

Badania przesiewowe w kierunku zakażeń wywołanych przez *Chlamydomphila psittaci* u pacjentów z miażdżycową niedrożnością tętnic

PIOTR NIEDZIELA, KRZYSZTOF KOSTRO*, ZDZISŁAW GLIŃSKI*,
KATARZYNA WOJCICKA-LORENOWICZ*, KRYSZYNA PASZOWSKA**, JERZY MICHALAK

Katedra i Klinika Chirurgii Naczyń Akademii Medycznej, ul. Staszica 11, 20-081 Lublin

*Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Głębocka 30, 20-612 Lublin

**Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Polczyńska 70, 75-816 Koszalin

Niedziela P., Kostro K., Gliński Z., Wojcicka-Lorenowicz K., Paszowska K., Michalak J.

Screening research covering infections induced by *Chlamydomphila psittaci* in patients with atherosclerotic arterial obstruction

Summary

The aim of the research was to determine the frequency of infections induced by *Chlamydomphila psittaci* in patients subjected to operations as a result of atherosclerotic arterial obstruction of the lower limbs. Serologic tests revealed the presence of antibodies steered against *Chl. psittaci* in 60% of the examined patients. However, the number of falsely negative results indicates the limited efficacy of serologic tests in diagnosis. Only the results of cytochemical and immunocytochemical testing of segments of vessels and atherosclerotic lamina may suggest that these microorganisms participate in the pathogenesis of atherosclerosis. The presence of EB bodies was determined through applying the above mentioned methods in all the examined patients having chronic atherosclerotic ischaemia of the lower limbs. The obtained data revealed that the concomitant application of serologic tests and cytochemical and immunocytochemical examinations enables a more complete diagnosis of *Chlamydomphila* infections. However, the data obtained do not give ultimate evidence of the infectious background of atherosclerotic processes. They may merely be the basis for further research on the role of *Chl. psittaci* in the ethiopathogenesis of chronic ischaemia of lower limbs.

Keywords : atheromatosis, chlamydomphila, inflammatory, immunohistochemistry

Miażdżycza tętnic jest najczęstszą przyczyną przewlekłego niedokrwienia kończyn dolnych. Etiopatogeneza miażdżycy nie została ostatecznie wyjaśniona, mimo wielokierunkowych badań laboratoryjnych i klinicznych. Pierwotną przyczyną rozwoju wczesnych procesów miażdżycowych są zaburzenia prawidłowej funkcji komórek śródbłonna powstałe w efekcie toczących się w świetle naczyń krwionośnych procesów zapalnych. Uszkodzone lub pobudzone komórki śródbłonna uwalniają mediatory reakcji zapalnej takie jak: czynnik wzrostu TGF- β , czynniki chemotaktyczne (IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1) oraz wolne rodniki tlenowe (1, 2, 9, 19). Końcowym efektem miejscowych procesów zapalnych są zmiany zwyrodnieniowowytwórcze w naczyniach określane mianem blaszki miażdżycowej.

W indukcji procesu zapalnego prowadzącego do rozwoju wczesnych zmian miażdżycowych, istotną rolę przypisuje się obecnie infekcjom, zwłaszcza wywołanym przez drobnoustroje z rodzaju *Chlamydomphila* (2, 8, 15, 16). Drobnoustroje te należą do rzędu *Chlamydiales*, rodziny *Chlamydiaceae* i rodzaju *Chlamydomphila*. W obrębie rodzaju *Chlamydomphila* wystę-

pują gatunki takie jak: *Chlamydomphila psittaci* comb. nov., *Chl. abortus* sp. nov., *Chl. felis* sp. nov., *Chl. caeviae* sp. nov., *Chl. pecorum* comb. nov. i *Chl. pneumoniae* comb. nov. (7). Tym drobnoustrojom, a szczególnie *Chl. pneumoniae*, przypisuje się też rolę w patogenezie zawału i choroby niedokrwiennej serca oraz miażdżycy naczyń krwionośnych (5, 6, 10). Dynamika rozwoju zmian miażdżycowych wywołanych czynnikiem zakaźnym jest modyfikowana przez czynniki ryzyka (12). W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych odnośnie udziału zakażeń *Chl. psittaci* w patogenezie przewlekłego niedokrwienia kończyn dolnych.

