

Apoptoza w zakażeniach bakteriami z rzędu Chlamydiales

MAŁGORZATA PAWLIKOWSKA, WIESŁAW DEPTUŁA

Katedra Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Nauk Przyrodniczych US,
ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin

Pawlikowska M., Deptuła W.

Apoptosis in an infection with bacteria of the order Chlamydiales

Summary

Apoptosis or programmed cell death is a physiological process which occurs during the cellular life cycle, and can also appear during an infection with microorganisms. In the infected cell this process can be treated as a peculiar “escape” of organism from the infection, but on the other hand it can be induced or inhibited, which enables pathogens, especially the intracellular ones, to survive. Bacteria of the order Chlamydiales are intracellular pathogens which can stimulate or inhibit the apoptosis of infected cells. In this paper we present the impact of infection with those bacteria on the apoptosis of mammal cells.

Keywords: apoptosis, Chlamydia, Chlamydophila, Parachlamydia

Śmierć komórki może przybierać różne formy, niosące odmienne konsekwencje dla niej i można wśród nich wyróżnić zaprogramowaną śmierć komórki (PCD – programmed cell death), czyli apoptozę, autofagię, nekrozę i kornifikację (keratynizację) (16, 27). Również znane są atypowe modele śmierci i są to: katastrofa mitotyczna, anoikis, eksototoksyczność, degeneracja Wallera, paraptoza, pyroptoza, pyronekroza i entoza (16, 27). Apoptoza jest procesem wymagającym energii, regulowanym na poziomie genomu i zachodzi w czasie różnicowania komórek (16, 27). Proces ten odbywa się na drodze aktywacji kaskady kaspaz – wewnątrzkomórkowych proteaz cysteinowych, co objawia się fragmentacją DNA, kondensacją chromatyny, kurczeniem się jądra i tworzeniem ciałek apoptotycznych, które są fagocytowane przez inne komórki (16, 27). Kaskadę kaspaz aktywować mogą dwa sygnały: (1) wiązanie ligandu czynnika martwicy guza- α (TNF- α) lub Fas do receptora śmierci (DD – death domain) na powierzchni komórki, czego efektem jest aktywacja kaspazy-8; (2) działania różnorodnych wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych sygnałów powodujących uwolnienie cytochromu c z mitochondrium, co z kolei aktywuje kaspazę-9 (16, 27). Także w wielu komórkach eukariotycznych mitochondria generując reaktywne formy tlenu (ROS – reactive oxygen species), uczestniczą w procesie apoptozy poprzez zachwianie równowagi oksyredukcyjnej w komórce i destrukcji makrocząsteczek komórkowych (16, 27). Po-

nadto kaskada kaspaz może być aktywowana w procesie zapalnym, chociażby poprzez kaspazę-1, która jest enzymatycznie przekształconą interleukiną (IL) w czasie podziału procytokin, co prowadzi do uwalniania czynników prozapalnych IL-1 β i IL-18 (16, 27).

Apoptoza w zakażeniach po raz pierwszy została opisana w infekcji wirusowej, a następnie była obserwowana w zakażeniach bakteryjnych i pasożytniczych (27). Wiele zakażeń prowadzi do lokalnych i systemowych stanów zapalnych, a w niektórych przypadkach patogen odgrywa znaczącą rolę w determinacji życia lub śmierci komórki przez PCD. Generalnie bakterie są czynnikami indukującymi PCD, której rezultatem jest cichy sposób śmierci komórki – apoptoza, w przeciwieństwie do nekrozy, która objawia się stanem zapalnym (27).

Chlamydie są powszechnie występującymi wewnątrzkomórkowymi bakteriami, odpowiedzialnymi za wiele chorób u ludzi (19). Charakteryzują się one unikalnym związkiem z komórką gospodarza, jako że posiadają w cyklu życiowym trwającym 48-72 godziny dwie formy morfologiczne: ciało elementarne – EB (elementary body), czyli formę zakaźną i ciało siateczkowate – RB (reticulate body), formę aktywną metabolicznie, niezakaźną (cyt. 19). Śmierć komórki wskutek zakażenia chlamydiami wydaje się strategią przeżycia tych bakterii wewnątrz komórki, jak i rozprzestrzeniania oraz zakażenia kolejnych komórek (17). Wiele badań wskazuje na zdolność zarówno do

