μοντέλο για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE είναι αυτό που περιλαμβάνει μόνο τις τιμές των CD4 κυττάρων (Μοντέλο 2, Πίνακας 7). Επομένως, ο λόγος CD4/CD8 δεν αποτελεί προγνωστικό παράγοντα για την εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE.

Πίνακας 7: Πολυπαραγοντικά μοντέλα αναλογικών κινδύνων Cox για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE.

	Μοντέλο 1 (AIC=4715.201)			Μοντέλο 2 (AIC=4658.077)			Μοντέλο 3 (AIC=4659.974)		
	HR	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.04	1.03-1.05	<0.001	1.04	1.03-1.05	<0.001	1.04	1.03-1.05	<0.001
Τρόπος μετάδοσης			0.269			0.856			0.845
ΑΣΑ	1	-		1	-		1	-	
ΑΣΓ	1.17	0.92-1.47		0.99	0.79-1.27		1.00	0.79-1.27	
ΧΕΝ	1.31	0.85-2.02		1.13	0.73-1.74		1.13	0.73-1.75	
Είδος πρώτης cART			0.004			0.013			0.014
NNRTI	1	-		1	-		1	-	
INSTI	0.52	0.23 -1.17		0.55	0.24-1.25		0.55	0.24-1.25	
Boosted – PI	1.37	1.08 -1.73		1.32	1.04-1.66		1.31	1.03-1.65	
logRatio	0.58	0.52-0.66	<0.001	-	-	-	0.97	0.81-1.16	0.858
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	-	-	-	0.89	0.88-0.92	<0.001	0.90	0.88 -0.93	<0.001

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Στους πίνακες 8 - 13 φαίνονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση ευαισθησίας με ανταγωνιστικούς κινδύνους για κάθε ένα συμβάν ξεχωριστά. Παρατηρείται ότι οι χαμηλές τιμές του λογαριθμισμένου λόγου CD4/CD8 οδηγούν σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων (HR = 0.76 < 1, Πίνακας 9), μη σχετιζόμενων με το AIDS κακοηθειών (HR = 0.84 < 1, Πίνακας 10) και νεφρικών νοσημάτων (HR = 0.64 < 1, Πίνακας 12). Η ανάλυση ανταγωνιστικών κινδύνων για την εμφάνιση καρδιαγγειακών ή νεφρικών νοσημάτων (οποιοδήποτε από τα δύο εμφανίστηκε πρώτο) λαμβάνοντας υπόψη των λόγο CD4/CD8 ως λογάριθμο έβγαλε ένα οριακά μη σημαντικό αποτέλεσμα (HR = 0.72 < 1, p-value = 0.073, Πίνακας 14). Το ίδιο αποτέλεσμα προέκυψε από την ανάλυση για τη εμφάνιση καρδιαγγειακών ή νεφρικών νοσημάτων ή μη σχετιζόμενων με το AIDS κακοηθειών (οποιοδήποτε από τα δύο εμφανίστηκε πρώτο) λαμβάνοντας υπόψη των λόγο CD4/CD8 ως λογάριθμο (HR = 0.75 < 1, p-value = 0.071, Πίνακας 15). Η αντίστοιχη ανάλυση λαμβάνοντας υπόψη το λόγο CD4/CD8 σε κατηγορίες, έδειξε ότι ο λόγος CD4/CD8 ήταν σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την πρώτη εμφάνιση καρδιαγγειακού ή νεφρικού νοσήματος με ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή NADM ή LIVER ή NADD (Πίνακας 16). Συγκεκριμένα, οι ασθενείς που παρουσίαζαν τιμές του λόγου

CD4/CD8 πάνω από 0.80 είχαν μειωμένο κίνδυνο συγκεκριμένης αιτίας (cause-specific hazard) κατά 56% να εμφανίσουν ένα τέτοιο νόσημα σε σχέση με τους ασθενείς που παρουσίαζαν τιμές του λόγου CD4/CD8 μικρότερες από 0.80 (HR = 0.44, p-value = 0.009 < 0.05, Πίνακας 16). Επιπλέον, η ίδια ανάλυση για τη εμφάνιση καρδιαγγειακών ή νεφρικών νοσημάτων ή μη σχετιζόμενων με το AIDS κακοηθειών έδειξε ότι ο λόγος CD4/CD8 ήταν σημαντικός παράγοντας κινδύνου (Πίνακας 17). Ειδικότερα, οι ασθενείς που παρουσίαζαν τιμές του λόγου CD4/CD8 πάνω από 0.80 είχαν μειωμένο κίνδυνο συγκεκριμένης αιτίας (cause-specific hazard) κατά 55% να εμφανίσουν ένα καρδιαγγειακό ή νεφρικό νόσημα ή μία μη σχετιζόμενη με το AIDS κακοήθεια σε σχέση με τους ασθενείς που παρουσίαζαν τιμές του λόγου CD4/CD8 μικρότερες του 0.80 (HR = 0.45, p-value = 0.004 < 0.05, Πίνακας 17).

Πίνακας 8: Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση CVD ή NADM ή LIVER ή RENAL ή NADD.

	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.01	0.99-1.03	0.207
Τρόπος μετάδοσης			0.102
ΑΣΑ	1	-	
ΑΣΓ	1.04	0.69-1.54	
ΧΕΝ	0.34	0.12-0.94	
Είδος πρώτης cART			0.238
NNRTI	1	-	
INSTI	0.26	0.04-1.93	
Boosted – PI	1.20	0.79-1.82	
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	0.83	0.79-0.87	<0.001
logRatio	1.06	0.81-1.39	0.686

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Πίνακας 9: Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση CVD, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή NADM ή LIVER ή RENAL ή NADD.

	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.07	1.05-1.09	<0.001
Τρόπος μετάδοσης			0.136
ΑΣΑ	1	-	
ΑΣΓ	1.03	0.63-1.68	
ΧΕΝ	2.30	1.01-5.27	
Είδος πρώτης cART			0.108
NNRTI	1	-	
INSTI	0.89	0.21-3.81	
Boosted – PI	1.65	1.01-2.86	
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	0.98	0.94-1.04	0.656
logRatio	0.76	0.52-1.13	0.178

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Πίνακας 10: Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση NADM, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή CVD ή LIVER ή RENAL ή NADD.

