

***Chlamydia pneumoniae* infection in abdominal aortic aneurysm patients**

Zakażenie *Chlamydia pneumoniae* u chorych z tętniakiem aorty brzusznej

Andrzej Wolski¹, Justyna Niedźwiadek², Elżbieta Mazur², Maria Koziół-Montewka², Jerzy Michalak¹

¹Department of Vascular Surgery, University School of Medicine, Lublin, Poland, ²Department of Medical Microbiology, University School of Medicine, Lublin, Poland

(¹Katedra i Klinika Chirurgii Naczyń AM w Lublinie, ²Katedra Mikrobiologii Lekarskiej AM w Lublinie)

Abstract

Introduction. Infection with *Chlamydia pneumoniae*, a common human respiratory pathogen, has been recently associated with cardiovascular syndromes, such as myocardial infarction, stroke, atherosclerosis and abdominal aortic aneurysm (AAA). According to the literature data significantly high percentage of AAA patients exhibited serological markers of persistent *C. pneumoniae* infection. Chronic infection with intracellular pathogen such as *C. pneumoniae* may indicate down-regulated cell-mediated immune response.

Objectives. The aim of our study was to evaluate the frequency of *C. pneumoniae* infection in AAA patients by measuring *C. pneumoniae* specific serum IgG, IgM and IgA levels and their cell-mediated response by measuring the concentrations of IL-12 and IFN- γ in patients' sera.

Material and methods. 28 patients operated for AAA (5F, 23M, mean age 68.5 years) and 20 control subjects matched for age and sex (4F, 16M) without clinical signs and symptoms of cardiovascular and pulmonary disease took part in our study. Microimmunofluorescence method has been applied to evaluate the level of anti-*C. pneumoniae* IgG, IgA and IgM. *Chlamydia pneumoniae* micro-IF test (Labsystem) has been used. The concentration of cytokines was evaluated using ELISA method by OptEIA set (Pharmingen). The results were evaluated by means of STATISTICA programme and considered statistically significant when $p < 0.05$.

Results. Serologic markers of persistent *C. pneumoniae* infection were detected in 25/28 (89.3%) patients and in 6/20 (30%) healthy controls. In 40% (10/25) of patients with serologic markers of persistent *C. pneumoniae* infection we have observed high titers of specific IgG and IgA. Mean concentrations of IL-12 and IFN- γ were significantly decreased in this group of patients.

Conclusions. Our study confirms that persistent *C. pneumoniae* infection occurs significantly more frequently in AAA patients than in healthy controls. In 40% of patients, high titers of specific IgG and IgA may indicate active infection. Simultaneous low concentrations of cytokines promoting Th1 type response, namely IL-12 and IFN- γ , in this group can indicate lack of protection against intracellular pathogens such as *C. pneumoniae*. Interestingly, all patients in this group were diagnosed as having symptomatic AAA.

Key words: *Chlamydia pneumoniae*, cytokines, abdominal aortic aneurysm

Streszczenie

Wstęp. Wzrastająca liczba danych seroepidemiologicznych i wyniki badań doświadczalnych wskazują na możliwy udział *Chlamydia pneumoniae*, niedawno odkrytego ludzkiego patogenu wewnątrzkomórkowego, w patogenezie chorób układu sercowo-naczyniowego, takich jak miażdżycy i AAA. Według danych z piśmiennictwa u dużego odsetka chorych na AAA wykryto serologiczne wskaźniki przewlekłego zakażenia *Chla-*

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr med. Andrzej Wolski, Katedra i Klinika Chirurgii Naczyń AM, ul. Staszica 11, 20–801 Lublin, Poland
faks: +48 (0 81) 532 57 07, e-mail: andrzej.wolski@pharmanet.com.pl

mydia pneumoniae. Przewlekłe zakażenie drobnoustrojem wewnątrzkomórkowym, jakim jest *Chlamydia pneumoniae*, może wskazywać na nieadekwatną odpowiedź typu komórkowego.

Cel pracy. Celem pracy była ocena częstości zakażenia *Chlamydia pneumoniae* u chorych na AAA przez oznaczenie stężenia swoistych przeciwciał klasy IgG, IgM i IgA oraz ocena odpowiedzi typu komórkowego przez oznaczenie stężenia IL-12 i IFN- γ w surowicy krwi.

Materiał i metodyka. W badaniach uczestniczyło 28 chorych na AAA (5 kobiet, 23 mężczyźni) w wieku 55–80 lat (średni wiek — 68,5 roku). Grupa kontrolna składała się z 20 osób zbliżonych pod względem wieku i płci do grupy badanej, bez objawów chorób układu sercowo-naczyniowego i oddechowego. Ocenę miana swoistych przeciwciał anty-*C. pneumoniae* klasy IgG, IgA i IgM przeprowadzono z zastosowaniem metody mikroimmunofluorescencji za pomocą testu *Chlamydia pneumoniae* Micro-IF (Labsystems, Finlandia). Stężenia cytokin w surowicy chorych oznaczano metodą ELISA przy użyciu zestawu OptEIA set firmy Pharmingen. Analizę statystyczną przeprowadzono z użyciem programu Statistica. Za istotne statystycznie przyjęto $p < 0,05$.

