

Влияние ВИЧ-инфекции и высокоактивной антиретровирусной терапии на биомаркеры воспаления в популяционной когорте женщин

Sheila M. Keating^{a,b}, Elizabeth T. Golub^e, Marek Nowicki^f, Mary Young^g,
Kathryn Anastos^h, Howard Crystalⁱ, Mardge H. Cohen^{j,k}, Jinbing Zhang^e,
Ruth M. Greenblatt^c, Seema Desai^k, Shiquan Wu^a, Alan L. Landay^k,
Stephen J. Gange^e, Philip J. Norris^{a,b,d}
для Women's Interagency HIV Study

Цель. ВИЧ вызывает воспалительный процесс, который может быть, по крайней мере частично, скорректирован с помощью высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ). Чтобы определить количественные и качественные изменения в системе цитокинов, мы сравнили уровни цитокинов в трех клинических группах: у больных, получивших ответ на ВААРТ (группа ВААРТ); больных, не получавших лечения; у не инфицированных ВИЧ.

Методы. Для выделения 32 цитокинов в ходе одномоментного популяционного исследования Women's Interagency HIV Study (межведомственное исследование ВИЧ-инфицированных женщин) был использован мультиплексный анализ. Исследуемые группы включали группу ВААРТ ($n = 17$); группу, не получавшую лечения ($n = 14$), и группу не инфицированных ВИЧ ($n = 17$).

Результаты. Между группами не получавших лечения ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-отрицательных выявлена разница в содержании нескольких цитокинов и хемокинов, включая повышение уровня интерферон-индуцированного протеина-10 (ИИП-10) и фактора некроза опухолей- α (ФНО- α) и снижение уровня интерлейкина-12 (p40) [ИЛ-12 (p40)], ИЛ-15 и фактора роста фибробластов-2 (ФРФ-2) в группе, не получавшей лечения. Уровни биомаркеров в группе ВААРТ были близки к таковым в группе неинфицированных участников, за исключением ФНО- α и ФРФ-2. Вторичный анализ объединенной группы ВААРТ и группы, не получавшей лечения, показал наличие выраженной положительной связи между уровнем ИИП-10 и вирусной нагрузкой и отрицательной связи между уровнем ИИП-10 и числом лимфоцитов CD4. Факторы роста (эндотелиальный фактор роста сосудов, эпидермальный фактор роста и ФРФ-2) положительно коррелировали с числом лимфоцитов CD4.

^a Blood Systems Research Institute, ^b Department of Laboratory Medicine, ^c Department of Pharmacy, ^d Department of Medicine, University of California, San Francisco, San Francisco, California, ^e Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, Maryland, ^f Keck School of Medicine of the University of Southern California, Los Angeles, California, ^g Georgetown University Medical Center, Washington, District of Columbia, ^h Albert Einstein College of Medicine, Bronx, ⁱ SUNY Downstate Medical Center, Brooklyn, New York, ^j Department of Medicine, Stroger Hospital, ^k Rush University Medical Center, Chicago, Illinois, USA.
Автор, ответственный за переписку: Philip J. Norris, Blood Systems Research Institute, 270 Masonic Avenue, San Francisco, CA 94118, USA.

Tel: +1 415 923 5769; fax: +1 415 567 5899; e-mail: pnorris@bloodsystems.org.

Получено 28 января 2011 г.; получено с поправками 14 апреля 2011 г.; принято в печать 9 мая 2011 г.

DOI:10.1097/QAD.0b013e3283489d1f

ISSN: 0269-9370 © 2011 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Сокращения: ELISA — твердофазный иммуноферментный анализ; HCV — вирус гепатита С; БХМ — белок хемотаксиса моноцитов; ВААРТ — высокоактивная антиретровирусная терапия; ГМ-КСФ — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; ИЛ — интерлейкин; ИИП — интерферон-индуцированный протеин; ИФН — интерферон; ЛПР — ложноположительный результат; МВБ — макрофагальный воспалительный белок; ФНО — фактор некроза опухолей; ФРФ — фактор роста фибробластов; ХВМ — хемокин, выделяемый макрофагами; ЭФР — эпидермальный фактор роста; ЭФРС — эндотелиальный фактор роста сосудов.

Выводы. Прогрессирование ВИЧ-инфекции без лечения связано со снижением уровня цитокинов, участвующих в поддержании гомеостаза Т-лимфоцитов (ИЛ-15) и детерминации их фенотипа (ИЛ-12), и с повышением уровня естественных медиаторов воспаления, таких как ИИП-10 и ФНО- α . На фоне применения ВААРТ состав цитокинов приближался к таковому у неинфицированных женщин. Выделение характерных особенностей состава цитокинов во всех трех группах может способствовать пониманию патогенеза ВИЧ-инфекции и прогнозированию ответа на лечение.

© 2011 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2011, 25:1823–1832

Ключевые слова: ВААРТ, ВИЧ, лимфоциты CD4, хемокины, цитокины.

Введение

ВИЧ-инфекция приводит к иммунодефициту, а в отсутствие антиретровирусной терапии в большинстве случаев — к развитию СПИДа в течение 10–11 мес.^{1,2} Скорость прогрессирования заболевания может быть различной. Факторы, лежащие в основе патогенеза ВИЧ-инфекции, еще до конца не изучены. При прогрессировании ВИЧ-инфекции отмечается более высокая вирусная нагрузка³ и повышение уровня активированных Т-лимфоцитов,^{3,4} включая ВИЧ-специфические Т-лимфоциты.⁵ Повышение уровня цитокинов при ВИЧ-инфекции может оказывать как положительное, так и отрицательное влияние на вирусную нагрузку и число лимфоцитов CD4. В исследованиях *in vitro* обнаружен ряд факторов, способствующих усилению репликации ВИЧ, в т. ч. фактор некроза опухоли- α (ФНО- α)^{6–8} и интерлейкин-2 (ИЛ-2).^{9,10} Напротив, некоторые цитокины вызывают снижение репликации ВИЧ в культуре тканей. К ним относятся интерферон- α (ИФН- α),^{11,12} ИФН- γ ^{6,12,13} и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ).¹³

В проведенных ранее исследованиях изучалась взаимосвязь между растворимыми маркерами воспаления и исходами заболевания при хронической ВНО- (вирус иммунодефицита обезьян) и ВИЧ-инфекции. В модели ВНО-инфекции при исследовании в терминальной стадии СПИДа не было обнаружено разницы в составе цитокинов между животными с быстрым и медленным прогрессированием заболевания, хотя у животных с энцефалитом отмечался более высокий уровень ИЛ-2 и ИЛ-6 по сравнению с теми, у кого поражение головного мозга отсутствовало.¹⁴ В проведенных недавно исследованиях патогенной и непатогенной инфекции у макаков резусов и африканских зеленых мартишек был выявлен ряд факторов, регуляция которых в этих моделях происходила по-разному.^{15–18} Предыдущие исследования у людей показали, что у больных с давней ВИЧ-инфекцией, как правило, повышается уровень ФНО- α .^{19–21} В крупной когорте ВИЧ-инфицированных мужчин уровни таких плазменных маркеров, как растворимые рецепторы ФНО- α II типа, ИЛ-2 (pИЛ-2R) и неоптерин, коррелировали друг с другом и в какой-то степени служили прогностическими факторами прогрессирования СПИДа независимо от числа лимфоцитов CD4 и вирусной нагрузки.²² Данные, полученные позже в исследовании SMART, показали, что повышение уровня С-реактивного белка, ИЛ-6 и D-димера

было связано с увеличением риска смерти в когорте, в которой большинство участников получали высокоактивную антиретровирусную терапию (ВААРТ).²³

Результаты приведенных выше исследований позволяют предположить наличие связи между растворимыми медиаторами воспаления и прогрессированием ВИЧ-инфекции. Нашей группой и другими исследователями с помощью недавно появившегося мультиплексного анализа цитокинов были выделены растворимые маркеры воспаления, регуляция уровня которых нарушается при острой ВИЧ-инфекции.^{24,25} Этот метод исследования мы применили у ВИЧ-серонегативных женщин и женщин с хронической ВИЧ-инфекцией. В ходе исследования было проведено количественное определение 32 растворимых иммунных маркеров и изучена их связь с клиническими проявлениями, вирусной нагрузкой и числом лимфоцитов CD4. Результаты этого исследования дают более полное представление о степени и, что более важно, масштабе поражения иммунной системы при отсутствии контроля над репликацией вирусов, а также показывают возможности ВААРТ в отношении коррекции системного воспаления, вызванного ВИЧ.