	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.03	1.00-1.06	0.035
Τρόπος μετάδοσης			0.774
ΑΣΑ	1	-	
ΑΣΓ	0.88	0.40-1.91	
ΧΕΝ	1.43	0.41-4.98	
Είδος πρώτης cART			0.480
NNRTI	1	-	
INSTI	0.91	0.12-7.16	
Boosted – PI	1.54	0.74-3.24	
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	0.96	0.88-1.04	0.292
logRatio	0.84	0.47-1.51	0.563

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Πίνακας 11: Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση LIVER, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή CVD ή NADM ή RENAL ή NADD.

	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.02	0.97-1.05	0.7450
Τρόπος μετάδοσης			0.973
ΑΣΑ	1	-	
ΑΣΓ/ΧΕΝ	1.02	0.41-2.49	
Είδος πρώτης cART			0.517
NNRTI	1	-	
INSTI	1.49	0.18-12.37	
Boosted – PI	1.69	0.69-4.16	
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	0.94	0.86-1.03	0.181
logRatio	1.83	0.89-3.73	0.097

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Πίνακας 12: Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση RENAL, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή CVD ή NADM ή LIVER ή NADD.

	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.06	1.01-1.11	0.010
Τρόπος μετάδοσης			0.635
ΑΣΑ	1	-	
ΑΣΓ/ΧΕΝ	1.33	0.41-4.33	
Είδος πρώτης cART			0.637
NNRTI	1	-	
INSTI/ Boosted – PI	1.35	0.39-4.65	
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	0.96	0.84-1.11	0.600
logRatio	0.64	0.26-1.61	0.344

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Πίνακας 13: Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση NADD, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή CVD ή NADM ή LIVER ή RENAL.

	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.05	1.03-1.08	<0.001
Τρόπος μετάδοσης			0.003
ΑΣΑ	1	-	
ΑΣΓ	0.77	0.44-1.32	
ΧΕΝ	3.02	1.44-6.34	
Είδος πρώτης cART			0.622
NNRTI	1	-	
INSTI	0.39	0.05-2.89	
Boosted – PI	0.89	0.55-1.46	
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	0.86	0.81-0.91	<0.001
logRatio	1.43	0.96-2.14	0.075

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Πίνακας 14: Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση CVD ή RENAL, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή NADM ή LIVER ή NADD.

	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.07	1.05-1.08	<0.001
Τρόπος μετάδοσης			0.272
ΑΣΑ	1	-	
ΑΣΓ	1.09	0.69-1.72	
ΧΕΝ	1.96	0.86-4.43	
Είδος πρώτης cART			0.078
NNRTI	1	-	
INSTI	0.77	0.18-3.27	
Boosted – PI	1.62	1.03-2.56	
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	0.99	0.94-1.04	0.730
logRatio	0.72	0.49-1.03	0.073

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Πίνακας 15: Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση CVD ή RENAL ή NADM, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή LIVER ή NADD.

	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.06	1.04-1.07	<0.001
Τρόπος μετάδοσης			0.246
ΑΣΑ	1	-	
ΑΣΓ	1.03	0.69-1.53	
ΧΕΝ	1.79	0.90-3.54	
Είδος πρώτης cART			0.038
NNRTI	1	-	
INSTI	0.81	0.25-2.64	
Boosted – PI	1.60	1.09-2.36	
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	0.98	0.94-1.02	0.387
logRatio	0.75	0.55-1.02	0.071

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Πίνακας 16: Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση CVD ή RENAL, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART, τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή NADM ή LIVER ή NADD, λαμβάνοντας υπόψη το λόγο CD4/CD8 ως κατηγορική μεταβλητή.

	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.07	1.05-1.08	<0.001
Τρόπος μετάδοσης			0.247
ΑΣΑ	1	-	
ΑΣΓ	1.12	0.71-1.76	
ΧΕΝ	2.00	0.88-4.53	
Είδος πρώτης cART			0.069
NNRTI	1	-	
INSTI	0.76	0.18-3.22	
Boosted – PI	1.64	1.04-2.57	
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	0.98	0.94-1.02	0.389
Ratio			0.009
<0.80	1	-	
>=0.80	0.44	0.24-0.82	

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

Πίνακας 17: Πολυπαραγοντικό μοντέλο Cox για την πρώτη εμφάνιση CVD ή RENAL ή NADM, σταθμισμένο για ηλικία, τρόπο μετάδοσης, τύπο της cART τα CD4 στην τετραγωνική κλίμακα και ανταγωνιστικό κίνδυνο την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή LIVER ή NADD, λαμβάνοντας υπόψη το λόγο CD4/CD8 ως κατηγορική μεταβλητή.

	HR	95% CI	p-value
Ηλικία (έτη)	1.06	1.04-1.08	<0.001
Τρόπος μετάδοσης			0.222
ΑΣΑ	1	-	
ΑΣΓ	1.06	0.71-1.56	
ΧΕΝ	1.83	0.92-3.63	
Είδος πρώτης cART			0.033
NNRTI	1	-	
INSTI	0.80	0.24-2.61	
Boosted – PI	1.61	1.09-2.36	
sqrtCD4 (sqrt(cells/mm³))	0.97	0.94-1.01	0.149
Ratio			0.004
<0.80	1	-	
>=0.80	0.45	0.24-0.83	

ΑΣΑ: άνδρες με σεξουαλική επαφή, ΑΣΓ: άνδρες/γυναίκες με σεξουαλική επαφή με γυναίκες/άνδρες, ΧΕΝ: χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο λόγος CD4/CD8 είναι ένας ευρέως διαδεδομένος και χρήσιμος δείκτης τόσο για τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, όσο και για την εξέλιξη της HIV λοίμωξης. Όταν ένα άτομο προσληφθεί από τον ιό, οι μετρήσεις CD4 μειώνονται, ενώ οι μετρήσεις CD8 αυξάνονται με αποτέλεσμα ο λόγος CD4/CD8 να παίρνει τιμές μικρότερες του ένα. Η ομαλοποίηση του λόγου CD4/CD8 (τιμές > 1) αποτελεί ένα από τους στόχους της αντιρετροϊκής θεραπείας, όμως συμβαίνει σπάνια ακόμα και μετά από αρκετά χρόνια αποτελεσματικής θεραπείας.

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η διαχρονική εξέλιξη του λόγου CD4/CD8 σε HIV οροθετικούς ασθενείς οι οποίοι ακολουθούσαν συνδυασμένη αντιρετροϊκή θεραπεία και ήταν καταγεγραμμένοι στην βάση δεδομένων της AMACS. Επιπλέον, διερευνήθηκε η σχέση των διαχρονικών επιπέδων του λόγου CD4/CD8 ως παράγοντα κινδύνου με το AIDS, τη σχετιζόμενη και μη με το AIDS θνησιμότητα καθώς και με τα μη σχετιζόμενα με το AIDS νοσήματα.