Określenie częstotliwości występowania zakażeń wywołanych przez *Chlamydomphila psittaci* u chorych leczonych operacyjnie z powodu miażdżycowej niedrożności tętnic kończyn dolnych było przedmiotem prezentowanych badań.

Materiał i metody

Badaniem objęto 25 mężczyzn w wieku 47-78 lat z objawami niedrożności aortalno-biodrowej. Według klasyfikacji Fontaine'a u 17 mężczyzn rozpoznano II° niedokrwie-

nia kończyn dolnych z dystansem chromania przestankowego poniżej 200 m, u kolejnych 15 chorych występował III° niedokrwienia z wyraźnie zaznaczonym bólem spoczynkowym, natomiast u pozostałych 10 stwierdzono IV° niedokrwienia z obecnością zmian martwiczych na stopach. Pacjentów poddano terapii zachowawczej, polegającej na stosowaniu leków rozszerzających naczynia, zmniejszających krzepliwość krwi, a w razie potrzeby także leków przeciwbólowych. U wszystkich chorych pomimo stosowania leczenia zachowawczego, objawy niedokrwienia kończyn dolnych ulegały stopniowemu nasileniu. Z powodu braku pozytywnych wyników terapii zachowawczej chorych zakwalifikowano do zabiegu operacyjnego, polegającego na implantacji protezy aortalno-dwuudowej. Przed zabiegiem pacjenci zostali poddani badaniu przedmiotowemu, wykonano arteriografię tętnic kończyn dolnych oraz pobrano krew do badań biochemicznych i serologicznych. Dodatkowo zmierzono ciśnienie na tętnicy piszczelowej tylnej i grzbietowej stopy przy pomocy przepływomierza (Sonomata 100 T8M.5.S.8C), obliczając następnie wskaźnik kostka-ramię. Chorzy byli operowani w znieczuleniu ogólnym i zewnątrzoponowym.

Zakres podjętych badań obejmował określenie w surowicy poziomu przeciwciał skierowanych przeciwko *Chlamydia*, badanie histopatologiczne pobranych wycinków naczyń i blaszek miażdżycowych oraz obecność ciałek podstawowych EB *Chlamydia psittaci* w preparatach mazanych z surowicy i odciskowych z wycinków naczyń.

Badania serologiczne. Materiał do badań stanowiło 25 próbek surowicy krwi pobranych od pacjentów przed zabiegiem operacyjnym, u których badaniem przedmiotowym stwierdzono zmiany miażdżycowe w naczyniach krwionośnych. Poziom swoistych przeciwciał w surowicy dla *Chlamydia* określono za pomocą odczynu wiązania dopełniacza (OWD) z użyciem antygeny *Chlamydia psittaci* (Biovet Ivanowice na Hane, Słowacja). Do każdej próbki surowicy wykonano kontrolę odczynu i rozcieńczenia 1/8, 1/16 i 1/32. Kontrolę pozytywną odczynu stanowiła dodatnia surowica zawierająca swoiste przeciwciała dla tego drobnoustroju. Jako kontroli negatywnej użyto surowicy wolnej od przeciwciał skierowanych przeciwko tym zarazkom.

Badania bakterioskopowe. Materiał do badań stanowiły preparaty odciskowe z wycinków ściany aorty brzusznej wraz z blaszkami miażdżycowymi pobrane od 25 pacjentów w trakcie wykonywania zabiegu operacyjnego oraz preparaty mazane sporządzone z 25 surowic. Identyfikację ciałek EB w badanym materiale dokonano za pomocą barwienia metodą Stampa oraz w teście immunofluorescencji (IF) z zastosowaniem swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko *Chlamydia psittaci*.

Barwienie metodą Stampa. Wsuszone preparaty barwiono 10% roztworem fuksyny karbolowej przez 10 min. po czym spłukiwano je wodą destylowaną i zalewano 2,5% kwasem octowym na 3-5 sekund. Po spłukaniu wodą destylowaną preparaty dobarwiano 0,8% zielenią melachitową przez 10 sekund. Następnie po kolejnym spłukaniu wodą destylowaną preparaty suszono i oglądano pod imersją. Ciała EB barwiły się na kolor żywoczerwony przy delikatnie zielono zabarwionym tle.

