

Infekcja *Chlamydia pneumoniae* oraz wirusem cytomegalii a przebudowa naczyń i serca w samoistnym nadciśnieniu tętniczym

Chlamydia pneumoniae and cytomegalovirus infection and cardiovascular remodeling in hypertensives

Summary

Background We investigated influence of *Chlamydia pneumoniae* (Ch.p.) and *Cytomegalovirus* (CMV) infection on cardiovascular remodeling in essential hypertension.

Material and methods 112 hypertensives were included in the study (age: $55,7 \pm 12$ y, known duration of hypertension $12,7 \pm 8$ y). Antibodies against Ch.p, CMV, human HSP60 and ICAM-1, CRP and TNF- α levels were assessed. To assess cardiovascular remodeling following investigations were performed: carotid intima-media thickness (IMT), carotid-femoral pulse wave velocity (PWV), left ventricular mass index (LVMI), diastolic function (IVRT — isovolumetric relaxation time, E/A — mitral inflow waves ratio, EDT — E wave deceleration time, AR — reversal flow in pulmonary veins during atrial contraction, S/D pulmonary inflow waves ratio).

Results 66 patients (59%) were seropositive for Ch.p., and 86 (77%) for CMV. Ch.p (+) group had higher IMT values (0,84 vs. 0,93 mm, $p = 0,001$), lower E/A (0,94 vs. 1,03, $p = 0,03$) and higher CRP level (1,8 vs. 1,37 mg/l, $p = 0,07$). After adjusting for age these differences ceased to be significant. CMV (+) group had longer IVRT (96,3 vs. 88,8 ms, $p = 0,06$), higher PWV (10,5 vs. 9,3 m/s, $p = 0,006$), lower E/A (0,93 vs. 1,2, $p = 0,0001$), higher AR (34,9 vs. 30,7 cm/s, $p = 0,007$), higher CRP (1,8 vs. 1,17 mg, $p = 0,037$) and ICAM-1 (269,9 vs. 237,2, $p = 0,028$) levels. After adjusting for age, BMI and cholesterol only differ-

ences in E/A, AR and CRP remained significant. There were several significant weak correlations in univariate and multivariate analysis between antibodies levels and indices of remodeling.

Conclusions CMV and *Chlamydia pneumoniae* infection influences in a small degree both cardiovascular remodeling indices and inflammatory markers in essential hypertensives.


key words: *Chlamydia pneumoniae*, *Cytomegalovirus*, arterial hypertension, intima-media thickness, pulse wave velocity, diastolic function

Arterial Hypertension 2005, vol. 9, no 4, pages 266–275.

Wstęp

Przeprowadzone w ciągu ostatniej dekady badania oceniające wpływ infekcji *Chlamydia pneumoniae* (Ch.p) i wirusem cytomegalii (CMV, *Cytomegalovirus*) na rozwój miażdżycy i powikłań sercowo-naczyniowych przyniosły rozbieżne wyniki [1–6]. Różnice te mogą wynikać z wieloczynnikowej etiologii chorób układu krążenia. Infekcja tymi patogenami może być tylko modulatorem działania innych czynników ryzyka, na przykład poprzez wpływ na przebieg choroby nadciśnieniowej przez przyspieszenie nadciśnieniowej przebudowy naczyń i serca. *Chlamydia pneumoniae* jest bakterią rozmnażającą się podobnie jak wirus wewnątrz komórek gospodarza. Przez zainfekowane makrofagi płucne może się rozprzestrzeniać w całym organizmie — przewlekłe

Adres do korespondencji: dr med. Marek Jastrzębski
I Klinika Kardiologii Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński
ul. Kopernika 17, 31–501 Kraków.
tel.: (012) 42–47–300, faks: (012) 42–47–320
e-mail: mcjastrz@cyf-kr.edu.pl