Wyniki: Serologiczne wskaźniki przewlekłego zakażenia *Chlamydia pneumoniae* stwierdzono u 25/28 chorych (89,3%) oraz u 6/20 osób z grupy kontrolnej (30%). U 40% chorych (10/25), u których rozpoznano serologicznie przewlekłe zakażenie *C. pneumoniae*, stwierdzono wysokie miana swoistych przeciwciał klasy IgG i IgA. Stężenia IL-12 i IFN- γ były znacząco niższe w tej grupie chorych w porównaniu z pozostałymi pacjentami i grupą kontrolną.

Wnioski. Wyniki badań przeprowadzonych przez autorów potwierdzają, że u chorych na AAA znacząco częściej obserwuje się przewlekłą infekcję *C. pneumoniae* w porównaniu z grupą kontrolną. U 40% badanych wysokie miana swoistych przeciwciał klasy IgG i IgA świadczą o aktywnej infekcji. Równocześnie niskie stężenia cytokin promujących odpowiedź komórkową (IL-12 i IFN- γ) mogą wskazywać na brak ochrony przeciwko patogenom wewnątrzkomórkowym, takim jak *Chlamydia pneumoniae*. Interesujące, że u tych chorych rozpoznano objawowego tętniaka aorty brzusznej.

Słowa kluczowe: *Chlamydia pneumoniae*, cytokiny, tętniak aorty brzusznej

Introduction

Aneurysms have been known as a cause of morbidity and mortality for centuries. Epidemiological investigations have revealed a 4% prevalence of aneurysms in persons ≥ 65 years old [1]. Although aneurysms can develop in any artery, the most striking morphological alterations occur in abdominal aorta and other large arteries.

The pathogenesis of abdominal aortic aneurysm (AAA) involves the complex interaction of variety of factors, which, acting over many years, weaken the aortic wall [2–5]. Besides the genetic factors, it is well known that hypertension, smoking, and atherosclerosis take part in AAA pathogenesis. It is likely that the relative importance of such factors varies from one person to another.

In late-stage aneurysm, aortic structure changes, displaying breakdown of elastic laminae and disappearance of well-organized smooth muscle layers. Smooth muscle cells, the most abundant cell type in the aortic media, can synthesise proteins such as collagen, elastin, and proteoglycan which compose the extracellular matrix of the arterial tunica media and confer strength and elasticity to the aortic wall [6]. A loss or distortion of these structural proteins characterizes aneurysm. Researchers have sought

Wstęp

Od dawna tętniaki uznaje się za przyczynę zachorowalności i śmiertelności. W badaniach epidemiologicznych wykazano, że dotyczą one 4% populacji osób powyżej 65 rż. [1]. Choć tętniaki mogą rozwijać się w każdej tętnicy, przeważnie występują w aorcie i innych dużych tętnicach.

Różne czynniki wpływają na powstawanie tętniaka aorty brzusznej (AAA, *abdominal aortic aneurysm*). Oprócz czynników genetycznych należą do nich palenie tytoniu, miażdżycy oraz nadciśnienie tętnicze. Czynniki te, działając kompleksowo przez wiele lat, w rezultacie osłabiają ścianę aorty [2–5]. Prawdopodobnie znaczenie tych czynników jest osobniczo zmienne.

W zaawansowanym stadium rozwoju tętniaka struktura ściany aorty zmienia się, dochodzi do niszczenia jej warstwy elastynowej i warstwy mięśniówki gładkiej. Komórki mięśni gładkich (podstawowy składnik warstwy środkowej aorty) mogą syntetyzować białka, takie jak kolagen, elastyna i proteoglikany, z których zbudowana jest zewnątrzkomórkowa macierz środkowej warstwy tętnicy nadająca jej sprężystość i elastyczność [6]. Charakterystyczną cechą tętniaków jest nieobecność tych

enzymes capable of causing such changes. The primary candidates have been matrix metalloproteinases and certain serine proteases [7–10]. The pericellular nature of the activation of these proteinases and the cell-surface-associated activation of proteolysis implicated in other pathological states suggest that the cellular infiltration of macrophages and lymphocytes present in AAA tissue and their interactions may play a significant role [11, 12].