Odczyn immunofluorescencji. Preparaty po wysuszeniu utrwalano w acetonie przez 5 min., a następnie po na-

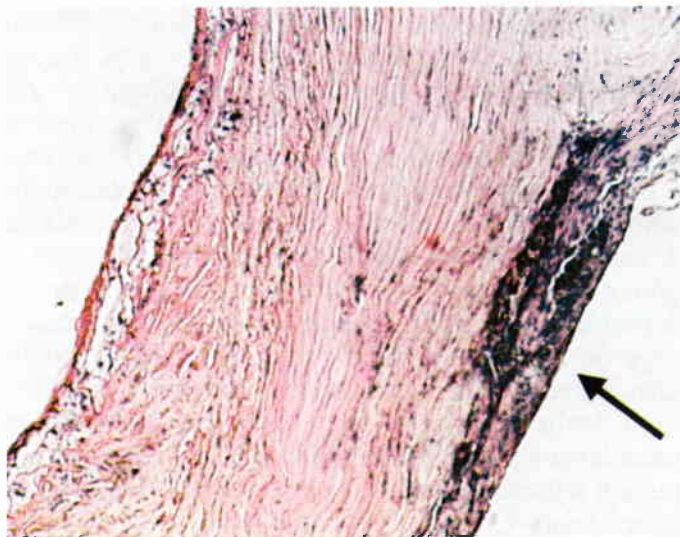
łożeniu koniugaty monowaletnej (*Chlamydia* Direct IF, Francja) umieszczano je w komorze wilgotnej i inkubowano w temp. 37°C przez 30 minut. Po zakończonej inkubacji preparaty spłukiwano dwukrotnie wodą destylowaną i nakładano zbuforowaną glicerynę. Po zamknięciu szkiełkiem nakrywkowym preparaty oglądano w mikroskopie immunofluorescencyjnym przy powiększeniu 1000×. Ciała EB barwiły się na kolor zielonkawożółty.

Badania histopatologiczne. Wycinki naczyń utrwalano w 8% zbuforowanej formalinie przez 3 dni. Następnie próbki odwodniono w kolejnych stężeniach alkoholu: od 60% do 96%. Próbki utrwalone prześwietlano ksylenem i zatopiono w parafinie. Z każdej próbki wykonano kilkadziesiąt skrawków parafinowych o grubości 7 µm, które barwiono hematoksyliną i eozyną. Preparaty po zatopieniu w balsamie kanadyjskim oglądano w mikroskopie świetlnym pod powiększeniem 1000×.

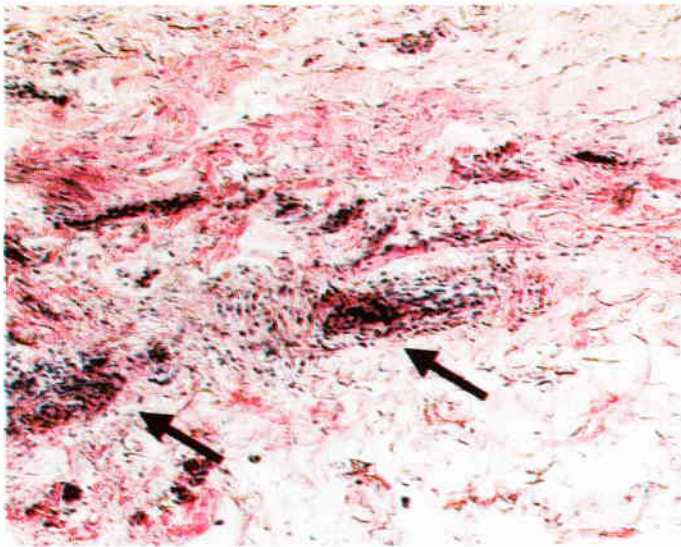
Wyniki i omówienie

W badanych wycinkach naczyń krwionośnych stwierdzono ścięczenie ściany naczynia, zmiany martwicowe o różnym nasileniu zlokalizowano na błonie zewnętrznej naczynia oraz ogniska zwapnienia i galaretowate nacieki pokryte nalotami włóknika na błonie wewnętrznej tętnic. Badaniem histopatologicznym potwierdzono obecność nacieków zapalnych i ognisk zwapnienia w ścianie naczynia oraz rozległej martwicy śródbłonna naczyń (ryc. 1, 2).

