

Received: 2006.02.24
Accepted: 2006.10.09
Published: 2006.11.21

***Chlamydomyphila pneumoniae* – biotyp TWAR – wybrane dane**

Chlamydomyphila pneumoniae biotype TWAR: selected details

Piotr Nowaczyk, Wiesław Deptuła

Katedra Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Szczecińskiego

Streszczenie

Chlamydomyphila pneumoniae – biotyp TWAR jest zaklasyfikowana do rodziny *Chlamydiaceae* i uznana za główną przyczynę chorób układu oddechowego. Niedawno wykazano, że może wywoływać choroby serca i naczyń, a także brać udział w patogenezie stwardnienia rozsianego i choroby Alzheimera, co dowodzi, że biotyp TWAR tego zarazka rozszerza swoje widmo zakaźne.

Słowa kluczowe: *Chlamydomyphila pneumoniae* – biotyp TWAR • choroby dróg oddechowych • choroby serca i naczyń • choroba Alzheimera • stwardnienie rozsiane

Summary

Chlamydomyphila pneumoniae biotype TWAR is classified in the *Chlamydiaceae* family and used to be considered a cause of pneumonia. Lately it has been also proved that it can cause heart disease and diseases of the blood vessels and also take part in the pathogenesis Alzheimer and multiple sclerosis, which shows that biotype TWAR has expanded its spectrum.

Key words: *Chlamydomyphila pneumoniae* – biotype TWAR • respiratory tract diseases • heart and vessels diseases • Alzheimer's disease • multiple sclerosis

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/9819.pdf

Word count: 4259

Tables: –

Figures: –

References: 91

Adres autora: mgr Piotr Nowaczyk, Katedra Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Szczecińskiego, ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin; e-mail: kurp13@sus.univ.szczecin.pl

1. WPROWADZENIE

Zarazki z rodzaju *Chlamydophila* sp. (*Chl. sp.*), dawniej *Chlamydia* sp., należące do rodziny *Chlamydiaceae*, są szeroko rozpowszechnione wśród ludzi i zwierząt [24,25,28,66]. Obecnie rodzina ta jest reprezentowana przez *Chl. psittaci*, *Chl. abortus*, *Chl. felis*, *Chl. caviae*, *Chl. pecorum* oraz *Chl. pneumoniae* [24,25,28,66]. Zarazki te są bezwzględnie pasażerami wewnątrzkomórkowymi i cechują się pasożytnictwem energetycznym, ponieważ czerpią energię z procesu wymiany własnego ADP na ATP gospodarza [24,25,66]. Inną charakterystyczną cechą jest ich cykl rozwojowy niewystępujący u innych bakterii, w którym występuje ciało elementarne (EB), które jest postacią zakaźną i ciało siateczkowate (RB) powstałe z ciała EB, które jest postacią niezakaźną [24,25,66]. Cechą odróżniającą *Chl. pneumoniae* od pozostałych gatunków tego rodzaju, jest gruszkowaty kształt i wąska przestrzeń periplazmatyczna ciała elementarnego [12,58,66]. Początkowo zarazek ten określano jako *Chlamydia* – TWAR, jako że nazwa ta powstała z utworzenia symboli, którymi oznaczono w latach 60. ub.w. dwa pierwsze izolaty – TW-183 oraz AR-39 [38,58,66]. Uzyskany w 1965 r. izolat TW-183 na Tajwanie ze spojówek oka dziecka [38,58,66], różnił się od *Chlamydia trachomatis* – zarazka wywołującego jaglicę [38,58,66], podobnie jak izolat AR-39, wyizolowany w 1983 r. z gardła studenta [38,58,66], ale bardzo zbliżony wyglądem do ciała wtrętowych *Chlamydia psittaci* [66]. W późniejszych latach oba izolaty uzyskiwano głównie z ostrych nieżytów dróg oddechowych u ludzi i klasyfikowano je jako *Chlamydia psittaci* [66]. Ich badanie w oparciu o analizę ultrastrukturalną i homologię DNA, doprowadziły do wyodrębnienia nowego gatunku *Chlamydia pneumoniae* [34,57,65], który obecnie określono jako *Chlamydophila pneumoniae* [24,25,28]. W obrębie tego gatunku wyodrębniono biotyp TWAR chorobotwórczy dla ludzi [24,25,35,49,66], biotyp Koala charakterystyczny dla koali [24,25,34] oraz Equine chorobotwórczy dla koni [24,25,82]. Początkowo uważano, że biotyp TWAR jest przyczyną tylko schorzeń dróg oddechowych u ludzi, jednakże badania z ostatnich lat wykazały, że może on być także czynnikiem etiologicznym chorób serca i naczyń, stwardnienia rozsianego, a także choroby Alzheimera u ludzi, co dowodzi, że zarazek ma szersze widmo zakażeń niż mu do tej pory przypisywano.

2. CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE – BIOTYP TWAR, A CHOROBY UKŁADU ODDECHOWEGO

W wielu badaniach wykazano, że zarazek ten jest czynnikiem etiologicznym schorzeń układu oddechowego u ludzi [3,4,9,13,14,21,27,30,37,40,46,47,49,51,67,71,72,77,87,89] i zwierząt [29,50,54,59] i przenosi się drogą kropelkową, powodując choroby raczej o charakterze łagodnym [35]. Ostry i cięższy przebieg zakażenia dotyczy głównie osób starszych lub z nadkażeniem bakteryjnym np. *Streptococcus pneumoniae* [37]. Charakterystyczne jest to, że po przejściu zakażenia *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, człowiek nie nabywa stałej odporności na ten drobnoustrój [37]. Dodać należy, że mimo iż udział tego zarazka w schorzeniach układu oddechowego rejestrowano już w latach 60. ub.w., to jednak jego rolę i znaczenie w tych infekcjach potwierdzono dopiero w badaniach epidemiologicznych w Finlandii w 1978 r. [72] oraz w Nowej