Методы

Участницы исследования

В настоящий анализ были включены женщины, принимающие участие в проходящем в настоящее время многоцентровом когортном исследовании Women's Interagency HIV Study (WIHS), посвященном изучению ВИЧ-инфекции у женщин в США, в которое больные набирались в 1994–1995 и 2001–2002 гг.^{28,29} Во время плановых визитов каждые полгода проводили опрос, объективное обследование и забор биологических образцов. Пациенты из группы без лечения ($n = 14$) не получали ранее антиретровирусной терапии. Вирусная нагрузка у них превышала 10 000 копий/мл по крайней мере в двух анализах, проведенных с перерывом 6 мес. В группе ВААРТ ($n = 17$) на фоне мощной терапии вирусная нагрузка была неопределяемой (< 80 копий/мл) в течение минимум 12 мес. Не инфицированные ВИЧ женщины в исследовании WIHS проходят то же обследование, что и ВИЧ-инфицированные. Серологическое обследование на ВИЧ проводится у них каждые 6 мес. В начале исследования осуществлялось серологиче-

ское обследование на гепатит С, у сероположительных женщин выполнялось количественное определение РНК HCV в плазме, чтобы отличить активную инфекцию от неактивной. Для настоящего исследования пациентки набирались из когорты WIHS (3766 женщин) так, чтобы в трех исследуемых группах (группе ВААРТ, группе без лечения и группе неинфицированных) были аналогичными такие исходные характеристики, как расовая принадлежность (афроамериканская или другая), возраст, индекс массы тела, HCV-статус, а также время наблюдения в когорте (в течение года).

Забор образцов крови

У каждой участницы брали по два образца крови: один — в начале и один — в конце изучаемого периода (т. е. периода неопределяемой вирусной нагрузки в группе ВААРТ и периода наиболее высокой виремии в группе, не получавшей лечения). Интервал между двумя анализами составлял в среднем 2,7, 3,3, и 2,9 года для группы неинфицированных женщин, группы ВААРТ и группы, не получавшей лечения, соответственно. У 3 участниц из группы ВААРТ в одном из двух образцов для исследования использовалась плазма крови. Эти образцы были исключены из анализа в связи с возможной разницей в содержании цитокинов между разными типами образцов (плазмой и сывороткой).

Мультиплексный анализ цитокинов и хемокинов

В образцах сыворотки с помощью высокочувствительного набора LincoPlex kit (Millipore, США) определяли ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12(p70), ИЛ-13, ИФН-γ, ГМ-КСФ и ФНО-α, а с помощью набора со стандартной чувствительностью Milliplex Map kit (Millipore) — эпидермальный фактор роста (ЭФР), эотаксин, фактор роста фибробластов (ФРФ-2), фракталкин, ИЛ-1α, ИЛ-1Rα, ИЛ-9, ИЛ-12(p40), ИЛ-15, ИЛ-17, интерферон-индуцированный протеин-10 (ИИП-10), белок хемотаксиса моноцитов-1 (БХМ-1), БХМ-3, хемокин, выделяемый макрофагами (ХВМ), макрофагальный воспалительный белок-1α (МВБ-1α), МВБ-1β, рИЛ-2Rα, ФНО-β и эндотелиальный фактор роста сосудов (ЭФРС) — все в соответствии с протоколами фирмы-производителя. Выстраивали две стандартные кривые, образцы анализировали в двух экземплярах. Образцы исследовались на анализаторе Labscan 100 analyzer (Luminex Corp., США)

с использованием программного обеспечения Bio-Plex manager 4.1 (Bio-Rad Life Science, США). Уровень ФРФ-2 определяли путем высокочувствительного твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA; R&D Systems, США) в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя.

Статистический анализ

У участниц, у которых имелись результаты исследования двух образцов (все, кроме 3 женщин из группы ВААРТ, о которых сказано выше), определяли средний уровень цитокинов в группе для каждого из двух моментов проведения анализа. Изучение связи уровня цитокинов с вирусной нагрузкой и числом лимфоцитов CD4 проводилось у каждой пациентки отдельно. Сравнение уровня цитокинов между группами выполнялось с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и теста статистически значимой разницы Тьюки. Различия характеристик участниц между группами оценивали с помощью ANOVA для непрерывных переменных и точного критерия Фишера для активной HCV-инфекции. Связь уровня цитокинов с вирусной нагрузкой и числом лимфоцитов CD4 анализировалась с помощью линейной регрессии. В анализе, включавшем показатели вирусной нагрузки, у женщин с неопределяемой вирусной нагрузкой эти значения принимались равными 40 копий/мл (половина нижней границы определения, равной 80 копий/мл). Перед началом анализа уровни цитокинов и значения вирусной нагрузки переводили в логарифмический вид из-за ненормального распределения данных. При вычислении *p* проводилась поправка на ложноположительные результаты (ЛПР) с помощью алгоритма Benjamini и Hochberg,³⁰ который чаще всего используется при анализе большого объема биологических данных. Результаты считались статистически значимыми при *p* < 0,05 и частоте ЛПР < 0,1. Все статистические анализы проводили с помощью программного обеспечения R/Bioconductor.

Результаты

Характеристика участниц исследования

Как и в когорте WIHS в целом, во всех трех группах (группе не инфицированных ВИЧ, группе ВААРТ и группе, не получавшей лечения) преобладали афроамериканки (табл. 1). Медиана возраста на момент за-

Таблица 1. Демографические и клинические характеристики 48 участниц исследования

	Группа ВИЧ-отрицательных	Группа ВААРТ	Группа, не получавшая лечения	<i>p</i>
Возраст, лет	35 (33–45)	40 (36–46)	38 (34–44)	0,3
Раса (% негроидной расы)	82 %	82 %	79 %	1,0
Индекс массы тела	28,8 (24,2–36,3)	29 (26,7–32,7)	31,9 (24,8–39,4)	0,2
Потребители инъекционных наркотиков, по данным самоотчета	3 (18 %)	3 (18 %)	1 (7 %)	0,6
Антитела HCV+	4 (24 %)	6 (35 %)	2 (14 %)	0,4
РНК HCV+	3 (18 %)	3 (18 %)	0 (0 %)	0,2
Число лимфоцитов CD4, клетки/мкл	908 (703–1193)	841 (703–1042)	553 (381–756)	< 0,0001
Вирусная нагрузка, копии/мл		< 80	14 000 (6200–35 000)	Нет данных

Показатели в таблице приведены в виде медианы и межквартильного интервала, за исключением расы, которая представлена в виде процента пациентов негроидной расы. РНК HCV+ — наличие РНК HCV в крови на момент начала исследования.

бора образцов крови составила 35–40 лет и не имела статистически значимых различий между группами ($p = 0,3$; ANOVA). Медиана числа лимфоцитов CD4 была статистически значимо ниже в группе, не получавшей лечения, по сравнению с группами ВААРТ и неинфицированных женщин ($p < 0,001$; ANOVA). Разница в числе лимфоцитов CD4 между группой ВААРТ и группой неинфицированных женщин не была статистически значимой ($p > 0,05$; критерий Тьюки).