Wyniki badań serologicznych pacjentów z przewlekłym niedokrwieniem kończyn na tle miażdżycowym w kierunku obecności przeciwciał anti-*Chlamydia* oraz bakterioskopowych na obecność ciałek podstawowych w ich surowicy przedstawiono w tab. 1 i ryc. 4. Z danych zawartych w tabeli wynika, że przeciwciała anti-*Chlamydia*, w mianie 1/8 do 1/16 stwierdzono w odczynie wiązania dopełniacza u 15 (60%) pacjentów. Natomiast ciała elementarne w rozmazach surowic barwionych metodą Stampa stwierdzono w 24 próbkach (96%). Ich koncentracja w surowicy poszczególnych pacjentów była zróżnicowana. W 2 su-



Ryc. 1. Preparat histologiczny barwiony hematoksyliną i eozyną (H i E). Rozległa martwica śródbłonna naczyń (pow. 1000×)



Ryc. 2. Preparat histologiczny barwiony H i E. Ogniska zapalne w ścianie tętnicy (pow. 1000×)

rowicach były one bardzo liczne (++++), w 6 liczne (+++), w kolejnych 7 nieliczne (++) i w pozostałych 9 występowały pojedyncze ciała podstawowe EB. Z kolei w odczynie immunofluorescencji pozytywne wyniki uzyskano w dwudziestu badanych surowicach (80%), z tym, że w pięciu obserwowano liczne (+++), w kolejnych trzech nieliczne (++) i natomiast w pozostałych dwunastu jedynie pojedyncze (+) ciała EB.

Stosując te same metody uzyskano podobne wyniki odnośnie obecności ciałek EB w preparatach odciskowych z wycinków naczyń i blaszek miażdżycowych (tab. 2 i ryc. 3). W preparatach barwionych metodą Stampa ciała EB występowały u wszystkich badanych pacjentów, przy czym u 5 w obrazie mikroskopowym stwierdzono bardzo liczne (++++), u 14 liczne (+++), a u pozostałych 6 jedynie pojedyncze (+). Natomiast przy użyciu odczynu immunofluorescencji liczne ciała EB (++) obserwowano u 7 pacjentów, u 9 nieliczne (+), u kolejnych 3 pojedyncze (+), natomiast u pozostałych 6 stwierdzono ich brak.

W świetle „uszkodzeniowej” teorii powstawania miażdżycy pierwotne zmiany chorobowe są efektem immunologiczno-zapalnej odpowiedzi ściany naczyniowej w wyniku uszkodzenia jej morfologii lub zaburzenia czynności. W patogenezie miażdżycy naczyń krwionośnych ważny udział mają czynniki zakaźne, wśród których znaczną rolę przypisuje się ostatnio infekcjom wywołanym przez drobnoustroje z rodzaju *Chlamydophila*. Rola tych drobnoustrojów, a szczególnie *Chl. pneumoniae*, w aterogenezie polega prawdopodobnie na inicjacji procesu zapalnego prowadzącego do miażdżycy, jak również jej groźnych powikłań. Przyczyną zwrócenia szczególnej uwagi na udział tego drobnoustroju w rozwoju wczesnych zmian miażdżycowych było stwierdzenie u osób badanej populacji wysokiej korelacji pomiędzy obecnością przeciwciał anti-*Chl. pneumoniae* w surowicy krwi a częstością występowania u tych osób chorób sercowo-naczyniowych. Dodatkowym argumentem przemawia-

Tab. 1. Wyniki odczynu wiązania dopełniacza i badania bakterioskopowego na obecność ciałek podstawowych *Chlamydophila psittaci* w surowicy operowanych pacjentów