Αξιοποιώντας τις διαθέσιμες μετρήσεις CD4 και CD8 από 2868 ασθενείς υπό συνδυασμένη αντιρετροϊκή θεραπεία, προέκυψε ότι από την έναρξη της cART μέχρι τα 12 έτη παρακολούθησης των ασθενών, ο λόγος CD4/CD8 συνεχώς αυξάνεται. Τους τρεις πρώτους μήνες από την έναρξη της cART, παρατηρείται μια απότομη αύξηση των τιμών του λόγου CD4/CD8, η οποία συνεχίζεται με λιγότερο απότομο ρυθμό μέχρι τους 48 μήνες. Από τους 48 μήνες και έπειτα, ο ρυθμός αύξησης ελαττώνεται με αποτέλεσμα να μην επιτυγχάνονται τιμές του λόγου CD4/CD8 μεγαλύτερες του 1. Δεν έγινε διερεύνηση των παραγόντων που πιθανών επηρεάζουν την κανονικοποίηση του λόγου CD4/CD8.

Η αποτυχία επαναφοράς των τιμών του λόγου CD4/CD8 σε φυσιολογικά επίπεδα (τιμές > 1) συμβαδίζει με τα αποτελέσματα άλλων μελετών (Mussini et al., 2015, Leung et al., 2013, Caby, 2017, Torti et al., 2012, Hueges et al., 2018, DeSalvador-Guillouet et al., 2015). Συγκεκριμένα, σε μια Καναδική μελέτη παρατήρησης όπου έλαβαν μέρος 4206 HIV οροθετικοί ασθενείς, μόνο το 7.2% κατάφερε να ομαλοποιήσει το λόγο CD4/CD8 σε διάστημα περίπου τριών χρόνων μετά την έναρξη της cART (Leung et al., 2013), ενώ σε μια Ιταλική μελέτη παρατήρησης όπου έλαβαν μέρος 3236 HIV οροθετικοί ασθενείς, ένα 12%

κατάφερε να επαναφέρει τα επίπεδα του λόγου CD4/CD8 σε διάστημα δύο χρόνων μετά την έναρξη της cART (Mussini et al., 2015). Σε μια πιο πρόσφατη Γαλλική μελέτη με 10012 HIV οροθετικούς ασθενείς, μόνο το 23% είχε ομαλοποιήσει το λόγο CD4/CD8 στο τέλος του χρόνου παρακολούθησης (Caby et al., 2017).

Ο λόγος CD4/CD8 δεν βρέθηκε να είναι σημαντικός προγνωστικός παράγοντας για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE λαμβάνοντας υπόψη τις τρέχουσες CD4 τιμές. Το εύρημα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα μιας Γαλλικής προοπτικής μελέτης με 1281 HIV οροθετικοί ασθενείς, στην οποία δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ του χαμηλού λόγου CD4/CD8 και των μη σχετιζόμενων με το AIDS νοσημάτων όταν οι CD4 μετρήσεις είχαν ληφθεί υπόψη στο μοντέλο (Hema et al., 2016).

Υπάρχουν και αρκετές μελέτες οι οποίες έχουν αντίθετα αποτελέσματα με το παραπάνω εύρημα, θεωρώντας το λόγο CD4/CD8 έναν σημαντικό δείκτη κινδύνου για τα μη σχετιζόμενα με το AIDS νοσήματα (Mussini et al., 2015, Serrano-Villar, Pérez-Elías et al., 2014, Serrano-Villar, Sainz et al., 2014, Trickey et al., 2017). Συγκεκριμένα, σε μια Ισπανική μελέτη ασθενών – μαρτύρων με 407 HIV οροθετικούς ασθενείς βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του λόγου CD4/CD8 και των μη σχετιζόμενων με το AIDS νοσημάτων, ανεξαρτήτως των CD4 μετρήσεων και άλλων προγνωστικών παραγόντων (Serrano-Villar, Pérez-Elías et al., 2014). Στην Ιταλική μελέτη παρατήρησης των Mussini και συν, χαμηλές τιμές του λόγου CD4/CD8 σχετιζόνταν σημαντικά με την εμφάνιση μη σχετιζόμενων με το AIDS νοσημάτων και, πιο συγκεκριμένα, οι ασθενείς με τιμές μικρότερες του 0.3 είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν ένα τέτοιο νόσημα (Mussini et al., 2015).

Η ανάλυση ευαισθησίας με ανταγωνιστικούς κινδύνους έδειξε ότι ο λόγος CD4/CD8 ήταν σημαντικός προγνωστικός παράγοντας ακόμη και μετά από έλεγχο για την τρέχουσα τιμή των CD4 λεμφοκυττάρων, για καρδιαγγειακά ή νεφρικά νοσήματα ή μη σχετιζόμενες με το AIDS κακοήθειες. Το αποτέλεσμα αυτό συμβαδίζει με το αποτέλεσμα μιας Αμερικάνικης μελέτης με 2006 HIV οροθετικούς ασθενείς, στην οποία ο λόγος CD4/CD8 σχετιζόταν με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Συγκεκριμένα, χαμηλές τιμές του λόγου CD4/CD8 σχετιζόνταν με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακού νοσήματος (Castilho et al., 2016). Σε άλλες μελέτες, χαμηλές τιμές του λόγου CD4/CD8 συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σοβαρών βακτηριακών λοιμώξεων (Collin et al., 2016), πνευμονικού εμφυσημάτος (Triplette et al., 2017) και λεμφώματος Hodgkin (Clifford et al., 2009).

