

CHOROBA NIEDOKRWIENNA SERCA A ZAKAŻENIA BAKTERYJNE *HELICOBACTER PYLORI* I *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* – ROLA BIAŁEK SZOKU CIEPLNEGO I ZJAWISKO MIMIKRY ANTYGENOWEJ

Agnieszka Matusiak^{1*}, Magdalena Chmiela¹

¹ Pracownia Gastroimmunologii, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej,
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki, 90-237 Łódź, ul. Banacha 12/16

Wpłynęło w lutym 2013 r.

Spis treści: 1. Patogeneza choroby niedokrwiennej serca. 2. Choroba niedokrwiennej serca jako proces zapalny. 3. Markery reakcji zapalnej w chorobie niedokrwiennej serca. 4. Czynniki bakteryjne a choroba niedokrwiennej serca. 5. Podłoże autoimmunizacyjne choroby niedokrwiennej serca. 6. Białka szoku cieplnego (Hsp) – bodźce i tarcze w procesach z autoimmunizacji w chorobie niedokrwiennej serca. 7. Prozapalne działanie białek Hsp w chorobie niedokrwiennej serca. 8. Hipoteza cytotoksycznego działania przeciwciał przeciwko bakteryjnym białkom szoku cieplnego o masie cząsteczkowej 60 i 65 kDa w chorobie niedokrwiennej serca. 9. Podsumowanie

Coronary heart disease versus *Helicobacter pylori* and *Chlamydomphila pneumoniae* bacterial infections – the role of heat shock proteins and the phenomenon of antigenic mimicry

Abstract: The end of the previous century brought new findings concerning the role of inflammation and the infectious agents in the development of atherosclerosis. However, it is still not clear whether and how the infectious agents participate in the formation and the development of the atherosclerotic plaque. This article discusses the findings which to confirm the hypothesis that the bacterial Hsp proteins are factors promoting the autoimmune reactions and pathological processes leading to coronary heart disease. The involvement of bacterial Hsp proteins in the atherosclerotic processes is probably based on the upregulation of anti-Hsp60 autoantibodies produced in response to infection with a pathogen which produces Hsp60. Since the Hsp proteins are very conservative, the antibodies produced in response to bacterial Hsp60 may react with the human analogue Hsp60 exposed on the surface of endothelium. The complexes of autoantibodies and human Hsp60 proteins may induce the complement dependent cytotoxicity and promote inflammatory damage of the vessels.

Contents: 1. Pathogenesis of coronary heart disease. 2. Coronary heart disease as an inflammatory process. 3. Markers of inflammation in coronary heart disease. 4. Bacterial factors and coronary heart disease. 5. Autoimmune background of coronary heart disease. 6. Heat shock proteins (Hsp) – the stimuli and the targets of autoimmune processes in coronary heart disease. 7. Proinflammatory action of Hsp proteins in coronary heart disease. 8. The hypothesis of the cytotoxic effect of antibodies against bacterial Hsp60 and Hsp65 proteins in coronary heart disease. 9. Summary

Słowa kluczowe: białka szoku cieplnego (Hsp), *Chlamydomphila pneumoniae*, choroba niedokrwiennej serca, *Helicobacter pylori*
Key words: *Chlamydomphila pneumoniae*, coronary heart disease, heat shock protein (Hsp), *Helicobacter pylori*

1. Patogeneza choroby niedokrwiennej serca

Choroba niedokrwiennej serca (ChNS) stanowi zespół dolegliwości będących następstwem przewlekłego stanu niedotlenienia i niedożywienia komórek mięśnia sercowego. ChNS objawia się uciskiem, pieczeniem, uczuciem ciężaru, dyskomfortu oraz dławienia w klatce piersiowej [59, 69].

Ze względu na rolę danego czynnika w patogenezie choroby wieńcowej wyodrębnia się następujące czynniki przyczynowe: palenie papierosów, nadciśnienie tętnicze, podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego i frakcji lipoproteiny o niskiej gęstości (LDL – low density lipoprotein), a obniżone stężenie frakcji lipoproteiny o wysokiej gęstości (HDL – high density lipoprotein) oraz cukrzyca; warunkowe: podwyższone stężenie trójglicerydów, nieprawidłowe stężenie lipoprotein, homocysteiny i czynników krzepnięcia, oraz czynniki

usposabiające: otyłość, brak aktywności fizycznej, choroba wieńcowa w wywiadzie rodzinnym, płeć, czynniki socjoekonomiczne, etniczne i behawioralne. Płeć może stanowić czynnik ryzyka w grupie osób zdrowych, szczególnie w związku z wiekiem. Przyjmuje się, że zachorowania na choroby wieńcowe mogą wystąpić w znacznie młodszym wieku u mężczyzn niż u kobiet. W grupie ryzyka obciążonej dodatnim wywiadem rodzinnym ryzyko wystąpienia wyżej wymienionych zmian dotyczy mężczyzn poniżej 45 roku życia i kobiet poniżej 55 [74, 79].

2. Choroba niedokrwiennej serca jako proces zapalny

Na przełomie XX i XXI wieku badania prowadzone nad chorobą niedokrwiennej serca wkroczyły w nową fazę. Zwrócono uwagę na rolę procesu zapalnego w rozwoju

* Autor korespondencyjny: Pracownia Gastroimmunologii, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, 90-237 Łódź, ul. Banacha 12/16; tel. 42 635 45 25; e-mail: aga.matus@wp.pl

miażdżycy wskazując, iż jedną z głównych jej przyczyn jest miejscowa i uogólniona reakcja zapalna z udziałem komórek układu odpornościowego [30].

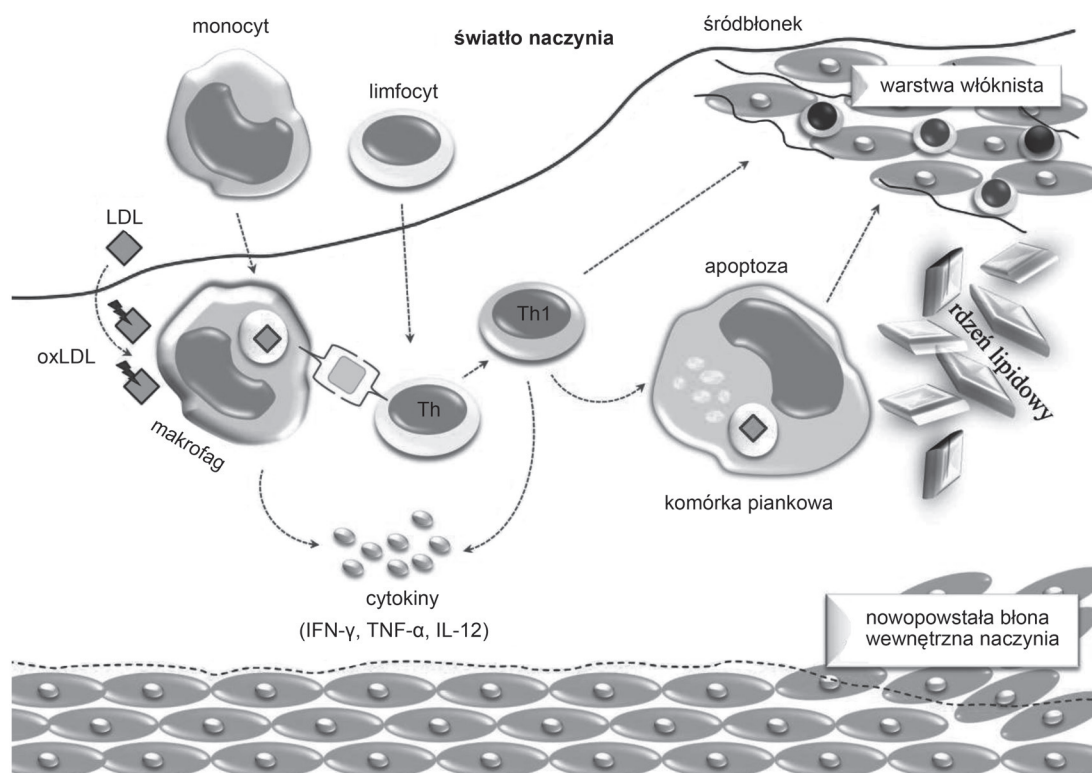
Trudno jest jednoznacznie wskazać czynniki inicjujące powstawanie ogniska zapalnego i tworzenie blaszki miażdżycowej. Jednakże wiadomo, że dysfunkcja śródbłonna i wysoki poziom cholesterolu odgrywają znaczącą rolę w procesie zapalnym, który cechuje napływ makrofagów do przestrzeni śródbłonkowej, wskutek zwiększonej migracji monocytów krwi obwodowej [54].

Monocyty przekształcają się w makrofagi, które rozpoznają i fagocytują utlenione cząsteczki lipoproteiny o niskiej gęstości – oxLDL (oxidised low-density lipoproteins). Białkowe składniki cząsteczek LDL są przetwarzane i prezentowane limfocytom T przez makrofagi, jak również przez komórki dendrytyczne w powiązaniu z cząsteczkami układu zgodności tkankowej – MHC (major histocompatibility complex) klasy II. Aktywowane w środowisku reakcji zapalnej makrofagi i limfocyty uwalniają chemokiny, które stymulują migrację komórek mięśni gładkich z mięśniówki, tworzących wraz z komórkami piankowatymi włóknistą pokrywę. Proces ten ułatwiają interferon gamma – IFN- γ i czynnik martwicy guzów – TNF- α (tumor necrosis factor α), wydzielane przez limfocyty pomocnicze Th1 (T helper), jak również interleukina 12 (IL-12) produkowana przez makrofagi i komórki piankowate. Te ostatnie ulegają apoptozie, a powstałe nierozpuszczalne kryształy cho-

lesterolu tworzą pokrywę lipidową blaszki miażdżycowej [54]. Potwierdzeniem, iż zmiany miażdżycowe są związane z reaktywnością komórek odpornościowych jest zwiększona ich liczba we wszystkich stadiach rozwoju ognisk miażdżycowych. Wykazano, iż główną populacją komórek w świeżo tworzących się zmianach miażdżycowych są limfocyty T, natomiast w ogniskach przetrwałych proporcja ta zostaje odwrócona na korzyść makrofagów. Gromadzące się w zmianach miażdżycowych makrofagi inicjują procesy odpornościowe poprzez prezentację antygenów limfocytom T oraz produkcję cytokin i chemokin [40, 73], rys. 1.