Lp.	Miano przeciwciał				Badanie bakterioskopowe	
	kontrola	1/8	1/16	1/32	metoda Stampa	test IF
1	-	+	-	-	+++	++
2	-	+	-	-	+	-
3	-	+	+	-	+	-
4	-	-	-	-	++	+
5	-	+	+	-	+++	++
6	-	-	-	-	+	+
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	++	+
9	-	+	+	-	+	-
10	-	+	+	-	+++	++
11	-	-	-	-	+++	+++
12	-	-	-	-	++++	+++
13	-	+	-	-	+	+
14	-	-	-	-	++	+
15	-	-	-	-	++	+
16	-	+	+	-	++	+
17	-	+	-	-	++	+
18	-	+	-	-	+	+
19	-	+	+	-	+	-
20	-	+	-	-	+	+
21	-	+	+	-	+++	+++
22	-	+	-	-	+++	+++
23	-	-	-	-	+++	+
24	-	+	+	-	++	+
25	-	+	-	-	++++	+++

Objaśnienia: badania serologiczne: (-) wynik negatywny, (+) wynik pozytywny; badanie bakterioskopowe: (-) wynik negatywny, (+) 1-5 ciałek EB w polu widzenia, (++) 6-10 ciałek EB, (+++) 11-20 ciałek EB, (++++) powyżej 20 ciałek EB

jącym za jej udziałem w patogenezie miażdżycy była bezpośrednia izolacja tego zarazka z makrofagów i komórek piankowych blaszek miażdżycowych oraz ściany naczyń krwionośnych, szczególnie z komórek mięśni gładkich i śródbłonna (4, 20, 21). Wyniki badań własnych sugerują, że w etiopatogenezie niedokrwiennej choroby kończyn dolnych na tle miażdżycowym u ludzi mogą uczestniczyć również drobnoustroje należące do gatunku *Chl. psittaci*. Głównym rezerwuarem zarazka są przede wszystkim ptaki, zwłaszcza papugi i gołębie, a do zakażenia dochodzi najczęściej drogą wziewną. U ludzi choroba może przebiegać w postaci uogólnionej infekcji, zapalenia płuc oraz bezobjawowych zakażeń. Przy użyciu odczynu wiązania dopełniacza w badaniach własnych stwierdzono wy-

Tab. 2. Wyniki badań anatomo-histopatologicznych oraz bakterioskopowych wycinków tętnic pobranych od chorych w trakcie zabiegu operacyjnego