Substantial seroepidemiologic and some experimental evidence links *Chlamydia pneumoniae*, a newly recognised human intracellular parasite with the pathogenesis and natural history of vascular diseases such as atherosclerosis and AAA [13–15]. *Chlamydia pneumoniae* is one of the most common pathogens causing human respiratory tract infections, including pneumonia [16]. However, the major significance of *Chlamydia pneumoniae* as a human pathogen lies in its propensity to cause chronic infections [17]. As for all chlamydial infections, those of *Chlamydia pneumoniae* also tend to remain persistent in some individuals as judged by the continuous presence of elevated *Chlamydia pneumoniae*-specific IgG and especially IgA antibodies in serum [16]. According to the literature data significantly high percentage of AAA patients exhibited serologic markers of persistent *Chlamydia pneumoniae* infection [13, 18, 19].

Infection is associated with enhanced production of cytokines, low-molecular-weight proteins important for orchestration of inflammatory processes. They interact in a highly complex network, in which they influence each other's production and activity [20]. Cytokines act by binding to high-affinity receptors expressed on target cells and by inducing biochemical signals within these cells that profoundly affect their behaviour. Helper T cells are the central regulatory cells of the immune system. Much of their function is mediated by cytokines. In 1986 it was shown that helper T cells do not constitute a homogenous class of cells. They were subdivided into two groups, according to the types of cytokines they produced. The Th1 clones produce IL-2, IFN- γ and TNF, the Th2 clones — IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 and IL-13 as their products. The Th1 clones, through their production of IFN- γ are well suited to induce enhanced microbicidal activity in macrophages (enhanced cellular immunity) while the Th2 clones make products that are well adapted to act in helping B cells to develop into antibody producing cells [21].

Different microbes require different types of response for their elimination. Infections caused by intracellular pathogens are best controlled by cell mediated immunity [22]. IL-12 plays a central role in the initiation of cell-mediated immunity [22]. Produced early during

białek lub zniekształcenie ich struktury. Enzymy zdolne do wywoływania tego rodzaju zmian to przede wszystkim metalloproteinazy macierzy i niektóre proteazy serynowe [7–10]. Aktywacja tych proteinaz w wyniku oddziaływań międzykomórkowych, jak również aktywacja procesu proteolizy w odpowiedzi na reakcje błonowe w innych stanach patologicznych sugerują, że obecne w AAA nacieki zapalne, złożone z makrofagów i limfocytów, oraz zachodzące między tymi komórkami oddziaływania, mogą odgrywać znaczącą rolę w rozwoju tętniaka [11, 12].

Rosnąca liczba danych seroepidemiologicznych i wyniki badań doświadczalnych wskazują na możliwy udział *Chlamydia pneumoniae*, niedawno odkrytego ludzkiego patogenu wewnątrzkomórkowego, w patogenezie chorób układu naczyniowego, takich jak miażdżycy i AAA [13–15]. *Chlamydia pneumoniae* należy do drobnoustrojów najczęściej wywołujących zakażenie dróg oddechowych [16]. Jednak największe znaczenie tego patogenu upatruje się w możliwości wywoływania zakażeń przewlekłych [17]. Podobnie jak w przypadku innych zakażeń chlamydiovych, u niektórych osób stwierdza się skłonność do przewlekłego zakażenia *C. pneumoniae*, na co wskazuje stała obecność swoistych przeciwciał klasy IgG, a szczególnie IgA, w surowicy tych osób [16]. U znaczącego odsetka chorych na AAA obserwuje się serologiczne wskaźniki przewlekłego zakażenia *Chlamydia pneumoniae* [13, 18, 19].

Każde zakażenie nasila produkcję cytokin — białek o małej masie cząsteczkowej niezbędnych do sterowania reakcją zapalną. Oddziałują one na siebie w bardzo złożony sposób, wzajemnie wpływając na swoją produkcję i aktywność [20]. Cytokiny działają przez receptory o wysokim powinowactwie, które znajdują się na powierzchni komórek docelowych. Po związaniu się z receptorami cytokiny wzbudzają sygnały biochemiczne we wnętrzu komórki, które w istotny sposób modulują jej zachowanie. Pomocnicze limfocyty T odgrywają główną rolę regulacyjną w układzie odpornościowym. Większość ich funkcji zależy od działania cytokin. W 1986 roku wykazano, że pomocnicze limfocyty T nie stanowią homogennej grupy. Dzielą się one na dwie podklasy, w zależności od cytokin, które produkują. Klony Th1 produkują: IL-2, IFN- γ i TNF, klony Th2 wytwarzają natomiast: IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 i IL-13. Klony Th1, ze względu na produkcję IFN- γ , indukują wzmożoną aktywność bójczą makrofagów, a więc nasiloną odporność typu komórkowego, natomiast klony Th2 produkują cytokiny, które stymulują limfocyty B w kierunku ich przekształcania się w komórki plazmatyczne, produkujące przeciwciała [21].

infection, IL-12 is critically involved in protection against an array of intracellular pathogens. Most, if not all, of these protective effects are mediated by IFN- γ [23].