indukowania, jak i zahamowania apoptozy w czasie infekcji. Takie przeciwstawne doniesienia trudno zinterpretować, stąd też Miyari i Byrne (17) zaproponowali roboczą hipotezę wyjaśniającą to działanie. Na poziomie komórkowym antyapoptotyczna działalność dominuje w czasie wczesnej i środkowej fazy cyklu życiowego chlamydii, zaś w czasie fazy późnej dochodzi do włączenia apoptozy, co pozwala na rozpad komórki i uwolnienie ciałek elementarnych, rozprzestrzenianie chlamydii i zakażenie nowych komórek. Na poziomie tkankowym regulacja apoptozy przebiega tylko z pewnym zaangażowaniem mechanizmów odpornościowych, jako że indukowana przez komórkę zakażoną chlamydiami apoptoza jest niezapalnym modelem śmierci, a nadto komórki zainfekowane ograniczają odporność immunologiczną przez indukowanie apoptozy limfocytów T (17).

Stymulacja apoptozy

Chlamydie mogą stymulować apoptozę w komórkach gospodarza bezpośrednio bądź przez aktywację odpowiedzi zapalnej w tych komórkach. W przypadku infekcji na tle *Ch. trachomatis* opisano interakcję białek tej bakterii z receptorami śmierci (DD) komórek ssaczych – poprzez transfekcję genową (26). Białka te mają odpowiedniki także u innych bakterii z rodziny *Chlamydiaceae*, stąd nazwane zostały chlamydialnymi białkami związanymi z domenami śmierci (CADD – chlamydia protein associating with death domain) (26). Receptory łączące się domenami śmierci należą do rodziny receptorów TNF (TNFR1, Fas, DR4 i DR5). Ekspresja receptorów CADD następuje w późnej fazie cyklu życiowego chlamydii i, jak wskazują badania, są one zlokalizowane w tym samym regionie, co receptor Fas (26). Takie położenie może sugerować, że receptory CADD mogą także modulować apoptozę w komórkach zakażonych *Ch. trachomatis* (26). Indukowanie apoptozy przez chlamydie może zachodzić niezależnie od kaspaz, przy udziale proapoptotycznego białka Bax z rodziny białek Bcl-2, którego udział wykazano w hodowli mysich fibroblastów zakażonych *Ch. muridarum* (21). W komórkach tych zarejestrowano znacznie wyższy poziom apoptozy w 24. godzinie po zakażeniu komórek Bax^{+/+}, niż komórek pozbawionych białka Bax (komórki Bax^{-/-}), co potwierdzono także u myszy Bax^{-/-}, u których stwierdzono w trakcie zakażenia *Ch. muridarum* zmniejszoną efektywność apoptozy w stosunku do myszy dzikich (Bax^{+/+}) (21). Ponadto u myszy tych zauważono podwyższony poziom IFN- γ i innych cytokin prozapalnych (TNF- α , MIP-2) w 3. tygodniu od ich zakażenia (21). Stwierdzono także, iż Bid – prekursor aktywujący Bax, nie bierze udziału w apoptozie w czasie zakażenia *Ch. muridarum*, co sugeruje, że Bax aktywowany jest bezpośrednio w cytoplazmie komórki, bez udziału receptora Fas czy TNFR1 (21). Jendro i wsp. (15) stwierdzili, że makrofagi zainfekowane *Ch. trachomatis* indukują apoptozę limfocytów