3. Markery reakcji zapalnej w chorobie niedokrwiennej serca

Na liście wskaźników stanu zapalnego, które korelują z ryzykiem powstania zmian miażdżycowych znajdują się m.in.: mieloperoksydaza i metaloproteiny magazynowane w ziarnistościach neutrofilów i makrofagów. Mieloperoksydaza przyczynia się do wędrówki leukocytów oraz akumulacji komórek piankowatych i przez to pośrednio do dysfunkcji śródbłonna, indukując ich apoptozę, co skutkuje pęknięciem blaszki miażdżycowej i jej destabilizacją. Efektem powstających uszkodzeń jest uwalnianie czynnika tkankowego oraz aktywacja kaskady krzepnięcia krwi. Mieloperoksydaza,



Rys. 1. Powstawanie blaszki miażdżycowej w aspekcie procesu zapalnego

(LDL – lipoproteina o niskiej gęstości, oxLDL – utlenione cząsteczki LDL, limfocyty Th – limfocyty T pomocnicze, IFN- γ – interferon gamma, TNF- α – czynnik martwicy guzów α , IL-12 – interleukina 12)

zużywając śródbłonkowy tlenek azotu zmniejsza jego dostępność w śródbłonku oraz hamuje jego czynność rozkurczową i przeciwzapalną. Ponadto bierze udział w oksydacyjnej modyfikacji LDL do form aterogennych, rozpoznawanych przez receptory makrofagów [61]. Istotnymi markerami reakcji zapalnej, aktywowanymi przez mieloperoksydazę są wydzielane przez makrofagi metaloproteiny, niszczące składniki macierzy zewnątrzkomórkowej m.in. elastynę i kolagen. Rozkład tych białek prowadzi do destabilizacji blaszki miażdżycowej. Metaloproteiny uczestniczą także w procesie peroksydacji lipidów i przyspieszaniu zużycia tlenu azotu [73].

Również białko C-reaktywne – CRP (C reactive protein) należące do białek fazy ostrej, którego stężenie w osoczu rośnie w odpowiedzi na zakażenie lub uszkodzenie tkanek, stanowi ważny marker procesu zapalnego i jest uznawane za wskaźnik wystąpienia incydentu wieńcowego powiązanego z uszkodzeniem komórek śródbłonka. Stężenie CRP jest skorelowane z podwyższonym stężeniem IL-6, TNF- α , otyłością i insulinoopornością, co może wskazywać na związek pomiędzy przewlekłym zapaleniem a dysfunkcją śródbłonka naczyniowego [13]. Wykazano, że CRP jest lepszym wskaźnikiem wystąpienia incydentu wieńcowego niż frakcja LDL cholesterolu, gdyż kobiety z wysokim stężeniem CRP i niskim LDL były bardziej narażone na ostrą niewydolność wieńcową w porównaniu z tymi, które charakteryzowały się wysokim stężeniem LDL a niskim CRP [67].

4. Czynniki bakteryjne a choroba niedokrwienna serca

Przewlekły stan zapalny towarzyszy również wielu chorobom zakaźnym, stąd rozpatruje się wpływ zakażeń wirusem *Herpes simplex*, a także zakażeń bakteryjnych, najczęściej *Chlamydomphila pneumoniae*, *Helicobacter pylori* i *Mycoplasma pneumoniae* na rozwój choroby niedokrwiennej. Reakcja zapalna inicjowana wskutek takich zakażeń jest powiązana z nasileniem ekspresji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (nuclear factor) [9, 13].

Różne mechanizmy związane z chorobami zakaźnymi mogą mieć wpływ na rozwój choroby niedokrwiennej serca. Niektóre z nich wynikają z obecności czynnika zakaźnego w ścianie naczynia i wiążą się z lokalną reakcją zapalną oraz nasiloną proliferacją komórek mięśni gładkich. Częściej jednak procesy patologiczne towarzyszące chorobie wieńcowej są wynikiem przewlekłej reakcji zapalnej, reakcji o charakterze autoimmunologicznym oraz modyfikacji klasycznych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca przez czynniki zakaźne [9].

Chlamydomphila pneumoniae. Gatunek *C. pneumoniae* należy do patogenów wewnątrzkomórkowych charakteryzujących się ograniczoną aktywnością

metaboliczną, potwierdzoną przez brak zdolności syntezy ATP. Na własne potrzeby bakterie te wykorzystują ATP pochodzące z zakażonych komórek. W ich ścianie komórkowej występuje lipopolisacharyd (LPS), brak jest natomiast peptydoglikanu [38]. Formami zakażającymi komórki gospodarza są, posiadające nukleoid, ciała elementarne (EB – elementary body), które wewnątrz komórek docelowych przekształcają się w metabolicznie aktywne ciała siateczkowate (RB – reticulate body), nie zawierające nukleoidu [7]. Z niejasnych przyczyn ciała siateczkowate mogą przekształcać się w ciała przetrwalne (PB – persistent body), cechujące się zdolnością długotrwałego pozostawiania w komórce gospodarza. Formy takie najprawdopodobniej odpowiedzialne są za rozwój zakażeń przewlekłych [7, 38]. Charakterystyczną dla *C. pneumoniae* cechą jest zdolność namnażania się w różnego rodzaju komórkach, między innymi w makrofagach lub w komórkach mięśni gładkich ścian naczyń krwionośnych [2].

C. pneumoniae powoduje zakażenia wyłącznie u ludzi pod postacią zapalenia płuc, astmy oskrzelowej i przewlekłej obturacyjnej choroby płuc [7, 38].

Wśród czynników chorobotwórczości *C. pneumoniae* wyróżnia się antygeny grupowo swoiste (kompleks lipopolisacharydowy wspólny dla wszystkich przedstawicieli rodzaju *Chlamydomphila*) oraz antygeny gatunkowo swoiste (białko błony zewnętrznej – omp1, odgrywające istotną rolę w utrzymaniu integralności ściany komórkowej ciałek elementarnych oraz białko szoku cieplnego – cHsp o wysokim stopniu homologii z ludzkim białkiem Hsp60) [27, 65].

S a i k k u, w 1988 roku, jako pierwszy zwrócił uwagę na rolę zakażeń *C. pneumoniae* w rozwoju choroby niedokrwiennej serca wykazując, że u osób z zawałem mięśnia sercowego aż 65% badanych posiadało przeciwciała przeciwko *C. pneumoniae* [70]. W późniejszych badaniach T h o m i wsp. dowiedli, że podwyższony poziom takich przeciwciał blisko trzykrotnie zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia choroby niedokrwiennej serca [80]. W badaniach własnych wykazano istotnie wyższą częstość zakażeń *C. pneumoniae*, zwłaszcza zakażeń o charakterze przewlekłym, u pacjentów z objawową chorobą wieńcową w porównaniu do osób zdrowych [50].

Do chwili obecnej nie wiadomo w jaki sposób zakażenie *C. pneumoniae* wpływa na powstawanie blaszek miażdżycowych. Przypuszcza się, że bakterie mogą rozwijać się w obrębie tych struktur. Przemawia za tym sposób przenoszenia zakażenia tymi drobnoustrojami z człowieka na człowieka drogą kropelkową, ich transport za pośrednictwem makrofagów, jak również potwierdzone występowanie i namnażanie się w śródbłonku naczyniowym. *C. pneumoniae* obecne w makrofagach aktywują wytwarzanie metaloproteinaz, które, jak już zaznaczono, uszkodzają tkankę łączną w obszarze

blaszki miażdżycowej. Udowodniono także, iż rozwój *C. pneumoniae* w śródbłonku nasila procesy zakrzepowe [15, 38]. Przewlekłym lub nawracającym infekcjom *C. pneumoniae* towarzyszy wzrost stężenia fibrynogenu, czynnika von Willebranda, cholesterolu LDL i białka CRP w surowicy krwi [6]. Potwierdzono również, że *C. pneumoniae* w zakażonych komórkach aktywuje wytwarzanie wielu cytokin, m.in. TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 i MCP-1 (macrophage chemotactic protein) [34].

Związek zakażenia *C. pneumoniae* z chorobą niedokrwienną serca może mieć podłoże autoimmunologiczne, spowodowane reakcjami krzyżowymi pomiędzy białkami szoku cieplnego tych bakterii oraz komórek gospodarza i skierowanymi przeciwko nim przeciwciałami. Zakażenie *C. pneumoniae* wzbudza zarówno komórkową, jak i humoralną odpowiedź immunologiczną gospodarza. Kluczową rolę w eliminacji zakażenia odgrywa odpowiedź typu komórkowego z udziałem limfocytów T CD8+, które do pełnej aktywacji wymagają IFN- γ , wytwarzanego przez limfocyty T pomocnicze pobudzone przez antygeny *C. pneumoniae* [21, 27].

Gdy odpowiedź komórkowa adaptacyjna swoista zawodzi wówczas zakażenie przybiera postać przewlekłą i taki jest też charakter towarzyszącej mu reakcji zapalnej, która może doprowadzić do rozwoju procesów patologicznych [78].

Helicobacter pylori. Od chwili odkrycia pałeczek *H. pylori* przez Warrena i Marshalla w 1982 roku i wykazania ich roli w rozwoju choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy powszechnie przyjmuje się, że choroba ta ma charakter zakaźny i jest wynikiem kolonizacji nabłonka żołądka przez te bakterie. Późną konsekwencją takich zakażeń może być rozwój zmian nowotworowych o charakterze chłoniaka MALT (mucosa associated lymphoid tissue) lub gruczolakoraka [47].

Do czynników ryzyka zakażeń *H. pylori* należy niski status socjo-ekonomiczny, gęstość zaludnienia, złe warunki sanitarne oraz predyspozycje genetyczne. W trakcie rozwoju zakażenia różne czynniki *H. pylori*, między innymi ureaza, toksyna wakuolizująca – VacA (vacuolating cytotoxin A), białko CagA związane z cytotoksyną (cytotoxin associated gene A antigen), inicjują ostrą reakcję zapalną, która z czasem przybiera charakter przewlekły. Najważniejszym czynnikiem chorobotwórczości pałeczek *H. pylori* jest ureaza, która neutralizuje kwaśny odczyn soku żołądkowego, stwarzając tym bakteriom warunki do wzrostu. Ureaza jest także ważnym czynnikiem prozapalnym [45].

Po raz pierwszy na możliwą rolę zakażenia *H. pylori* w rozwoju choroby niedokrwiennej serca uwagę zwrócił Mendall i wsp. w 1994 roku, wykazując podwyższony poziom przeciwciał przeciwko antygenom *H. pylori* u większości pacjentów z chorobą wieńcową [53]. Z kolei Amersio i wsp. wykryli DNA *H. pylori*

w blaszkach miażdżycowych, czemu towarzyszyła nasilona ekspresja cząsteczek ICAM-1 (intercellular adhesion molecule) [1].

W wielu badaniach wykazano, że u osób zakażonych *H. pylori*, podobnie jak u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, występuje podwyższony poziom cholesterolu całkowitego i trójglicerydów, przy jednoczesnym obniżeniu frakcji HDL w surowicy krwi. Wskazuje to na możliwy wpływ przewlekłej infekcji na metabolizm lipidów, co jest związane ze zwiększonym ryzykiem choroby wieńcowej [42, 56]. W surowicach osób zakażonych *H. pylori* występuje podwyższone stężenie cytokin zapalnych, głównie IL-6, IL-8 i TNF- α , jak również fibrynogenu, inhibitora tkankowego aktywatora plazminogenu typu 1 oraz czynnika von Willebranda, który stanowi czuły wskaźnik jawnej klinicznie miażdżycy i jest czynnikiem prognostycznym wystąpienia ostrego zespołu wieńcowego [17]. Nasila się także produkcja białka C-reaktywnego [85] oraz agregacja płytek krwi, co sprzyja tworzeniu mikrozakrzepów. Natomiast alkalizacja środowiska żołądka związana z zakażeniem *H. pylori* sprzyja wzrostowi stężenia homocysteiny w surowicy krwi, co z kolei ogranicza wchłanianie kwasu foliowego i witaminy B₁₂ [17].