Συμπερασματικά, μόνο ένα μικρό ποσοστό των HIV οροθετικών ασθενών καταφέρνει να ομαλοποιήσει το λόγο CD4/CD8 και, επομένως, η ολική επαναφορά του στα φυσιολογικά επίπεδα συμβαίνει σπάνια. Επιπρόσθετα, χαμηλές τιμές του λόγου CD4/CD8 συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών ή νεφρικών νοσημάτων ή μη σχετιζόμενων με το AIDS κακοηθειών, γεγονός που καθιστά το λόγο CD4/CD8 ένα χρήσιμο δείκτη για την ανίχνευση των ασθενών που έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης τέτοιων νοσημάτων και οι οποίοι θα χρειάζονται πιο συστηματική παρακολούθηση.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Ο λόγος CD4/CD8 αποτελεί αντανάκλαση της υγείας του ανοσοποιητικού συστήματος στο γενικό πληθυσμό. Στους HIV οροθετικούς, ο λόγος αυτός αντιστρέφεται (τιμές < 1) και, σε πολλές περιπτώσεις, η ομαλοποίηση του αποτυγχάνεται, ακόμα και μετά από αρκετά χρόνια λήψης αποτελεσματικής αντιρετροϊκής θεραπείας. Επιπρόσθετα, χαμηλές τιμές του λόγου CD4/CD8 έχουν συνδεθεί με υψηλά ποσοστά νοσηρότητας και θνησιμότητας. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της μακροχρόνιας εξέλιξης του λόγου CD4/CD8 σε HIV οροθετικούς μετά την έναρξη της cART. Παράλληλα θα αξιολογηθεί η σχέση των διαχρονικών επιπέδων του λόγου CD4/CD8 με τη θνησιμότητα και τη σχετιζόμενη και μη σχετιζόμενη με το AIDS νοσηρότητα.

Μεθοδολογία: Τα δεδομένα για τους HIV οροθετικούς προήλθαν από την πολυκεντρική προοπτική μελέτη AMACS. Συμπεριλήφθηκαν HIV οροθετικοί ασθενείς υπό cART, την οποία ξεκίνησαν μετά το 2000. Για τη μακροχρόνια εξέλιξη του λόγου CD4/CD8 χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα μεικτών επιδράσεων με λογαριθμισμένο το λόγο και το χρόνο κατά διαστήματα γραμμικό με κόμβους σε δύο προκαθορισμένα σημεία, στους 3 και 48 μήνες. Για τη διερεύνηση της προγνωστικής αξίας των επιπέδων του λόγου CD4/CD8 όσον αφορά τη θνησιμότητα και τη νοσηρότητα μετά την έναρξη της cART, χρησιμοποιήθηκαν παραγοντικά μοντέλα αναλογικών κινδύνων Cox, λαμβάνοντας υπόψη το λόγο ως χρονικά μεταβαλλόμενη μεταβλητή. Επιπλέον, έγινε ανάλυση ευαισθησίας με ανταγωνιστικούς κινδύνους.

Αποτελέσματα: Από τους 10275 εγγεγραμμένους HIV οροθετικούς στη βάση δεδομένων της AMACS, 2868 συμπεριλήφθηκαν τελικά στην ανάλυση με διάμεση ηλικία τα 36 έτη, το μεγαλύτερο ποσοστό, 85.39% να είναι άνδρες και ένα 66% να είναι ομοφυλόφιλοι άνδρες. Ο διάμεσος λόγος CD4/CD8 τη στιγμή έναρξης της cART ήταν 0.29. Από την έναρξη της cART, οι τιμές του λόγου CD4/CD8 παρουσιάζουν συνεχόμενη αύξηση καθόλη τη διάρκεια της παρακολούθησης των ασθενών, αλλά οι τιμές αυτές παραμένουν μικρότερες του 1. Ο λόγος CD4/CD8 δεν ήταν σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE, σταθμίζοντας για τις μετρήσεις CD4. Όμως, η ανάλυση ευαισθησίας έδειξε ότι ο λόγος CD4/CD8 ήταν παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακά ή νεφρικά

νοσήματα ή μη σχετιζόμενες με το AIDS κακοήθειες, με τιμές του λόγου > 0.80 να δηλώνουν μειωμένο κίνδυνο συγκεκριμένης αιτίας κατά 55% για εμφάνιση τέτοιων νοσημάτων (HR = 0.45, p-value = 0.004).

Συμπεράσματα: Ένα μικρό ποσοστό των HIV οροθετικών ασθενών καταφέρνει να ομαλοποιήσει το λόγο CD4/CD8 και, επομένως, η ολική επαναφορά του στα φυσιολογικά επίπεδα συμβαίνει σπάνια. Επιπλέον, χαμηλές τιμές του λόγου CD4/CD8 συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών ή νεφρικών νοσημάτων, γεγονός που καθιστά το λόγο CD4/CD8 ένα χρήσιμο δείκτη για την ανίχνευση των ασθενών που έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης τέτοιων νοσημάτων.

ABSTRACT

Background: CD4/CD8 ratio has been identified as a valuable marker of the health of immune system in the general population. In HIV-positive people, this ratio is reversed (values < 1) and, in many cases, its normalization fails, even after several years of effective antiretroviral treatment. Furthermore, low values of CD4/CD8 ratio have been associated with high rates of morbidity and mortality. The aim of this study is to investigate the long-term evolution of the CD4/CD8 ratio in HIV positive patients after the cART initiation. At the same time, the association of levels of CD4 / CD8 ratio in time with mortality, AIDS related and non-AIDS related morbidity will be assessed.

Methodology: Data for HIV positives were derived from the multicenter cohort study AMACS. Adult HIV positive patients under cART, which started after 2000, were included in the analysis. Mixed effects models were used to see the long-term evolution of the CD4/CD8 ratio, using log-transformed ratio and time cut at two points (linear splines), 3 and 48 months. To investigate whether CD4 / CD8 ratio is a predictor of mortality and morbidity after cART initiation, Cox models were used, taking the ratio into account as a time-varying variable. In addition, sensitivity analysis was performed with competitive risks.

Results: Out of the 10275 HIV positive registered in the AMACS database, 2868 were finally included in the analysis, with median age of 36 years, 85.39% being male and 66% being homosexual. The median CD4/CD8 ratio at the time of cART initiation was 0.29. Since the start of the cART, the CD4/CD8 ratio has been increasing throughout the whole period of follow-up, but these values remained below 1. The CD4/CD8 ratio was not a significant risk factor of the first occurrence of AIDS/DEATH or SNAE, adjusted for the CD4 counts. However, the sensitivity analysis showed that the CD4/CD8 ratio was associated with the risk of cardiovascular or renal disease or non – AIDS defining malignancies, with values of ratio greater than 0.80 to indicate a 55% lower cause-specific risk of developing such diseases (HR = 0.45, p-value = 0.004).

Conclusions: A small proportion of HIV positive patients manage to normalize the CD4/CD8 ratio and, therefore, its overall restoration is rare. In addition, low values of CD4/CD8 ratio are associated with an increased risk of cardiovascular or renal disease events or non – AIDS

defining malignancies, making the CD4/CD8 ratio a useful indicator for detecting patients at an increased risk of developing such diseases.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

- Π1: Μοντέλο μεικτών επιδράσεων πρόβλεψης της μακροχρόνιας εξέλιξης του λόγου CD4/CD8.