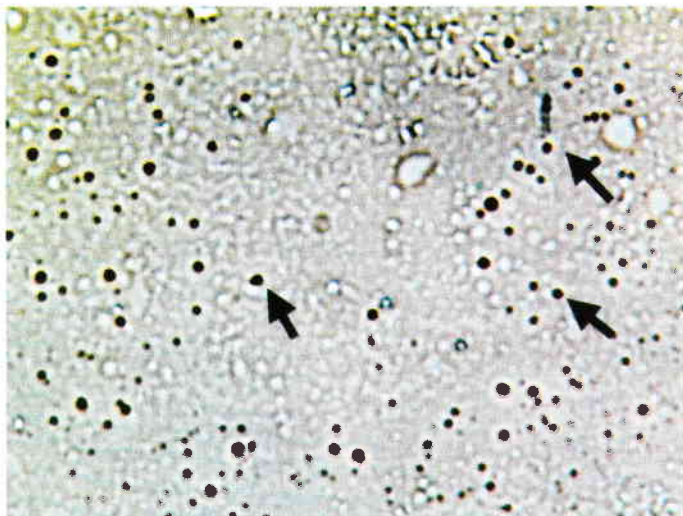
Numer próbki	Zmiany anatomopatologiczne	Obraz histopatologiczny	Badania bakterioskopowe	
			metoda Stampa	test IF
1	Zwapnienie błony wewnętrznej i naloty włókniaka	Ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	+	-
2	Martwica i zwapnienie błony wewnętrznej	Ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	+	-
3	Ogniska zwapnienia na błonie wewnętrznej, naloty włókniaka	Ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	+	-
4	Naloty włókniaka na błonie wewnętrznej	Martwica i zwapnienie ściany naczynia	+++	+++
5	Martwica i zwapnienie ściany naczynia	Martwica i zwapnienie ściany naczynia	+++	++
6	Częściowe zwapnienie ściany naczynia	Ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	+	-
7	Naloty włókniaka na błonie wewnętrznej	Martwica i zwapnienie ściany naczynia	+++	+++
8	Naloty włókniaka na błonie wewnętrznej	Nacieki zapalne i ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	+++	++
9	Martwica błony zewnętrznej i galaretowate nacieki na błonie wewnętrznej	Martwica i zwapnienie ściany naczynia	+++	+++
10	Naloty włókniaka na błonie wewnętrznej	Nacieki zapalne i ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	+++	++
11	Martwica błony zewnętrznej naczynia	Rozległa martwica w ścianie naczynia	+++	++
12	Martwica błony zewnętrznej naczynia	Rozległa martwica między błoną zewnętrzną a środkową	+++	++
13	Ścieńczenie ściany naczynia	Rozległa martwica w ścianie naczynia	+++	++
14	Martwica i naloty włókniaka na błonie zewnętrznej	Nacieki zapalne w ścianie naczynia	+++	++
15	Martwica i naloty włókniaka na błonie zewnętrznej	Nacieki zapalne w ścianie naczynia	++++	+++
16	Martwica i zwapnienie naczyń	Nacieki zapalne w ścianie naczynia	+++	+
17	Zwapnienie błony wewnętrznej i naloty włókniaka	Ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	++++	+
18	Ogniska zwapnienia na błonie wewnętrznej, naloty włókniaka	Ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	+	-
19	Martwica błony zewnętrznej naczynia	Rozległa martwica w ścianie naczynia	+++	+
20	Zwapnienie błony wewnętrznej i naloty włókniaka	Ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	++++	+++
21	Martwica błony zewnętrznej naczynia	Rozległa martwica między błoną zewnętrzną a środkową	+++	++
22	Ścieńczenie ściany naczynia	Rozległa martwica w ścianie naczynia	+++	++
23	Martwica i zwapnienie błony wewnętrznej	Ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	+	-
24	Martwica i naloty włókniaka na błonie zewnętrznej	Nacieki zapalne w ścianie naczynia	++++	+++
25	Zwapnienie błony wewnętrznej i naloty włókniaka	Ogniska zwapnienia w ścianie naczynia	++++	+++

Objaśnienia: jak w tab. 1

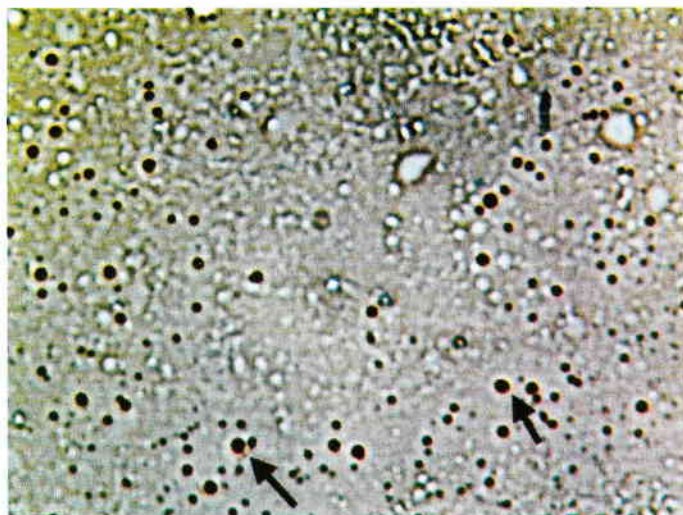
stępowanie swoistych przeciwciał anti-*Chlamydomphila* u 60% badanych pacjentów. Na ewentualny udział *Ch. psittaci* w patogenezie miażdżycy tętnic kończyn dolnych wskazują wyniki badań cytochemicznych, a szczególnie immunocytochemicznych wycinków naczyń i blaszek miażdżycowych. U 96% badanych pacjentów z przewlekłym niedokrwieniem kończyn na tle miażdżycowym występowały ciała podstawowe EB *Chl. psittaci*. Choć uzyskane dane nie stanowią ostatecznych dowodów na udział tego drobnoustroju w procesach miażdżycowych naczyń kończyn dolnych, to stanowią one podstawę do dalszych badań nad rolą *Chl. psittaci* w etiopatogenezie przewlekłego niedokrwienia kończyn dolnych.