W nasilaniu procesu zapalnego towarzyszącego miażdżycy nie wyklucza się udziału lipopolisacharydu pałeczek *H. pylori*, który stymuluje wydzielanie przez makrofagi TNF- α , o działaniu hamującym aktywność lipazy lipoproteinowej. Pociąga to za sobą wzrost poziomu trójglicerydów i obniżenie stężenia cholesterolu frakcji HDL w surowicy. W badaniach, w których podawano myszom LPS *H. pylori* przez 10 dni, utrzymując warunki przewlekłej infekcji, zaobserwowano nasilenie zmian miażdżycowych i znacznie wyższy poziom przeciwciał przeciwko oxLDL w porównaniu do zwierząt kontrolnych [58]. Dowiedziono również, że w blaszce miażdżycowej pod wpływem oxLDL, nasila się ekspresja receptora TLR4 (toll-like receptor 4) wiążącego LPS [93]. Unkelbach i wsp. nie wykluczyli, iż polimorfizm genów kodujących receptory CD14 i TLR4, pośredniczących w aktywacji komórek odpornościowych przez LPS, może determinować rozwój choroby wieńcowej [12, 84]. Z kolei Hajra i wsp. wykazali nasilenie aktywacji NF- κ B oraz ekspresji E-selektyny i VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule) w komórkach śródbłonka naczyń myszy transgenicznych pozbawionych receptora dla LDL, stymulowanych lipopolisacharydem [20]. Przewlekłe zakażenie *H. pylori* sprzyja tworzeniu się kompleksów LPS-LDL, ze współudziałem białka wiążącego lipopolisacharyd – LBP (lipopolisaccharide binding protein). Kompleksy takie, deponowane w śródbłonku naczyń, mogą nasilać procesy miażdżycowe związane z reakcją zapalną [88]. Duzendorfer i wsp. wykazali, że białko LBP jest niezbędne do aktywacji przez LPS komórek śródbłonka tętnic wieńcowych,

które posiadają wewnątrzkomórkowy receptor TLR4, a białko LBP spełnia funkcję katalizatora przenoszącego kompleks utworzony z surowiczego białka sCD14 i LPS do wnętrza komórek [11]. Wobec tego niezwykle ważną wydaje się informacja o wzroście stężenia LBP w surowicy wraz z nasileniem objawów choroby wieńcowej i podczas zakażenia *H. pylori* [19]. Nie wyklucza się, iż LPS *H. pylori* może sprzyjać rozwojowi choroby niedokrwiennej serca również poprzez zdolność obniżania aktywności fagocytarnej komórek żernych [77], a także osłabianie aktywności cytotoksycznej komórek NK [68] i proliferacyjnej limfocytów [18].

Intensywność reakcji zapalnej towarzyszącej zakażeniom *H. pylori* jest skorelowana z ekspresją białek CagA i VacA u szczepów typu I (CagA+VacA+). Zakażeniom takim towarzyszy wzrost poziomu trombiny – czynnika VII C oraz fragmentów F 1+2 protrombiny [17]. Podczas reakcji zapalnej rozwijającej się wskutek takich zakażeń odsłaniają się prawdopodobnie antygeny komórek śródbłonna i mięśni gładkich w blaszkach międzycygowych eksponowane na działanie przeciwciał anty-CagA. Powstawanie takich kompleksów immunologicznych wiąże się z ryzykiem dalszych uszkodzeń śródbłonna zależnych od kompleksu litycznego białek dopełniacza [14].

Zależność między zakażeniami *H. pylori* a podatnością na rozwój choroby wieńcowej potwierdzają badania prowadzone na materiale pochodzącym od osób poddanych leczeniu w celu eliminacji pałeczek *H. pylori* z organizmu, u których stężenie trójglicerydów, IL-1, IL-8 oraz TNF- α znacznie obniżało się. Po zakończeniu ukierunkowanego leczenia przeciwko *H. pylori*, z zastosowaniem antybiotyków, średnica światła naczyń krwionośnych była większa niż u chorych, u których nie wdrożono antybiotykoterapii [37].

5. Podłoże autoimmunizacyjne choroby niedokrwiennej serca

Rola patogenów bakteryjnych w chorobie niedokrwiennej serca jest coraz częściej rozpatrywana jako proces autoimmunizacyjny związany z podobieństwem antygenowym struktur gospodarza i czynników zakaźnych, które mogą inicjować krzyżową aktywność autoreaktywnych limfocytów T i B. Zjawisko to jest definiowane jako mimikra antygenowa. Mechanizmy efektorowe odpowiedzi immunologicznej rozwijającej się z udziałem komórek odpornościowych gospodarza mogą być kierowane zarówno przeciwko strukturom występującym u drobnoustrojów, jak i tym zlokalizowanym w komórkach gospodarza. Różne białka, które posiadają zbliżoną strukturę trzeciorzędową mogą indukować podobną odpowiedź serologiczną. Struktury identyczne lub podobne do komponentów komórek

gospodarza zidentyfikowano u wielu patogenów bakteryjnych m.in. *C. pneumoniae*, *Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*, *Mycoplasma pneumoniae*, *H. pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, a także u wirusów i grzybów [94].

Mimikra antygenowa jest też podstawą „hipotezy zakaźnej”, która zakłada, że powszechne w populacji ludzkiej choroby, m.in. choroby neurodegeneracyjne, choroby tkanki łącznej, a także choroba niedokrwiennej serca są następstwem chorób zakaźnych.

Na modelu mysim wykazano, że skutkiem zakażenia *Chlamydia* jest zapalenie mięśnia sercowego, w którego rozwoju kluczową rolę odgrywają przeciwbakteryjne przeciwciała przyczyniające się do uszkodzenia mięśnia sercowego. Przeciwciała takie mogą być inicjowane przez białko błony zewnętrznej, którego sekwencja aminokwasowa jest podobna do sekwencji łańcucha ciężkiego alfa miozyny, występującej w mięśniu sercowym ludzi. Przypuszcza się, że zarówno *Chlamydia*, jak i pałeczki *H. pylori* mogą nasilać u osób zakażonych objawy choroby niedokrwiennej serca poprzez indukowanie reakcji autoimmunologicznych, inicjowanych przez białka szoku cieplnego [43]. Wykazano między innymi wpływ białka HspB *H. pylori* o masie cząsteczkowej 60 kDa na produkcję cytokin i adhezyn komórkowych, a także metaloproteiny pochodzenia makrofagowego, których znaczenie w rozwoju choroby niedokrwiennej serca jest dobrze udokumentowane [51]. Matsura i wsp. sugerują, że białko HspB *H. pylori* może sprzyjać rozwojowi choroby niedokrwiennej serca poprzez nasilenie wytwarzania IFN- γ i IL-12 przez limfocyty pomocnicze Th1 [48].

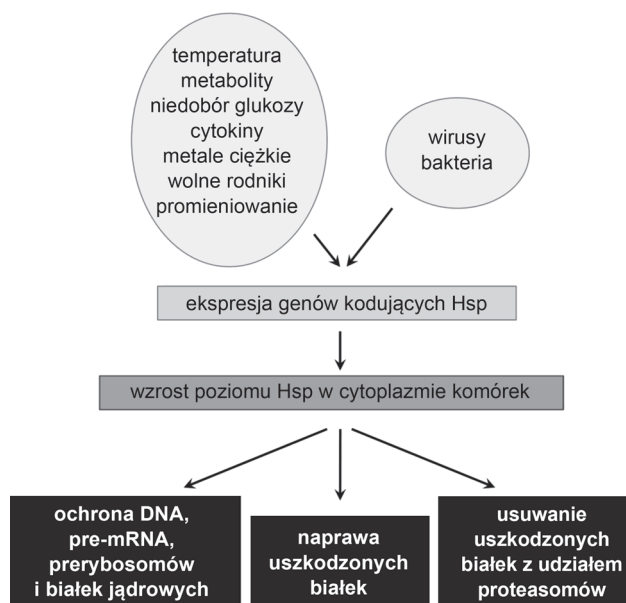
Wielu autorów odnosi mimikrę antygenową, będącą podłożem reakcji zapalnej w przebiegu choroby niedokrwiennej serca, do determinantów antygenowych Lewis (Le). Determinanty takie obecne na komórkach ludzkich stanowią ligandy dla cząsteczek adhezyjnych, ulegających ekspresji w śródbłonku naczyń krwionośnych (E i P-selektyna) oraz na leukocytach (L-selektyna) [16]. Wiązanie selektyn z determinantami Le kieruje migracją limfocytów do ogniska zapalenia i odgrywa ważną rolę w skupianiu komórek odpornościowych w obwodowych węzłach chłonnych. Wykazano, iż pałeczki *H. pylori* posiadające antygeny Le w łańcuchach o-swoistych LPS, wiążą E i L-selektyny, co może wskazywać na rolę takich interakcji w przewlekłym procesie zapalnym poprzez rekrutację komórek zapalnych, a także przetrwanie pałeczek *H. pylori* w śródbłonku [16]. Aktywność LPS *H. pylori* wyraża się także pobudzeniem monocytów i makrofagów do wydzielania cytokin prozapalnych, tj. IL-1, IL-6 czy IL-8 [18]. Szczepy z ekspresją determinantów LeX lub LeA przyciągają krążące limfocyty poprzez L-selektynę [16], o czym świadczy dodatnia korelacja pomiędzy ekspresją determinantów Le u *H. pylori* a nasileniem kolonizacji

oraz napływem neutrofilów i limfocytów do błony śluzowej żołądka u pacjentów zakażonych *H. pylori*. Także u pacjentów z owrzodzeniem żołądka, zakażonych *H. pylori* z ekspresją LeX, obserwowano silny naciek neutrofilów [24].

6. Białka szoku cieplnego (Hsp) – bodźce i tarcze w procesach z autoimmunizacji w chorobie niedokrwiennej serca

Wysocze konserwatywne białka szoku cieplnego (heat shock proteins – hsp) mogą stanowić zarówno bodziec, jak i struktury docelowe w procesach patologicznych wynikających z autoimmunizacji. Są homogenną grupą około 20 białek występujących we wszystkich poznanych organizmach, zarówno prokariotycznych, jak i eukariotycznych [66]. Po raz pierwszy zostały opisane przez Ritossa u *Drosophila melanogaster* w 1962 roku. Rozmieszczenie tych cząstek w komórkach uwarunkowane jest ich powinowactwem do określonych organelli lub występowaniem właściwych dla nich substratów. W prawidłowo funkcjonującej komórce białka Hsp gromadzą się w siateczce śródplazmatycznej, gdzie zachodzi biosynteza białka, jak również w mitochondriach i lizosomach. Natomiast podczas podziału komórki związane są z cytoszkieletem, stabilizując i chroniąc go przed reorganizacją w niekorzystnych warunkach. Podczas stresu poziom Hsp w cytoplazmie wzrasta, następnie białka te są transportowane do jądra komórkowego, gdzie chronią DNA, pre-mRNA, prerybosomy i białka jądrowe przed uszkodzeniem i degradacją, aktywują także różne geny. Ekspresja genów kodujących białka szoku cieplnego jest indukowana przez wiele czynników szkodliwych, m.in. temperaturę, trucizny metaboliczne, analogi aminokwasów, niedobór glukozy, cytokiny, alkohole, metale ciężkie, wolne rodniki, różne typy promieniowania, zakażenia wirusowe i bakteryjne, a także niesteroidowe leki przeciwzapalne [33, 82], rys. 2.