Objectives

The aim of our study was to evaluate the frequency of *Chlamydia pneumoniae* infection in AAA patients by measuring *Chlamydia pneumoniae*-specific serum IgG, IgM and IgA levels. We also measured the concentration of IL-12 and IFN- γ in patients' serum to evaluate their cell-mediated immunity.

Materials and methods

Patients (n = 28) with AAA (5F, 23 M), mean age 68.5 years (55–80) have participated in the research. All patients have been operated for AAA at the Department of Vascular Surgery, University School of Medicine in Lublin. The indications for surgery were: aneurysm size larger than 4.5cm (4.5–8.0cm), or the presence of clinical symptoms. All procedures were elective. All patients were non-diabetic, current smokers or ex-smokers and had hypertension. 6 patients had a history of myocardial infarction and 3 of stroke. Blood samples were obtained from patients one day before operation. The specimens were collected from January to June 2000.

Twenty control subjects, matched for age and sex (4F, 16M) without clinical signs and symptoms of cardiovascular and pulmonary disease took part in our study.

Microimmunofluorescence method was applied. *Chlamydia pneumoniae* Micro-IF test (Labsystems, Finland) was used according to manufacturer's instructions. Sera analysed for *Chlamydia pneumoniae* IgM and IgA were diluted in IgG blocker (Labsystems, Finland) to remove possible interference with IgG.

According to the reference data, the following criteria have been adopted [24, 25]:

1. Chronic (persistent) infection: IgG \geq 1:128 and IgA \geq 1:32, IgM = 0.
2. Primary acute infection: IgG \geq 1:512, IgM \geq 1:8.

The concentrations of IL-12 and IFN- γ were evaluated using ELISA method by OptEIA set (Pharmingen) according to the manufacturer's instructions.

Statistical analysis was carried out using STATISTICA programme. We started with Shapiro-Wilk's test to evaluate data distribution; as it appeared normal — t-Student test was used. A p-value < 0.05 was taken as indicative of statistical significance.

Results

Serologic markers of persistent *Chlamydia pneumoniae* infection were detected in 25/28 (89.3%) patients and in 6/20 (30%) healthy controls (Fig. 1).

Do eliminacji różnych drobnoustrojów konieczne są różne odpowiedzi odpornościowe. Zakażenia wywołane patogenami wewnątrzkomórkowymi najskuteczniej zwalczą odporność typu komórkowego [22]. Główną rolę w inicjowaniu odporności typu komórkowego odgrywa IL-12 [22]. Cytokina ta, produkowana we wczesnym okresie zakażenia, jest niezbędnym czynnikiem zabezpieczającym przed zakażeniem patogenami wewnątrzkomórkowymi. W większości tych działań ochronnych IL-12, a być może nawet we wszystkich, pośredniczy IFN- γ [23].

Cel pracy

Celem pracy była ocena częstości zakażenia *Chlamydia pneumoniae* u chorych na AAA przez oznaczenie miana swoistych przeciwciał klasy IgG, IgM i IgA oraz ocena odpowiedzi typu komórkowego przez oznaczenie stężenia IL-12 i IFN- γ w surowicy krwi pacjentów.

Materiał i metody

W badaniach uczestniczyło 28 chorych na AAA (5 kobiet, 23 mężczyzn) w wieku 55–80 lat (średni wiek — 68,5 roku). Wszystkich chorych operowano z powodu AAA w Klinice Chirurgii Naczyń AM w Lublinie. Wskazaniami do operacji były: średnica tętniaka większa niż 4,5 cm (4,5–8 cm) lub objawy kliniczne. Wszystkie zabiegi wykonano planowo. U wszystkich osób rozpoznano nadciśnienie tętnicze. Żaden z pacjentów nie chorował na cukrzycę. Wszyscy pacjenci obecnie albo w przeszłości palili tytoń. Sześciu chorych przeżyło zawał serca, a 3 — udar mózgu. Krew do badań pobierano w dniu poprzedzającym operację. Materiał do badań zbierano od 01.01–30.06.2000 r.

Grupa kontrolna składała się z 20 osób zbliżonych pod względem wieku i płci do grupy badanej, bez objawów chorób układu sercowo-naczyniowego i oddechowego.

Badania prowadzono z zastosowaniem metody mikroimmunofluorescencji za pomocą testu *Chlamydia pneumoniae* Micro-IF (Labsystems, Finlandia), zgodnie z zaleceniami producenta. Próbkę surowicy, w których oznaczano miana swoistych przeciwciał klas IgM i IgA, wstępnie inkubowano z odczynnikiem blokującym IgG (IgG blocker, Labsystems, Finlandia).