W diagnostyce zakażeń wywołanych przez *Chlamydomphila* stosowane są metody pośrednie umożliwiają-

ce wykazanie w surowicy krwi specyficznych przeciwciał skierowanych przeciwko tym zarazkom (14, 17), ich bezpośredniej identyfikacji w tkance lub w hodowli (18) oraz identyfikacji antygenów lub charakterystycznej dla tych drobnoustrojów sekwencji nukleotydów w materiale patologicznym (3, 13, 22). Wprowadzenie technik biologii molekularnej, a zwłaszcza metody PCR zwiększyło możliwość, czułość i wykrywalność drobnoustrojów z rodzaju *Chlamydomphila* w materiale klinicznym. Jednakże zdaniem Maass i wsp. (14) wykazanie w zmienionej chorobowo tkance obecności jedynie materiału genetycznego chlamydofila nie jest dowodem o bezpośrednim udziale tych drobnoustrojów w toczącym się w naczyniach przewlekłym procesie zapalnym i rozwoju zmian miażdżycowych. Wykazanie fragmentu DNA tych bakterii



Ryc. 3. Preparat odciskowy z przekroju chorobowo zmienionego naczynia barwiony metodą Stampa. Bardzo liczne ciała podstawowe EB (pow. 1000×)



Ryc. 4. Preparat mazany z surowicy krwi barwiony metodą Stampa. Liczne ciała podstawowe EB (pow. 1000×)

może również być efektem przebytego w przeszłości zakażenia.

W badaniach serologicznych najczęściej stosowany jest test mikroimmunofluorescencji (MIF), odczyn wiązania dopełniacza (OWD), a ostatnio test ELISA (6, 14, 17). Przydatność testu MIF i odczynu OWD w diagnostyce serologicznej chlamydofilii wykazano również w badaniach własnych. Jednocześnie potwierdzono wyniki innych autorów dotyczące ograniczonej przydatności odczynu wiązania dopełniacza w rozpoznawaniu zakażeń wywołanych przez bakterie *Chlamydia sp.*, z uwagi na częste uzyskiwanie u pewnego odsetka pacjentów wyników fałszywie ujemnych, mimo bezpośredniej izolacji zarazka i dodatnich wyników reakcji PCR (6, 14). Badania własne wykazały, że równoczesne zastosowanie testu OWD w połączeniu z badaniami cytochemicznymi, a szczególnie immunocytochemicznymi umożliwiają pełniejszą diagnostykę zakażeń *Chl. psittaci* u pacjentów z miażdżycową niedrożnością naczyń kończyn dolnych. Z danych piśmiennictwa wynika, że czułość i swoistość badań bakterioskopowych w diagnostyce chlamydofi-

lii jest porównywalna z technikami biologii molekularnej (6). Zatem nieinwazyjny charakter metod cytochemicznych i immunocytochemicznych oraz wykazana w badaniach własnych ich przydatność w identyfikacji ciałek podstawowych EB w surowicy, umożliwia zarówno wczesną diagnostykę zakażeń chlamydofilii, jak i podjęcie we właściwym okresie terapii przyczynowej u pacjentów z rozwijającym się przewlekłym niedokrwieniem kończyn dolnych (11).