Na podstawie mas cząsteczkowych i różnic w strukturze pierwszorzędowej polipeptydów, wśród białek szoku cieplnego wyróżniono następujące podgrupy: Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40 i Hsp niskocząsteczkowe o masie cząsteczkowej w zakresie od 8,5 do 40 kDa. Nazewnictwo takie przyjęto w trakcie konferencji w Cold Spring Harbor w 1996 roku [81, 82]. Białka Hsp stanowią 5–10% wszystkich białek organizmu, chronią komórki przed działaniem czynników stresowych, zarówno zewnątrzkomórkowych, jak i wewnątrzkomórkowych (metaboliety), pełniąc jednocześnie ważne funkcje w procesach fizjologicznych. Plejotropowa aktywność białek Hsp związana jest z tworzeniem przez nie przejściowo kompleksów z innymi białkami. Może to powodować zmianę ich konformacji, co pozwala na ich przemieszczanie się przez błony biologiczne do róż-



Rys. 2. Czynniki indukujące ekspresję genów kodujących białka szoku cieplnego – Hsp i rola tych białek na poziomie komórkowym

nych organelli komórkowych. Hsp uczestniczą również w procesie naprawy uszkodzonych białek, umożliwiając im powrót do postaci natywnej. Jeśli jednak defekty są na tyle duże, że nie jest to możliwe, to pośredniczą w usuwaniu uszkodzonych cząsteczek z udziałem proteasomów [33, 41].

Hsp o aktywności opiekuńczej stabilizują lub przywracają natywną formę chronionym białkom dzięki powinowactwu do regionów hydrofobowych polipeptydów lub częściowo rozwiniętego białka. W wyniku nieprecyzyjnego działania systemu ochrony komórki, mogą powstawać nierozpuszczalne agregaty białkowe, usuwane w wyniku hydrolizy stymulowanej przez Hsp lub też dzięki ich aktywności proteolitycznej. Białka opiekuńcze odgrywają także istotną rolę w transporcie wewnątrzkomórkowym innych białek, a także w sygnalizacji komórkowej oraz regulacji ekspresji genów [82].

Do grupy Hsp60 należy zarówno białko mitochondrialne (mt-Hsp), jak i cytoplazmatyczne. Białko mitochondrialne funkcjonuje w dynamicznej równowadze pomiędzy monomerami, heptamerami i tetradekamerami. Ich dysocjacji do monomerów następuje przy niskim stężeniu tego białka, natomiast do tworzenia tetradekamerów w obecności ATP i mitochondrialnego Hsp10, jako kofaktora mt-Hsp60. Cytoplazmatyczne białko Hsp60 tworzone jest przez formy heterooligomeryczne i bierze udział w łączeniu białek cytoszkieletu tj. aktyny i tubuliny [81].

Białka szoku cieplnego mogą stawać się immunogenne wskutek zmian strukturalnych lub potranslacyjnej modyfikacji autogennych Hsp w wyniku zaburzeń metabolicznych lub procesów oksydacyjnych. Zakłada się również możliwość tworzenia kompleksów białek

Hsp z własnymi lub obcymi antygenami, które mogłyby stymulować limfocyty B do wytwarzania przeciwciał rozpoznających białka Hsp [66].

Mimo, iż samo białko Hsp60 nie aktywuje dopełniacza, to w kompleksie z przeciwciałami nabywa taką właściwość [64]. Powstanie aktywnych białek dopełniacza w procesie kaskadowej aktywacji inicjowanej przez kompleksy immunologiczne może ostatecznie doprowadzić do uszkodzenia tkanek własnych i rozwoju zmian patologicznych. Tradycyjne czynniki rozwoju miażdżycy, tj. nadciśnienie tętnicze, hiperlipidemia, oxLDL, palenie tytoniu, uszkadzając komórki śródbłonka, doprowadzają do wzrostu ekspresji Hsp [65], przez co ryzyko powikłań wynikających z tworzenia kompleksów immunologicznych wzrasta u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca.

7. Prozapalne działanie białek Hsp w chorobie niedokrwiennej serca

Jedną z możliwości udziału białek szoku cieplnego, zarówno ludzkich, jak i bakteryjnych, w rozwoju choroby niedokrwiennej serca, jest stymulacja przez nie komórek śródbłonka naczyniowego za pośrednictwem receptora CD14 i kinazy białkowej p38 do wydzielania cytokin prozapalnych, m.in. IL-6 i TNF- α [36, 54]. W doświadczeniach z użyciem przeciwciał blokujących receptory TLR-2 i TLR-4, wykazano zahamowanie proliferacji limfocytów T w odpowiedzi na bakteryjne lub ludzkie białko Hsp, w grupie pacjentów z przewlekłym zapaleniem przyzębia i z chorobą wieńcową [22].

Silnym działaniem prozapalnym cechuje się białko Hsp60 występujące w strukturach powierzchniowych pałeczek *H. pylori*. Wykazano, że stymuluje ono komórki linii monocytów ludzkich THP-1 do wytwarzania IL-1 β , IL-8, TNF- α i IL-8 [44]. Jego stężenie jest wyższe w plazmie pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, w porównaniu do zdrowych dawców. Stwierdzono także, że u osób palących tytoń, z nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą, z podwyższonym stężeniem białka Hsp60 i swoistych wobec niego przeciwciał, częściej pojawiają się objawy choroby wieńcowej, niż u osób, u których wymienione wskaźniki pozostają w normie. Zhang i wsp. wykazali wzrost stężenia Hsp60 w plazmie pacjentów na dzień przed i dzień po wystąpieniu ostrego incydentu wieńcowego i stopniowe jego obniżenie po siedmiu dobach [97].

Sugeruje się, że zarówno egzogenne, jak i endogenne białka Hsp mogą przyczyniać się do rozwoju reakcji zapalnej w ścianach naczyń krwionośnych, a także powodować destabilizację blaszki miażdżycowej. Ludzkie i bakteryjne Hsp aktywują komórki śródbłonka naczyniowego, makrofagi, a także komórki mięśni gładkich, co wyraża się nasileniem ekspresji cząsteczek

adhezyjnych i wytwarzaniem białka CRP, fibrynogenu oraz amyloidu A [3].

Stwierdzono, że Hsp wytwarzane przez *C. pneumoniae* regulują ekspresję metaloproteinaz i sekrecję TNF- α w komórkach gospodarza. Przypuszcza się, że ma to związek z wykorzystywaniem przez te drobnoustroje składników pokarmowych pochodzących z zasiedlanych komórek. Do wzrostu stężenia Hsp we krwi gospodarza dochodzi prawdopodobnie w momencie wysiewu bakterii, po zakończeniu fazy wewnątrzkomórkowego namnażania [6].

Również odpowiedź Th1, będąca reakcją na zakażenie *H. pylori*, może przyczyniać się do wystąpienia zmian miażdżycowych. Z powodu znacznej homologii sekwencji aminokwasowych ludzkiego Hsp60 i białka Hsp60 *H. pylori* (Hp-Hsp60) limfocyty Th1 o swoistości wobec bakteryjnego Hsp napływające do błony śluzowej żołądka, mogą być aktywowane i przyciągane przez endogenne cząsteczki Hsp60 kumulowane na powierzchni śródbłonka, w odpowiedzi na czynniki stresogenne, tj. nadciśnienie tętnicze, hipercholesterolemię czy cytokiny. Niektóre peptydy ludzkiego białka Hsp60 zostały wykryte w strukturze limfocytów T CD4+, co może generować autoimmunologiczne zmiany miażdżycowe. Wykazano, że modulacja równowagi Th1/Th2 w kierunku redukcji odpowiedzi Th1, w trakcie immunizacji białkiem Hsp60 *H. pylori*, skutkuje zmniejszeniem rozmiaru blaszek miażdżycowych. Również terapia eradykacyjna *H. pylori* prowadzi do ograniczenia takich zmian, ponieważ eliminacja czynnika zakaźnego przywraca równowagę Th1/Th2. Można zatem przypuszczać, iż redukcja limfocytów Th1 (CD4+) swoistych wobec Hsp60 *H. pylori* może przyczynić się do ograniczenia rozwoju zmian miażdżycowych. W badaniach *in vitro* wykazano, iż limfocyty Th1 aktywowane Hp-Hsp60, pochodzące od myszy zakażonych *H. pylori*, przenikały przez barierę komórek śródbłonka. Natomiast nieaktywowane takim białkiem limfocyty izolowane od myszy zakażonych *H. pylori* nie przekraczały bariery śródbłonka. Kiedy komórki śródbłonka poddano działaniu przeciwciał IgG przeciwko Hsp60 *H. pylori* aktywowane Hp-Hsp60 limfocyty Th1 traciły zdolność wnikania pomiędzy komórki śródbłonka [4].

Rozpuszczalne białka Hsp (sHsp) mogą być uwalniane z komórek ludzkich lub bakteryjnych podczas stresu fizycznego, chemicznego i biologicznego. Mogą być także produkowane przez komórki zapalne poddane działaniu cytokin. Źródłem rozpuszczalnych białek sHsp mogą być również komórki apoptotyczne i uszkodzone mechanicznie [46]. Stwierdzono wzrost stężenia sHsp u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i z miażdżycą tętnicy szyjnej oraz jego związek z grubością ścian tętnic. U niektórych pacjentów poziom tego białka przekraczał 1 mg/l [63, 90].

Choć większość badaczy wskazuje na wzrost stężenia białka Hsp60 w surowicy osób z chorobą niedokrwienną serca, to Zhang i wsp. nie potwierdzili związku między poziomem tego białka a czynnikami ryzyka tej choroby tj. paleniem tytoniu, nadciśnieniem tętniczym, hipercholesterolemią, cukrzycą oraz płcią w grupie osób zdrowych. Wykazali natomiast, iż stężenie tego białka zwiększa się w surowicach osób zdrowych wraz z wiekiem. U osób z podwyższonym stężeniem Hsp60 częstość choroby niedokrwiennej serca była pięciokrotnie wyższa niż u osób z niskim stężeniem tego białka w surowicy [97].

W 2009 roku Zhang i wsp. zasugerowali udział białek Hsp60, Hsp70 i Hsp90α w patogenezie raka jelita grubego, natomiast nie potwierdzili ich związku z nasileniem choroby nowotworowej [95].