Изменения состава цитокинов наиболее выражены у женщин с вирусемией

Мультиплексные анализы, основанные на использовании гранул, применялись для определения 32 растворимых маркеров, включавших весь спектр про- и противовоспалительных медиаторов, хемотаксических факторов и факторов роста. Уровень большинства определяемых веществ (27 из 32) не имел статистически значимых различий между группами (табл. 2). Однако содержание 5 маркеров значительно отличалось в одной или обеих группах ВИЧ-инфицированных жен-

щин. По сравнению с женщинами, не инфицированными ВИЧ, у больных, не получавших лечения, отмечался значительно более высокий уровень медиаторов воспаления ФНО- α и ИИП-10, а уровень ИЛ-12(p40), ИЛ-15 и ФРФ-2 был значительно ниже (рис. 1). Содержание изучаемых веществ различалось также по уровню статистической значимости после проведения поправки на ЛПР методом пошагового понижения.³⁰

Одним из возможных вмешивающихся факторов могла быть продолжавшаяся активная репликация HCV, которая также могла стать причиной повышения уровня медиаторов воспаления. Сначала мы сравнили содержание цитокинов у РНК HCV-положительных и РНК HCV-негативных женщин в группах ВААРТ и неинфицированных ВИЧ. Уровень ИИП-10 был статистически значимо выше у женщин с HCV-вирусемией в обеих группах, а уровень ИЛ-10 был выше только у ВИЧ-отрицательных пациенток, положительных по РНК HCV ($p < 0,05$; ЛПР $< 0,1$). Чтобы устранить влияние этого фактора, был проведен повторный анализ полученных результатов с исключением 6 женщин, у кото-

Таблица 2. Уровень цитокинов в исследуемых группах

	Группа ВИЧ-отрицательных		Группа ВААРТ		Группа, не получавшая лечения	
	Медиана	МКИ	Медиана	МКИ	Медиана	МКИ
Провоспалительные/Т-лимфоциты						
ИЛ-1 α	38,6	1,6–134,0	1,6	1,6–75,0	1,6	1,6–1,6
ИЛ-1 β	0,1	0,1–0,7	0,1	0,1–0,1	0,1	0,1–0,1
ИЛ-2	2,8	0,3–8,6	0,3	0,1–0,5	0,3	0,1–1,3
ИЛ-6	3,3	2,1–5,8	2,2	1,0–5,1	2,2	1,2–4,8
ИЛ-7	7,2	5,0–9,3	8,8	5,7–9,7	7,6	5,4–13,9
ИЛ-8	22,8	6,3–50,1	13,7	6,4–22,4	11,4	7,1–20,7
ИЛ-9	6,8	1,6–80,6	1,6	1,6–5,9	2,1	1,6–19,4
ИЛ-12(p40)	67,2	3,6–244,0	1,6	1,6–93,9	1,6	1,6–1,6
ИЛ-12(p70)	0,2	0,1–2,7	0,5	0,1–1,2	0,1	0,1–0,2
ИЛ-15	5,8	3,8–32,1	5,3	2,7–5,9	1,6	1,6–2,7
ИЛ-17	6,4	2,0–58,7	8,2	1,6–45,1	1,6	1,6–2,5
ИФН- γ	1,8	0,1–3,4	0,2	0,1–0,5	0,1	0,1–1,1
ФНО-α	4,7	3,9–7,3	10,4	9,2–14,1	12,7	11,4–18,2
ФНО- β	1,6	1,6–11,1	1,6	1,6–1,6	1,6	1,6–1,6
ГМ-КСФ	1,6	0,6–3,3	0,2	0,1–1,3	0,2	0,1–1,3
Противовоспалительные/Th2						
ИЛ-1R α	8,2	1,6–75,3	1,6	1,6–10,4	1,6	1,6–24,5
pИЛ-2R α	23,5	1,6–53,1	77,8	55,8–189,0	46,8	4,3–120,0
ИЛ-4	0,2	0,1–5,8	0,3	0,1–0,3	0,3	0,1–8,9
ИЛ-5	0,1	0,1–0,5	0,1	0,1–0,3	0,2	0,1–0,5
ИЛ-10	6,4	3,4–12,0	7,5	3,3–9,7	12,1	6,0–16,0
ИЛ-13	2,7	1,3–10,2	0,3	0,2–5,3	1,1	0,1–8,1
Хемоаттрактанты						
ИИП-10	143	110–224	204	146–322	514	412–773
БХМ-1	411	307–560	552	393–675	541	445–633
БХМ-3	29,4	2,5–58,5	1,6	1,6–19,0	1,6	1,6–32,6
ХВМ	2570	1990–3460	3460	2910–4140	2720	2020–3060
МВБ-1 α	125,0	69,1–242,0	71,0	29,2–128,0	68,3	35,8–144,0
МВБ-1 β	74,0	52,3–195	82,0	60,3–140,0	56,1	48,9–78,1
Эотаксин	93,2	60,3–160,0	80,3	73,6–165,0	95,8	71,6–138,0
Фракталкин	35,6	1,6–278,0	64,7	1,6–400,0	1,6	1,6–50,1
Факторы роста						
ЭФРС	222	122–404	360	116–544	194	156–272
ЭФР	167	120–245	199	134–291	208	121–247
ФРФ-2	32,8	18,6–73,2	13,8	1,6–23,4	8,3	1,6–17,8

Значения, выделенные полужирным шрифтом, статистически значимо отличаются от показателей в группе не инфицированных ВИЧ ($p < 0,05$; ЛПР $< 0,1$).
МКИ — межквартильный интервал.

рых в начале исследования определялась РНК HCV в крови. В результате все связи, обнаруженные при первоначальном сравнении группы не инфицированных ВИЧ и группы без лечения, остались статистически значимыми ($p < 0,05$), хотя частота ЛПР превысила 0,1 для ассоциации ИЛ-12(40) и ИЛ-15 со статусом больных, не получавших лечения. В целом неконтролируемая репликация ВИЧ коррелировала с изменением уровня цитокинов и хемокинов, что приводило к нарушению воспалительного и иммунного ответов.

Уровень цитокинов у женщин, получающих эффективную ВААРТ, аналогичен, но не идентичен таковому у женщин, не инфицированных ВИЧ

Показано, что ВААРТ практически полностью корректирует воспаление, вызванное ВИЧ на уровне лимфоцитов CD4 и CD8.³¹ В ходе проведенных исследований было выявлено, что на фоне ВААРТ нарушения в составе ряда сывороточных маркеров уменьшаются, но не исчезают полностью,^{32,33} поэтому нам интересно было выяснить, затрагивают ли эти изменения другие растворимые медиаторы воспаления. В целом нами было обнаружено, что нарушения в составе растворимых медиаторов воспаления выражены меньше у больных, у которых достигнута супрессия вирусной репликации. При сравнении с группой неинфицированных женщин повышение уровня ФНО- α и снижения уровня ФРФ-2 были сильнее выражены в группе женщин, не получавших лечения. В группе ВААРТ уровни этих цитокинов были изменены значительно меньше, но все равно отличались от таковых в группе неинфицированных женщин (табл. 2; см. рис. 1). Статистическая значимость различий в уровнях ИИП-10, ИЛ-12(p40) и ИЛ-15, наблюдавшаяся при сравнении группы неинфицированных с группой, не получавшей лечения, отсутствовала при сравнении группы неинфицированных с группой ВААРТ.

При исключении из анализа РНК HCV-положительных участниц обнаруженные взаимосвязи сохранялись, за исключением того, что в группе ВААРТ наблюдался более низкий уровень ИИП-10 по сравнению с группой, не получавшей лечения, а ЛПР при сравнении уровня ФРФ-2 в группе ВААРТ и группе неинфицированных стал больше 0,1, хотя значение p оставалось меньше 0,05. Полученные результаты свидетельствуют о том, что хотя при подавлении репликации ВИЧ отмечаются менее выраженные изменения состава цитокинов, чем при отсутствии лечения, уровень таких цитокинов, как ФНО- α и ФРФ-2, все же не достигает значений, наблюдаемых у не инфицированных ВИЧ.