Outcome variable: log_ratio, n=32725

Covariate	Coef.	Std. Err.	P>z	95% Conf. Interval
Mtime: (.,3) per unit	0.179	0.003	<0.001	(0.172 to 0.185)
Mtime: (3,48) per unit	0.011	0.000	<0.001	(0.010 to 0.011)
Mtime: (48,.) per unit	0.000	0.000	0.806	(-0.001 to 0.001)
Constant	-1.328	0.016	<0.001	(-1.359 to -1.298)
Constant	-1.964	0.022	<0.001	(-2.007 to -1.921)
Constant	-4.372	0.021	<0.001	(-4.414 to -4.330)
Constant	-4.715	0.038	<0.001	(-4.790 to -4.640)
Constant	-0.220	0.014	<0.001	(-0.248 to -0.191)
Constant	0.113	0.032	<0.001	(0.050 to 0.175)
Constant	-0.137	0.043	0.001	(-0.222 to -0.053)
Constant	-0.543	0.025	<0.001	(-0.592 to -0.494)
Constant	-0.206	0.040	<0.001	(-0.284 to -0.127)
Constant	-0.581	0.029	<0.001	(-0.638 to -0.524)
Constant	-0.073	0.038	0.055	(-0.148 to 0.002)
Constant	-1.295	0.005	<0.001	(-1.304 to -1.286)

Πολυπαραγοντικά μοντέλα αναλογικών κινδύνων Cox για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE.

- Π2: Πολυπαραγοντικά μοντέλα Cox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE με το λόγο CD4/CD8 ως λογάριθμο.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz. Ratio	Std. Err	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.040	0.005	<0.001	(1.030 to 1.050)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			
Int/Fus/Mat HAART	0.516	0.217	0.116	(0.226 to 1.177)
Boosted PI	1.368	0.163	0.009	(1.082 to 1.729)
Infmode				
MSM*	1			
HS	1.165	0.141	0.207	(0.919 to 1.476)
IDU	1.313	0.290	0.219	(0.851 to 2.025)
Logratio				
per unit	0.585	0.037	<0.001	(0.517 to 0.662)

* Baseline category

- Π3: Πολυπαραγοντικά μοντέλα Cox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE με τις τιμές των CD4 ως τετραγωνική ρίζα.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz. Ratio	Std. Err.	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.038	0.005	<0.001	(1.028 to 1.047)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			
Int/Fus/Mat HAART	0.549	0.231	0.155	(0.241 to 1.254)
Boosted PI	1.311	0.156	0.023	(1.038 to 1.655)
Infmode				
MSM*	1			
HS	0.999	0.122	0.993	(0.787 to 1.268)
IDU	1.129	0.251	0.586	(0.730 to 1.745)
Sqrtcd4				
per unit	0.901	0.009	<0.001	(0.884 to 0.918)

* Baseline category

- Π4: Πολυπαραγοντικά μοντέλα Cox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH ή SNAE με το λόγο CD4/CD8 ως λογάριθμο και τις τιμές των CD4 ως τετραγωνική ρίζα.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz. Ratio	Std. Err.	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.038	0.005	<0.001	(1.028 to 1.047)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			
Int/Fus/Mat HAART	0.548	0.231	0.153	(0.240 to 1.251)
Boosted PI	1.306	0.156	0.026	(1.033 to 1.651)
Infmode				
MSM*	1			
HS	1.001	0.122	0.993	(0.788 to 1.271)
IDU	1.129	0.251	0.586	(0.730 to 1.745)
Sqrtcd4				
per unit	0.904	0.012	<0.001	(0.880 to 0.928)
Logratio				
per unit	0.971	0.088	0.748	(0.812 to 1.161)

* Baselinecategory

Πολυπαραγοντικά μοντέλα Cox ανταγωνιστικών κινδύνων με το λόγο CD4/CD8 ως κατηγορική μεταβλητή και τις τιμές των CD4 ως τετραγωνική ρίζα.

- Π5: Μοντέλο Cox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση AIDS/DEATH με ανταγωνιστικούς κινδύνους την πρώτη εμφάνιση CVD ή NADM ή LIVER ή RENAL ή NADD.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz. Ratio	Std. Err.	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.011	0.009	0.206	(0.994 to 1.028)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			
Int/Fus/Mat HAART	0.258	0.263	0.183	(0.035 to 1.894)
Boosted PI	1.190	0.250	0.408	(0.788 to 1.797)
Infmode				
MSM*	1			
HS	1.048	0.211	0.816	(0.707 to 1.554)
IDU	0.339	0.176	0.038	(0.123 to 0.940)

Sqrtcd4 per unit	0.842	0.015	<0.001 (0.813 to 0.871)
Ratio			
<0.8*	1		
>=0.8	0.522	0.253	0.181 (0.202 to 1.352)

* Baseline category

- Π6: Μοντέλο Cox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση CVD με ανταγωνιστικούς κινδύνους AIDS/DEATH ή NADM ή LIVER ή RENAL ή NADD.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz.Ratio	Std.Err.	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.070	0.010	<0.001	(1.050 to 1.091)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			
Int/Fus/Mat HAART	0.878	0.650	0.860	(0.205 to 3.750)
Boosted PI	1.652	0.408	0.042	(1.018 to 2.680)
Infmode				
MSM*	1			
HS	1.053	0.267	0.837	(0.641 to 1.730)
IDU	2.353	0.995	0.043	(1.028 to 5.387)
Sqrtcd4				
per unit	0.989	0.021	0.609	(0.949 to 1.031)
Ratio				
<0.8*	1			
>=0.8	0.467	0.152	0.019	(0.246 to 0.884)

* Baseline category

- Π7: Μοντέλο Cox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση NADM με ανταγωνιστικούς κινδύνους AIDS/DEATH ή CVD ή LIVER ή RENAL ή NADD.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz.Ratio	Std. Err.	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.034	0.016	0.033	(1.003 to 1.066)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			
Int/Fus/Mat HAART	0.900	0.947	0.920	(0.114 to 7.075)

Boosted PI	1.547	0.579	0.244	(0.743 to 3.221)
Infmode				
MSM*	1			
HS	0.899	0.359	0.790	(0.411 to 1.968)
IDU	1.471	0.938	0.545	(0.422 to 5.136)
Sqrtcd4				
per unit	0.959	0.030	0.182	(0.901 to 1.020)
Ratio				
<0.8*	1			
>=0.8	0.492	0.264	0.187	(0.172 to 1.410)