Piśmiennictwo

1. Airene S., Surcel H. M., Alakarppa H., Laitinen K., Paavonen J., Saikku P., Laurila A.: Chlamydia pneumoniae infection in human monocytes. *Infect. Immun.* 1999, 67, 1445-1449.
2. Boer O. J., Van der Wal A. C., Becker A. E.: Atherosclerosis, inflammation, and infection. *J. Pathol.* 2000, 190, 237-243.
3. Boman J., Gaydos C. A., Quinn T. C.: Molecular diagnosis of Chlamydia pneumoniae infection. *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37, 3791-3799.
4. Campbell L. A., O'Brien E. R., Cappuccio A. L., Kuo C. C., Wang S. P., Stewart D., Patton D. L., Cummings P. K., Grayston J. T.: Detection of Chlamydia pneumoniae TWAR in human coronary atherectomy tissues. *J. Infect. Dis.* 1995, 172, 585-588.
5. Camm A. J., Fox K. M.: Chlamydia pneumoniae (and other infective agents) in atherosclerosis and acute coronary syndromes. How good is the evidence? *Eur. Heart J.* 2000, 21, 1046-1051.
6. Davidson M., Kuo C. C., Middaugh J. P., Campbell L. A., Wang S. P., Newman W. P., Finley J. C., Grayston J. T.: Confirmed previous infection with Chlamydia pneumoniae (TWAR) and its presence in early coronary atherosclerosis. *Circulation.* 1998, 98, 628-633.
7. Deptuła W., Pawlikowska M., Travnicek M.: Nowe dane na temat systematyki chlamydii. *Post. Mikrobiol.* 2002, 41, 71-83.
8. Durkalec J., Hasik J.: Infekcyjna hipoteza patogenezы miażdżycы – przyczyna Chlamydia pneumoniae? *Przegl. Lek.* 1999, 56, 299-301.
9. Fiotti N., Giansante C., Ponte E., Delbello C., Calabrese S., Zacchi T., Dobrina A., Guarnieri G.: Atherosclerosis and inflammation. Patterns of cytokine regulation in patients with peripheral arterial disease. *Atherosclerosis* 1999, 145, 51-60.
10. Gibbs R. G., Carey N., Davies A. H.: Chlamydia pneumoniae and vascular disease. *Br. J. Surg.* 1998, 85, 1191-1197.
11. Gurfinkel E. P., Bozovich G.: Emerging role of antibiotics in atherosclerosis. *Am. Heart J.* 1999, 138, 537-538.
12. Hu H., Pierce G. N., Zhong G.: The atherogenic effects of chlamydia are dependent on serum cholesterol and specific to Chlamydia pneumoniae. *J. Clin. Invest.* 1999, 103, 747-753.
13. Maass M., Bartels C., Kruger S., Krause E., Engel P. M., Dalhoff K.: Endovascular presence of Chlamydia pneumoniae DNA is a generalized phenomenon in atherosclerotic vascular disease. *Atherosclerosis* 1998, 140, 25-30.
14. Maass M., Gieffers J., Krause E., Engel P. M., Bartels C., Solbach W.: Poor correlation between microimmunofluorescence serology and polymerase chain reaction for detection of vascular Chlamydia pneumoniae infection in coronary artery disease patients. *Med. Microbiol. Immunol.* 1998, 187, 103-106.
15. Mayr M., Kiechl S., Willeit J., Wick G., Xu Q.: Infections, immunity, and atherosclerosis: associations of antibodies to Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, and cytomegalovirus with immune reactions to heat-shock protein 60 and carotid or femoral atherosclerosis. *Circulation* 2000, 102, 833-839.
16. Noll G.: Pathogenesis of atherosclerosis: a possible relation to infection. *Atherosclerosis* 1998, 140, 3-9.
17. Orfila J. J.: Seroepidemiological evidence for an association between Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998, 140, 11-15.
18. Ouchi K., Fujii B., Kudo S., Shirai M., Yamashita K., Gondo T., Ishihara T., Ito H., Nakazawa T.: Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic and nonatherosclerotic tissue. *J. Infect. Dis.* 2000, 181, 441-443.
19. Rosenfeld M. E., Blessing E., Lin T. M., Moazed T. C., Campbell L. A., Kuo C.: Chlamydia, inflammation, and atherogenesis. *J. Infect. Dis.* 2000, 181, 492-497.
20. Shor A., Phillips J. I., Ong G., Thomas B. J., Taylor-Robinson D.: Chlamydia pneumoniae in atheroma: consideration of criteria for causality. *J. Clin. Pathol.* 1998, 51, 812-817.
21. Shor A., Phillips J. I.: Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis. *JAMA* 1999, 282, 2071-2073.
22. Thomas M., Wong Y., Thomas D., Ajaz M., Tsang V., Gallagher P. J., Ward M. E.: Relation between direct detection of Chlamydia pneumoniae DNA in human coronary arteries at postmortem examination and histological severity of associated atherosclerotic plaque. *Circulation* 1999, 99, 2733-2736.

Adres autora: dr med. Piotr Niedziela, ul. Traugutta 10A, 20-545 Lublin; e-mail: niedziela@hipokrates.am.lublin.pl