Zgodnie z danymi z piśmiennictwa autorzy zastosowali następujące kryteria serologiczne [24, 25]:

1. Przewlekłe (przetrwałe) zakażenie: IgG \geq 1:128, IgA \geq 1:32, IgM = 0.
2. Ostre pierwotne zakażenie: IgG \geq 1:512, IgM \geq 1:8.

Stężenia IL-12 i IFN- γ w surowicy chorych oznaczano metodą ELISA przy użyciu zestawu OptEIA set firmy Pharmingen zgodnie z zaleceniami producenta.

In 40% (10/25) of patients with serologic markers of persistent *Chlamydia pneumoniae* infection we have observed high titers of specific IgG (> 1:1024) and IgA (> 1:64). The concentrations of IL-12 and IFN- γ were significantly decreased in this group compared to the rest of patients and healthy controls (Table I, Fig. 2, 3).

Discussion

Susceptibility to infection by pathogenic organisms involves a complex balance between host defences and invasive properties of the infectious agent [26]. Now it is accepted that the failure to control or resolve infectious diseases often results from inappropriate rather than insufficient immune responses [22]. Infections by intracellular pathogens are best controlled by cell-me-

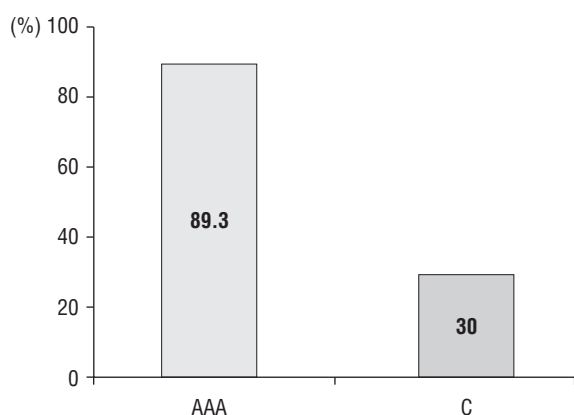


Figure 1. Chronic *C. pneumoniae* infection in abdominal aortic aneurysm patients (AAA) and healthy controls (C)

Rycina 1. Przewlekłe zakażenie *C. pneumoniae* u chorych z tętniakiem aorty brzusznej (AAA) i w grupie kontrolnej (C)

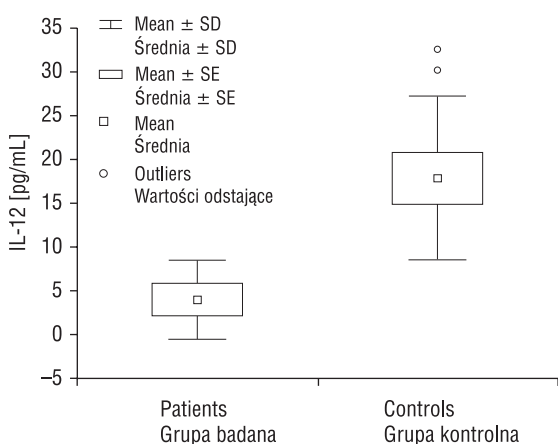


Figure 2. IL-12 concentrations in patients with high anti-*C. pneumoniae* IgG and IgA titers and in healthy controls

Rycina 2. Stężenie IL-12 u chorych na AAA z wysokimi mianami IgG i IgA anty *C. pneumoniae* oraz w grupie kontrolnej

Analizę statystyczną przeprowadzono z użyciem programu Statistica, wykorzystując test Shapiro-Wilka do oceny rozkładu, a następnie test t-Studenta. Za istotne statystycznie przyjęto $p < 0,05$. Wartości p równe lub wyższe od przyjętego kryterium uznano za wartości nieistotne statystycznie.

Wyniki

Serologiczne wskaźniki przewlekłego zakażenia *Chlamydia pneumoniae* stwierdzono u 25/28 chorych (89,3%) oraz u 6/20 osób z grupy kontrolnej (30%) (ryc. 1).

Wśród 10 z 25 chorych (40%), u których stwierdzono serologicznie przewlekłe zakażenie *C. pneumoniae*, odnotowano wysokie miana swoistych przeciwciał klasy IgG (> 1:1024) i IgA (> 1:64). Stężenia IL-12 i IFN- γ były znacząco obniżone w tej grupie chorych w porównaniu z pozostałymi pacjentami i grupą kontrolną (tab. I, ryc. 2, 3).