Szkocji w latach 1981–1984 [71]. Badania mieszkańców USA dowiodły także [37], że wśród wszystkich osób z objawami zakażenia dróg oddechowych, aż 19% z nich posiada przeciwciała anty – *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR. Wykazano, że zarazek ten ma duże powinowactwo do makrofagów i monocytów krwi obwodowej, a także do komórek nabłonka układu oddechowego, powodując tam porażenie rzęsek [9,87,89]. Jak wykazano, częstość występowania tego zarazka jako przyczyny schorzeń układu oddechowego u ludzi zależy od wieku. Dowiedziono, że u dzieci poniżej 5 roku życia, zarazki te są stosunkowo rzadko wykrywane [13], co potwierdziły także badania innego zespołu [41], w których u dzieci z różnymi infekcjami bakteryjnymi, zakażenie *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, stwierdzono jedynie w 20% przypadków. W badaniach Esposito i wsp. [27], w których odnotowano tylko u 4% małych pacjentów chorych na zapalenie płuc, stwierdzono obecność swoistych przeciwciał tego zarazka. Kuo i wsp. [49] stwierdzili natomiast, że u dzieci starszych w wieku szkolnym, zakażenie jest już znacznie częstsze i wynosi 40%, natomiast u dorosłych wynosi prawie 50%, zaś u ludzi starszych aż 75%. Podsiadły i wsp. [67] oznaczając swoiste przeciwciała anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR klasy IgG, IgM oraz IgA w teście ELISA u 123 dzieci w wieku 1–36 miesięcy z infekcjami dróg oddechowych, wykazali obecność przeciwciał klasy IgM u 13% pacjentów, a klasy IgG u prawie 10% dzieci. Ponadto stwierdzono obecność przeciwciał klasy IgM (wyjątkiem była jednoczesna obecność dwóch klas tych przeciwciał u dzieci z zapaleniem gardła) [67]. Nadto wśród tych pacjentów, przeciwciała anty-*Chl. pneumoniae* biotyp TWAR klasy IgM, wykazano u 9 z 28 (32%) dzieci z zapaleniem oskrzeli, u 2 z 24 (8,3%) pacjentów z zapaleniem gardła i u 1 z 2 (50%) chorych na zapalenie tchawicy [67]. W przypadku immunoglobulin klasy G, wykryto je u 6 z 28 (21%) dzieci z zapaleniem płuc oraz u 5 z 24 (20,8%) dzieci chorych na zapalenie gardła [67]. Natomiast u żadnego z badanych pacjentów nie wykazano obecności swoistych przeciwciał klasy IgA [67]. Badania te potwierdziły, że zakażenie *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR zależy od wieku dzieci, jako że zarazek ten stwierdzono u 6,3% niemowląt, 13,5% dzieci w wieku 1–2 lat i 46,7% dzieci w wieku od 2 do 3 roku życia [67]. Dodatkowo wykazano, że infekcje te częściej dotyczyły dziewcząt (17,9%) niż chłopców (7,2%) [67]. Wcześniejsze badania krajowe [14] wykazały także, że u osób nieokreślonego wieku i różnej płci z objawami przeziębienia, aż około 60% przypadków wykazywało obecność *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR.

Po raz pierwszy możliwość istnienia zależności między zakażeniem *Chlamydophila pneumoniae* – biotyp TWAR, a rozwojem astmy oskrzelowej wykazali w 1989 r. Fryden i wsp. [30]. Badania krajowe [87] wykazały, że u dzieci chorych na astmę, częstość występowania *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR wynosi prawie 56%, natomiast w grupie kontrolnej tylko 11%. Jest to zgodne z obserwacjami Gencaya i wsp. [32], którzy wykazali, że przeciwciała anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR klasy IgG oraz IgA, występują także częściej u pacjentów z astmą oskrzelową niż u ludzi zdrowych. Dowiedziono również, że infekcja człowieka tym zarazkiem doprowadza do podwyższenia stężenia immunoglobulin klasy IgE [87]. Z kolei zespół Hahna [40] stwierdził, że dodatkowe wyniki serologiczne przy zakażeniu *Chl. pneumoniae* –

biotyp TWAR, częściej stwierdzano u pacjentów z ostrym zapaleniem oskrzeli oraz w przypadkach astmy, która była bezpośrednim następstwem infekcji bakteryjnej, niż w wypadku astmy niebędącej bezpośrednim następstwem zakażenia na tym tle. W badaniach prowadzonych w 1999 r. u 4 tys. pacjentów chorych na astmę [40], wykazano wzrost miana przeciwciał klasy IgG i IgA oraz stwierdzono *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR w płwocinie i wymazach z nosa. Potwierdził to Cunningham [21], który u ponad 100 dzieci chorych na astmę w wieku 9–11 lat, stwierdził w 45% przypadków w wymazach z nosa obecność *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR. Podobne wyniki uzyskał Schmidt [77], który zarejestrował obecność tego zarazka u 52% pacjentów z objawami tej choroby. Badania prowadzone w ciągu dziewięciu lat wykazały, że w niektórych przypadkach rozwój astmy oskrzelowej poprzedzało ostre zakażenie *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR [3]. Na podstawie badań serologicznych [3] wykazano, że u 40% chorych z ostrym zakażeniem *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, rozwinęła się astma. Inne badania [51] przeprowadzone u osób dorosłych chorych na astmę, u których pierwsze objawy kliniczne wystąpiły po przebyciu ostrego zakażenia górnych dróg oddechowych, wykazały również obecność swoistych przeciwciał klasy IgG i IgA dla *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, odpowiednio w 93 i w 75%. Badania serologiczne Blasi i wsp. [4] wykazały, że zakażenie *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR występuje bardzo często także u osób chorych na nowotwór płuc. Przyjmuje się, że mediatory tego procesu wytworzone w trakcie tej reakcji mogą indukować kancerogenezę [4]. Podobne wyniki uzyskali Koyi i wsp. [46], którzy u 117 chorych z nowotworem płuc wykazali swoiste przeciwciała anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR. Ponadto stwierdzili oni [47] różnice w częstości występowania przeciwciał dla *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR u chorych na nowotwór płuc w zależności od płci. Udowodnili oni, że swoiste przeciwciała klasy IgG i IgA *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR występują częściej i w wyższych mianach u mężczyzn niż u kobiet [47]. Wykazano ponadto, że u osób poniżej 60 r.ż., zakażenie *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR zwiększa ryzyko rozwoju raka płuc [47]. W tym przypadku [47] swoiste przeciwciała klasy IgG anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR wykryto u 84% chorych, zaś klasy IgA u 75%. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że zakażenie donosowe u myszy *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, powoduje utrzymanie się tego zarazka w płucach do 42 dnia od chwili infekcji [54], z tym że w drugim tygodniu swoiste miano przeciwciał IgG wynosiło 1:28, natomiast w czwartym tygodniu aż 1:147 [54]. Ponadto u myszy z hipercholesterolemią [59], zarejestrowano po kilkukrotnym zakażeniu *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, bardziej wyraźne objawy ze strony układu oddechowego, a także więcej rozsianych ognisk zapalnych w płucach. Natomiast podając *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR królikom rasy nowozelandzkiej białej, stwierdzono, że zarazek ten w płucach utrzymuje się tylko do 21 dnia po zakażeniu [29]. Zaobserwowano także, że wielokrotne zakażenie królików tym drobnoustrojem, powoduje intensywniejsze zmiany w układzie oddechowym, niż po jednokrotnym podaniu tego antygeny [50].

3. CHLAMYDOMYDIA PNEUMONIAE – BIOTYP TWAR A CHOROBY SERCA I NACZYŃ

Wśród chorób układu krążenia u ludzi, choroba wieńcowa i miażdżyca stanowią duży odsetek przypadków śmiertel-

nych [9,78,79,90]. Obecnie przeszło 50% mężczyzn poniżej 65 r.ż. umiera z powodu choroby wieńcowej, a zapada na nią każdego roku około 50 000 [9,78,79,90]. Etiopatogeneza tych chorób jest złożona i przyjmuje się, że tworzą je zarówno czynniki wewnątrz-, jak i zewnątrzustrojowe [69]. Wśród przyczyn wewnątrzustrojowych wyróżnia się m.in. skłonności dziedziczne, płeć i wiek oraz zaburzenia układu nerwowego, a wśród przyczyn zewnątrzustrojowych otyłość, używki oraz nieodpowiedni tryb życia. Mimo iż czynniki te odgrywają ważną rolę w powstawaniu tych chorób, to jednak za bezpośrednią przyczynę przyjmuje się zaburzenia metabolizmu ściany naczyń oraz zaburzenia gospodarki lipidowej [2,69,70,74]. W przypadku miażdżycy dochodzi do odkładania się złogów cholesterolu, fosfolipidów, tłuszczów obojętnych oraz gromadzenia się leukocytów w błonie wewnętrznej naczyń. Substancje te, początkowo są wchłaniane przez komórki żerne błony wewnętrznej, tzw. lipofagi i są magazynowane na pograniczu błony środkowej i wewnętrznej naczyń [2,23,69,70,74,79]. Jednocześnie w błonie wewnętrznej dochodzi do rozrostu włókien łącznotkankowych, przez co zwęża się światło naczyń, natomiast na błonie zewnętrznej tworzą się mikrozakrzepy, m.in. wskutek gromadzenia się w tym miejscu makrofagów, zaktywowanych komórek T, a nawet komórek tłuszczowych, które – jak się przyjmuje – są także przyczyną powstania blaszki miażdżycowej [2,23,62,69,70,79]. Powoduje to, iż wewnętrzna powierzchnia naczyń nie jest idealnie gładka [2,23,69,70,79].