T, co może być jednym z mechanizmów pozwalających utrzymać przewlekły stan zakażenia chlamydialnego. Wykazano także, że już po 24 godzinach od infekcji *Ch. trachomatis* komórek HeLa i chondrocytów ludzkich dochodzi do aktywacji 18 genów z 1176, które kodują glikoproteiny 130 (IL-11, LIF), chemokiny (MIP2- α), cząstki adhezyjne (ICAM1), czynniki transkrypcyjne (EGR1, ETR101, FRA1, c-jun) oraz geny związane z apoptozą (IEX-1L, MCL-1) (14). Dowodzi to, że infekcja *Ch. trachomatis* prowadzi do przearanżowania komórki gospodarza, niezależnie od chlamydialnego LPS poprzez włączanie i/lub wyłączenie mechanizmów w komórce, co może powodować przewlekłe stany zapalne (14). Podobne wyniki otrzymali Xia i wsp. (30), którzy w komórkach HeLa zainfekowanych *Ch. trachomatis* stwierdzili zmianę transkrypcji wielu istotnych dla komórki genów, m.in. czynników biorących udział w apoptozie. Natomiast Ying i wsp. (33) stwierdzili w hodowli komórek MEF (Mouse embrionic fibroblast – mysie fibroblasty embrionalne), zakażonych *Ch. trachomatis* – serowar L2, jedynie fragmentację DNA, ale nie była ona typowa dla apoptozy. Stwierdzono, że zmiany te zachodzą w komórkach pozbawionych białek Bax i Bak, a powstałe „prawie” apoptotyczne komórki były fagocytowane przez makrofagi, co dowodziłoby, że w czasie PCD może dochodzić do indukowania odpowiedzi immunologicznej (33). W przypadku infekcji szczepem Kajaani 6 *Chl. pneumoniae* komórek mięśni gładkich aorty zaobserwowano *in vitro*, że dochodzi do aponekrozy (chimerycznej śmierci komórki) tych komórek, który to stan charakteryzuje się uszkodzeniem błon komórkowych, uwolnieniem cytochromu c z mitochondriów, ale nie stwierdza się przy nim fragmentacji DNA i aktywacji kaspazy-3 (5). PCD *in vitro* zarejestrowano (25) także w plemnikach pochodzących od zakażonych mężczyzn *Ch. trachomatis* – serowar E, która objawiała się fragmentacją DNA już po 6 h od infekcji, z największą intensywnością przypadającą na okres po 24 h od zakażenia. Autorzy (25) sugerują, że apoptoza plemników w wyniku tej infekcji może być jedną z przyczyn bezpłodności mężczyzn. Analogiczne zjawisko jako przyczynę niepłodności opisano u kobiet zainfekowanych *Ch. trachomatis*, jako że stwierdzono *in vitro* w hodowli ludzkich trofoblastów łożyskowych, do których dodano białko szoku termicznego HSP60 *Ch. trachomatis* (cHSP60), że dochodzi do aktywacji kaspazy-3, -8 i -9, co prowadzi poprzez receptor TLR4 do indukcji apoptozy tych komórek (6). Również *in vitro* wykazano, że *Parachlamydia acanthamoeba* – bakteria infekująca ameby, namnażając się w makrofagach ludzkich, indukuje ich apoptozę, czego efektem jest obniżenie ich liczby, trwające nawet 4 dni po zakażeniu tych komórek (13).

Hamowanie apoptozy

Hamowanie apoptozy może zachodzić poprzez ekspresję c-IAP2 (inhibitor apoptozy 2), a także poprzez

transkrypcję czynnika NF- κ B/REL, co zarejestrowano w komórkach Mono Mac 6 (ludzka linia monocytarna) zakażonych *Chl. pneumoniae* (29). Obserwacje te potwierdzono także w hodowli komórek THP-1 (human acute monocytic leukemia cell line – ludzka linia monocytarnych komórek białaczkowych) zakażonych *Chl. pneumoniae*, gdzie zaobserwowano hamowanie apoptozy na drodze syntezy białek, co prawdopodobnie *in vivo* może prowadzić do przewlekłych infekcji (2). W hodowli komórek HeLa229 wykazano, że w wyniku dodania do nich IFN- γ dochodzi do przewlekłego zakażenia na tle *Ch. trachomatis* – serowar A/HAR-13 (3). Stwierdzono również w trakcie tego doświadczenia, że w tych komórkach traktowanych co 24 godziny induktorami apoptozy, przeżywalność *Ch. trachomatis* pomiędzy 24. a 120. godziną wynosiła 87% przy traktowaniu etopozydem i 90% przy staurosporynie, przy czym nie wykazano w trakcie tego procesu w pierwszym przypadku charakterystycznego apoptotycznego DNA i nie zarejestrowano uwalniania cytochromu c z mitochondriów w drugim przypadku (3). Podobny efekt zahamowania apoptozy zaobserwowano w hodowli komórkowej HeLa229 oraz *in vivo* u myszy zainfekowanych *Ch. muridarum* (20), gdzie wysoka koncentracja IFN- γ pozwoliła utrzymać stan przewlekłego zakażenia. Obserwacje te potwierdzają rejestrowane małe zmiany apoptotyczne w komórkach dróg rodných myszy zakażonych *Ch. trachomatis*, u których był wysoki poziom IFN- γ w porównaniu do myszy pozbawionych IFN- γ i u których stwierdzono większą liczbę komórek apoptotycznych (20). Opóźnienie apoptozy zaobserwowano także w hodowli ludzkich komórek PMN zakażonych *Ch. pneumoniae* – szczep CV-6 (35), jako że pojawiała się ona w tych komórkach 80 godzin później w stosunku do komórek niezakażonych. Stwierdzono w nich oprócz typowych zmian morfotycznych charakterystycznych dla apoptozy obniżony poziom procesów kontrolowanych przez prokaspazę-3, co powodowało redukcję aktywności efektorowej kaspazy-3 (35). Także *in vitro* stwierdzono (24) apoptozę w 3-4 dni po infekcji *Ch. pneumoniae* w 50-80% komórek A-549 (alveolar carcinoma cells – komórki gruczolakoraka pęcherzykowego). Dowiedzono też, że długotrwała ich infekcja *Ch. pneumoniae* obniżała liczbę apoptotycznych komórek do 1-5% oraz zmniejszała wrażliwość na sorbitol – czynnik indukujący apoptozę (24). Również obniżoną apoptozę zarejestrowano w płytkach miażdżycowych u ludzi w przypadku zakażenia *Ch. pneumoniae*, która to infekcja prawdopodobnie zwiększa infiltrację limfocytów T i w ten sposób prowadzi do immunologicznej odpowiedzi lokalnej, którą rejestruje się w przewlekłych stanach spowodowanych chlamydiami (18). Zahamowanie apoptozy zarejestrowano także *in vitro* w ludzkich monocytach zakażonych *Ch. pneumoniae* – szczep TW183, gdzie stwierdzono, iż synteza IL-10 hamuje produkcję cytokin proapoptotycznych (TNF- α i IL-12) (10). Podobnie brak lub też niski poziom apop-