W kontekście choroby niedokrwiennej serca, zainteresowanie wzbudzają: białko Hsp22, ponieważ jest produkowane wyłącznie w kardiomiocytach oraz białko Hsp27 produkowane zarówno przez kardiomiocyty, jak i komórki śródbłonna naczyniowego [5, 52, 75]. Obiecujące wydają się wyniki badań Jozefowicz-Okonkwo i wsp., którzy wykazali istotną statystycznie różnicę w stężeniu surowiczego białka Hsp27 u pacjentów z objawami stabilnej dusznicy bolesnej ze zwężeniem tętnicy wieńcowej, w odniesieniu do osób zdrowych. Rozważa się znaczenie tego białka jako markera diagnostycznego w chorobie niedokrwiennej serca. Zwraca uwagę fakt, iż stężenie Hsp27 jest wprost proporcjonalne do masy niedokrwionego mięśnia sercowego, jak również stopnia zwężenia naczyń krwionośnych [31]. Kuch sugeruje, że oznaczanie stężenia tego białka może być przydatne w diagnozowaniu form pośrednich choroby niedokrwiennej serca, pomiędzy wczesnym stadium a niestabilnością wieńcową. Badania udziału niskocząsteczkowych białek szoku cieplnego w rozwoju choroby wieńcowej są nieliczne i pozostają jak dotąd w fazie wstępnej [39].

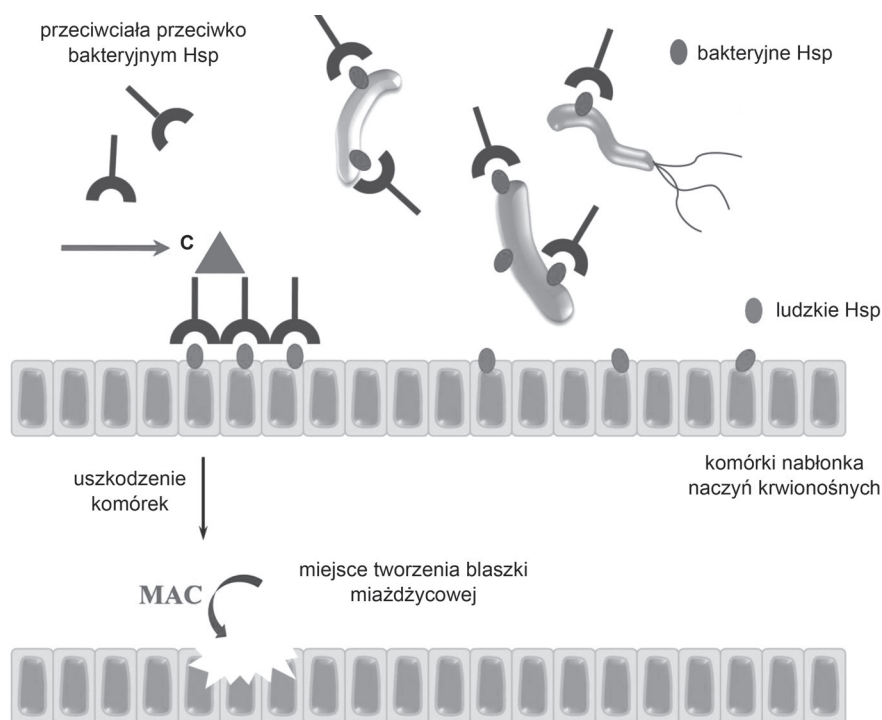
Nie wyklucza się znaczenia haplotypów genu *hsp60* jako czynników sprzyjających wystąpieniu choroby niedokrwiennej serca. W badaniach 4 wariantów polimorficznych genu *hsp60*, wynikających z podstawienia pojedynczych nukleotydów: rs2340690, rs788016, rs2305560 i rs2565163, przeprowadzonych z udziałem ponad tysiąca uczestników wykazano, iż w przypadku osób z haplotypem GCTC istnieje dwukrotnie wyższe ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej niż u osób z haplotypem GTTC (OR=1,91, 95% CI: 1,26–2,89, p=0,002). Wyniki te mogą sugerować związek haplotypu GCTC *hsp60* z podwyższonym ryzykiem wystąpienia chorób układu krążenia [23]. Zamiana C na G w regionie promotorowym Hsp60/Hsp10 (3054–3712), w pozycji 3175, jest związana z podwyższonym stężeniem Hsp60 w surowicach u ludzi. U 40% pacjentów z genotypem GG wykrywano białko Hsp60 w stężeniu

wyższym niż 1000 ng/ml, podczas gdy u osób z genotypem CC lub CG odsetek ten wynosił odpowiednio 26% i 23,3% [72].

8. Hipoteza cytotoksycznego działania przeciwciał przeciwko bakteryjnym białkom szoku cieplnego o masie cząsteczkowej 60 i 65 kDa w chorobie niedokrwiennej serca

Pierwsze przypuszczenia o udziale przeciwciał anty-Hsp60 i anty-Hsp65 w patogenezie choroby niedokrwiennej serca wywodzą się z badań opublikowanych przez Mayr'a i wsp. w 1999 roku [51]. Rok później Pockley i wsp. wykazali podwyższone stężenie białka Hsp60 i przeciwciał przeciwko Hsp65 w surowicach pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, co pozostawało w związku z przyspieszonym tworzeniem się zmian miażdżycowych u osób z taką dolegliwością [63].

Rola białek szoku cieplnego w procesie aterosclerozy jest prawdopodobnie ściśle związana z podwyższonym poziomem przeciwciał przeciwko białkom Hsp60 i Hsp65 [65]. Ich powstawanie mogą indukować bakteryjne białka szoku cieplnego zwłaszcza te, które mają charakter antygenów powierzchniowych. Duży konserwatyzm struktury tych białek może być przyczyną wystąpienia immunologicznych reakcji krzyżowych między bakteryjnymi białkami Hsp a ich ludzkimi homologami, np. białkiem o masie 60 kDa (hHsp60). W związku z tym mechanizm ochrony komórki przed szkodliwymi warunkami środowiskowymi może doprowadzić do inicjacji procesów autoimmunologicznych, stanowiących przyczynę uszkodzeń komórek śródbłonna, stanowiących niszę do tworzenia blaszki miażdżycowej. Zatem ludzkie białka szoku cieplnego mogą stać się celem krzyżowej reakcji odpornościowej zainicjowanej przez antygeny często występujących u ludzi patogenów bakteryjnych, do których zalicza się m.in. *H. pylori* i *C. pneumoniae*. Wykazano, iż z powodu wysokiego stopnia homologii białek z tej rodziny przeciwciała i limfocyty T skierowane przeciwko Hsp60 i Hsp65 *C. pneumoniae* reagują krzyżowo z ludzkim białkiem Hsp60 [8, 55, 65]. Jednak Jastrzębski i wsp. nie potwierdzili w swoich badaniach zależności pomiędzy zakażeniem *C. pneumoniae* a poziomem przeciwciał anty-Hsp60 u osób z chorobą niedokrwinną serca. Wykazali oni, że mimo zwiększonej ekspresji białka Hsp60 u osób z nadciśnieniem tętniczym i wysokiego stopnia homologii pomiędzy strukturą ludzkiego i bakteryjnego białka Hsp60, reakcja immunologiczna przeciwko ludzkiemu Hsp60 nie miała związku z takimi zakażeniami [28, 29]. Jest wysoce prawdopodobne, że procesy zapalne zachodzące u pacjentów z chorobą wieńcową w śródbłonku naczyniowym mogą być nasilane przez przeciwciała anty-Hsp powstające w odpo-



Rys. 3. Hipoteza cytotoksycznego działania przeciwciał przeciwko białkom szoku cieplnego – Hsp60 wobec komórek śródbłonna naczyniowego (C – dopełniacz, MAC – kompleks atakujący błonę)

wiedzi na zakażenia *C. pneumoniae* [6, 29, 34], jakkolwiek już sama obecność *C. pneumoniae* w komórkach mięśni gładkich nasila ekspresję białka Hsp60, które może stać się tarczą dla przeciwciał, ale jest również jednym z bodźców stymulujących proliferację tych komórek [34].

W 1993 roku Xu i wsp. wskazali na korelację pomiędzy grubością warstwy wewnętrznej ściany tętnicy szyjnej a poziomem przeciwciał przeciwko białku Hsp65 mykobakterii [92]. Zwrócono również uwagę na związek pomiędzy wysokim poziomem przeciwciał anty-Hsp65 a śmiertelnością wśród pacjentów z chorobą wieńcową [89].

Choć hipoteza cytotoksycznego działania przeciwciał anty-Hsp60 i anty-Hsp65, wobec komórek śródbłonna naczyniowego została zasugerowana przez Ma y r'a i wsp. w 1999 roku [51], to już wcześniej wiele badań *in vitro* wskazało, że cząsteczki Hsp60 są ekspozowane na komórkach śródbłonna. Przeciwciała anty-Hsp60, tworząc z nimi kompleksy immunologiczne aktywują cytotoksyczność zależną od dopełniacza, skutkiem czego jest uszkodzenie komórek śródbłonna [71, 76, 91], rys. 3. Jednakże nie wszystkie badania potwierdzają występowanie zjawiska cytotoksyczności wobec komórek śródbłonna. Może to wskazywać na znaczenie podklasy przeciwciał, które reagują z wspólnym epitopem ludzkiego i bakteryjnego białka Hsp60 oraz możliwością aktywacji dopełniacza. Z badań A y a d y i wsp. wynika, że przeciwciała IgG2 przeciwko specyficznym peptydom białka

Hsp60 *H. pylori* (Glu¹⁴¹-Leu¹⁶⁰) rozpoznają sekwencje aminokwasowe w ludzkim białku Hsp60. W badaniach prowadzonych na myszach zespół ten potwierdził zależność pomiędzy podwyższonym poziomem przeciwciał IgG2a anty-Hsp60 *H. pylori* a nasileniem zmian miażdżycowych w śródbłonku [4].

Wykazano również wiązanie bakteryjnego białka Hsp60 z ludzkimi przeciwciałami IgG1, IgG3 i IgM, ale nie IgA, za pośrednictwem fragmentu Fab [10].

W badaniach własnych wykazano istotnie częstszą produkcję przeciwciał IgG anty-HspB *H. pylori* u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca zakażonych niż u osób niezakażonych tymi bakteriami. Takiej zależności nie zaobserwowano w odniesieniu do przeciwciał przeciwko ludzkiemu białku Hsp60, które wykrywano z podobną częstością zarówno u osób z wykluczonym, jak i z potwierdzonym zakażeniem *H. pylori* [49]. Wyniki badań O k a d y i wsp. wskazują, że u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca podwyższony jest zarówno poziom przeciwciał przeciwko ludzkiemu białku Hsp60, jak i przeciwko jego odpowiednikowi występującemu u pałeczek *H. pylori* [57]. Na podwyższony poziom przeciwciał przeciwko ludzkiemu białku Hsp60 w surowicach pacjentów z chorobą niedokrwienną serca wskazują również badania P r o h á s z k i i wsp. [64]. Natomiast Z h u i wsp. nie tylko potwierdzili obecność przeciwciał przeciwko białku Hsp60 u 75% pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, ale zwrócili także uwagę, iż przeciwciała takie

występowały istotnie częściej u osób seropozytywnych (65%) niż seronegatywnych (49%) [98].