Trzeba dodać, że inwazja bakterii lub wirusów, prowadzi do stymulacji komórek układu odpornościowego, przez co zwiększa się ekspresja cytokin, adhezja białek i uwalnianie czynników tkankowych, które przez kontakt z przepływającą krwią, aktywują proces krzepnięcia, m.in. na wytworzonych już wcześniej blaszkach miażdżycowych [2,23,69,70,73,79]. Prowadzi to do powstawania na nich zakrzepów, przez co zmniejsza się dodatkowo światło naczyń aż do jego całkowitego zamknięcia, czego następstwem jest m.in. choroba wieńcowa i zawał mięśnia sercowego [2,23,69,70,73,79].

Na podstawie badań przeprowadzonych w Finlandii w 1988 r. stwierdzono we krwi pacjentów z miażdżycą naczyń serca, obecność przeciwciał skierowanych przeciwko *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, co doprowadziło do postawienia hipotezy, że patogen ten może mieć wpływ także na powstanie innych chorób układu krążenia [2,72]. Hipotezę tę potwierdzili Amerykanie [57], którzy stwierdzili przeciwciała anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, nie tylko u chorych z miażdżycą naczyń serca, ale również z miażdżycą innych naczyń. W związku z tym faktem poszerzono zakres badań przyżyciowych i pośmiertnych m.in. o metody mikrofluorescencyjne, immunocytochemiczne, mikroskopię elektronową i reakcję PCR, którymi stwierdzono te zarazki [10,11,43,84]. Wyniki tych badań wykazały, że u przeważającej większości pacjentów z miażdżycą naczyń serca, wykryto nie tylko obecność przeciwciał anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, ale także sam drobnoustroj w makrofagach naczyń, złogach ognisk miażdżycowych, a także w komórkach mięśni gładkich tętnic [10,11,43,84]. Obecność tego zarazka wykazano w blaszce miażdżycowej u prawie 80% pacjentów z chorobą wieńcową, a także w ponad 50% „blaszek”, pochodzących z tętniaka aorty u ludzi [5,6]. Potwierdzeniem udziału tego za-

razka w chorobach układu naczyń serca u człowieka, były obserwacje z lat 1979–1992 biegaczy szwedzkich, spośród których w wielu wystąpił nagły zgon z powodu chorób układu krwionośnego [72], a u których w przeważającej większości przypadków w surowicy krwi wykazano obecność przeciwciał anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR. Udział tych bakterii w chorobach serca potwierdzili Saikku i wsp. [72,73], którzy u 65% ludzi chorych na zawał serca oraz u połowy pacjentów z przewlekłą chorobą wieńcową, wykazali występowanie przeciwciał anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, klasy IgA i IgG. Dane te są zgodne z wynikami Linnamäkiego i wsp. [53], którzy wykazali częstsze występowanie kompleksów immunologicznych z LPS *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, u pacjentów z tą chorobą (41% chorych), w porównaniu z grupą kontrolną (15%) oraz u pacjentów z zawałem serca (57%), w porównaniu z grupą kontrolną (12%). Inne badania [48,67] przeprowadzone w grupie 100 pacjentów wykazały obecność przeciwciał anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR oraz kompleksy immunologiczne z LPS tych bakterii. Potwierdziło to hipotezę udziału tego zarazka w patogenezie choroby wieńcowej oraz choroby niedokrwiennej serca u ludzi [48,67]. Również badania Choroszy-Król i wsp. [16] wykazały związek między zakażeniem *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, a chorobą niedokrwinną serca. W badaniach tych [16] autorzy ci wykazali obecność antygenu *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR w wymazach z gardła u 15% kobiet i 24% mężczyzn z chorobą niedokrwinną serca, zaś obecność przeciwciał anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR w surowicy krwi tych pacjentów, stwierdzono u prawie 73% kobiet i aż 90% mężczyzn. Inne badania tego zespołu [15] wykazały z kolei, że przewlekła infekcja *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR jest związana z częstszym występowaniem choroby niedokrwiennej serca. Ponadto autorzy ci [15] wykazali, że obecność dodatniego miana przeciwciał IgG przeciw *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, nie koreluje z występowaniem choroby niedokrwiennej serca. Późniejsze badania zespołu Choroszy-Król [17] dowiodły obecności przeciwciał klasy IgG i IgA, odpowiednio u 80 i 50% pacjentów z chorobą niedokrwinną serca, zaś metodą immunofluorescencji bezpośredniej wykryto antygen *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR u prawie 13% tych pacjentów, co nie koreluje z obecnością swoistych przeciwciał w surowicy krwi. Interesujące dane przedstawili Sobański i wsp. [79], którzy u 70% pacjentów w okresie okołozawałowym oraz u ponad połowy chorych z niestabilną dusznicą bolesną stwierdzili wyraźny wzrost miana przeciwciał anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, a także wzrost swoistych dla nich kompleksów immunologicznych. Ponadto Gupta [39] zaobserwował, że u chorych po przebytym zawał serca i z podwyższonym mianem przeciwciał anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, częściej występują kolejne schorzenia układu naczyń serca, niż u chorych po zawał, u których nie stwierdzono tych przeciwciał. Badania [62] przeprowadzone techniką PCR na zwapniałych zastawkach serca pobranych od pacjentów poddanych wymianie zastawki aorty oraz na zastawkach aorty pobranych od osób zmarłych na zawał serca wykazały obecność *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR aż u połowie badanych przypadków. Autorzy [62] na podstawie wyników badań własnych wnioskują, że *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, nie tylko ma wpływ na rozwój miażdżycy naczyń serca, ale także może powodować zwapnienie zastawki tętniczej. Inne badania [78] wykazały za pomo-

cą mikroskopu elektronowego oraz metody immunocytochemicznej z użyciem gatunkowo swoistych przeciwciał monoklonalnych, chlamydiopodobne struktury w blaszce miażdżycowej tętnic wieńcowych pobranych podczas sekcji u ludzi zmarłych na miażdżycę. Analogicznych danych dostarczyły badania [38], w których w próbach pochodzących z tętnic od chorych na choroby układu naczyń serca, stwierdzono obecność ciałek EB oraz DNA *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR. Juvonen [45] wykazał, że *Chlamydophila pneumoniae* – biotyp TWAR może wywoływać także zapalenia innych naczyń, co może prowadzić do tzw. zespołu Cogana (zapalenie rogówki i narządu równowagi). Wykazano, że powtórne zakażenie tym zarazkiem człowieka pobudza mechanizmy odporności komórkowej, prowadząc do zapalenia śródbłonna naczyń oraz odkładania się kompleksów immunologicznych – złożonych z *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR oraz swoistych przeciwciał [45]. Badania prowadzone przez zespół Jaukaiainen [44] u osób w wieku 13–43 lat z zapaleniem mięśnia sercowego, wykazały również swoiste przeciwciała anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, z czego u 30% chorych miano IgG wynosiło 1:512 i wyżej, a u prawie 60% miano IgA było zdecydowanie mniejsze. Badania Cooka i wsp. [19] pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym wykazały u 35% chorych, obecność przeciwciał klasy IgA w porównaniu z grupą pacjentów kontrolnych, u których odsetek ten wynosił 17,5%.