tozy zaobserwowano w komórkach Hep-2 zakażonych *Ch. pneumoniae* – szczep TW183, w wyniku oddziaływania na nie dużych inkluzji chlamydialnych, co jest mechanizmem chroniącym komórkę zakażoną przed apoptozą (22). W tym doświadczeniu stwierdzono, iż mitochondria komórek zakażonych nie reagują na czynniki stymulujące i aktywujące kaspazy (22). Także w komórkach neuronowych (SK-N-MC – komórki neuroblastomy), zakażonych eksperymentalnie *Ch. pneumoniae* – szczep AR39, zanotowano zahamowanie apoptozy w 3. i 10. dniu po infekcji (1), co dowodzi istnienia związku pomiędzy zakażeniem komórek neuronowych tym zarazkiem i apoptozą w patogenezie choroby Alzheimerera (1), której związek przyczynowy wykazano z zakażeniem *Ch. pneumoniae* (11). Fischer i wsp. (8) dowiedli, że zakażenie komórek nabłonkowych *Ch. pneumoniae* chroni je przed apoptozą, zaś zakażenie hodowli komórek HeLa *Ch. pneumoniae* – szczep CM1 prowadzi do takiego stanu, że procesy aktywujące typowe procesy dla apoptozy, to jest uwalnianie cytochromu c oraz kaspaz, są hamowane przez czynniki antyapoptotyczne (białka wczesnej fazy) wytwarzane przez chlamydie w cytozolu komórek zakażonych. Zarejestrowano także, że zakażenie *Ch. pneumoniae* zaburza aktywację NF- κ B, co dowodzić może, że czynniki komórkowe zależne od NF- κ B, biorą udział w ochronie przed apoptozą (8). Natomiast *in vitro* w komórkach HeLa zainfekowanych *Ch. trachomatis* – serowar L2 wykazano, że aktywacja NF- κ B nie jest konieczna do zahamowania apoptozy (32). Dowiedzono także, że zakażenie komórek HeLa *Ch. pneumoniae* – szczep CM1 oraz *Ch. trachomatis* – serowar L2 prowadzi do zahamowania apoptozy poprzez receptor CD95 (fas/APO1), należący do receptorów śmierci (DD) (7). Receptor ten po stymulacji aktywuje w błonie tzw. sygnał DISC (death-inducing signaling complex), co w efekcie prowadzi do aktywacji prokaspazy-8. Stwierdzono nadto, że w komórkach HeLa wykazujących ekspresję CD95 i zakażonych *Ch. trachomatis* – serowar L2, dochodzi do zahamowania apoptozy ocenianej tak morfotycznie, jak i poprzez ocenę aktywacji kaspazy-3, -9 oraz -8, jak też uwalniania cytochromu c z mitochondrium (7). Natomiast zakażenie tej linii komórkowej (HeLa) *Ch. pneumoniae* – szczep CM1 nie hamuje włączania się kaspazy-8, ale hamuje przez zablokowanie receptora CD95 pojawienie się kaspaz efektorowych apoptozy, tj. kaspazy -3, -9 (7). Innym mechanizmem hamującym apoptozę przy infekcji *Ch. trachomatis* – serowar L2 jest blokowanie dwóch proapoptotycznych białek Bax i Bak należących do rodziny białek Bcl-2, które regulują uwalnianie cytochromu c z mitochondriów, co jest typowe przy apoptozie (31). Dowiedzono także w hodowli komórek HeLa, że aktywacja białka Bak zachodzi w 93% komórek niezakażonych i tylko w 7% komórek zakażonych *Ch. trachomatis* (31). Jeszcze innym mechanizmem powodującym hamowanie apoptozy w komór-