Связь между уровнем цитокинов и вирусной нагрузкой

Чтобы определить влияние репликации ВИЧ на цитокины, мы сравнили уровни изучаемых веществ в зависимости от количества копий РНК в плазме. Показатели цитокинов и вирусной нагрузки переводились в логарифмический вид, для каждого цитокина применялась линейная регрессия. В результате обнаружена связь пяти изучаемых веществ с вирусной нагрузкой, и среди них только уровень ИИП-10 был разным в группе неинфицированных и группе, не получавшей лечения ($p < 0,001$). Несмотря на то что уровень ИЛ-12(p40), ИЛ-15, ФНО- α и ФРФ-2 был повышен у женщин, не получавших лечения, их связи с вирусной нагрузкой выявлено не было (табл. 3). ИИП-10 был единственным фактором, показавшим положительную корреляцию с вирусной нагрузкой. Напротив, уровень ИЛ-17, ХВМ, МВБ-1 β и фракталкина имел обратную связь с вирусной нагрузкой (рис. 2, а). После исключения из анализа РНК HCV-положительных женщин все обнаруженные связи оставались статистически значимыми, кроме ХВМ, для которого частота ЛПР превысила 0,1. Кроме того, после исключения РНК HCV-положительных жен-

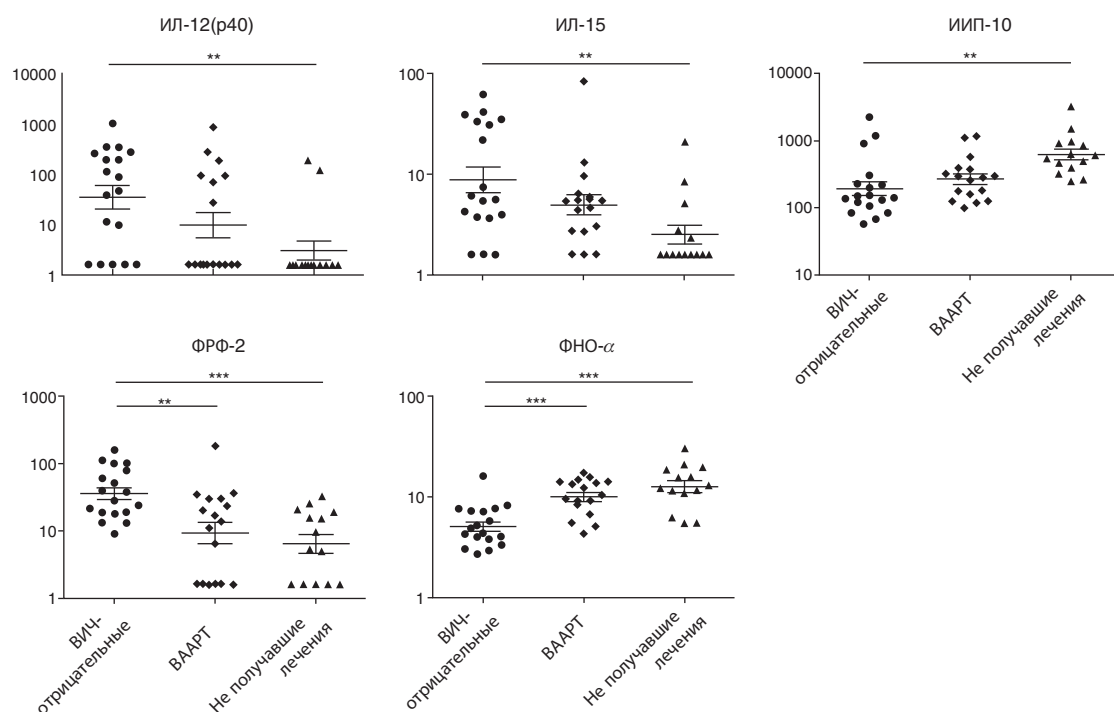


Рис. 1. Концентрация цитокинов в клинических группах. Показан уровень изучаемых веществ, который имел статистически значимые различия между группами. Горизонтальные линии обозначают средний уровень и стандартную ошибку среднего. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Таблица 3. Корреляция между уровнем цитокинов и вирусной нагрузкой

	Наклон кривой	<i>r</i> ²	<i>p</i> ^a	ЛПР
Провоспалительные/Т-лимфоциты				
ИЛ-1α	−0,18	0,07	0,05	0,2
ИЛ-1β	−0,02	0,003	0,7	0,9
ИЛ-2	0,01	0,001	0,9	1,0
ИЛ-6	0,005	0,0	0,9	1,0
ИЛ-7	0,01	0,005	0,6	0,9
ИЛ-8	−0,03	0,01	0,4	0,7
ИЛ-9	−0,01	0,001	0,8	1,0
ИЛ-12(p40)	−0,15	0,05	0,08	0,2
ИЛ-12(p70)	−0,12	0,07	0,04	0,2
ИЛ-15	−0,09	0,09	0,02	0,1
ИЛ-17	−0,17	0,13	0,005	0,04
ИФН-γ	0,06	0,01	0,4	0,8
ФНО-α	0,03	0,04	0,1	0,3
ФНО-β	−0,10	0,08	0,06	0,2
ГМ-КСФ	−0,05	0,009	0,5	0,7
Противовоспалительные/Th2				
ИЛ-1Rα	0,02	0,001	0,8	1,0
pИЛ-2Rα	−0,13	0,03	0,2	0,4
ИЛ-4	−0,05	0,003	0,7	0,9
ИЛ-5	0,02	0,002	0,7	0,9
ИЛ-10	0,08	0,08	0,03	0,1
ИЛ-13	−0,007	0,0	1,0	1,0
Хемоаттрактанты				
ИИП-10	0,14	0,26	< 0,001	0,002
БХМ-1	0,02	0,03	0,2	0,4
БХМ-3	0,001	0,0	1,0	1,0
ХВМ	−0,04	0,1	0,01	0,07
МВБ-1α	−0,09	0,009	0,5	0,7
МВБ-1β	−0,09	0,18	0,001	0,01
Эотаксин	−0,03	0,03	0,2	0,4
Фракталкин	−0,35	0,18	0,001	0,01
Факторы роста				
ЭФРС	−0,02	0,002	0,7	0,9
ЭФР	−0,14	0,09	0,02	0,1
ФРФ-2	−0,1	0,06	0,07	0,2

^a Для веществ, выделенных полужирным шрифтом, значения *p* оставались статистически значимыми после пошаговой поправки на ложноположительные результаты.

щин сохранялась статистически значимая положительная корреляция между вирусной нагрузкой и уровнем ИЛ-10 и отрицательная — между вирусной нагрузкой и ФРФ-2. Независимо от статуса HCV включение в анализ женщин, получавших ВААРТ, у которых вирусная нагрузка принималась равной половине порога определения (40 копий/мл), оказывало выраженное влияние на обнаруженные взаимосвязи. Поэтому мы также выполнили анализ, ограниченный только участницами, не получавшими лечения. Единственным цитокином, показавшим слабую положительную связь с вирусной нагрузкой, был ИФН-γ ($r^2 = 0,12$; $p = 0,044$). После коррекции эффекта множественных сравнений эта связь перестала быть статистически значимой. За исключением ИИП-10, цитокины и хемокины, уровень которых был статистически значимо связан с вирусной нагрузкой, отличались от цитокинов и хемокинов, показатели которых были разными в трех исследуемых группах. Наряду с повышением уровня ФНО-α и снижением уровня ФРФ-2 в группе ВААРТ по сравнению с группой неинфицированных (см. рис. 1) полученные результаты позволяют предположить, что виремия ВИЧ — не

единственный фактор, определяющий наличие разницы в содержании большинства цитокинов между тремя исследуемыми группами.