Zależność między zakażeniem *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, a chorobami serca i naczyń dowiedziono również u zwierząt, głównie u królików. Podając donosowo królikom rasy New Zealand White różne dawki *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, stwierdzono że już w tydzień po podaniu tego zarazka, u 26% zwierząt badanych występują piankowate makrofagi typowe dla miażdżycy oraz obecność tej bakterii m.in. w ścianie aorty [29]. Wykazano także, że infekcja *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR królików żywionych prawidłową dietą, prowadzi do zakażenia ścian ich naczyń serca i powstania obrazu przypominającego zmiany miażdżycowe. Zarejestrowano także [50], że kilkakrotne zakażenie królików tym zarazkiem, powoduje bardziej intensywne zmiany w naczyniach krwionośnych, objawiające się zgrubieniem ich błony zewnętrznej oraz występowaniem włóknistych płytek przypominających miażdżycowe. Zmiany te u badanych zwierząt były tym intensywniejsze, im więcej razy były one zakażone *Chl. pneumoniae*. W trakcie innych badań u królików [60], stosując dietę bogatą w cholesterol, a następnie zakażając je *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, oznaczano u nich maksymalne zgrubienie błony wewnętrznej naczyń (MIT – maximal intimal thickness), procent zmniejszenia światła naczynia (PLCI – percentage of luminal circumference involved) oraz obszar zajęty przez płytkę miażdżycową (PAI – plaque area index). Wyniki tych obserwacji wykazały, że wartości MIT u zwierząt zakażonych były trzykrotnie wyższe, wartości PAI ośmiokrotnie wyższe, zaś PLCI wykazywał dwukrotny wzrost, w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej [60]. Także w badaniach z użyciem transgenicznego szczepu myszy, który charakteryzował się spontanicznym powstawaniem zmian miażdżycowych w naczyniach serca stwierdzono, że zakażenie takich zwierząt *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, spowodowało umiejscowienie tych zarazków głównie w już istniejącej lub rozwijającej się blaszce miażdżycowej tych naczyń [59]. Na uwagę zasługuje to,

że im częściej podawano ten zarazek lub im starsze były te zwierzęta, tym większą obserwowano intensywność zmian miażdżycowych [59].

Badania dotyczące związku między *Chl. pneumoniae* a chorobami naczyń serca prowadzono również u psów i świń [65,75]. Stosując metodę PCR, wykazano występowanie *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR w zmianach miażdżycowych ich tętnic. Ponadto u świń wykazano, że stosując dietę bogatą w cholesterol, zakażenie ich tym zarazkiem było częstsze, niż w grupie zwierząt o prawidłowej diecie [65].

4. CHLAMYDOMYDIA PNEUMONIAE – BIOTYP TWAR A STWARDNIENIE ROZSIANE (MS – MULTIPLE SCLEROSIS)

Stwardnienie rozsiane jest chorobą ośrodkowego układu nerwowego, w której dochodzi do rozpadu osłonek mielinowych substancji białej mózgu. Przebiega ona w dwóch postaciach: nawrotowo-osłabiającej i przewlekło-postępującej [63]. Choroba ta występuje u ludzi na całym świecie, jednak zachorowalność zależy od szerokości geograficznej (najczęściej klimat umiarkowany) [61]. Schorzenie to charakteryzuje się dużą zmiennością obrazu klinicznego, ponieważ objawy uzależnione są od tego, która okolica OUN ulega uszkodzeniu [61]. Etiologia MS nie jest do końca poznana, jednak ostatnio sugeruje się udział w patogenezie tego schorzenia także czynników infekcyjnych, w tym również *Chlamydomydia pneumoniae* – biotyp TWAR [63]. Przyjmuje się, że czynniki zakaźne, wywołujące kaskadę reakcji autoimmunologicznych w mózgu u ludzi, wykazujących w tym kierunku predyspozycje genetyczne prowadzą do zmian typowych dla MS [26,52,63,64,80,81,83,86]. Przyjmuje się także, że mikroorganizmy te stymulują układ odpornościowy, głównie w zakresie wytwarzania w płynie mózgowo-rdzeniowym przeciwciał klasy G [25,26,33,52,63,64,80,81,83,86,91]. Sriram i wsp. [81] wykazali, że zakażenia *Chlamydomydia pneumoniae* – biotyp TWAR są przyczyną MS, gdyż stosując metodę PCR, uzyskali dodatnie wyniki u 100% chorych z postacią nawrotowo-osłabiającą MS oraz u 95% chorych z postacią przewlekło-postępującą tego schorzenia. Ponadto stwierdzono [81] w płynie mózgowo-rdzeniowym w 97% przypadków chorych na MS, sekwencje DNA typowe dla biotypu TWAR *Chlamydomydia pneumoniae* i aż u 64% chorych uzyskano dodatnie wyniki izolacji tego patogenu. Wyniki te były znacznie wyższe niż uzyskane u chorych na choroby układu nerwowego, np. na podostre twardniejące zapalenie mózgu (tylko 19%) [81]. Autorzy ci [81] we wnioskach podkreślili, że zakażenie w tym przypadku występuje nie tylko w początkowym okresie choroby, ale utrzymuje się ono w ciągu całego jej przebiegu. Bardzo zbliżone wyniki uzyskał zespół Layh-Schmitta [52] oraz Treiba [83], którzy wykazali także obecność *Chlamydomydia pneumoniae* – biotyp TWAR w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych na stwardnienie rozsiane, jednak w mniejszym odsetku (10 i 25%). Istotnych danych, przyczyniających się do postawienia tezy, że zarazek ten odgrywa ważną rolę w etiologii MS, dostarczyły również badania Yao i wsp. [91], w których wykazano, że prątki oligoklonalne w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych na tę chorobę, zawierają przeciwciała anty-*Chlamydomydia pneumoniae* – biotyp TWAR. Stwierdzono także [91], że u ponad 80% przypadków, prątki oligoklonalne były zaadsorbowane całkowicie lub przynajmniej częściowo przez