kach gospodarza jest degradacja proapoptotycznych białek z rodziny BH3 (9). Wykazano *in vitro*, że *Ch. trachomatis* serowar L2 oraz *Ch. pneumoniae* – szczep CM1 prowadzą do destrukcji białek Bim/Bod, Puma i Bad, należących do rodziny białek BH3 (9), co potwierdziły obserwacje Ying i wsp. (34), w czasie zakażenia komórek HeLa i Jurkat *Ch. trachomatis* – serowar L2. Oprócz udowodnienia, że dochodzi w trakcie infekcji *Ch. trachomatis* do degradacji białek Bim, Puma i Bad dodatkowo wykazano, że białka Bmf, Noxa i tBid są także redukowane w trakcie tego zakażenia (34). Podobny rezultat otrzymano w hodowli komórek HeLa zakażonych *Ch. trachomatis* – serowar L2, gdzie stwierdzono rozpad białek Bik, Puma i Bim należących do rodziny białek BH3 (4). Analogiczny mechanizm zahamowania apoptozy poprzez blokowanie czy też rozpad białek z rodziny BH3 stwierdzono w hodowli komórek HeLa zakażonych *Ch. trachomatis* – serowar L2, gdzie zauważono, że 95% komórek zawierających inkluzje tego zarazka było opornych na apoptozę po indukcji staurosporyną (28). Dodatkowo stwierdzono, że kinaza fosfatydyloinozytolowa-3 (PI3K) chroni komórki przed apoptozą mimo indukcji staurosporyną, gdyż wykazano, że inhibicja PI3K w hodowli komórek HeLa powoduje apoptozę komórek zakażonych (28). Stwierdzono, że ten mechanizm ochrony lub włączania apoptozy w komórkach zakażonych *Ch. trachomatis* uzależniony jest także od białka 14-3-3 β , które powoduje usunięcie z mitochondrium białka Bad – należącego także do rodziny białek BH3 (28). Tego zjawiska nie zaobserwowano w przypadku zakażenia komórek linii HeLa *Chl. pneumoniae* – szczep TW183 i *Ch. muridarum* (28). Kolejnym białkiem z rodziny BH3 chroniącym komórkę zakażoną *Ch. trachomatis* przed apoptozą okazało się białko Mcl-1 (podobne do białka Bim z rodziny białek BH3) (23), jako że w komórkach nabłonkowych zainfekowanych *Ch. trachomatis* serowar L2 zaobserwowano aktywację PI3K – mechanizm hamujący apoptozę wywołaną stresem, granzymami B (GrB) lub receptorami śmierci (DD) (23). Wykazano ponadto, że infekcja komórek HeLa i Hep2 *Ch. trachomatis* prowadzi do MEK-zależnej (droga Raf/MEK/ERK) regulacji mRNA białka Mcl-1 i PI3K-zależnego (droga PI3K/AKT) i utrzymania właściwego poziomu tego białka, zaś w przypadku deplecji Mcl-1 (zablokowanie mRNA) dochodzi do uwrażliwienia komórki na apoptozę indukowaną stresem, GrB lub DD (23). Potwierdzeniem zdolności hamowania i indukowania apoptozy przez chlamydie jest doświadczenie Greene'a i wsp. (12), którzy w hodowlach komórkowych HeLa i MS74, zakażonych 17 różnymi szczepami chlamydii (*Ch. trachomatis* – serowar A, B, C, D, E, F, G, H, I, K, L1, L2, Ba; *Chl. psittaci* – szczep 6BC; *Ch. muridarum*; *Chl. caviae*), zanotowali we wszystkich przypadkach włączanie się apoptozy w 24, 30, 48 i 72 h po infekcji, która dotyczyła 5-14% komórek w zależności od szczepu chlamydii.