Wykazano także, iż poziom IgG anty-Hsp60 był istotnie wyższy u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca zakażonych szczepami *H. pylori* typu I (CagA+VacA+), niż u osób z grupy kontrolnej zakażonych tym samym typem pałeczek *H. pylori*. Nie stwierdzono jednak różnicy istotnej statystycznie w poziomie IgG anty-Hsp60 porównując pacjentów z chorobą wieńcową z zakażeniem *H. pylori* typu I lub typu II (CagA-VacA-) oraz pacjentów niezakażonych tymi drobnoustrojami. Analizując intensywność produkcji przeciwciał anty-Hsp60 wśród osób bez zmian wieńcowych autorzy wykazali, że poziom takich przeciwciał był istotnie wyższy u osób zakażonych *H. pylori* niezależnie od typu szczepu wywołującego zakażenie, w porównaniu do osób zdrowych niezakażonych tymi pałeczkami [43].

Hoppichler i wsp. zwrócili uwagę na prognostyczną wartość oznaczania przeciwciał anty-Hsp60 i anty-Hsp65 u pacjentów z chorobą niedokrwienną. W pierwotnie utworzonej grupie doświadczalnej osób z podwyższonym mianem takich przeciwciał, stwierdzono występowanie epizodów sercowo-naczyniowych, pod postacią niestabilnej dławicy piersiowej, zawału serca, udaru mózgu, a nawet zgonu sercowego [25, 87]. Wykazano, iż zwłaszcza przeciwciała IgA skierowane przeciwko ludzkiemu białku Hsp60 mogą przyczyniać się do wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych [26]. Te spostrzeżenia po raz kolejny rzucają światło na rolę przeciwciał tej klasy w patogenezie choroby wieńcowej. U zdrowych ochotników wyższe stężenie takich przeciwciał oznaczano u dawców, u których stwierdzono nadciśnienie tętnicze lub cukrzycę. Wykazany przez innych badaczy spadek poziomu przeciwciał anty-Hsp60 u pacjentów poddanych leczeniu aspiryną i/lub statynami wydaje się potwierdzać, iż przeciwciała anty-Hsp pojawiają się u pacjentów z aktywną chorobą wieńcową [96].

Obecnie wiele uwagi poświęca się ustaleniu potencjalnego mechanizmu działania przeciwciał przeciwko bakteryjnym białkom Hsp w chorobie niedokrwienną serca.

Krzyżowe wiązanie białka HspB *H. pylori* przez przeciwciała monoklonalne przeciwko ludzkiemu białku Hsp60 wykazali Kawahara i wsp. [32], a Okada i wsp. potwierdzili, że przeciwciała IgG przeciwko określonym sekwencjom aminokwasowym białka Hsp60 *H. pylori* rozpoznawały determinanty antygenowe ludzkiego białka Hsp60 w teście ELISA. Wiadomo, iż dwudziesto aminokwasowy fragment tego białka (Glu¹⁴¹-Leu¹⁶⁰) jest dominującym epitopem związanym z patogenezą choroby wieńcowej [57].

Występowanie pewnych determinantów antygenowych wspólnych dla ludzkiego Hsp60 i Hsp65 *Mycobacterium tuberculosis* stwierdzono także w cząsteczce

ludzkiego białka CRP. Wspólne determinanty zlokalizowane we wszystkich tych białkach były rozpoznawane przez IgG anty-CRP [83].

Pershin i wsp. wykazali, że przeciwciała przeciwko białkom Hsp65 *M. tuberculosis* oraz *Escherichia coli* rozpoznawały 17 epitopów, natomiast przeciwciała anty-Hsp60 *Chlamydia trachomatis* reagowały z 18 epitopami ludzkiego Hsp60. Wykazano, że 8 epitopów ludzkiego białka Hsp60 było rozpoznawanych przez wszystkie oceniane przeciwciała przeciwko bakteryjnym białkom Hsp60. W badaniach histochemicznych wykazano, że niektóre z tych epitopów są ekspozowane w komórkach śródbłonna ścian naczyń krwionośnych [62].

Aktywność przeciwciał, indukowanych przez bakteryjne białka Hsp, może być błędnie kierowana przeciwko ludzkiemu białku Hsp60, którego ekspresja nasila się w śródbłonku naczyniowym w przebiegu choroby niedokrwienną serca.

Niektórzy badacze sugerują, iż ocena wytwarzania przeciwciał anty-Hsp60 może stanowić dodatkowy marker pomocny w diagnozowaniu choroby wieńcowej [57]. Varbiri i wsp. badając stabilność przeciwciał IgG anty-Hsp60 u pacjentów z chorobą wieńcową nie wykazali zmian w poziomie takich immunoglobulin w ciągu pięciu lat, co świadczy o wysokiej stabilności przeciwciał skierowanych przeciwko konserwatywnym białkom szoku cieplnego [86].

W pracy przeglądowej dotyczącej związku białek szoku cieplnego z chlamydiozami i chlamydofilozami Pawlikowska i Deptuła zwracają uwagę na wartość diagnostyczną oznaczania poziomu przeciwciał przeciwko białkom Hsp *C. pneumoniae* w chorobach układu krążenia, z towarzyszącym zakażeniem *C. pneumoniae*, ze względu na możliwe interakcje takich przeciwciał z ludzkim białkiem Hsp60 ekspozowanym na makrofagach. Autorzy podkreślają, iż konsekwencją takiej interakcji może być aktywacja makrofagów skutkująca wytwarzaniem cytokin nasilających przebieg reakcji zapalnej, która odgrywa kluczową rolę w patogenezie choroby niedokrwienną serca [60].

Z kolei Kimura i wsp. na podstawie przeprowadzonych oznaczeń poziomu przeciwciał anty-Hsp60 w surowicach i analizy stanu istoty białej mózgu zasugerowali, że podwyższony poziom takich przeciwciał może stanowić czynnik ryzyka dla choroby małych naczyń krwionośnych w mózgu [35].

9. Podsumowanie

W ostatnich latach ubiegłego stulecia rozpoczęto badania nad rolą procesu zapalnego w rozwoju miażdżycy. Zwrócono także uwagę na udział czynników zakaźnych, m.in. *C. pneumoniae* i *H. pylori* w patogenezie choroby niedokrwienną serca, a także na rolę pro-

cesów autoimmunologicznych. Mimo licznych badań nie ma ostatecznej odpowiedzi na pytanie, w jaki sposób zakażenia mogą wpływać na powstawanie i rozwój blaszki miażdżycowej. Przedstawione wyniki badań wydają się potwierdzać hipotezę o roli bakteryjnych białek Hsp, jako czynników stymulujących reakcje autoimmunologiczne i wynikające z nich procesy patologiczne w chorobie niedokrwiennej serca. Rola tych białek w procesie miażdżycowym jest prawdopodobnie powiązana z podwyższonym mianem przeciwciał anti-Hsp, które mogą być indukowane przez bakteryjne powierzchniowe białka szoku cieplnego, o wysokim stopniu podobieństwa do białek gospodarza ekspozowanych w komórkach śródbłonna naczyniowego. Powstawanie kompleksów immunologicznych, w skład których wchodzi białka Hsp i przeciwciała anti-Hsp może być przyczyną uszkodzenia naczyń wskutek cytotoxyczności zależnej od białek dopełniacza. To pociąga za sobą nasilenie procesów zapalnych i ich utrwalenie.

Piśmiennictwo

- Ameriso S.F., Fridman E.A., Leiguarda R.C., Sevlever G.E.: Detection of *Helicobacter pylori* in human carotid atherosclerotic plaques. *Stroke*, **32**, 385–391 (2001)
- Andersen P.: Pathogenesis of lower respiratory tract infections due to *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Legionella* and viruses. *Thorax*, **53**, 302–307 (1998)
- Andrié R.P., Bauriedel G., Braun P., Höpp H.W., Nickenig G., Skowasch D.: Prevalence of intimal heat shock protein 60 homologues in unstable angina and correlation with anti-heat shock protein antibody titers. *Basic. Res. Cardiol.* **106**, 657–665 (2011)
- Ayada K., Yokota K., Kobayashi K., Schoenfeld Y., Matsuura E., Oguma K.: Chronic infections and atherosclerosis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **37**, 44–48 (2009)
- Benjamin I.J., McMillan D.R.: Stress (heat shock) proteins: molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. *Circ. Res.* **83**, 117–132 (1998)
- Bryczyński M., Wiechowski S., Naruszewicz M.: *Chlamydia pneumoniae* w progresji wielonaczyniowej choroby wieńcowej. *Terapia*, **112**, 20–24 (2001)
- Choroszy-Król I., Ruczkowska J.: Laboratoryjna diagnostyka chlamydzioz. Akademia Medyczna we Wrocławiu, 2004, s. 53–57
- Ciervo A., Visca P., Petrucca A., Biasucci L.M., Maseri A., Cassone A.: Antibodies to 60-kilodalton heat shock protein and outer membrane protein 2 of *Chlamydia pneumoniae* in patients with coronary heart disease. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **9**, 66–74 (2002)
- Danesh J., Collins R., Peto R.: Chronic infection and coronary heart disease: is there any link? *Lancet*, **350**, 430–436 (1997)
- Dubreuil J.D., Giudice G.D., Rappuoli R.: *Helicobacter pylori* interactions with host serum and extracellular matrix proteins: potential role in the infectious process. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **66**, 617–629 (2002)
- Dunzendorfer S., Lee H., Soldau K., Tobias P.S.: Toll-like receptor 4 functions intracellularly in human coronary artery endothelial cells: roles of LBP and sCD14 in mediating LPS-responses. *FASEB J.* **18**, 1117–1119 (2004)
- Edfeldt K., Bennet A.M., Eriksson P., Frostegard J., Wiman B., Hamsten A., Hansson G.K., de Faire U., Yan Z.Q.: Association of hypo-responsive Toll-like receptor 4 variants with risk of myocardial infarction. *Eur. Heart. J.* **25**, 1447–1453 (2004)
- Filipiak K.J., Opolski G.: Choroby układu sercowo-naczyniowego i ich czynniki ryzyka – teoria continuum. *Terapia*, **9**, 5–9 (2001)
- Franceschi F., Sepulveda A.R., Gasbarrini A., Pola P., Silveri N.G., Gasbarrini G., Graham D.Y., Genta R.M.: Cross-reactivity of anti-CagA antibodies with vascular wall antigens: possible pathogenic link between *Helicobacter pylori* infection and atherosclerosis. *Circulation*, **106**, 430–434 (2002)
- Fryer R.H., Schwobe E.P., Woods M.L., Rodgers G.M.: *Chlamydia* species infect human vascular endothelial cells and induce procoagulant activity. *J. Invest. Med.* **45**, 168–174 (1997)
- Galustian Ch., Elviss N., Chart H., Owen R., Feizi T.: Interactions of gastrotropic bacterium *Helicobacter pylori* with the leukocyte-endothelium adhesion molecules, the selectins – a preliminary report. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **36**, 127–134 (2003)
- Grębczewska Z., Nartowicz E., Szymaniak L., Wiśniewska E., Przybył R., Polak G., Kubica J., Dymek G., Giedrys-Kalemba G., Kotschy M., Odrowąż-Sypniewska G.: Endothelial dysfunction in acute coronary syndrome without ST segment elevation in the presence of *Helicobacter pylori* infection. *Kardiol. Pol.* **57**, 533–536, (2002)
- Grębowska A., Moran A.P., Bielański W., Matusiak A., Rechciński T., Rudnicka K., Baranowska A., Rudnicka W., Chmiela M.: *Helicobacter pylori* lipopolisaccharide activity in human peripheral blood mononuclear leukocyte cultures. *J. Physiol. Pharmacol.* **61**, 437–442 (2010)
- Grębowska A., Moran A.P., Matusiak A., Bąk-Romaniszyn L., Czkwianianc E., Rechciński T., Walencka M., Płaneta-Małecka I., Rudnicka W., Chmiela M.: Anti-phagocytic activity of *Helicobacter pylori* lipopolisaccharide (LPS) – possible modulation of the innate immune response to these bacteria. *Pol. J. Microbiol.* **57**, 185–192 (2008)
- Hajra L., Evans A.I., Chen M., Hyduk S.J., Collins T., Cybylsky M.I.: The NF- κ B signal transduction pathway in aortic endothelial cells is primed for activation in regions predisposed to atherosclerotic lesion formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 9052–9057 (2000)
- Halme S., Latvala J., Karttunen R., Palatsi I., Saikku P., Surcel H.M.: Cell-mediated immune response during primary *Chlamydia pneumoniae* infection. *Infect. Immun.* **68**, 7156–7158 (2000)
- Hasan A., Sadoh D., Palmer R., Foo M., Marber M., Lehner T.: The immune responses to human and microbial heat shock proteins in periodontal disease with and without coronary heart disease. *Clin. Exp. Immunol.* **142**, 585–594 (2005)
- He M.A., Zhang X., Wang J., Cheng L., Zhou L., Zeng H., Wang F., Chen Y., Xu Z., Wei Q., Hu F.B., Wu T.: Genetic variation in heat shock protein 60 gene and coronary heart disease in China: tagging-SNP haplotype analysis in a case-control study. *Cell. Stress Chaperones*, **13**, 231–238 (2008)
- Heneghan M.A., McCarthy C.F., Moran A.P.: Relationship of blood group determinants on *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide with host Lewis phenotype and inflammatory response. *Infect. Immun.* **68**, 937–941 (2000)
- Hoppichler F., Koch T., Dzien A., Gschwandtner G., Lechleitner M.: Prognostic value of antibody titre to heat-shock protein 65 on cardiovascular events. *Cardiology*, **94**, 220–223 (2000)
- Huittinen T., Leinonen M., Tenkanen L., Mänttari M., Virkkunen H., Pitkänen T., Wahlström E., Palosuo T., Manninen V., Saikku P.: Autoimmunity to human heat shock protein 60, *Chlamydia pneumoniae* infection, and inflammation in predicting coronary risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **22**, 431–437 (2002)