antygen *Chlamydomydia pneumoniae* – biotyp TWAR, przy jednoczesnym negatywnym wyniku z użyciem innych antygenów, np. białek szoku cieplnego, zasadowych białek mieliny, wirusa opryszczki, odrzy, *Staphylococcus aureus* czy *Escherichia coli*. Potwierdzeniem udziału *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, w tym schorzeniu, są także badania [26] metodą western blotting, w których wykazano obecność swoistych przeciwciał IgG w surowicy u 11 pacjentów chorych na stwardnienie rozsiane. Również obserwacje Sotgiu'a i wsp. [80] potwierdziły rolę tego zarazka w etiologii MS. Stosując metodę PCR, stwierdzili oni w płynie mózgowo-rdzeniowym u trzech pacjentów chorych na MS, *Chlamydomydia pneumoniae* – biotyp TWAR [80]. Udział tego zarazka w MS stwierdzili także Wei Ping i wsp. [86] oraz Gieffers i wsp. [33], którzy zarejestrowali w płynie mózgowo-rdzeniowym kolejno, u 50 i u 21% chorych na MS, genom DNA *Chlamydomydia pneumoniae* – biotyp TWAR oraz obecność DNA *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR. Dodatkowo Gieffers i wsp. [33] stwierdzili występowanie fragmentów DNA *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR w monocytach krwi obwodowej u 2 z 6 chorych z MS, u których w płynie mózgowo-rdzeniowym stwierdzono ten zarazek. Autorzy sugerują, że to właśnie zakażone monocyty krwi mogą przenosić *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR do OUN. Tezę domniemanego udziału tego zarazka w MS potwierdzają także badania Perlmuttera i Darvisha [64], którzy wykazali obecność *Chlamydomydia pneumoniae* – biotyp TWAR u chorego na stwardnienie rozsiane.

Nieco odmienne wyniki od omówionych [26,33,52,63,64,80,81,83,86,91], otrzymali Boman [7] i Furrows [31], którym nie udało się wykazać u chorych na MS obecności DNA *Chlamydomydia pneumoniae* – biotyp TWAR w komórkach krwi obwodowej, ani przeciwciał klasy IgG w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym. Według Wei Pinga i wsp. [86], rozbieżności w uzyskanych wynikach w tym zakresie, są w głównej mierze uzależnione od metod badawczych, które należy zweryfikować, co powoduje, że wątpliwości o brak udziału tego zarazka w etiologii ludzi chorych na MS, zostaną rozwiane.

5. CHLAMYDOMYDIA PNEUMONIAE – BIOTYP TWAR A CHOROBA ALZHEIMERA

Choroba ta dotyczy osób starszych po 60 roku życia i polega na zwyrodnieniu tkanki mózgowej i zaniku komórek nerwowych, co w konsekwencji prowadzi do zaburzeń emocjonalnych i behawioralnych oraz ogólnego ośłupienia, zaniku pamięci i spadku funkcji poznawczych [1,56,85,88]. Przyjmuje się, że w wyniku odkładania się β -amyloidu w komórkach mózgu, zanika przekazywanie impulsów nerwowych innym komórkom nerwowym, wskutek toksycznego oddziaływania tych złogów na komórki OUN, co prowadzi do ich śmierci [1,8,56,88]. Inne badania wykazały [20], że czynnikiem ryzyka w powstawaniu choroby Alzheimera jest allel ϵ 4 apolipoproteiny E (Apo E). Apo E jest białkiem występującym w trzech różnych izoformach: ϵ 2, ϵ 3 i ϵ 4 [22], bierze udział w transporcie cholesterolu i trójglicerydów [76] i przyjmuje się, że wskutek zaburzeń w ekspresji allelu ϵ 4 białka Apo E, może dochodzić do powstania choroby Alzheimera [22]. Dowiedziono również, że czynnikiem sprzyjającym powstawaniu tego schorzenia mogą być zakażenia wirusowe mózgu np. wirusem HSV-1 [42]. W ostatnim czasie podano, że w pa-

togenezie tego schorzenia może brać udział także *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR [1,36,68]. Badając wycinki mózgu metodą PCR [1], pobrane pośmiertnie od osób z chorobą Alzheimera, m.in. z hipokampa i płata ciemieniowego mózgu, stwierdzono obecność chromosomalnego DNA *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR przy jednoczesnym jego braku w tych samych rejonach mózgu w grupie kontrolnej. Stosując metody immunohistochemiczne oraz mikroskopię elektronową wykazano także [1] *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, w makrofagach, komórkach mikrogleju i astrogleju w różnych obszarach mózgu, przy jednoczesnym ich braku w tych komórkach u osób grup kontrolnych. W badaniach przeprowadzonych z użyciem mikroskopu elektronowego oraz metody RT-PCR dowiedziono obecność w różnych obszarach mózgu u ludzi z chorobą Alzheimera inkluzji chlamydialnych zawierających ciała elementarne EB i siateczkowate RB oraz wykazano obecność chlamydialnego RNA [1]. Udowodniono, że transkrypty te można wykazać używając zarówno homogenizatów tkanek żywych, jak i tkanek zamrożonych [1]. Potwierdzeniem udziału tego zarazka w chorobie Alzheimera były badania Roses [68], które u ponad 60% pacjentów zakażonych naturalnie *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, wykazały obecność przynajmniej 1 allelu izoformy apolipoproteiny E, która jest charakterystycznym czynnikiem ryzyka choroby Alzheimera. Dane dowodzące związku występowania zakażenia *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR u osób z chorobą Alzheimera, spowodowały rozpoczęcie badań dotyczących poszukiwania dróg wnikania tego zarazka do OUN. Wykazano, że główną drogą jest błona śluzowa jamy ustnej i noso-gardzieli [36]. Przyjmuje się, że po wnikięciu zarazek ten krąży wraz z monocytami we krwi obwodowej [1,33,55], co potwierdza, że właśnie monocyt jest główną komórką biorącą udział w mechanizmie rozprzestrzeniania *Chl. pneumoniae*, który pokonując barierę krew-mózg przenosi ten zarazek do OUN [1,33,55]. Niezależnie od tych faktów, autorzy przyjmują, że do końca nie jest udokumentowany i wyjaśniony mechanizm, w jaki sposób infekcja *Chlamydomphila pneumoniae* – biotyp TWAR powoduje zapalenie i w rezultacie zniszczenie tkanki mózgowej w głębszych par-

tiach kory mózgowej i strukturach limbicznych, co obserwuje się w chorobie Alzheimera [1,33,55].