Podsumowanie

Analiza piśmiennictwa wykazała, że dominuje antyapoptotyczna działalność bakterii z rzędu *Chlamydiales* w trakcie zakażenia nimi, choć trzeba stwierdzić, że podczas infekcji tymi bakteriami obserwuje się także aktywację procesu apoptozy. Jak wykazano, mechanizm aktywacji, jak i hamowania tego procesu jest uzależniony nie tylko od szczepu bakterii *Chlamydia (Ch.) trachomatis*, *Ch. muridarum*, *Chlamydophila (Chl.) psittaci*, *Chl. pneumoniae*, *Chl. caviae*, *Parachlamydia acanthamoebae*, ale także od typu hodowli, na których je badano (linie monocytarne, nowotworowe, epitelialne) oraz metod oznaczania apoptozy (barwienie aneksyną V, oznaczanie aktywności kaspaz, metody molekularne). Jednoznacznie wykazano, że *Ch. trachomatis* powoduje stymulację apoptozy poprzez degradowanie białek z rodziny BH3, które biorą udział w zjawisku PCD na drodze zależnej od mitochondrium. Opisano również, że zarazek ten także stymuluje apoptozę poprzez receptory śmierci (CADD), wiążąc się z receptorami Fas komórek zainfekowanych. Także zakażenie *Chl. pneumoniae*, *Chl. psittaci* czy *Ch. muridarum* stymuluje apoptozę poprzez aktywację białek z rodziny Bcl-2 i BH3. Wykazano, że indukcja apoptozy komórek zakażonych przez wiele zarazków z rzędu *Chlamydiales* łączy się z tworzeniem przez nie inkluzji lub zachodzi w wyniku blokowania czynnika NF- κ B albo białek proapoptotycznych z rodziny Bcl-2 i BH3. Nadto stwierdzono, że w czasie infekcji *Chlamydia sp.* i *Chlamydophila sp.* makrofagów dochodzi w efekcie parakrynowym do apoptozy limfocytów T, co może świadczyć o immunomodulowaniu apoptozy. Do końca jednakże nie jest jeszcze znany mechanizm regulowania tego procesu. W przypadku hamowania apoptozy przyjmuje się, że inhibicja tego procesu, a co za tym idzie – utrzymanie przy życiu komórki, może być strategią przetrwania zarazków z rzędu *Chlamydiales* i w procesie tym można doszukiwać się przyczyn zakażeń przewlekłych. Wykazano, że stymulacja apoptozy najczęściej następuje już w przeciągu pierwszej doby od zakażenia, zaś jej hamowanie dopiero między 3. a 10. dniem po zakażeniu.

Reasumując należy stwierdzić, że badania zjawiska apoptozy w zakażeniach chlamydialnych, mimo że nie do końca są wyjaśnione, pozwoliły na przybliżenie mechanizmów patogenności i zrozumienie oddziaływania tych zarazków na komórki zakażone, co w przyszłości może przełożyć się m.in. na opracowanie nowych metod postępowania.

Piśmiennictwo

1. Appelt D. M., Roupas M. R., Way D. S., Bell M. G., Albert E. V., Hammond C. J., Balin B. J.: Inhibition of apoptosis in neuronal cells infected with *Chlamydophila (Chlamydia) pneumoniae*. BMC Neuroscience 2008, 9, 13-21.
2. Carratelli C. R., Rizzo A., Catania M. R., Galle F., Losi E., Hasty D. L., Rossano F.: *Chlamydia pneumoniae* infections prevent the programmed cell death on THP-1 cell line. FEMS Microbiol. Lett. 2002, 215, 69-74.