27. Jama-Kmiecik A., Choroszy-Król I.: Rola *Chlamydomydia pneumoniae* w astmie oskrzelowej i przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc – mechanizmy odpowiedzi immunologicznej. *Adv. Clin. Exp. Med.* **16**, 113–121 (2007)
28. Jastrzębski M., Czarnecka D., Rajzer M., Kawecka-Jaszcz K.: Increased levels of inflammatory markers in hypertensives with target organ damage. *Kardiolog. Pol.* **64**, 802–811 (2006)
29. Jastrzębski M., Czarnecka D., Rajzer M., Marcinkowski M., Kawecka-Jaszcz K.: Infekcja *Chlamydia pneumoniae* oraz wirusem cytomegalii a przebudowa naczyń i serca w samoistnym nadciśnieniu tętniczym. *Nadciśnienie Tętnicze*, **9**, 266–275 (2005)
30. Jawień J.: New insights into immunological aspects of atherosclerosis. *Pol. Arch. Med. Wewn.* **118**, 127–131 (2008)
31. Józefowicz-Okonkwo G., Wierzbowska-Drabik K., Kasielski M., Trzos E., Goraca A., Nowak D., Kasprzak J., Krzemińska-Pakuła M.: Is Hsp27 a marker of myocardial ischaemia? *Kardiolog. Pol.* **67**, 947–952 (2009)
32. Kawahara Y., Yokota K., Mizuno M., Yunoki N., Uesu T., Okada H., Kobayashi K., Hirai Y., Oguma K., Tsuji T.: Antibodies to human gastric epithelial cells and heat shock protein 60 in *Helicobacter pylori* positive mucosa associated lymphoid tissue lymphoma. *Gut*, **45**, 20–23 (1999)
33. Kaźmierczuk A., Kiliańska Z.M.: Plejotropowa aktywność białek szoku cieplnego. *Post. Hig. Med. Dosw.* **63**, 502–521 (2009)
34. Kern J.M., Maass V., Maass M.: *Chlamydia pneumoniae*-induced pathological signaling in the vasculature. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **55**, 131–139 (2009)
35. Kimura A., Sakurai T., Yamada M., Koumura A., Hayashi Y., Tanaka Y., Hozumi I., Takemura M., Seishima M., Inuzuka T.: Elevated Anti-Heat Shock Protein 60 Antibody Titer is Related to White Matter Hyperintensities. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* **21**, 305–309 (2012)
36. Kol A., Lichtman A.H., Finberg R.W., Libby P., Kurt-Jones E.A.: Cutting edge: heat shock protein (HSP) 60 activates the innate immune response: CD14 is an essential receptor for HSP60 activation of mononuclear cells. *J. Immunol.* **164**, 13–17 (2000)
37. Kowalski M., Konturek P.C., Pieniazek P., Karczewska E., Kluczka A., Grove R., Krakig W., Nasser R., Thale J., Hahn E.G., Konturek S.J.: Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in coronary lumen reduction after percutaneous coronary angioplasty. *Dig. Liver. Dis.* **33**, 222–229 (2001)
38. Krenke R.: Zakażenia górnych dróg oddechowych – wywołane przez drobnoustroje atypowe. *Magazyn Otorinolaryngologiczny*, **XII** (wydanie specjalne), 3–15 (2006)
39. Kuch M.: Białka szoku cieplnego – czy mamy już do czynienia z nowym markerem niedokrwienia? *Kardiolog. Pol.* **67**, 953–954 (2009)
40. Kutuk O., Basaga H.: Inflammation meets oxidation: NF-κB as mediator of initial lesion development in atherosclerosis. *Trends Mol. Med.* **9**, 549–557 (2003)
41. Lanneau D., Brunet M., Frisan E., Solary E., Fontenay M., Garrido C.: Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation. *J. Cell. Mol. Med.* **12**, 743–761 (2008)
42. Laurila A., Bloigu A., Nayha S., Hassi J., Leinonen M., Saikku P.: Association of *Helicobacter pylori* infection with elevated serum lipids. *Atherosclerosis*, **142**, 207–210 (1999)
43. Lenzi C., Palazzuoli A., Giordano N., Alegente G., Gonnelli C., Campagna M.S., Santucci A., Sozzi M., Papakostas P., Rollo F., Nuti R., Figura N.: *H. pylori* infection and systemic antibodies to CagA and heat shock protein 60 in patients with coronary heart disease. *World J. Gastroenterol.* **12**, 7815–7820 (2006)
44. Liao K.W., Lin C.S., Chen W.L., Yang C.T., Lin C.M., Hsu W.T., Lin Y.Y., Chiu Y.H., Huang K.C., Wu H.Y., Wu M.S., Wu C.J., Mao S.J., Tsai N.M.: Antibodies against *Helicobacter pylori* heat shock protein 60 aggravate HSP60-mediated proinflammatory responses. *Cytokine*, **55**, 174–180 (2011)
45. Malferteiner P. *Helicobacter pylori* – od podstaw do leczenia. Wyd. Medyczne Sanmedica, Warszawa, 1997, s. 11–32
46. Mallat Z., Tedgui A.: Current perspective on the role of apoptosis in atherothrombotic disease. *Circ. Res.* **88**, 998–1003 (2001)
47. Marshall B.J., Warren J.R.: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, **1**, 1311–1315 (1984)
48. Matsuura E., Kobayashi K., Matsunami Y., Shen L., Quan N., Makarova M., Suchkov S.V., Ayada K., Oguma K., Lopez L.R.: Autoimmunity, infectious immunity and atherosclerosis. *J. Clin. Immunol.* **29**, 714–721 (2009)
49. Matusiak A., Rechciński T., Rudnicka K., Bąk-Romaniszyn L., Czkwianianc E., Rudnicka W., Krzemińska-Pakuła M., Chmiela M.: The reactivity of serum IgG from the patient with coronary heart disease and healthy subjects with heat shock proteins (Hsp): HspB of *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium bovis* Hsp65 and human recombinant Hsp60. Wyd. SGGW, Warszawa, 2009, s. 116–119
50. Matusiak A., Rechciński T., Rudnicka K., Walencka M., Rudnicka W., Chmiela M.: *Helicobacter pylori* and *Chlamydomydia pneumoniae* infections – potential risk factors for the development of coronary heart disease. *Sepsis*, **4**, 221–227 (2010)
51. Mayr M., Metzler B., Kiechl S., Willeit J., Schett G., Xu Q., Wick G.: Endothelial cytotoxicity mediated by serum antibodies to heat shock proteins of *Escherichia coli* and *Chlamydomydia pneumoniae*. Immune reactions to heat shock proteins as a possible link between infection and atherosclerosis. *Circulation*, **99**, 1560–1566 (1999)
52. Mehta T.A., Greenman J., Etelelaie C., Venkatasubramaniam A., Chetter I.C., McCollum P.T.: Heat shock proteins in vascular disease- a review. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* **29**, 395–402 (2005)
53. Mendall M.A., Goggin P.M., Molliniaux N., Srachan D., Camm A.: Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *Heart. J.* **71**, 437–439 (1994)
54. Milioti N., Bermudez-Fajardo A., Penichet M.L., Oviedo-Orta E.: Antigen-induced immunomodulation in the pathogenesis of atherosclerosis. *Clin. Dev. Immunol.* ID 723539 (2008)
55. Moen R.J., La Voi K.P., Zhang M., Blake M.J.: Clonidine-Induced Heat-Shock Protein Expression in Rat Aorta. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* **3**, 171–184 (1998)
56. Niemiela S., Karttunen T., Korhonen T., Laara E., Karttunen R., Ikaheimo M., Kesaniemi Y.A.: Could *Helicobacter pylori* infection increase the risk of coronary heart disease by modifying serum lipid concentration? *Heart*, **75**, 573–575 (1996)
57. Okada T., Ayada K., Usui S., Yokota K., Cui J., Kawahara Y., Inaba T., Hirohata S., Mizuno M., Yamamoto D., Kusachi S., Matsuura E., Oguma K.: Antibodies against heat shock protein 60 derived from *Helicobacter pylori*: diagnostic implications in cardiovascular disease. *J. Autoimmun.* **29**, 106–115 (2007)
58. Ostos M.A., Recalde D., Zakin M.M., Scott-Ajgara D.: Implication of natural killer T cell in atherosclerosis development during a LPS-induced chronic inflammation. *FEBS Lett.* **519**, 23–29 (2002)
59. Pająk A.: Zwalczanie choroby niedokrwiennej serca poprzez modyfikację czynników ryzyka. *Acta Angiol.* **2**, 111–122 (1996)
60. Pawlikowska M., Deptuła W.: Białka szoku termicznego (HSPs – Heat Shock Proteins), a chlamydiozy i chlamydofiloz. *Post. Mikrobiol.* **48**, 213–219 (2009)
61. Pawlus J., Rusak M., Chociej-Stypułkowska J., Dąbrowska M.: Parametry aktywacji płytek krwi i stężenie mieloperoksydazy, jako markery choroby niedokrwiennej serca. *Pol. Merk. Lek.* **172**, 259–262 (2010)