Dyskusja

Wrażliwość na zakażenie danym patogenem jest wypadkową sił obronnych gospodarza i właściwości inwazyjnych czynnika zakaźnego [26]. Obecnie uważa się, że niemożność zwalczania zakażenia przez ustrój wynika raczej z nieadekwatnej niż niedostatecznej odpowiedzi odpornościowej [22]. Zakażenia patogenami wewnątrzkomórkowymi są najskuteczniej zwalczane przez odpowiedź typu komórkowego, w tym fagocytozę i wewnątrzkomórkowe zabijanie przez makrofagi [22]. Kluczową rolę w inicjowaniu odpowiedzi typu komórkowego odgrywa IL-12. Cytokinę tę, składającą się z dwóch podjednostek, produkują komórki prezentujące antygen. Podczas infekcji monocyty/makrofagi produkują

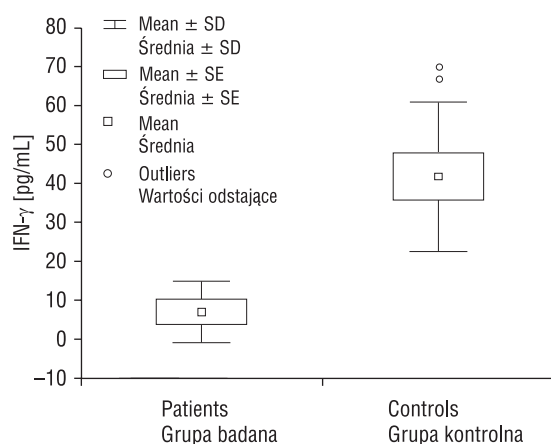


Figure 3. IFN- γ concentrations in patients with high anti-*C. pneumoniae* IgG and IgA titers and in healthy controls

Rycina 3. Stężenie IFN- γ u chorych na AAA z wysokimi mianami IgG i IgA anty *C. pneumoniae* oraz w grupie kontrolnej

Table I. Mean IL-12 and IFN- γ concentrations in patients with high titers of anti-*C. pneumoniae* — specific IgG and IgA, the rest of patients and in healthy controls**Tabela I.** Średnie stężenie IL-12 i IFN- γ u chorych z wysokimi mianami IgG i IgA anty *C. pneumoniae*, u pozostałych chorych oraz w grupie kontrolnej

Mean concentrations Stężenie średnie	IL-12 [pg/mL]	IFN- γ [pg/mL]
Healthy controls Grupa kontrolna (osoby zdrowe)	17.55 (7.2–32.6)	41.82 (22.4–70.3)
Patients with high anti- <i>C. pneumoniae</i> IgG, IgA titers Pacjenci z wysokimi mianami IgG i IgA anty <i>C. pneumoniae</i>	3.86 (0.0–10.2) $p < 0.01$	6.86 (0.0–17.6) $p < 0.001$
The rest of patients Pozostali pacjenci	24.94 (6.4–46.0) $p > 0.05$	36.9 (10.3–81.6) $p > 0.05$

diated immunity, including phagocytosis and intracellular killing by macrophages [22]. IL-12 plays a central role in the initiation of cell-mediated immunity. It is a heterodimeric cytokine produced by several cell types with APC function. During infection monocytes/macrophages produce IL-12, which, together with other cytokines, induces IFN- γ production by T cells. In co-operation with other costimulatory molecules, IL-12 induces development of Th1 cells during an immune response to antigen and is required for optimal proliferation and IFN- γ production by differentiated Th1 cells [27]. The Th1 promoting effect of IL-12 *in vivo* was found to be dependent on the presence of IFN- γ [22].

The immune response to intracellular pathogens is complex but critically involves the elaboration of IFN- γ by lymphocytes, which in turn stimulates macrophages to heightened state of resistance to intracellular infection. Increased susceptibility to intracellular bacterial pathogens, including *Legionella*, *Listeria*, *Mycobacterium* and *Chlamydia* species has been reported in IFN- γ -deficient and IFN- γ RI-deficient mice [28].

The role of host immune responses in the resolution of chlamydial infections is unclear, but there is increasing evidence from experimental *Chlamydia trachomatis* infections to suggest that cell-mediated immunity plays an important role in host defence against *Chlamydia* species. Especially IFN- γ seems to be the single most important factor for protective immunity, because it has been shown to inhibit the intracellular development of *Chlamydia* species both *in vitro* and *in vivo* and to lyse *Chlamydia*-infected cells [16, 29]. It seems likely that the clearance of chlamydial infection *in vivo* may depend on up-regulation of Th1 response and down-regulation of Th2 response [29].

In our study we have found serologic markers of persistent *Chlamydia pneumoniae* infection in 89.3% of AAA patients. Our results are in accordance with those

IL-12, która razem z innymi cytokinami indukuje rozwój klonów Th1 w odpowiedzi na antygen. Aby komórki Th1 mogły w sposób optymalny proliferować i produkować IFN- γ , niezbędna jest IL-12 [27], natomiast działanie promujące rozwój klonów Th1 zależy od obecności IFN- γ [22].