3. Dean D., Powers V. C.: Persistent Chlamydia trachomatis infections resist apoptotic stimuli. *Infect. Immun.* 2001, 69, 2442-2447.
4. Dong F., Pirbahi M., Xiao Y., Zhong Y., Wu Y., Zhong G.: Degradation of the proapoptotic proteins Bik, Puma, and Bim with Bcl-2 domain 3 homology in Chlamydia trachomatis-infected cells. *Infect. Immun.* 2005, 73, 1861-1864.
5. Dumrese C., Maurus C. F., Gygi D., Schneider M. K. J., Walch M., Groscurth P., Ziegler U.: Chlamydia pneumoniae induces aponecrosis in human aortic smooth muscle cells. *BMC Microbiol.* 2005, 5, 2-16.
6. Equils O., Lu D., Gatter M., Witkin S. S., Bertolotto C., Arditi M., McGregor J. A., Simmons C. F., Hobel C. J.: Chlamydia heat shock protein 60 induces trophoblast apoptosis through TLR4. *J. Immunol.* 2006, 177, 1257-1263.
7. Fischer S. F., Harlander T., Vier J., Häcker G.: Protection against CD95-induced apoptosis by chlamydial infection at a mitochondrial step. *Infect. Immun.* 2004, 72, 1107-1115.
8. Fischer S. F., Schwarz C., Vier J., Häcker G.: Characterization of antiapoptotic activities of Chlamydia pneumoniae in human cells. *Infect. Immun.* 2001, 69, 7121-7129.
9. Fischer S. F., Vier J., Kirschnek S., Klos A., Hess S., Ying S., Häcker G.: Chlamydia inhibit host cell apoptosis by degradation of proapoptotic BH3-only proteins. *J. Exp. Med.* 2004, 200, 905-916.
10. Geng Y., Shane R. B., Berenesi K., Gonczol E., Zaki M. H., Margolis D. J., Trinchieri G., Rook A. H.: Chlamydia pneumoniae inhibits apoptosis in human peripheral mononuclear cells through induction of IL-10. *J. Immunol.* 2000, 164, 5522-5529.
11. Gérard H. C., Dreses-Werringloer U., Wildt K. S., Deka S., Oszust C., Balin B. J., Frey W. H., Bodayo E. Z., Whittum-Hudson J. A., Hudson A. P.: Chlamydia (Chlamydia) pneumoniae in the Alzheimer's brain. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2006, 48, 355-366.
12. Greene W., Xiao Y., Huang Y., McClarty G., Zhong G.: Chlamydia-infected cells continue to undergo mitosis and resist induction of apoptosis. *Infect. Immun.* 2004, 72, 451-460.
13. Greub G., Mege J. L., Raoult D.: Parachlamydia acanthamoeba enters and multiplies within human macrophages and induces their apoptosis. *Infect. Immun.* 2003, 71, 5979-5985.
14. Hess S., Rheinheimer C., Tidow F., Bartling G., Kaps C., Lauber J., Buer J., Klos A.: The reprogrammed host: Chlamydia trachomatis-induced up-regulation of glycoprotein 130 cytokines, transcription factors, and antiapoptotic genes. *Arthritis Rheum.* 2001, 44, 2392-2401.
15. Jendro M. C., Fingerle F., Deutsch T., Liese A., Kohler L., Kuipers J. G., Raum E., Martin M., Zeidler H.: Chlamydia trachomatis-infected macrophages induce apoptosis of activated T cells by secretion of tumor necrosis factor-alpha in vitro. *Med. Microbiol. Immunol.* 2004, 193, 45-52.
16. Kroemer G., Galluzzi L., Vandenabeele P., Abrams J., Alnemri E. S., Baehrecke E. H., Blagosklonny M. V., El-Deiry W. S., Golstein P., Green D. R., Hengartner M., Knight R. A., Kumar S., Lipton S. A., Malorni W., Nuñez G., Peter M. E., Tschopp J., Yuan J., Piacentini M., Zhivotovskiy B., Melino G.: Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death and Differentiation* 2009, 16, 3-11.
17. Miyari I., Byrne G. J.: Chlamydia and programmed cell death. *Curr. Opin. Microbiol.* 2006, 9, 102-108.
18. Neureiter D., Heuschmann P., Stintzing S., Kolominsky-Rabas P., Barbera L., Jung A., Ocker M., Maass M., Faller G., Kirchner T.: Detection of Chlamydia pneumoniae but not Helicobacter pylori in symptomatic atherosclerotic carotids associated with enhanced serum antibodies, inflammation and apoptosis rate. *Atherosclerosis* 2003, 168, 153, 162.