Связь между уровнем цитокинов и числом лимфоцитов CD4

Уровень вирусной репликации считается важным фактором, определяющим исход ВИЧ-инфекции, однако еще более значимо число лимфоцитов CD4 в периферической крови, которое указывает на степень иммунодефицита. Мы попытались определить, имеется ли связь между уровнем цитокинов и числом лимфоцитов CD4 у ВИЧ-инфицированных женщин. У двух из пяти изучаемых веществ (ИИП-10 и ФРФ-2), уровень которых был изменен у женщин, не получавших лечения, была обнаружена статистически значимая связь с числом лимфоцитов CD4 (табл. 4, рис. 2, *b*). Кроме того, у всех веществ, содержание которых было связано с уровнем вирусной нагрузки, выявлена также статистически значимая обратная связь с числом лимфоцитов CD4. Эта зависимость, по-видимому, служит отражением прогностической роли более высокой вирусной нагрузки для более низкого числа лимфоцитов CD4. К маркерам, обнаружившим статистически значимую корреляцию как с более низкой вирусной нагрузкой, так и с более высоким числом лимфоцитов CD4, относились ИЛ-17, ХВМ, МВБ-1β и фракталкин. Напротив, уровень ИИП-10 был связан с более высокой вирусной нагрузкой и более низким числом лимфоцитов CD4. Интересно, что число лимфоцитов CD4 было единственным изучавшимся клиническим показателем, который положительно коррелировал со всеми тремя факторами роста (ЭФРС, ЭФР и ФРФ-2). Чтобы определить, были ли какие-либо факторы связаны с числом лимфоцитов CD4 независимо от уровня вирусной нагрузки, мы повторили анализ только у больных, получавших ВААРТ (у всех у них вирусная нагрузка была ниже 80 копий/мл). В результате в группе ВААРТ выявлена корреляция МВБ-1β и ЭФРС с числом лимфоцитов CD4 ($p < 0,05$), хотя эта связь переставала быть статистически значимой после коррекции на эффект множественных сравнений (данные не приводятся). И наконец, ни одна из обнаруженных связей между числом лимфоцитов CD4 и уровнем воспалительных маркеров не изменилась после исключения из анализа РНК HCV-позитивных женщин.

Обсуждение

Настоящее исследование показало, что у больных с ВИЧ-инфекцией, не получавших лечения, уровень естественных провоспалительных модуляторов иммунной системы ФНО-α и ИИП-10 в сыворотке был выше, чем у неинфицированных участниц, что соответствует полиспецифическому иммунному ответу. Кроме того, у больных с хронической ВИЧ-инфекцией, не получавших лечения, уровень ИЛ-12(p40) и ИЛ-15, необходимый для работы и поддержания гомеостаза Т-лимфоцитов, был ниже, чем у неинфицированных женщин. По сравнению с женщинами, не получавшими лечения, у больных, проходивших ВААРТ, было меньше отличий в содержании цитокинов от такового у неинфицированных участниц (два и пять изучаемых веществ соответственно), хотя содержание ФНО-α и ФРФ-2 все равно отличалось. Наконец, хотя, как и ожидалось, со-

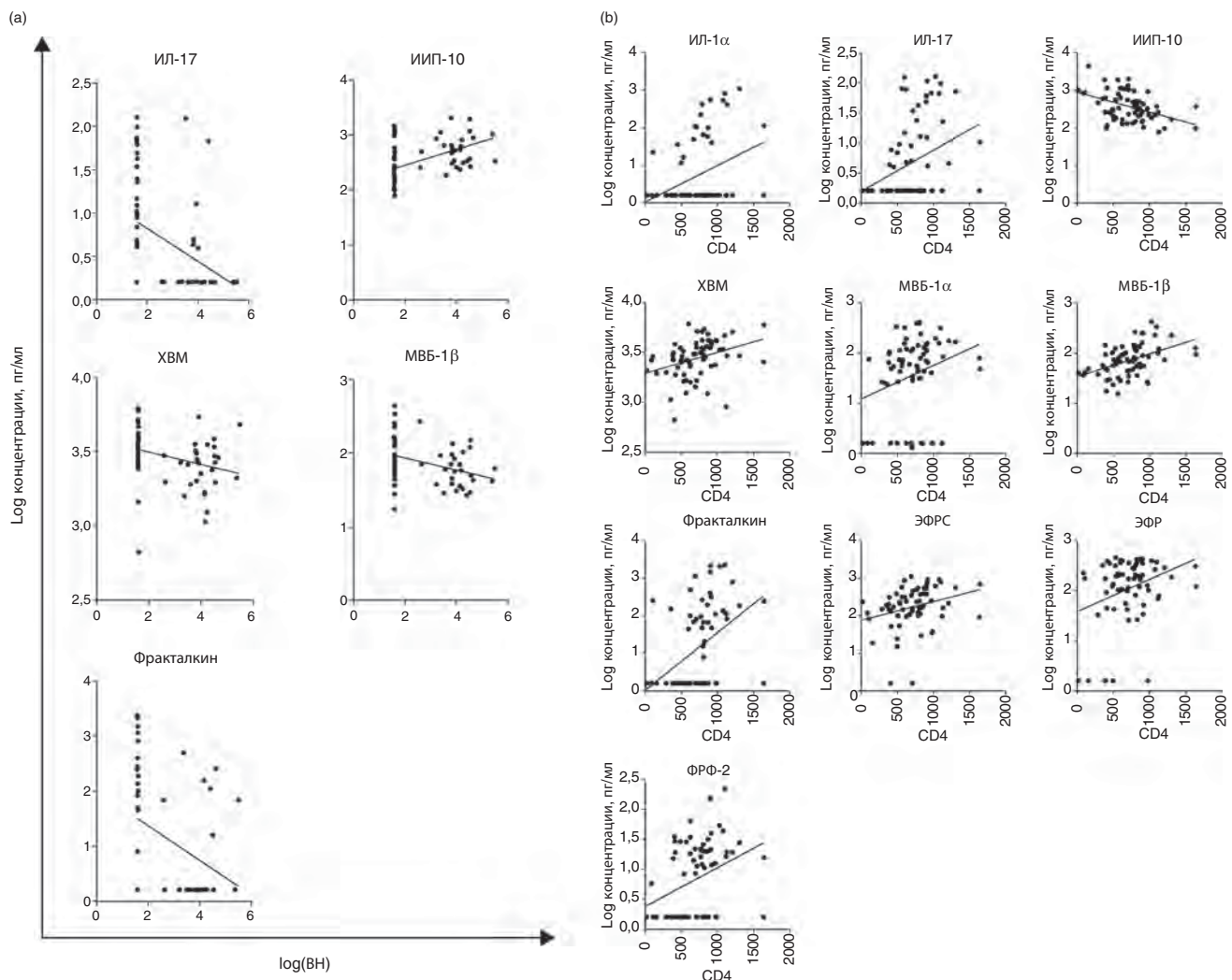


Рис. 2. Корреляция уровня цитокинов с вирусной нагрузкой и числом лимфоцитов CD4. На графиках показаны отношения (a) $\log$ уровня цитокинов и $\log$ вирусной нагрузки или (b) $\log$ уровня цитокинов и $\log$ числа лимфоцитов CD4 для каждого из изучаемых веществ, отражая наличие статистически значимой связи между двумя показателями. В каждый график включена прямая регрессия. Значения p и r^2 представлены в табл. 3 и 4. ВН — вирусная нагрузка.

держание многих факторов коррелировало как с вирусной нагрузкой, так и с числом лимфоцитов CD4, некоторые факторы имели взаимосвязь только с одним из этих показателей. Интересно, что факторы роста ЭФРС, ЭФР и ФРФ-2 показали положительную корреляцию с числом лимфоцитов CD4.