 Copyright © 2005 Via Medica, ISSN 1428–5851

infekując układ naczyniowy. W badaniach patomorfologicznych wykazano obecność *Chlamydia pneumoniae* w zmienionych miażdżycowo naczyniach [2, 7]. Ma ona zdolność infekowania wszystkich komórek wchodzących w skład ściany naczyniowej: komórek śródbłonna, komórek mięśni gładkich naczyń oraz fibroblastów i makrofagów [8, 9]. Wpływając na produkcję promitogennych cytokin w tych komórkach oraz indukując przewlekły odczyn zapalny, infekcja tą bakterią może prowadzić do nasilonej przebudowy naczyń tętnicznych. Innym postulowanym mechanizmem, przez który infekcja *Chlamydia pneumoniae* może wpływać na naczynia tętnicze w chorobie nadciśnieniowej, jest wywoływanie reakcji autoimmunologicznej przez stymulację produkcji immunoglobulin skierowanych przeciw białkom szoku cieplnego [10–12]. Białka szoku cieplnego (HSP, *heat shock protein*) stanowią rodzinę białek o bardzo homologicznej sekwencji aminokwasów, ich struktura niewiele się różni między gatunkami. Dlatego też przeciwciała i limfocyty T skierowane przeciw HSP65/HSP60 bakterii *Chlamydia pneumoniae* mogą reagować krzyżowo z HSP60 człowieka. Proces ten może mieć szczególne znaczenie jako inicjator przebudowy naczyń w sytuacji zwiększonej ekspresji HSP na komórkach śródbłonna. Zwiększoną ekspresję HSP obserwuje się między innymi, gdy komórki narażone są na działanie bodźców stresowych — na przykład stresu mechanicznego wywołanego podwyższonym ciśnieniem tętniczym [13]. Podobnie jak w przypadku zakażenia *Chlamydia pneumoniae*, w wielu badaniach stwierdzono obecność DNA wirusa cytomegalii w komórkach śródbłonna, fibroblastach, komórkach mięśni gładkich naczyń, a także w makrofagach [14, 15]. Postulowane mechanizmy, przez które infekcja CMV może wpływać na przebudowę ściany naczyniowej, są podobne do wymienionych dla *Chlamydia pneumoniae*. Zainfekowane komórki mogą reagować zwiększoną ekspresją integryn (m.in. ICAM-1, *intercellular adhesion molecule*) oraz produkcją promitogennych i prozapalnych cytokin. Wirus cytomegalii podobnie jak *Chlamydia pneumoniae* po pierwotnym zainfekowaniu może się utrzymywać w organizmie przez całe życie i być źródłem przewlekłej, subklinicznej reakcji immunologiczno-zapalnej. Objawem takiej przewlekłej reakcji może być nieznacznie podwyższone stężenie wskaźników procesów zapalnych — białka C-reaktywnego (CRP, *c-reactive protein*) czy czynnika martwicy nowotworu (TNF- α , *tumor necrosis factor α*).

Do oceny przebudowy naczyń tętnicznych i serca w nadciśnieniu tętniczym służą między innymi: pomiar prędkości fali tętna (PWV, *pulse wave velocity*), pomiar grubości kompleksu *intima-media* tętnic

szyjnych (IMT, *intima-media thickness*) oraz badanie echokardiograficzne. Pomiar prędkości fali tętna jest najczęściej stosowanym wskaźnikiem sztywności tętnic. Pomiar tak zwanej szybko-udowej prędkości fali tętna umożliwia ocenę właściwości elastycznych aorty i dużych tętnic (tętnicy szyjnej, biodrowej i udowej) [12]. Prędkość fali tętna uważa się za wskaźnik uszkodzenia dużych naczyń w nadciśnieniu tętniczym (utrata elementów elastycznych) oraz w innych sytuacjach klinicznych prowadzących do przebudowy ściany naczyniowej. Pomiar IMT za pomocą ultrasonografii wysokiej rozdzielczości wykorzystuje się w ocenie ogólnego ryzyka powikłań u chorych z nadciśnieniem tętniczym [16]. Za pogrubienie IMT odpowiadają przebudowa miażdżycowa oraz przerost nadciśnieniowy ścian naczyń. Pogrubienie błony wewnętrznej i środkowej tętnic szyjnych wiąże się z występowaniem miażdżycy w zakresie innych obszarów naczyniowych: tętnic wieńcowych oraz biodrowych [9]. Dlatego pomiar IMT wykorzystuje się w badaniach klinicznych do oceny potencjalnych czynników wpływających na procesy miażdżycowe [17, 18]. Niektórzy autorzy uważają, że PWV i IMT lepiej niż klasyczne czynniki ryzyka odzwierciedlają zagrożenie powikłaniami miażdżycowymi, ponieważ w przeciwieństwie do nich nie podlegają chwilowym wahaniom, odzwierciedlając nie tyle aktualny, co raczej wieloletni sumaryczny wpływ różnych czynników. Tym samym badania te wydają się szczególnie przydatne do oceny wpływu przewlekłych procesów infekcyjno-zapalnych na naczynia tętnicze.