19. Pawlikowska M., Deptula W.: Chlamydie i chlamydofile oraz choroby wywoływane przez nie u ludzi. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2007, 61, 708-711.
20. Perfettini J. L., Darville T., Dautry-Varsat A., Rank R. G., Ojcius D. M.: Inhibition of apoptosis by gamma interferon in cells and mice infected with Chlamydia muridarum (the mouse pneumonitis strain of Chlamydia trachomatis). *Infect. Immun.* 2002, 70, 2559-2665.
21. Perfettini J. L., Ojcius D. M., Andrews C. W. Jr., Korsmeyer S. J., Rank R. G., Darville T.: Role of proapoptotic BAX in propagation of Chlamydia muridarum (the mouse pneumonitis strain of Chlamydia trachomatis) and the host inflammatory response. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 9496-9502.
22. Rajalingam K., Al-Younes H., Müller A., Meyer T. F., Szczepek A. J., Rudel T.: Epithelial cells infected with Chlamydia pneumoniae (Chlamydia pneumoniae) are resistant to apoptosis. *Infect. Immun.* 2001, 69, 7880-7888.
23. Rajalingam K., Sharma M., Lohmann C., Oswald M., Thieck O., Froelich C. J., Rudel T.: Mcl-1 is a key regulator of apoptosis resistance in Chlamydia trachomatis-infected cells. *PLoS ONE*, 2008, 3, e3102 (online).
24. Roblin P. M., Kohlhoff S., Malay S., Kutlin A., Riska P. F., Hammer-schlag M. R.: Effect of acute and chronic C. pneumoniae infection on apoptosis in A-549 cells. *Proced. 10th Int. Symp. Human Chlamydial Infection*, San Francisco 2002, s. 89-92.
25. Satta A., Stivala A., Garozzo A., Morello A., Perdichizzi A., Vicari E., Salmeri M., Calogero A. E.: Experimental Chlamydia trachomatis infection causes apoptosis in human sperm. *Hum. Reprod.* 2006, 21, 134-137.
26. Stenner-Liewen F., Liewen H., Zapata J. M., Pawlowski K., Godzik A., Reed J. C.: CADD, a Chlamydia that interacts with death receptors. *J. Biol. Chemistry* 2002, 277, 963-966.
27. Stepień A., Izdebska M., Grzanka A.: Rodzaje śmierci komórek. *Post. Hig. Med. Dośw.* (online) 2007, 61, 420-428.
28. Verbeke P., Welter-Stahl L., Ying S., Hansen J., Häcker G., Darville T., Ojcius D. M.: Recruitment of Bad by the Chlamydia trachomatis vacuole correlates with host-cell survival. *PLoS Pathogens* 2006, 2, 408-417.
29. Wahl C., Oswald U., Weiss S., Marre R., Essig A.: Survival of Chlamydia pneumoniae-infected Mono Mac 6 cells is dependent on NF- κ B binding activity. *Infect. Immun.* 2001, 69, 7039-7045.
30. Xia M., Bumgarner R. E., Lampe M. F., Stamm W. E.: Chlamydia trachomatis infection alters host cell transcription in diverse cellular pathways. *J. Infect. Dis.* 2003, 187, 424-434.
31. Xiao Y., Zhong Y., Greene W., Dong F., Zhong G.: Chlamydia trachomatis infection inhibits both Bax and Bak activation induced by staurosporine. *Infect. Immun.* 2004, 72, 5470-5474.
32. Xiao Y., Zhong Y., Su H., Zhou Z., Chiao P., Zhong G.: NF- κ B activation is not required for Chlamydia trachomatis inhibition of host epithelial cell apoptosis. *J. Immunol.* 2005, 174, 1701-1708.
33. Ying S., Fischer S. F., Pettengill M., Conte D., Paschen S. A., Ojcius D. M., Häcker G.: Characterization of host cell death induced by Chlamydia trachomatis. *Infect. Immun.* 2006, 74, 6057-6066.
34. Ying S., Seiffert B. M., Häcker G., Fischer S. F.: Broad degradation of proapoptotic proteins with the conserved Bcl-2 homology domain 3 during infection with Chlamydia trachomatis. *Infect. Immun.* 2005, 73, 1399-1403.
35. Zandbergen G. van, Gieffers J., Kothe H., Rupp J., Bollinger A., Aga E., Klinger M., Brade H., Dalhoff K., Maass M., Solbach W., Laskay T.: Chlamydia pneumoniae multiply in neutrophil granulocytes and delay their spontaneous apoptosis. *J. Immunol.* 2004, 172, 1768-1776.

Adres autora: dr Małgorzata Pawlikowska, ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin; e-mail: kurp13@univ.szczecin.pl