* Baseline category

- Π8: Μοντέλο Cox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση LIVER με ανταγωνιστικούς κινδύνους AIDS/DEATH ή CVD ή NADM ή RENAL ή NADD.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz.Ratio	Std.Err.	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.002	0.020	0.936	(0.963 to 1.042)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			
Int/Fus/Mat HAART	1.616	1.743	0.656	(0.195 to 13.370)
Boosted PI	1.687	0.776	0.255	(0.685 to 4.155)
Infmode				
MSM*	1			
HS	1.247	0.576	0.632	(0.505 to 3.082)
IDU	0.000	.	.	(. to .)
Sqrtcd4				
per unit	0.958	0.038	0.280	(0.885 to 1.036)
Ratio				
<0.8*	1			
>=0.8	2.289	1.213	0.118	(0.810 to 6.468)

* Baseline category

- Π9: Μοντέλο Cox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση RENAL με ανταγωνιστικούς κινδύνους AIDS/DEATH ή CVD ή NADM ή LIVER ή NADD.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz.Ratio	Std.Err.	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.059	0.025	0.016	(1.011 to 1.109)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			(. to .)
Int/Fus/Mat HAART	0.000	.	.	(. to .)
Boosted PI	1.527	0.952	0.498	(0.450 to 5.185)
Infmode				
MSM*	1			
HS	1.531	0.928	0.482	(0.467 to 5.023)
IDU	0.000	.	.	(. to .)
Sqrtcd4				
per unit	0.946	0.052	0.305	(0.849 to 1.052)
Ratio				
<0.8*	1			
>=0.8	0.262	0.292	0.229	(0.030 to 2.318)

- Π10: Μοντέλο Cox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση NADD με ανταγωνιστικούς κινδύνους AIDS/DEATH ή CVD ή RENAL ή LIVER ή NADM.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz.Ratio	Std.Err.	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.054	0.011	<0.001	(1.033 to 1.076)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			
Int/Fus/Mat HAART	0.383	0.392	0.348	(0.052 to 2.842)
Boosted PI	0.871	0.218	0.582	(0.534 to 1.423)
Infmode				
MSM*	1			
HS	0.770	0.214	0.347	(0.446 to 1.329)
IDU	2.933	1.105	0.004	(1.401 to 6.139)
Sqrtcd4				
per unit	0.874	0.020	<0.001	(0.836 to 0.914)
Ratio				
<0.8*	1			
>=0.8	1.584	0.490	0.137	(0.864 to 2.903)

* Baseline category

- Π11: ΜοντέλοCox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση CAD/RENAL με ανταγωνιστικούς κινδύνους AIDS/DEATH ή NADM ή LIVER ή NADD.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz.Ratio	Std.Err.	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.069	0.010	<0.001	(1.050 to 1.087)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			
Int/Fus/Mat HAART	0.759	0.559	0.708	(0.179 to 3.215)
Boosted PI	1.637	0.376	0.032	(1.044 to 2.567)
Infmode				
MSM*	1			
HS	1.117	0.260	0.636	(0.707 to 1.763)
IDU	2.003	0.835	0.096	(0.884 to 4.537)
Sqrtcd4				
per unit	0.983	0.019	0.389	(0.946 to 1.022)
Ratio				
<0.8*	1			
>=0.8	0.444	0.138	0.009	(0.241 to 0.817)

* Baseline category

- Π12: Μοντέλο Cox ανταγωνιστικών κινδύνων για την πρώτη εμφάνιση CAD/RENAL/NADM με ανταγωνιστικούς κινδύνους AIDS/DEATH ή LIVER ή NADD.

Survival time: surv_stop_time
failure indicator: status, n=30954

Covariate	Haz.Ratio	Std.Err.	P>z	95% Conf. Interval
Age				
per unit	1.059	0.008	<0.001	(1.044 to 1.076)
Type of HAART				
NNRTI HAART*	1			
Int/Fus/Mat HAART	0.800	0.483	0.712	(0.245 to 2.610)
Boosted PI	1.612	0.315	0.015	(1.099 to 2.364)
Infmode				
MSM*	1			
HS	1.056	0.212	0.784	(0.713 to 1.566)
IDU	1.832	0.640	0.083	(0.925 to 3.632)

Sqrtcd4 per unit Ratio	0.976	0.016	0.149	(0.945 to 1.009)
<0.8*	1			
>=0.8	0.458	0.123	0.004	(0.270 to 0.776)

* Baseline category

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

AIDSinfo. HIV Treatment: The Basics Understanding HIV/AIDS. [online] Available at: <https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/fact-sheets/21/51/hiv-treatment--the-basics> [Accessed 8 Aug. 2018].

Aidsmap.com. A to Z of tests - CD4/CD8 ratio. [online] Available at: <http://www.aidsmap.com/CD4CD8-ratio/page/1733224/> [Accessed 12 Aug. 2018].

Aidsmap.com. CD4, viral load & other tests - Viral load. [online] Available at: <http://www.aidsmap.com/Viral-load/page/1327496/> [Accessed 12 Aug. 2018].

Aidsmap.com. Factsheet CD4 cell counts. [online] Available at: <http://www.aidsmap.com/CD4-cell-counts/page/1044596/> [Accessed 12 Aug. 2018].

Amadori, A., Zamarchi, R., De Silvestro, G., Forza, G., Cavatton, G., Danieli, G., Clementi, M. and Chieco-Bianchi, L. (1995). Genetic control of the CD4/CD8 T-cell ratio in humans. *Nature Medicine*, 1(12), pp.1279-1283.

Austin, P., Lee, D. and Fine, J. (2016). Introduction to the Analysis of Survival Data in the Presence of Competing Risks. *Circulation*, 133(6), pp.601-609.

AVERT. How HIV infects the body and the lifecycle of HIV. [online] Available at: <https://www.avert.org/about-hiv-aids/how-infects-body> [Accessed 3 Aug. 2018].

Babiker, A., Emery, S., Fätkenheuer, G., Gordin, F., Grund, B., Lundgren, J., Neaton, J., Pett, S., Phillips, A., Touloumi, G. and Vjecha, M. (2012). Considerations in the rationale, design and methods of the Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment (START) study. *Clinical Trials: Journal of the Society for Clinical Trials*, 10(1_suppl), pp.S5-S36.