6. ZAKOŃCZENIE

Przytoczone w niniejszym artykule fakty świadczą nie tylko o związku między *Chlamydomphila pneumoniae* – biotyp TWAR, a chorobami układu oddechowego, ale także chorobami układu krwionośnego, stwardnieniem rozsianym i chorobą Alzheimera, co dowodzi, że zarazek ten ma wciąż nowe możliwości w zakresie rozszerzenia swojego widma zakażenia. Trzeba stwierdzić, że ze względu na duże wymagania odżywcze tych zarazków oraz niezwykłą wrażliwość na czynniki zewnętrzne, są problemy związane z identyfikacją chlamydofilii w materiale biologicznym metodą hodowli [18]. Hodowla *Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR na liniach komórkowych HL i HEP-2, wykazuje charakterystyczne wtęty nie zawierające glikogenu [13,69]. Inną metodą identyfikacji tego zarazka, choć mniej precyzyjną, są badania metodą mikroimmunofluorescencji (MIF), do wykrywania swoistych przeciwciał klasy IgG, IgM oraz IgA w surowicy krwi [8,20,60,70]. Istotne jest jednak to, iż brak przeciwciał anty-*Chl. pneumoniae* – biotyp TWAR, nie wyklucza możliwości zakażenia. Inne techniki diagnostyczne, takie jak immunobloting, chromatografia czy radioimmunoprecypitacja, są mniej przydatne w diagnostyce tego zarazka ze względu na jego dużą labilność pod wpływem czynników zarówno fizycznych, jak i chemicznych [8,18]. Zalecane obecnie w diagnostyce metody PCR, zwłaszcza w wymazach z gardła, noso-gardzieli, oskrzeli oraz w płwocinie, są wysoce czułe i swoiste i pozwalają na wykrycie już 100 kopii genomu bakteryjnego w badanej próbce, zarówno w tkankach świeżych, jak i konserwowanych [8,10,18,21,29,62,65,80]. Należy także dodać i to, że udział i rola *Chlamydomphila pneumoniae* – biotyp TWAR w wielu schorzeniach u ludzi świadczy, że patogen ten, ze względu na niedługi okres funkcjonowania w przyrodzie (odkryto go dopiero w 1986 r.), jako czynnika infekcyjnego, ale atakującym wiele narządów, które zakaża w makroorganizmie, może w przyszłości okazać się, że jest przyczyną jeszcze wielu innych schorzeń u ssaków, w tym także u człowieka.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Balin B.J., Gerard H.C., Arking E.J., Appelt D.M., Branigan P.J., Abrams J.T., Whittum-Hudson J.A., Hudson A.P.: Identification and localization of *Chlamydia pneumoniae* in the Alzheimer's brain. *Med. Microbiol. Immunol.*, 1998; 187: 23–42
- [2] Belland R.J., Ouellette S.P., Gieffers S., Byrne G.I.: *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. *Cell. Microbiol.*, 2004; 6: 117–127
- [3] Blasi F.: *Chlamydia pneumoniae* in respiratory infections. W: *Proceedings fourth meeting of European Society for Chlamydia Research*, red.: P. Saikku, Universitas Helsinkiensis, Helsinki 2000, 231–240
- [4] Blasi F., Cosentini R., Arosio C., Immi M.: Community-acquired pneumoniae in the elderly: role of *Chlamydia pneumoniae*. W: *Chlamydial infections*, red.: R.S. Stephens, Societa Enditricce Esculapio, Bologna 1998, 163–170
- [5] Blasi F., Denti F., Erba M., Cosentini R., Raccanelli R., Rinaldi A., Fagetti L., Esposito G., Ruberti U., Allegra L.: Detection of *Chlamydia pneumoniae* but not *Helicobacter pylori* in atherosclerotic plaques of aortic aneurysms. *J. Clin. Microbiol.*, 1996; 34: 2766–2771
- [6] Blasi F., Tarsia P., Arosio C., Fagetti L., Allegra L.: Epidemiology of *Chlamydia pneumoniae*. *Clin. Microbiol. Infect.*, 1998; 4(Suppl.4): S1–S6
- [7] Boman J., Hammerschlag M.R.: *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis: critical assessment of diagnostic methods and relevance to treatment studies. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2002; 15: 1–20
- [8] Boman J., Roblin P.M., Sundstrom P., Sandstrom M., Hammerschlag M.R.: Failure to detect *Chlamydia pneumoniae* in the central nervous system of patients with MS. *Neurology*, 2000; 54: 265
- [9] Brykczyński M.: Ocena wpływu leczenia roksytromycyną przewlekłych zakażeń *Chlamydia pneumoniae* u chorych operowanych z powodu choroby niedokrwiennej serca. Praca habilitacyjna. Pomorska Akademia Medyczna, Szczecin 2001
- [10] Buja L.: Does atherosclerosis have an infectious etiology. *Circulation*, 1996; 94: 872–873
- [11] Campbell L., Perez Melgosa M., Hamilton D.J., Kuo C.C., Grayston J.T.: Detection of *Chlamydia pneumoniae* by polymerase chain detection. *J. Clin. Microbiol.*, 1992; 30: 434–449
- [12] Chi E.Y., Kuo C.C., Grayston J.T.: Unique ultrastruktura in the elementary body of *Chlamydia sp.* strain TWAR. *J. Bacteriol.*, 1987; 169: 3757–3763
- [13] Chirgwin K., Roblin P., Gelling M., Hammerschlag M.R., Schachter J.: Infection with *Chlamydia pneumoniae* in Brooklyn. *J. Infect. Dis.*, 1991; 163: 757–761