В настоящем исследовании повышение уровня цитокинов при хронической ВИЧ-инфекции было определено с помощью разных методик для ФНО- α ¹⁹⁻²¹ и ИИП-10.³⁴ Во время первичной инфекции показатели ИИП-10 и ФНО- α положительно коррелировали с вирусной нагрузкой.³⁵ Нами было обнаружено, что единственным фактором, показавшим статистически значимую положительную связь с уровнем вирусной нагрузки у женщин с хронической ВИЧ-инфекцией, не получавших лечения, был ИИП-10, что подчеркивает роль этого хемокина в иммунном ответе на ВИЧ и согласуется с результатами исследований *in vitro*, продемонстрировавших его способность стимулировать репликацию ВИЧ.³⁶ Повышение ИИП-10 также было выявлено при множестве других вирусных инфекций, включая лихорадку Западного Нила,³⁷ тяжелый грипп,^{38,39} острый гепатит С²⁶ и хроническую персистирующую HCV-инфекцию в настоящем исследовании, что позволяет предположить главную роль этого хемокина в иммунном ответе при вирусных

инфекциях. Повышение уровня ИИП-10 при хронической ВИЧ-инфекции может давать отрицательный эффект и способствовать активации иммунной системы и истощению Т-лимфоцитов. Это подтверждается наличием выраженной отрицательной корреляции между уровнем ИИП-10 и числом лимфоцитов CD4, обнаруженной в настоящем исследовании (см. рис. 2, b). И наконец, снижение уровня ИЛ-12 в плазме у ВИЧ-инфицированных участниц, не получавших лечения, согласуется с полученными ранее данными, продемонстрировавшими нарушение продукции этих цитокинов клетками у больных с хронической ВИЧ-инфекцией.^{40,41}

Несмотря на то что большинство изменений в содержании цитокинов, описанных ранее при хронической ВИЧ-инфекции, было подтверждено в нашей когорте женщин с неконтролируемой репликацией ВИЧ, мы не обнаружили статистически значимого повышения ИЛ-6,^{42,43} ИЛ-10^{44,45} и ФРФ-2,⁴⁶ выявленного другими исследователями преимущественно в мужской популяции с помощью ELISA. Как и в проведенном ранее исследовании, медиана уровня ИЛ-10 у наших ВИЧ-инфицированных женщин, не получавших лечения, была вдвое выше, чем у неинфицированных участниц, однако эта разница не была статистически значимой. Напротив, в группе, не получавшей лечения, медианы

Таблица 4. Корреляция между уровнем цитокинов и числом лимфоцитов CD4 у ВИЧ-положительных женщин

	Наклон кривой	r ²	p ^a	ЛПР
Провоспалительные/Т-лимфоциты				
ИЛ-1α	0,001	0,14	0,004	0,02
ИЛ-1β	−0,00007	0,004	0,6	0,8
ИЛ-2	−0,00005	0,001	0,8	0,9
ИЛ-6	−0,0001	0,004	0,7	0,8
ИЛ-7	−0,0002	0,04	0,2	0,3
ИЛ-8	0,0002	0,01	0,4	0,6
ИЛ-9	0,0003	0,02	0,4	0,6
ИЛ-12(p40)	0,0006	0,04	0,1	0,3
ИЛ-12(p70)	0,0004	0,03	0,2	0,3
ИЛ-15	0,0003	0,05	0,1	0,3
ИЛ-17	0,0008	0,17	0,001	0,008
ИФН-γ	−0,0004	0,04	0,1	0,3
ФНО-α	−0,0001	0,04	0,1	0,3
ФНО-β	0,0004	0,09	0,05	0,1
ГМ-КСФ	−0,00001	0,0	1,0	1,0
Противовоспалительные/Th2				
ИЛ-1Rα	0,0001	0,002	0,8	0,9
pИЛ-2Rα	0,0002	0,007	0,6	0,8
ИЛ-4	0,0002	0,002	0,7	0,9
ИЛ-5	0,00001	0,0	0,9	1,0
ИЛ-10	−0,00007	0,004	0,6	0,8
ИЛ-13	0,0002	0,002	0,7	0,9
Хемоаттрактанты				
ИИП-10	−0,0006	0,27	< 0,001	0,001
БХМ-1	−0,00007	0,01	0,4	0,6
БХМ-3	0,00004	0,0	0,9	1,0
ХВМ	0,0002	0,18	0,001	0,008
МВБ-1α	0,0008	0,1	0,009	0,03
МВБ-1β	0,0004	0,23	< 0,001	0,002
Эотаксин	0,00009	0,01	0,4	0,6
Фрактактин	0,001	0,18	0,001	0,008
Факторы роста				
ЭФРС	0,0005	0,09	0,02	0,07
ЭФР	0,0008	0,17	0,001	0,08
ФРФ-2	0,0006	0,12	0,009	0,03

^a Для веществ, выделенных полужирным шрифтом, значения *p* оставались статистически значимыми после пошаговой поправки на ложноположительные результаты.

уровня ИЛ-6 и ФРФ-2 были ниже, чем в группе неинфицированных. Данные по уровню ИЛ-6 согласуются с результатами, полученными нами в недавно проведенном исследовании острой ВИЧ-инфекции, в котором только у части больных ИЛ-6 был повышен,²⁶ хотя причиной противоречивых результатов может быть использование разных типов анализов (ELISA и Lumipex). В настоящем исследовании мы повторно изучали образцы сыворотки с помощью набора FGF-2 ELISA kit от той же фирмы-производителя, набор которой использовался в предыдущем исследовании. В результате статистически значимые различия в уровне ФРФ-2, наблюдавшиеся между клиническими группами при использовании набора Lumipex, не были обнаружены при ELISA (данные не приводятся). Такое расхождение результатов при применении ELISA и Lumipex для определения уровня ФРФ-2, возможно, обусловлено разными динамическими диапазонами этих тестовых систем или же небольшим размером выборки в нашем исследовании.

В настоящем исследовании имеется ряд недостатков, включая относительно небольшой размер выбор-

ки. Это привело к обнаружению только относительно больших различий в концентрации цитокинов между клиническими группами. Другим возможным недостатком исследования служит тот факт, что все наши участники были женщинами, причем преимущественно афроамериканского происхождения, поэтому полученные результаты нельзя экстраполировать на другие популяции ВИЧ-инфицированных. Данные относительно степени влияния расы на цитокиновый ответ достаточно противоречивы. Обнаружено, что представители афроамериканцев имеют более высокий исходный уровень воспалительных цитокинов,⁴⁷ однако раса не оказывает влияния на реакцию иммунных клеток на ИФН-α,⁴⁸ а также на связь между сердечной недостаточностью и маркерами воспаления.⁴⁹ Наконец, формально мы не продемонстрировали нормализацию нарушенного содержания цитокинов у женщин, начавших получать ВААРТ. Мы также не исследовали уровень цитокинов у больных, получавших ВААРТ, у которых вирусная нагрузка была высокой. Однако в литературе имеются указания на то, что начало ВААРТ может привести к частичной или полной нормализации уровня маркеров воспаления и свертываемости.^{32,33,50} Эти данные вместе с тем фактом, что участницы в нашем исследовании были подобраны так, чтобы избежать влияния вмешивающихся факторов, делают вероятным предположение о том, что различия между пациентками, получавшими и не получавшими лечение, обусловлены влиянием ВААРТ.

В исследовании, проведенном недавно Roberts et al.,³⁵ был выделен ряд факторов, которые были связаны с уровнем вирусной нагрузки и скоростью падения числа лимфоцитов CD4 в период первичной ВИЧ-инфекции. ИЛ-12, ИФН-γ и ГМ-КСФ были связаны с более низким стабильным уровнем вирусной нагрузки к 12-му месяцу и более медленным снижением числа лимфоцитов CD4, тогда как ИЛ-1α, ИЛ-7, ИЛ-15 и эотаксин показали противоположные взаимодействия. В нашем исследовании ни один из этих факторов, за исключением ИЛ-1α, не коррелировал с вирусной нагрузкой и числом лимфоцитов CD4, а связь ИЛ-1α с вирусной нагрузкой и числом лимфоцитов CD4 была противоположной той, которая наблюдалась нами при первичной инфекции. Эти различия указывают на то, что ВИЧ по-разному влияет на иммунную систему при первичной и хронической инфекциях. Например, смещение иммунного ответа в сторону Th1-ответа с более высоким уровнем ИЛ-12 при первичной инфекции может быть благоприятным для установления более низкого уровня вирусной нагрузки, тогда как после достижения стабильного уровня вирусной нагрузки у многих больных ИЛ-12 перестает определяться (см. рис. 1). Точно так же высокий уровень ИИП-10 во время первичной ВИЧ-инфекции не приводит в дальнейшем к повышению стабильного уровня вирусной нагрузки или увеличению скорости снижения числа лимфоцитов CD4,³⁵ хотя они и связаны с более низким числом лимфоцитов CD4 при хронической ВИЧ-инфекции.