Odpowiedź odpornościowa w stosunku do patogenów wewnątrzkomórkowych jest procesem niezwykle złożonym. Niezbędnym jej elementem jest wytwarzany przez limfocyty IFN- γ , który z kolei uodparnia makrofagi na zakażenia tymi patogenami. Zwiększoną wrażliwość na zakażenia patogenami wewnątrzkomórkowymi, takimi jak: *Legionella*, *Listeria*, *Mycobacterium* i *Chlamydia* species, obserwowano u myszy nieprodukujących IFN- γ oraz u myszy, u których nie występuje receptor RI dla IFN- γ [28].

Rola odpowiedzi odpornościowej gospodarza w zwalczaniu zakażeń chlamydowych nie została dotychczas wystarczająco wyjaśniona, ale wzrastająca liczba danych pochodzących z wyników badań doświadczalnych nad zakażeniami *Chlamydia trachomatis* sugeruje, że jest ona istotna w ochronie przeciwko zakażeniom drobnoustrojami z rodzaju *Chlamydia*. Szczególnie IFN- γ wydaje się najważniejszym pojedynczym czynnikiem chroniącym przed tego typu zakażeniami. Wykazano bowiem, że hamował on wewnątrzkomórkowe namnażanie *Chlamydiae in vitro* i *in vivo* oraz wywoływał lizę komórek zakażonych tymi bakteriami [10, 16]. Możliwość zwalczania zakażenia chlamydowego *in vivo* może zależeć od dominacji odpowiedzi typu komórkowego [29].

W swoich badaniach autorzy obserwowali serologiczne wskaźniki przewlekłego zakażenia *C. pneumoniae* u 89,3% chorych na AAA. Wyniki są zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów [13, 30]. Wysoki odsetek chorych na AAA, u których występuje przewlekłe zakażenie *C. pneumoniae*, może potwierdzać tezę, że drobnoustroj ten odgrywa rolę w patogenezie AAA.

obtained by other authors [13, 30]. High percentage of chronic *Chlamydia pneumoniae* infection among AAA patients may confirm the hypothesis that *Chlamydia pneumoniae* can participate in the pathogenesis of AAA [18]. But the infection seems to be controlled by the immune system in many patients. However, in 40% of patients chronically infected with *Chlamydia pneumoniae* high levels of specific IgG and IgA antibodies suggested active infection. Interestingly, in this group IL-12 and IFN- γ concentrations were significantly lower than in the rest of patients and healthy controls suggesting down-regulated Th1 response. Th2 response seemed to be up-regulated among them, which was demonstrated by high *Chlamydia pneumoniae*-specific antibody levels. Down-regulated Th1 response can be the cause of reactivation of infection in these patients, which in turn may enhance and accelerate the process of aortic wall destruction in AAA formation [13, 31]. The fact, that all patients in this group were diagnosed as having symptomatic AAA may confirm this hypothesis.

The results obtained in our work indicate that AAA patients diagnosed as being chronically infected with *Chlamydia pneumoniae* are not the homogenous group. In our opinion a patients who cannot clear the infection may be candidates to the antimicrobial treatment, which may prevent the progression of AAA.

References

- Patel M, Hardman DTA, Fischer CM (1995) Current view on the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *J Am Coll Surg*, 181: 371.
- Mac Sweeney STR, Powel JT, Geenhalgh RM (1994) Pathogenesis of abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg*, 8: 935.
- Wills A, Thompson MM, Crowther M, et al. (1996) Pathogenesis of abdominal aortic aneurysms-cellular and biochemical mechanisms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 12: 391.
- Davies MJ (1998) Aortic aneurysm formation. Lessons from human studies and experimental models. *Circulation*, 98: 193.
- Noll G (1998) Pathogenesis of atherosclerosis: a possible relation to infection. *Atherosclerosis*, 140 (Suppl. 1): 3.
- Henderson EL, Geng Y, Sukhova GK, et al. (1999) Death of smooth muscle cells and expression of mediators of apoptosis by T lymphocytes in human abdominal aortic aneurysms. *Circulation*, 99: 96.
- Shah PK (1997) Inflammation, metalloproteinases, and increased proteolysis. *Circulation*, 96: 2115.
- Crowther M, Goodal S, Jones JL, et al. (2000) Localisation of matrix metalloproteinase 2 within the aneurysmal and normal aortic wall. *Br J Surg*, 87: 1391.
- Minion DJ, Davis VA, Nejezchleb PA, et al. (1994) Elastin is increased in abdominal aortic aneurysms. *J Surg Res*, 57: 443.
- Tamarina NA, McMilan WD, Shively VP, et al. (1997) Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in aneurysms and normal aorta. *Surgery*, 122: 264.