- [14] Choroszy-Król I., Ruczkowska J., Teryks-Wołyniec D., Winnicka J., Sutyło-Wójcicka I.: Wykrywanie antygenów *Chlamydia pneumoniae* w wymazach z gardła metodą immunofluorescencji bezpośredniej. Adv. Clin. Exp. Med., 1998; 7: 191–195
- [15] Choroszy-Król I., Skoczyńska A., Teryks-Wołyniec D., Martynowicz H., Turczyn B., Wojakowska A., Frej-Mądrzak M.: Zakażenie *Chlamydia pneumoniae* a czynniki ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Adv. Clin. Exp. Med., 2004; 13: 105–112
- [16] Choroszy-Król I., Teryks-Wołyniec D., Frej-Mądrzak M., Zysko D.: *Chlamydia pneumoniae* a choroba niedokrwienności serca i jej powikłania. Pol. Med. Rodz., 2004; 6: 32–37
- [17] Choroszy-Król I., Teryks-Wołyniec D., Kuliczowski W., Gajek J., Zysko D.: Związek między przebiegą i przewlekłą infekcją *Chlamydia pneumoniae* a chorobą niedokrwienności serca. Adv. Clin. Exp. Med., 2003; 12: 753–759
- [18] Cles L.D., Stamm W.E.: Use of HL cells for improved isolation and passage of *Chlamydia pneumoniae*. J. Clin. Microbiol., 1990; 28: 938–944
- [19] Cook P.J., Lip G.Y., Davies P., Beevers D.G., Wise R., Honeybourne D.: *Chlamydia pneumoniae* antibodies in severe essential hypertension. Hypertension, 1998; 31: 589–594
- [20] Corder E.H., Saunders A.M., Strittmatter W.J., Schmechel D.E., Gaskell P.C., Small G.W., Roses A.D., Haines J.L., Pericak-Vance M.A.: Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. Science, 1993; 261: 921–923
- [21] Cunningham A.F., Johnston S.L., Julious S.A., Lampe F.C., Ward M.E.: Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection and asthma exacerbations in children. Eur. Respir. J., 1998; 11: 345–349
- [22] de Knijff P., van den Maagdenberg A.M., Frants R.R., Havekes L.M.: Genetic heterogeneity of apolipoprotein E and its influence on plasma lipid and lipoprotein levels. Hum. Mutat., 1994; 4: 178–194
- [23] Dembińska-Kmiec A., Partyka Ł., Polus A.: Miażdżycę procesem autoimmunologicznym? Przegl. Lek., 2001; 58: 12–16
- [24] Deptuła W., Pawlikowska M., Travniček M.: Chlamydofilozę u zwierząt i ludzi. Medycyna Wet., 2002; 58: 337–340
- [25] Deptuła W., Pawlikowska M., Travniček M.: Nowe dane na temat systematyki chlamydii. Post. Mikrobiol., 2002; 41: 71–83
- [26] Derfuss T., Gürkov R., Then Bergh F., Goebels N., Hartmann M., Barz C., Wilske B., Autenrieth I., Wick M., Hohlfeld R., Meinel E.: Intrathecal antibody production against *Chlamydia pneumoniae* in multiple sclerosis is part of a polyspecific immune response. Brain, 2001; 124: 1325–1335
- [27] Esposito S., Blasi F., Bellini F., Allegra L., Principi N., Mowgli Study Group: *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* infections in children with pneumoniae. Eur. Respir. J., 2001; 17: 241–245
- [28] Everett K.D., Bush R.M., Andersen A.A.: Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. Int. J. Syst. Bacteriol., 1999; 49: 415–440
- [29] Fong I.W., Chiu B., Viira E., Fong M.W., Jang D., Mahony J.: Rabbit model for *Chlamydia pneumoniae* infection. J. Clin. Microbiol., 1997; 35: 48–52
- [30] Fryden A., Kihlstrom E., Maller R., Persson K., Romanus V., Ansehn S.: A clinical and epidemiological study of "ornithosis" caused by *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR). Scand. J. Infect. Dis., 1989; 21: 681–691
- [31] Furrows S.J., Hartley J.C., Bell J., Silver N., Losseff N., Stevenson S., Chapman M., Thompson E.J., Ridgway G.L., Giovannoni G.: *Chlamydomydia pneumoniae* infections of the central nervous system in patients with multiple sclerosis. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 2004; 75: 152–154
- [32] Gencay M., Rudiger J.J., Tamm M., Soler M., Perruchoud A.P., Roth M.: Increased frequency of *Chlamydia pneumoniae* antibodies in patients with Asthma. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2001; 163: 1097–1100
- [33] Gieffers J., Pohl D., Treib J., Dittmann R., Stephan C., Klotz K., Hanefeld F., Solbach W., Haass A., Maass M.: Presence of *Chlamydia pneumoniae* DANN in the cerebral spinal fluid is a common phenomenon in a variety of neurological diseases and not restricted to multiple sclerosis. Ann. Neurol., 2001; 49: 585–589
- [34] Girjes A.A., Hugall A., Graham D.M., McCaul T.F., Lavin M.F.: Comparison of the type I and type II *Chlamydia psittaci* strain infecting koalas (*Phascolarctos cinereus*). Vet. Microbiol., 1993; 37: 65–83
- [35] Grayston J.: Infections caused by *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. Clin. Infect. Dis., 1992; 15: 757–762
- [36] Grayston J.T.: Antibiotic treatment trials for secondary prevention of coronary disease events. Circulation, 1999; 99: 1538–1539
- [37] Grayston J.T., Campbell L.A., Kuo C.C., Mordhorst C.H., Saikku P., Thom D.H., Wang S.P.: A new respiratory tract pathogen: *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR. J. Infect. Dis., 1990; 161: 618–625
- [38] Grayston J.T., Kuo C.C., Campbell L.A., Wang S.P.: *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. for *Chlamydia* sp. strain TWAR. Int. J. Syst. Bacteriol., 1989; 39: 88–90
- [39] Gupta S., Leatham E.W., Carrington D.: Azithromycin reduces cardiovascular events in post myocardial infection patients with elevated *Chlamydia pneumoniae* antibody titres. Eur. Heart J., 1997; 18: 337–341
- [40] Hahn D.L.: *Chlamydia pneumoniae*, asthma and COPD: What is the evidence? Ann. Allergy Asthma Immunol., 1999; 83: 271–292
- [41] Heiskanen- Kosma T., Korppi M., Jokinen C., Kurki S., Heiskanen L., Juvonen H., Kallinen S., Sten M., Tarkiainen A., Ronnberg P.R., Kleemola M., Makel P.H., Leinonen M.: Etiology of childhood pneumonia: Serologic results of a prospective, population-based study. Pediatr. Infect. Dis. J., 1998; 17: 986–991
- [42] Itzhaki R.F., Lin W.R., Shang D., Wilcock G.K., Faragher B., Jamieson G.A.: Herpes simplex virus type 1 in brain risk of Alzheimer's disease. Lancet, 1997; 349: 241–244
- [43] Jackson L.A., Campbell L.A., Schmidt R.A., Kuo C.C., Cappuccio A.L., Lee M.J., Grayston J.T.: Specificity of detection of *Chlamydia pneumoniae* in cardiovascular atheroma. Am. J. Pathol., 1997; 150: 1785–1790
- [44] Jaakkainen T., Tuomi T., Leinonen M.: Interference of immunoglobulin G antibodies in IgA antibody determinations for *Chlamydia pneumoniae* by immunofluorescence test. J. Clin. Microb., 1994; 32: 839–840
- [45] Juvonen J., Laurila A., Juvonen T., Alakarppa H., Surcel H.M., Lounatmaa K., Kuusisto J., Saikku P.: Detection of *C. pneumoniae* in human nonrheumatic stenotic aortic valves. J. Am. Coll. Cardiol., 1997; 29: 1054–1059
- [46] Koyi H., Branden E., Gnärpe J., Gnärpe H., Arnholm B., Hillerdal G.: *Chlamydia pneumoniae* may be associated with lung cancer. Preliminary report on a seroepidemiology study. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand., 1999; 107: 828–832
- [47] Koyi H., Branden E., Gnärpe J., Gnärpe H., Stehen B.: An association between chronic infection with *Chlamydia pneumoniae* and lung cancer. A prospective 2-year study. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand., 2001; 9: 572–580
- [48] Kuo C.C., Gown A.M., Benditt E.P., Grayston J.T.: Detection of *Chlamydia pneumoniae* in aortic lesions of atherosclerosis by immunocytochemical stain. Arterioscler. Thromb., 1993; 13: 1501–1504
- [49] Kuo C.C., Jackson L.A., Campbell L.A., Grayston J.T.: *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). Clin. Microbiol. Rev., 1995; 8: 451–461
- [50] Laitinen K., Laurila A., Pyhala L., Leinonen M., Saikku P.: *Chlamydia pneumoniae* infection induces inflammatory changes in aortas of rabbits. Infect. Immun., 1997; 65: 4832–4835
- [51] LaVerda D., Kalayoglu M., Byrne G.I.: Chlamydial heat shock proteins and disease pathology: new paradigms for old problems? Infect. Dis. Obstet. Gynecol., 1999; 7: 64–71
- [52] Layh-Schmitt G., Bendl C., Hildt U., Dong-Si T., Juttler E., Schnitzler P., Grond-Ginsbach C., Grau A.J.: Evidence for infection with *Chlamydia pneumoniae* in a subgroup of patients with multiple sclerosis. Ann. Neurol., 2000; 47: 652–655
- [53] Linnanmaki E., Leinonen M., Mattila P.M., Nieminen M.S., Valtonen V., Saikku P.: *Chlamydia pneumoniae*-specific circulating immune complexes in patients with chronic coronary heart disease. Circulation, 1993; 87: 1130–1134
- [54] Malinverni R., Kuo C., Campbell L.: Reactivation of *Chlamydia pneumoniae* lung infection in mice by cortisone. J. Infect. Dis., 1995; 172: 593–594
- [55] MacIntyre A., Abramov R., Hammond C.J., Hudson A.P., Arking E.J., Little C.S., Appelt D.M., Balin B.J.: *Chlamydia pneumoniae* infection of human brain endothelial cells and monocytes promotes the transmigration of monocytes through an *in vitro* blood brain barrier. J. Neurosci. Res., 2003; 71: 740–750
- [56] McKhann G., Drachman D., Folstein M., Katzman R., Price D., Stadlan E.M.: Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. Neurology, 1984; 34: 939–944