Таким образом, нами было обнаружено, что по сравнению с ВИЧ-отрицательными женщинами у больных, не получавших лечения, хроническая ВИЧ-инфекция вызывала нарушения в Т-клеточных сигнальных путях, а также активацию естественного иммунитета. Эти различия были менее выражены или отсутствовали у жен-

щин, получавших ВААРТ, у которых вирусная нагрузка не определялась. Путем изучения широкого спектра медиаторов иммунного ответа нам удалось определить специфические вещества, реакция которых отличается от таковой у других иммунных маркеров. Например, в группе ВААРТ и группе не инфицированных ВИЧ женщин уровень ФНО- α и ФРФ-2 был разным в отличие от большинства других изучаемых веществ. Эти результаты позволяют предположить, что для стимуляции или угнетения путей, ведущих к нарушению регуляции этих двух факторов, требуется небольшое количество вирусов (низкий уровень вирусной нагрузки), а также что на сами эти факторы оказывают влияние антиретровирусные препараты и что их уровень зависит от активации иммунитета, вызванной ВИЧ косвенным путем. Наконец, тогда как факторы, отвечающие за гомеостаз Т-лимфоцитов, такие как ИЛ-2, ИЛ-7 и ИЛ-15, по-видимому, не были связаны с более высоким числом лимфоцитов CD4, такая корреляция была обнаружена между числом лимфоцитов CD4 и факторами роста ЭФРС, ЭФР и ФРФ-2. Учитывая, что значение этой взаимосвязи пока неизвестно, остается неясным, обладают ли указанные факторы терапевтическими возможностями в отношении устранения иммунного дефицита, вызванного ВИЧ-инфекцией, или же они могут служить биомаркерами сохранения либо восстановления иммунитета.

Благодарности

Данные, использованные в настоящем исследовании, были собраны совместной группой, проводившей исследование Women's Interagency HIV Study (WIHS). Центры исследования (ведущие исследователи) располагались в Нью-Йорке (консорциум Бронкса, Kathryn Anastos), Бруклине, Нью-Йорке (Howard Minkoff); Вашингтоне, округ Колумбия (консорциум Metropolitan, Mary Young), Северной Калифорнии (консорциум Connie Wofsy Study, Ruth Greenblatt); Лос-Анджелесе (консорциум Южной Калифорнии, Alexandra Levine); Чикаго (Mardge Cohen); центре координации данных (Stephen Gange). Спонсором исследования WIHS выступил Национальный институт аллергических и иммунных болезней (U01-AI-35004, U01-AI-31834, U01-AI-34994, U01-AI-34989, U01-AI-34993 и U01-AI-42590) и Национальный институт детского здоровья и развития человека (U01-HD-32632). Дополнительная финансовая поддержка была оказана Национальным институтом наркологии и Национальным институтом глухоты и других коммуникативных расстройств. Кроме того, финансовая помощь была получена от Национального центра исследовательских ресурсов (UCSF-CTSI, грант № UL1 RR024131). Содержание данной статьи полностью представляет точку зрения авторов и может не отражать официальный взгляд Национальных институтов здоровья США.

S.M.K. проводила экспериментальную часть и выполняла анализы. S.M.K., E.T.G., R.M.G., S.D., A.L.L., S.J.G. и P.J.N. принимали участие в разработке дизайна исследования. J.Z. и S.W. выполняли статистические анализы. M.N., M.Y., K.A., H.C., M.H.C. и R.M.G. принимали участие в сборе данных и заборе образцов крови. S.M.K. и P.J.N. принимали участие в написании статьи.

Конфликты интересов

Конфликты интересов отсутствуют.

Литература

1. Dou Z, Chen RY, Wang Z, Ji G, Peng G, Qiao X, et al. HIV-infected former plasma donors in rural Central China: from infection to survival outcomes, 1985–2008. *PLoS One* 2010; 5:e13737.
2. Brettle RP, McNeil AJ, Burns S, Gore SM, Bird AG, Yap PL, et al. Progression of HIV: follow-up of Edinburgh injecting drug users with narrow seroconversion intervals in 1983–1985. *AIDS* 1996; 10:419–430.
3. Mellors JW, Rinaldo CR Jr., Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma [see comments]. *Science* 1996; 272:1167–1170. [published erratum appears in *Science* 1997 Jan 3;275(5296):14]
4. Liu Z, Cumberland WG, Hultin LE, Prince HE, Detels R, Giorgi JV. Elevated CD38 antigen expression on CD8+ T cells is a stronger marker for the risk of chronic HIV disease progression to AIDS and death in the Multicenter AIDS Cohort Study than CD4+ cell count, soluble immune activation markers, or combinations of HLA-DR and CD38 expression. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997; 16:83–92.
5. Owen RE, Heitman JW, Hirschhorn DF, Lanteri MC, Biswas HH, Martin JN, et al. HIV+ elite controllers have low HIV-specific T-cell activation yet maintain strong, polyfunctional T-cell responses. *AIDS* 2010; 24:1095–1105.
6. Wong GH, Krowka JF, Stites DP, Goeddel DV. In vitro antihuman immunodeficiency virus activities of tumor necrosis factor- α and interferon- γ . *J Immunol* 1988; 140:120–124.
7. Folks TM, Clouse KA, Justement J, Rabson A, Duh E, Kehr JH, Fauci AS. Tumor necrosis factor α induces expression of human immunodeficiency virus in a chronically infected T-cell clone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86:2365–2368.
8. Israel N, Hazan U, Alcamí J, Munier A, Arenzana-Seisdedos F, Bachelerie F, et al. Tumor necrosis factor stimulates transcription of HIV-1 in human T lymphocytes, independently and synergistically with mitogens. *J Immunol* 1989; 143:3956–3960.
9. Foli A, Saville MW, Baseler MW, Yarchoan R. Effects of the Th1 and Th2 stimulatory cytokines interleukin-12 and interleukin-4 on human immunodeficiency virus replication. *Blood* 1995; 85:2114–2123.
10. Kinter AL, Poli G, Fox L, Hardy E, Fauci AS. HIV replication in IL-2-stimulated peripheral blood mononuclear cells is driven in an autocrine/paracrine manner by endogenous cytokines. *J Immunol* 1995; 154:2448–2459.
11. Shirazi Y, Pitha PM. Alpha interferon inhibits early stages of the human immunodeficiency virus type 1 replication cycle. *J Virol* 1992; 66:1321–1328.
12. Fan SX, Turpin JA, Aronovitz JR, Meltzer MS. Interferon- γ protects primary monocytes against infection with human immunodeficiency virus type 1. *J Leukoc Biol* 1994; 56:362–368.
13. Hammer SM, Gillis JM, Groopman JE, Rose RM. In vitro modification of human immunodeficiency virus infection by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and gamma interferon. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83:8734–8738.
14. Orandle MS, Williams KC, MacLean AG, Westmoreland SV, Lackner AA. Macaques with rapid disease progression and simian immunodeficiency virus encephalitis have a unique cytokine profile in peripheral lymphoid tissues. *J Virol* 2001; 75:4448–4452.
15. Meythaler M, Martinot A, Wang Z, Pryputniewicz S, Kasheta M, Ling B, et al. Differential CD4+ T-lymphocyte apoptosis and bystander T-cell activation in rhesus macaques and sooty mangabeys during acute simian immunodeficiency virus infection. *J Virol* 2009; 83:572–583.