Barre-Sinoussi, F., Chermann, J., Rey, F., Nugeyre, M., Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C., Axler-Blin, C., Vezinet-Brun, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W. and Montagnier, L. (1983). Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, 220(4599), pp.868-871.

Bewick, V., Cheek, L., Ball, J., (2004). Statistics review 12: Survival analysis. *Crit Care*. 8(5), pp.389–394.

Bruno G, Saracino A, Monno L, Angarano G. (2017). The revival of an "old" marker: CD4/CD8 ratio. *AIDS Rev*. 19(2), pp.81-88.

Caby, F. (2017). CD4+/CD8+ ratio restoration in long-term treated HIV-1-infected individuals. *AIDS*, 31(12), pp.1685-1695.

Carpenter, C. (1996). Antiretroviral Therapy for HIV Infection in 1996. *JAMA*, 276(2), p.146.

Castilho, J., Shepherd, B., Koethe, J., Turner, M., Bebawy, S., Logan, J., Rogers, W., Raffanti, S. and Sterling, T. (2016). CD4+/CD8+ ratio, age, and risk of serious noncommunicable diseases in HIV-infected adults on antiretroviral therapy. *AIDS*, 30(6), pp.899-908.

Cdc.gov. About HIV/AIDS | HIV Basics | HIV/AIDS | CDC. [online] Available at: <https://www.cdc.gov/hiv/basics/whatishiv.html> [Accessed 3 Aug. 2018].

Cihlar, T. and Fordyce, M. (2016). Current status and prospects of HIV treatment. *Current Opinion in Virology*, 18, pp.50-56.

Clifford, G., Rickenbach, M., Lise, M., Dal Maso, L., Battegay, M., Bohlius, J., Boffi El Amari, E., Karrer, U., Jundt, G., Bordoni, A., Ess, S. and Franceschi, S. (2009). Hodgkin lymphoma in the Swiss HIV Cohort Study. *Blood*, 113(23), pp.5737-5742.

Collin, A., Le Marec, F., Vandenhende, M., Lazaro, E., Duffau, P., Cazanave, C., Gérard, Y., Dabis, F., Bruyand, M. and Bonnet, F. (2016). Incidence and Risk Factors for Severe Bacterial Infections in People Living with HIV. ANRS CO3 Aquitaine Cohort, 2000–2012. PLOS ONE, 11(4), p.e0152970.

Diggle, P. (2013). Analysis of longitudinal data. Oxford: Oxford University Press. pp.1-3

De Salvador-Guillouët, F., Sakarovitch, C., Durant, J., Risso, K., Demonchy, E., Roger, P. and Fontas, E. (2015). Antiretroviral Regimens and CD4/CD8 Ratio Normalization in HIV-Infected Patients during the Initial Year of Treatment: A Cohort Study. PLOS ONE, 10(10), p.e0140519.

Despa, S. What is Survival Analysis?. [online] Cscu.cornell.edu. Available at: <https://www.cscu.cornell.edu/news/statnews/stnews78.pdf> [Accessed 18 Aug. 2018].

Detry, M. and Ma, Y. (2016). Analyzing Repeated Measurements Using Mixed Models. JAMA, 315(4), p.407.

El.wikipedia.org. AIDS. [online] Available at: <https://el.wikipedia.org/wiki/AIDS#AIDS> [Accessed 3 Nov. 2018].

En.wikipedia.org. HIV. [online] Available at: <https://en.wikipedia.org/wiki/HIV> [Accessed 11 Aug. 2018].

En.wikipedia.org. Linear interpolation. [online] Available at: https://en.wikipedia.org/wiki/Linear_interpolation [Accessed 18 Aug. 2018].

En.wikipedia.org. Management of HIV/AIDS. [online] Available at: https://en.wikipedia.org/wiki/Management_of_HIV/AIDS [Accessed 9 Sep. 2018].

Fitzmaurice, G. (2009). Longitudinal data analysis. Boca Raton: CRC Press. p. 3-8

Fitzmaurice, G., Laird, N. and Ware, J. (2011). Applied Longitudinal Analysis. Hoboken: Wiley. p. 187-199.

Gallo, R., Sarin, P., Gelmann, E., Robert-Guroff, M., Richardson, E., Kalyanaraman, V., Mann, D., Sidhu, G., Stahl, R., Zolla-Pazner, S., Leibowitch, J. and Popovic, M. (1983). Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, 220(4599), pp.865-867.

Greene, W. (2007). A history of AIDS: Looking back to see ahead. *European Journal of Immunology*, 37(S1), pp.S94-S102.

Guihot, A., Bourgarit, A., Carcelain, G. and Autran, B. (2011). Immune reconstitution after a decade of combined antiretroviral therapies for human immunodeficiency virus. *Trends in Immunology*, 32(3), pp.131-137.

Hema, M., Ferry, T., Dupon, M., Cuzin, L., Verdon, R., Thiébaud, R., Protopopescu, C., Leport, C., Raffi, F. and Le Moing, V. (2016). Low CD4/CD8 Ratio Is Associated with Non AIDS-Defining Cancers in Patients on Antiretroviral Therapy: ANRS CO8 (Aproco/Copilote) Prospective Cohort Study. *PLOS ONE*, 11(8), p.e0161594.

HIV.gov. HIV Basics. [online] Available at: <https://www.hiv.gov/hiv-basics> [Accessed 3 Aug. 2018].

HIV.gov. HIV Treatment Overview. [online] Available at: <https://www.hiv.gov/hiv-basics/staying-in-hiv-care/hiv-treatment/hiv-treatment-overview> [Accessed 8 Sep. 2018].

Hughes, R., May, M., Tilling, K., Taylor, N., Wittkop, L., Reiss, P., Gill, J., Schommers, P., Costagliola, D., Guest, J., Lima, V., d'Arminio Monforte, A., Smith, C., Cavassini, M., Saag, M., Castilho, J. and Sterne, J. (2018). Long terms trends in CD4+ cell counts, CD8+ cell counts, and the CD4+. *AIDS*, 32(10), pp.1361-1367.

Keelpno.gr. ΚΕΕΛΠΝΟ > Νοσήματα / Θέματα Υγείας > Λοιμώδη Νοσήματα > HIV /AIDS & άλλα Σεξουαλικά Μεταδιδόμενα Νοσήματα > HIV / AIDS > HIV/AIDS FAQ. [online] Available at: <http://www.keelpno.gr/el-gr/νοσήματαθέματαυγείας/λοιμώδηνοσήματα/hivaidsάλλασεξουαλικάμεταδιδόμενανοσήματα/hivaids/hivaidsfaq.aspx#metadosi> [Accessed 4 Aug. 2018].