- [57] Melnick S., Shahar E., Folsom A.R., Grayston J.T., Sorlie P.D., Wang S.P., Szklo M.: Past infection by *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR and asymptomatic carotid atherosclerosis. *Am. J. Med.*, 1993; 95: 499–504
- [58] Miyashita N., Kanamoto Y., Matsumoto A.: The morphology of *Chlamydia pneumoniae*. *J. Med. Microbiol.*, 1993; 38: 418–425
- [59] Moazed T.C., Kuo C., Grayston J.T., Campbell L.A.: Murine models of *Chlamydia pneumoniae* infection and atherosclerosis. *J. Infect. Dis.*, 1997; 175: 883–890
- [60] Muhlestein J.B., Anderson J.L., Hammond E.H., Zhao L., Trehan S., Schwobe E.P., Carlquist J.F.: Infection with *Chlamydia pneumoniae* accelerates the development of atherosclerosis and treatment with azithromycin prevents it in a rabbit model. *Circulation*, 1998; 97: 633–636
- [61] Noseworthy J.H., Lucchinetti C., Rodriguez M., Weinshenker B.G.: Multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 343: 938–952
- [62] Nystrom R.C., Thelin S., Hjelm E., Lindquist O., Pahlson C., Friman G.: High incidence of *Chlamydia pneumoniae* in sclerotic heart valves of patients undergoing aortic valve replacement. *Scand. J. Infect. Dis.*, 1997; 29: 361–365
- [63] Paterson P.Y., Swanborg R.H.: Demyelinating diseases of the central and peripheral nervous systems. W: *Immunological Diseases*, red.: Samter M., Talmage D.W., Frank M.M., Austen K.F., Claman H.N. Little Brown and Co., Boston 1988, 1887
- [64] Perlmutter L.J., Darvish M.: Possible relationship of Chlamydia to multiple sclerosis. *Med. Hypotheses*, 1983; 12: 95–98
- [65] Pislaru S.V., Van Ranst M., Pislaru C., Szelid Z., Theilmeier G., Ossewaarde J.M., Holvoet P., Janssens S., Verbeken E., Van de Werf F.J.: *Chlamydia pneumoniae* induces neointima formation in coronary arteries of normal pigs. *Cardiovasc. Res.*, 2003; 57: 834–842
- [66] Podsiadły E., Frącka B., Szmigielska A., Tylewska-Wierzbawska S.: Seroepidemiological Studies of *Chlamydia pneumoniae* Infections in 1–36 Months Old Children with Respiratory Tract Infections and Other Diseases in Poland. *Pol. J. Microbiol.*, 2005; 54: 215–219
- [67] Podsiadły E., Tylewska-Wierzbawska S.: *Chlamydia pneumoniae* – biologia i chorobotwórczość. *Post. Mikrobiol.*, 1998; 2: 145–166
- [68] Roses A.D.: Apolipoprotein E alleles as risk factors in Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Med.*, 1996; 47: 387–400
- [69] Ross R.: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 1993; 362: 801–809
- [70] Rusiecka E.: Czy można zarazić się miażdżycą? *Pol. Merk. Lek.*, 2004; 17: 284–288
- [71] Saikku P.: *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor in acute myocardial infarction. *Eur. Heart J.*, 1993; 14(Suppl.K): 62–65
- [72] Saikku P.: *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis – an update. *Scand. J. Infect. Dis.*, 1997; 104: 53–56
- [73] Saikku P., Leinonen M., Tenkanen L., Linnanmaki E., Ekman M.R., Manninen V., Manttari M., Frick M.H., Huttunen J.K.: Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann. Intern. Med.*, 1992; 116: 273–278
- [74] Saikku P., Wang S.P., Kleemola M., Brander E., Rusanen E., Grayston J.T.: An epidemic of mild pneumonia due to an unusual strain of *Chlamydia psittaci*. *J. Infect. Dis.*, 1985; 151: 832–839
- [75] Sako T., Takahashi T., Takehana K., Uchida E., Nakade T., Umemura T., Taniyama H.: Chlamydial infection in canine atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis*, 2002; 162: 253–259
- [76] Schaefer E.J., Ordovas J.M.: Metabolism of apolipoproteins A-I, A-II, and A-IV. *Methods Enzymol.*, 1986; 129: 420–443
- [77] Schmidt S.M., Müller C.E., Bruns R., Wiersbitzky S.K.: Bronchial *Chlamydia pneumoniae* infection, markers of allergic inflammation and lung function in children. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2001; 12: 257–265
- [78] Shor A., Kuo C.C., Patton D.L.: Detection of *Chlamydia pneumoniae* in coronary arterial fatty streaks and atheromatous plaques. *S. Afr. Med. J.*, 1992; 82: 158–161
- [79] Sobański P., Sinkiewicz W.: *Chlamydia pneumoniae* – następny czynnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca? *Czynniki Ryzyka*, 1997; 28: 3–4
- [80] Sotgiu S., Piana A., Pugliatti M., Sotgiu A., Deiana G.A., Sgaramella E., Muresu E., Rosati G.: *Chlamydia pneumoniae* in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and neurological controls. *Mult. Scler.*, 2001; 7: 371–380
- [81] Sriram S., Mitchell W., Stratton C.: Multiple sclerosis associated with *Chlamydia pneumoniae* infection of the CNS. *Neurology*, 1998; 50: 571–572
- [82] Storey C., Lusher M., Yates P., Richmond S.: Evidence for *Chlamydia pneumoniae* of non-human origin. *J. Gen. Microbiol.*, 1993; 139: 2621–2626
- [83] Treib J., Haass A., Stille W., Maass M., Stephan C., Holzer G., Morgenthaler M., Woessner R., Grauer M.T.: Multiple sclerosis and *Chlamydia pneumoniae*. *Ann. Neurol.*, 2000; 47: 408–411
- [84] van der Wal A.C., Becker A.E., van der Loos C.M., Das P.K.: Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by inflammatory process irrespective of dominant plaque morphology. *Circulation*, 1994; 89: 36–44
- [85] Wade J.P., Mirsen T.R., Hachinski V.C., Fisman M., Lau C., Merskey H.: The clinical diagnosis of Alzheimer disease. *Arch. Neurol.*, 1987; 44: 24–29
- [86] Wei-Ping Z., Xue Ming, Blumberg B., Dowling P.: *Chlamydia pneumoniae* sequence frequently present in both MS and control spinal fluid. *Neurology*, 1996; 54: 165–175
- [87] Wlaziński J., Stańczyk-Przyłuska A., Chlebna-Sokół D.: Zakażenie *Chlamydia pneumoniae* jako przyczyna zaostrzenia astmy oskrzelowej – opis przypadku. *Alergia Astma Immunologia*, 2004; 9: 160–162
- [88] Wade J.P., Mirsen T.R., Hachinski V.C., Fisman M., Lau C., Merskey H.: The clinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Arch. Neurol.*, 1987; 44: 24–29
- [89] Wong K.H., Skelton S.K., Chan Y.K.: Efficient culture of *Chlamydia pneumoniae* with cell lines derived from the human respiratory tract. *J. Clin. Microbiol.*, 1992; 30: 1625–1630
- [90] Wong Y.K., Gallagher P.J., Ward M.E.: *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. *Heart*, 1999; 81: 232–238
- [91] Yao S.Y., Stratton C.W., Mitchell W.M., Sriram S.: CSF oligoclonal bands in MS include antibodies against *Chlamydia* antigens. *Neurology*, 2001; 56: 1168–1172