16. Lederer S, Favre D, Walters KA, Proll S, Kanwar B, Kasakow Z, et al. Transcriptional profiling in pathogenic and nonpathogenic SIV infections reveals significant distinctions in kinetics and tissue compartmentalization. *PLoS Pathog* 2009; 5:e1000296.
17. Jacquelin B, Mayau V, Targat B, Liovat AS, Kunkel D, Petitjean G, et al. Nonpathogenic SIV infection of African green monkeys induces a strong but rapidly controlled type I IFN response. *J Clin Invest* 2009; 119:3544–3555.
18. Bosinger SE, Li Q, Gordon SN, Klatt NR, Duan L, Xu L, et al. Global genomic analysis reveals rapid control of a robust innate response in SIV-infected sooty mangabeys. *J Clin Invest* 2009; 119:3556–3572.
19. Lahdevirta J, Maury CP, Teppo AM, Repo H. Elevated levels of circulating cachectin/tumor necrosis factor in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med* 1988; 85:289–291.
20. von Sydow M, Sonnerborg A, Gaines H, Strannegard O. Interferon-alpha and tumor necrosis factor-alpha in serum of patients in various stages of HIV-1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1991; 7:375–380.
21. Zangerle R, Gallati H, Sarcelletti M, Wachter H, Fuchs D. Tumor necrosis factor alpha and soluble tumor necrosis factor receptors in individuals with human immunodeficiency virus infection. *Immunol Lett* 1994; 41:229–234.
22. Fahey JL, Taylor JM, Manna B, Nishanian P, Aziz N, Giorgi JV, Detels R. Prognostic significance of plasma markers of immune activation, HIV viral load and CD4 T-cell measurements. *AIDS* 1998; 12:1581–1590.
23. Kuller LH, Tracy R, Bellosso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med* 2008; 5:e203.
24. Norris PJ, Pappalardo BL, Custer B, Spotts G, Hecht FM, Busch MP. Elevations in IL-10, TNF-alpha, and IFN-gamma from the earliest point of HIV type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006; 22:757–762.
25. Barcellini W, Rizzardi GP, Poli G, Tambussi G, Velati C, Meroni PL, et al. Cytokines and soluble receptor changes in the transition from primary to early chronic HIV type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1996; 12:325–331.
26. Stacey AR, Norris PJ, Qin L, Haygreen EA, Taylor E, Heitman J, et al. Induction of a striking systemic cytokine cascade prior to peak viremia in acute human immunodeficiency virus type 1 infection, in contrast to more modest and delayed responses in acute hepatitis B and C virus infections. *J Virol* 2009; 83:3719–3733.
27. Bebell LM, Passmore JA, Williamson C, Mlisana K, Iriogbe I, van Loggerenberg F, et al. Relationship between levels of inflammatory cytokines in the genital tract and CD4+ cell counts in women with acute HIV-1 infection. *J Infect Dis* 2008; 198:710–714.
28. Barkan SE, Melnick SL, Preston-Martin S, Weber K, Kalish LA, Miotti P, et al. The Women's Interagency HIV Study. WIHS Collaborative Study Group. *Epidemiology* 1998; 9:117–125.
29. Bacon MC, von Wyl V, Alden C, Sharp G, Robison E, Hessel N, et al. The Women's Interagency HIV Study: an observational cohort brings clinical sciences to the bench. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12:1013–1019.
30. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J Royal Stat Soc* 1995; B57:289–300.
31. Almeida M, Cordero M, Almeida J, Orfao A. Relationship between CD38 expression on peripheral blood T-cells and monocytes, and response to antiretroviral therapy: a one-year longitudinal study of a cohort of chronically infected ART-naïve HIV-1+ patients. *Cytometry B Clin Cytom* 2007; 72:22–33.
32. French MA, King MS, Tschampa JM, da Silva BA, Landay AL. Serum immune activation markers are persistently increased in patients with HIV infection after 6 years of antiretroviral therapy despite suppression of viral replication and reconstitution of CD4(+) T cells. *J Infect Dis* 2009; 200:1212–1215.
33. Wolf K, Tsakiris DA, Weber R, Erb P, Battegay M. Antiretroviral therapy reduces markers of endothelial and coagulation activation in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 2002; 185:456–462.
34. Relucio KI, Beernink HT, Chen D, Israelski DM, Kim R, Holodniy M. Proteomic analysis of serum cytokine levels in response to highly active antiretroviral therapy (HAART). *J Proteome Res* 2005; 4:227–231.
35. Roberts L, Passmore JA, Williamson C, Little F, Bebell LM, Mlisana K, et al. Plasma cytokine levels during acute HIV-1 infection predict HIV disease progression. *AIDS* 2010; 24:819–831.
36. Lane BR, King SR, Bock PJ, Strieter RM, Coffey MJ, Markovitz DM. The C-X-C chemokine IP-10 stimulates HIV-1 replication. *Virology* 2003; 307:122–134.
37. Tobler LH, Cameron MJ, Lanteri MC, Prince HE, Danesh A, Persad D, et al. Interferon and interferon-induced chemokine expression is associated with control of acute viremia in West Nile virus-infected blood donors. *J Infect Dis* 2008; 198:979–983.
38. de Jong MD, Simmons CP, Thanh TT, Hien VM, Smith GJ, Chau TN, et al. Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with high viral load and hypercytokinemia. *Nat Med* 2006; 12:1203–1207.
39. Lee N, Wong CK, Chan PK, Lun SW, Lui G, Wong B, et al. Hypercytokinemia and hyperactivation of phospho-p38 mitogen-activated protein kinase in severe human influenza A virus infection. *Clin Infect Dis* 2007; 45:723–731.
40. Chehimi J, Starr SE, Frank I, D'Andrea A, Ma X, MacGregor RR, et al. Impaired interleukin 12 production in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Exp Med* 1994; 179:1361–1366.
41. Marshall JD, Chehimi J, Gri G, Kostman JR, Montaner LJ, Trinchieri G. The interleukin-12-mediated pathway of immune events is dysfunctional in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Blood* 1999; 94:1003–1011.
42. Birx DL, Redfield RR, Tencer K, Fowler A, Burke DS, Tosato G. Induction of interleukin-6 during human immunodeficiency virus infection. *Blood* 1990; 76:2303–2310.
43. Breen EC, Rezai AR, Nakajima K, Beall GN, Mitsuyasu RT, Hirano T, et al. Infection with HIV is associated with elevated IL-6 levels and production. *J Immunol* 1990; 144:480–484.
44. Brockman MA, Kwon DS, Tighe DP, Pavlik DF, Rosato PC, Sela J, et al. IL-10 is up-regulated in multiple cell types during viremic HIV infection and reversibly inhibits virus-specific T cells. *Blood* 2009; 114:346–356.
45. Stylianou E, Aukrust P, Kvale D, Muller F, Froland SS. IL-10 in HIV infection: increasing serum IL-10 levels with disease progression – down-regulatory effect of potent antiretroviral therapy. *Clin Exp Immunol* 1999; 116:115–120.
46. Ascherl G, Sgadari C, Bugarini R, Bogner J, Schatz O, Ensoli B, Sturzl M. Serum concentrations of fibroblast growth factor 2 are increased in HIV type 1-infected patients and inversely related to survival probability. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001; 17:1035–1039.
47. Slopen N, Lewis TT, Gruenewald TL, Mujahid MS, Ryff CD, Albert MA, Williams DR. Early life adversity and inflammation in African Americans and whites in the midlife in the United States survey. *Psychosom Med* 2010; 72:694–701.
48. Pos Z, Selleri S, Spivey TL, Wang JK, Liu H, Worschech A, et al. Genomic scale analysis of racial impact on response to IFN-alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107:803–808.
49. Kalogeropoulos A, Georgiopoulou V, Psaty BM, Rodondi N, Smith AL, Harrison DG, et al. Inflammatory markers and incident heart failure risk in older adults: the Health ABC (Health, Aging, and Body Composition) study. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55:2129–2137.
50. Francisci D, Giannini S, Baldelli F, Leone M, Belfiori B, Guglielmini G, et al. HIV type 1 infection, and not short-term HAART, induces endothelial dysfunction. *AIDS* 2009; 23:589–596.