Kishore, J., Goel, M. and Khanna, P. (2010). Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. *International Journal of Ayurveda Research*, 1(4), p.274.

Leung, V., Gillis, J., Raboud, J., Cooper, C., Hogg, R., Loutfy, M., Machouf, N., Montaner, J., Rourke, S., Tsoukas, C. and Klein, M. (2013). Predictors of CD4:CD8 Ratio Normalization and Its Effect on Health Outcomes in the Era of Combination Antiretroviral Therapy. *PLoS ONE*, 8(10), p.e77665.

Mussini, C., Lorenzini, P., Cozzi-Lepri, A., Lapadula, G., Marchetti, G., Nicastri, E., Cingolani, A., Lichtner, M., Antinori, A., Gori, A. and Monforte, A. (2015). CD4/CD8 ratio normalisation and non-AIDS-related events in individuals with HIV who achieve viral load suppression with antiretroviral therapy: an observational cohort study. *The Lancet HIV*, 2(3), pp.e98-e106.

Nyamweya, S., Hegedus, A., Jaye, A., Rowland-Jones, S., Flanagan, K. and Macallan, D. (2013). Comparing HIV-1 and HIV-2 infection: Lessons for viral immunopathogenesis. *Reviews in Medical Virology*, 23(4), pp.221-240.

Peto, T. (1996). Surrogate markers in HIV disease. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 37(suppl B), pp.161-170.

Protocol: Coding Causes of Death in HIV, Version of protocol: Version 2.3. (2013). Copenhagen HIV Programme (CHIP).

Putter, H., Fiocco, M. and Geskus, R. (2007). Tutorial in biostatistics: competing risks and multi-state models. *Statistics in Medicine*, 26(11), pp.2389-2430.

Rich, J., Neely, J., Paniello, R., Voelker, C., Nussenbaum, B. and Wang, E. (2010). A practical guide to understanding Kaplan-Meier curves. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 143(3), pp.331-336.

Serrano-Villar, S., Pérez-Elías, M., Drona, F., Casado, J., Moreno, A., Royuela, A., Pérez-Molina, J., Sainz, T., Navas, E., Hermida, J., Quereda, C. and Moreno, S. (2014). Increased Risk of Serious Non-AIDS-Related Events in HIV-Infected Subjects on Antiretroviral Therapy Associated with a Low CD4/CD8 Ratio. *PLoS ONE*, 9(1), p.e85798.

Serrano-Villar, S., Sainz, T., Lee, S., Hunt, P., Sinclair, E., Shacklett, B., Ferre, A., Hayes, T., Somsouk, M., Hsue, P., Van Natta, M., Meinert, C., Lederman, M., Hatano, H., Jain, V., Huang, Y., Hecht, F., Martin, J., McCune, J., Moreno, S. and Deeks, S. (2014). HIV-Infected Individuals with Low CD4/CD8 Ratio despite Effective Antiretroviral Therapy Exhibit Altered T Cell Subsets, Heightened CD8+ T Cell Activation, and Increased Risk of Non-AIDS Morbidity and Mortality. *PLoS Pathogens*, 10(5), p.e1004078.

Serrano-Villar, S. and Deeks, S. (2015). CD4/CD8 ratio: an emerging biomarker for HIV. *The Lancet HIV*, 2(3), pp.e76-e77.

Taylor JM, Fahey JL, Detels R, Giorgi JV. (1989). CD4 percentage, CD4 number, and CD4:CD8 ratio in HIV infection: which to choose and how to use. *J Acquir Immune Defic Syndr.* (2)2, pp.114-24.

Torti, C., Prosperi, M., Motta, D., Digiambenedetto, S., Maggiolo, F., Paraninfo, G., Ripamonti, D., Cologni, G., Fabbiani, M., Caputo, S., Sighinolfi, L., Ladisa, N., El-Hamad, I., Quiros-Roldan, E. and Frank, I. (2012). Factors influencing the normalization of CD4+ T-cell count, percentage and CD4+/CD8+ T-cell ratio in HIV-infected patients on long-term suppressive antiretroviral therapy. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(5), pp.449-458.

Touloumi, G. and Hatzakis, A. (2000). Natural history of HIV-1 infection. *Clinics in Dermatology*, 18(4), pp.389-399.

Trickey, A., May, M., Schommers, P., Tate, J., Ingle, S., Guest, J., Gill, M., Zangerle, R., Saag, M., Reiss, P., Monforte, A., Johnson, M., Lima, V., Sterling, T., Cavassini, M., Wittkop, L., Costagliola, D., Sterne, J., Boulle, A., Stephan, C., Miro, J., Cavassini, M., Chêne, G., Costagliola, D., Dabis, F., Monforte, A., del Amo, J., Van Sighem, A., Vehreschild, J., Gill, J., Guest, J., Haerry, D., Hogg, R., Justice, A., Shepherd, L., Obel, N., Crane, H., Smith, C., Reiss, P., Saag, M., Sterling, T., Teira, R., Williams, M., Zangerle, R., Sterne, J., May, M., Ingle, S. and Trickey, A. (2017). CD4:CD8 Ratio and CD8 Count as Prognostic Markers for Mortality in Human Immunodeficiency Virus–Infected Patients on Antiretroviral Therapy: The Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration (ART-CC). *Clinical Infectious Diseases*, 65(6), pp.959-966.

Triplette, M., Attia, E., Akgün, K., Soo Hoo, G., Freiberg, M., Butt, A., Wongtrakool, C., Goetz, M., Brown, S., Graber, C., Huang, L. and Crothers, K. (2017). A Low Peripheral Blood CD4/CD8 Ratio Is Associated with Pulmonary Emphysema in HIV. *PLOS ONE*, 12(1), p.e0170857.

Vella, S., Schwartländer, B., Sow, S., Eholie, S. and Murphy, R. (2012). The history of antiretroviral therapy and of its implementation in resource-limited areas of the world. *AIDS*, 26(10), pp.1231-1241.

Weiss, R. (2005). *Modeling Longitudinal Data* (Springer Texts in Statistics). Springer

Who.int. WHO | World Health Organization. [online] Available at: <http://www.who.int/> [Accessed 12 Aug. 2018].

Zwiener, I., Blettner M, Hommel, G., (2011). Survival analysis: part 15 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int.* 108(10), pp.163-9.