Wydaje się jednak, że u wielu chorych układ odpornościowy kontroluje przebieg tego zakażenia. Natomiast u 40% pacjentów z przewlekłym zakażeniem *Chlamydia pneumoniae* wysokie miana swoistych przeciwciał klasy IgG i IgA wskazywały na aktywny proces infekcyjny. Co ciekawe, w tej grupie chorych stężenia IL-12 i IFN- γ okazały się znacząco niższe niż u pozostałych chorych i u osób z grupy kontrolnej, co sugeruje nieadekwatną odpowiedź typu Th1. Wysokie miana swoistych przeciwciał wskazują, że w tej grupie chorych dominuje odpowiedź typu Th2. Nieadekwatna odpowiedź typu komórkowego może być przyczyną zaostrzenia przewlekłej infekcji w tej grupie chorych, co z kolei może nasilać i przyspieszać proces niszczenia ściany aorty, do którego dochodzi w rozwoju AAA [13, 31]. Tezę tę może potwierdzać fakt, że u wszystkich chorych w tej grupie rozpoznano tętniaka objawowego.

Uzyskane wyniki wskazują, że chorzy na AAA z przewlekłym zakażeniem *C. pneumoniae* nie stanowią jednorodnej grupy. Autorzy sądzą, że u chorych z aktywnym zakażeniem istnieje możliwość zastosowania antybiotykoterapii, która może zwolnić u nich progresję AAA.

- Wills A, Thompson MM, Crowther M, et al. (1996) Elastase-induced matrix degradation in arterial organ cultures: an in vitro model of aneurysmal disease. *J Vasc Surg*, 24: 667.
- Powell J, Greenhalgh RM, et al. (1989) Cellular, enzymatic, and genetic factors in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 9: 297.
- Lindholt JS, Juul S, Vammen S, et al. (1999) Immunoglobulin. A antibodies against *Chlamydia pneumoniae* are associated with expansion of abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg*, 86: 634.
- Sessa R, Di Pietro M, Santino I, et al. (1999) *Chlamydia pneumoniae* infection and atherosclerotic coronary disease. *Am Heart J*, 137: 1116.
- Orfilla JJ (1998) Seroepidemiological evidence an association between *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 140 (Suppl. 1): 11.
- Halme SL, von Hertzen A, Blaugu, J, et al. (1998) *Chlamydia pneumoniae* — specific cell-mediated and humoral immunity in healthy people. *Scand J Immunol*, 47: 517.
- Hertzen von LC (1998) *Chlamydia pneumoniae* and its role in chronic obstructive pulmonary diseases. *Ann Med*, 30: 27.
- Karlsson L, Gnarp J, Naas J, et al. (2000) Detection of viable *Chlamydia pneumoniae* in Abdominal aortic aneurysms. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 19: 630.
- Juvonen J, Juvonen T, Laurila A, et al. (1997) Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in the walls of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 25: 499.
- Poll van der T, Marchant A, Deventer SJH, et al. (1997) The role of interleukin-10 in the pathogenesis of bacterial infection. *Clin Microbiol Infect*, 3: 605.

21. Paul WE, Seder RA (1994) Lymphocyte responses and cytokines. *Cell*, 76: 241.
22. Romani L, Puccetti P, Bistoni F (1997) Interleukin-12 in infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*, 10: 611.
23. Curfs JHA, J Meis JFGM, Hoogkamp-Korstanje JAA (1997) A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev*, 10: 742.
24. Hahn DL, Bukstein D, Luskin A, et al. (1998) Evidence for *Chlamydia pneumoniae* infection in steroid-dependent asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 80: 45.
25. Herten von L, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. (1998) Humoral immune response to *Chlamydia pneumoniae* in twins discordant for smoking. *J Intern Med*, 244: 227.
26. Metzger DW, Raeder R, Van Cleave WH, Boyle MDP (1995) Protection of mice from group A streptococcal skin infection by interleukin-12. *J Infect Dis*, 171: 1643.
27. D'Andrea A, Ma X, Aste-Amezaga M, et al. (1995) Stimulatory and inhibitory effects of interleukin (IL)-4 and IL-13 on the production of cytokines by human peripheral blood mononuclear cells: Priming for IL-12 and tumor necrosis factor- α production. *J Exp Med*, 181: 537.
28. Holland SM, Dorman SE, Kwon A, et al. (1998) Abnormal regulation of interferon- γ , interleukin-12, and tumor necrosis factor- α in human interferon- γ receptor 1 deficiency. *J Infect Dis*, 178: 1095.
29. Holland MJ, Bailey RL, Hayes LJ, et al. (1993) Conjunctival scarring in trachoma is associated with depressed cell-mediated immune responses to chlamydial antigens. *J Infect Dis*, 168: 1528.
30. Blanchard JF, Armenian HK, Peeling R, et al. (2000) The relation between *Chlamydia pneumoniae* infection and abdominal aortic aneurysm: case-control study. *Clin Infect Dis*, 30: 946.
31. Gaydos CA, Summersgill JT, Sahney NN, et al. (1996) Replication of *Chlamydia pneumoniae* in vitro in human macrophages, endothelial cells and aortic smooth muscle cells. *Infect Immun*, 64: 1641.