62. Perschinka H., Mayr M., Millonig G., Mayerl C., van der Zee R., Morrison S.G., Morrison R.P., Xu Q., Wick G.: Cross-reactive B-cell epitopes of microbial and human heat shock protein 60/65 in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **23**, 1060–1065 (2003)
63. Pockley A.G., Wu R., Lemne C., Kiessling R., de Faire U., Frostegård J.: Circulating heat shock protein 60 is associated with early cardiovascular disease. *Hypertension*, **36**, 303–307 (2000)
64. Prohászka Z., Duba J., Lakos G., Kiss E., Varga L., Jánoskúti L., Császár A., Karádi I., Nagy K., Singh M., Romics L., Füst G.: Antibodies against human heat-shock protein (hsp) 60 and mycobacterial hsp65 differ in their antigen specificity and complement-activating ability. *Int. Immunol.* **11**, 1363–1370 (1999)
65. Rabczyński M., Adamiec R.: Rola przewlekłego zakażenia i białek HSP60/65 w miażdżycy zarostowej. *Przegl. Lek.* **64**, 419–422 (2007)
66. Rabczyński M., Adamiec R., Olszewska-Rocznik J.: Przeciwciała anty-HSP 60/65 – rola w patogenezie miażdżycy, czynnik ryzyka rozwoju blaszki miażdżycowej. *Adv. Clin. Exp. Med.* **15**, 933–939 (2006)
67. Ridker P.M., Rifai N., Rose L., Buring J.E., Cook N.R.: Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N. Engl. J. Med.* **347**, 1557–1565 (2002)
68. Rudnicka K., Włodarczyk M., Moran A.P., Rechciński T., Miszczyk E., Matusiak A., Szczęsna E., Walencka M., Rudnicka W., Chmiela M.: *Helicobacter pylori* antigens as potential modulators of lymphocytes' cytotoxic activity. *Microbiol. Immunol.* **56**, 62–75 (2012)
69. Rywik S., Broda G., Piotrowski W., Wągrowaska H., Polakowska M., Pardo B.: Epidemiologia chorób układu krążenia – Program Pol-MONICA Warszawa, *Kardiol. Pol.* **44** (supl. II), 7–35 (1995)
70. Saikku P., Leinonen M., Mattila K., Ekman M.R., Nieminen M.S., Mäkelä P.H., Huttunen J.K., Valtonen V.: Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet*, **2**, 983–986 (1988)
71. Schett G., Xu Q., Amberger A., Van der Zee R., Recheis H., Willeit J., Wick G.: Autoantibodies against heat shock protein 60 mediate endothelial cytotoxicity. *J. Clin. Invest.* **96**, 2569–2577 (1995)
72. Shamaei-Tousi A., Steptoe A., O'Donnell K., Palmén J., Stephens J. W., Hurel S.J., Marmot M., Homer K., D'Aiuto F., Coates A.R., Humphries S.E., Henderson B.: Plasma heat shock protein 60 and cardiovascular disease risk: the role of psychosocial, genetic, and biological factors. *Cell Stress Chaperones*, **12**, 384–392 (2007)
73. Sheikine Y., Hansson G.K.: Chemokines and atherosclerosis. *Ann. Med.* **36**, 98–118 (2004)
74. Smith S.C., Greenland Ph., Grundy S.M.: Prevention Conference V. Beyond Secondary Prevention: Identifying the High-Risk Patient for primary prevention. Executive Summary. *Circulation*, **4**, 111–115 (2000)
75. Snoeckx L.H., Cornelussen R.N., Van Nieuwenhoven F.A., Reneman R.S., Van Der Vusse G.J.: Heat shock proteins and cardiovascular pathophysiology. *Physiol. Rev.* **81**, 1461–1497 (2001)
76. Soltys B.J., Gupta R.S.: Cell surface localization of the 60 kDa heat shock chaperonin protein (hsp60) in mammalian cells. *Cell. Biol. Int.* **21**, 315–320 (1997)
77. Strapagiel D., Grębowska A., Różalska B., Bąk-Romaniszyn L., Czkwianianc E., Płaneta-Małecka I., Rechciński T., Rudnicka W., Chmiela M.: Natural mannose-binding lectin (MBL) down-regulates phagocytosis of *Helicobacter pylori*. *Pol. J. Microbiol.* **55**, 95–101 (2006)
78. Svanholm C., Bandholtz L., Castanos-Velez E., Wigzell H.: Protective DNA immunization against *Chlamydia pneumoniae*. *Scand. J. Immunol.* **51**, 345–353 (2000)
79. Szostak W.B., Cybulska B.: Otyłość wisceralna jako czynnik miażdżycy. *Medycyna po Dyplomie*, wyd. specjalne, 2–8 (1996)
80. Thom D.H., Grayston J.T., Siscovick D.S., Wang S.P., Weiss N.S., Daling J.R.: Association of prior infection with *Chlamydia pneumoniae* and angiographically demonstrated coronary artery disease. *JAMA*, **268**, 68–72 (1992)
81. Tsan M.F., Gao B.: Heat shock protein and innate immunity. *Cell. Mol. Immunol.* **1**, 274–279 (2004)
82. Tukaj S., Lipińska B.: Białka szoku termicznego w reumatoidalnym zapaleniu stawów: przyjaciel czy wróg? *Post. Hig. Med. Dosw.* **65**, 427–436 (2011)
83. Udvarnoki K., Cervenak L., Uray K., Hudecz F., Kacsokovics I., Spallek R., Singh M., Füst G., Prohászka Z.: Antibodies against C-reactive protein cross-react with 60-kilodalton heat shock proteins. *Clin. Vaccine Immunol.* **14**, 335–341 (2007)
84. Unkelbach K., Gardemann A., Kostrzewa M., Philipp M., Tillmanns H., Haberbosch W.: A new promoter polymorphism in the gene of lipopolysaccharide receptor CD14 is associated with expired myocardial infarction in patients with low atherosclerotic risk profile. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **19**, 932–938 (1999)
85. Vahdat K., Jafari S. M., Pazoki R., Nabipour I.: Concurrent increased high sensitivity C-reactive protein and chronic infections are associated with coronary artery disease: a population-based study. *Indian J. Med. Sci.* **61**, 124–126 (2007)
86. Varbiro S., Biro A., Cervenak J., Cervenak L., Singh M., Banhid F., Sebestyen A., Füst G., Prohászka Z.: Human anti-60 kD heat shock protein autoantibodies are characterized by basic features of natural autoantibodies. *Acta Physiol. Hung.* **97**, 1–10 (2010)
87. Veres A., Füst G., Smieja M., McQueen M., Horváth A., Yi Q., Bíró A., Pogue J., Romics L., Karádi I., Singh M., Gnarp J., Prohászka Z., Yusuf S.: Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study Investigators. Relationship of anti-60 kDa heat shock protein and anti-cholesterol antibodies to cardiovascular events. *Circulation*, **106**, 2775–2780 (2002)
88. Vreugdenhil A.C., Snoek A.M., van't Veer C., Greve J.W., Buurman W.A.: LPS – binding protein circulates an association with apoB – containing lipoproteins and enhances endotoxin – LDL-VLDL interaction. *J. Clin. Invest.* **107**, 225–234 (2001)
89. Xu Q., Kiechl S., Mayr M., Metzler B., Egger G., Oberhollenzer F., Willeit J., Wick G.: Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with carotid atherosclerosis: clinical significance determined in a follow-up study. *Circulation*, **100**, 1169–1174 (1999)
90. Xu Q., Schett G., Perschinka H., Mayr M., Egger G., Oberhollenzer F., Willeit J., Kiechl S., Wick G.: Serum soluble heat shock protein 60 is elevated in subjects with atherosclerosis in a general population. *Circulation*, **102**, 14–20 (2000)
91. Xu Q., Schett G., Seitz C. S., Hu Y., Gupta R. S., Wick G.: Surface staining and cytotoxic activity of heat-shock protein 60 antibody in stressed aortic endothelial cells. *Circ. Res.* **75**, 1078–1085 (1994)
92. Xu Q., Willeit J., Marosi M., Kleindienst R., Oberhollenzer F., Kiechl S., Stulnig T., Luef G., Wick G.: Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with carotid atherosclerosis. *Lancet*, **341**, 255–259 (1993)
93. Xu X.H., Shah P.K., Faure E., Equils O., Thomas L., Fishbein M.C., Luthinger D., Xu X.P., Rajavashisth T.B., Yano J., Kaul S., Arditi M.: Toll-like receptor-4 is expressed by mac-

- rophages in Marine and human lipid-rich atherosclerotic plaques and upregulated by oxidized LDL. *Circulation*, **104**, 3103–3108 (2001)
94. Ząbek J.: Rola antygenów bakteryjnych w indukcji procesów autoimmunizacyjnych związanych z patogenezą reaktywnego zapalenia stawów. *Alergia Astma Immunologia*, **4**, 41–44 (1999)
95. Zhang W.L., Gao X.Q., Han J.X., Wang G.Q., Yue L.T.: Expressions of heat shock protein (HSP) family HSP 60, 70 and 90alpha in colorectal cancer tissues and their correlations to pathohistological characteristics. *Ai Zheng*, **28**, 612–618 (2009)
96. Zhang X., He M.A., Cheng L., Zhou L., Zeng H., Wang J., Wang F., Chen Y., Hu F.B., Wu T.: Joint effects of antibody to heat shock protein 60, hypertension, and diabetes on risk of coronary heart disease in Chinese. *Clin. Chem.* **54**, 1046–1052 (2008)
97. Zhang X., He M., Cheng L., Chen Y., Zhou L., Zeng H., Pockley A.G., Hu F.B., Wu T.: Elevated heat shock protein 60 levels are associated with higher risk of coronary heart disease in Chinese. *Circulation*, **118**, 2687–2693 (2008)
98. Zhu J., Quyyumi A.A., Rott D., Csako G., Wu H., Halcox J., Epstein S.E.: Antibodies to human heat-shock protein 60 are associated with the presence and severity of coronary artery disease: evidence for an autoimmune component of atherogenesis. *Circulation*, **103**, 1071–1075 (2001)