Zaburzenia funkcji rozkurczowej serca uważa się za czuły, wczesny objaw przebudowy mięśnia serca w chorobie nadciśnieniowej. Za występowanie zaburzeń funkcji rozkurczowej odpowiedzialne są zmiany funkcjonalne i strukturalne miokardium oraz zwiększenie masy serca [19]. Przebudowa mięśnia sercowego objawiająca się zwiększeniem zawartości kolagenu oraz pogrubieniem ścian mięśnia sercowego przez upośledzenie podatności bezpośrednio wpływa na proces biernej relaksacji. Nasilenie zmian prowadzących do zaburzeń funkcji rozkurczowej może być w pewnym stopniu modulowane przez procesy infekcyjno-zapalne, zarówno przez bezpośredni wpływ reakcji immunologiczno-zapalnych na miokardium, jak i przez zmiany ogólnoustrojowe. Opisany wpływ infekcji na przebudowę naczyń może pośrednio wpływać na dysfunkcję rozkurczową serca przez wzrost naprężenia końcowo-skurczowego zależnego od sztywności tętnic. Tym samym, pomiar parametrów funkcji rozkurczowej może, podobnie jak ocena IMT i PWV, stanowić dobre narzędzie do badania wpływu infekcji i związanych z nimi przewlekłych reakcji im-

munologiczno-zapalnych na procesy przebudowy układu sercowo-naczyniowego. Zwiększanie się masy lewej komory w chorobie naciśnieniowej tylko częściowo wiąże się z wpływem samego ciśnienia. Wartości ciśnienia tętniczego wyjaśniają około 30% zmienności wskaźnika masy lewej komory (LVMI, *left ventricular mass index*). Różnice w zakresie LVMI między osobami z naciśnieniem tętniczym w dużym stopniu są uwarunkowane obecnością czynników modyfikujących, z których nie wszystkie zostały poznane. Znane czynniki modyfikujące LVMI, takie jak: wartości ciśnienia tętniczego, wiek, płeć, wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*), spożycie soli, alkoholu, insulina, stężenie katecholamin czy czynniki genetyczne, również całkowicie nie wyjaśniają zmienności LVMI u tych chorych. Możliwe, że przewlekłe procesy zapalno-infekcyjne, przez indukcję promitogennych cytokin oraz potencjalny wpływ na opór obwodowy, mogą być również jednym z czynników wpływających na występowanie przerostu mięśnia lewej komory w naciśnieniu tętniczym.

Celem badania było sprawdzenie hipotezy zakładającej, że poziom przeciwciał anty-CMV oraz anty-*Chlamydia pneumoniae* będzie korelował z pogrubieniem kompleksu *intima-media*, ze zwiększeniem prędkości fali tętna, pogorszeniem funkcji rozkurczowej serca oraz większym LVMI, a także, że będzie się wyrażał w wyższych stężeniach wskaźników reakcji immunologiczno-zapalnych: ICAM-1, anty-HSP60, TNF- α i CRP. W celu weryfikacji powyższej hipotezy przeprowadzono przekrojowe badanie w grupie osób chorych na samoistne naciśnienie tętnicze, oceniając IMT, PWV, funkcję rozkurczową serca, LVMI oraz oznaczając powyższe przeciwciała i wskaźniki.

Materiał i metody

Badaniem objęto 112 kolejnych chorych leczonych w Poradni Naciśnieniowej I Kliniki Kardiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego z rozpoznaniem pierwotnym naciśnieniem tętniczym. Grupę stanowiło 61 mężczyzn i 51 kobiet, w tym 94 osoby z ciężkim oraz 18 osób z umiarkowanym naciśnieniem, średnia wieku wynosiła $55,7 \pm 12$ lat. Do badania nie włączono chorych z ostrym lub przewlekłym schorzeniem zapalnym — co ustalano na podstawie wywiadu, badania przedmiotowego oraz dostępnej dokumentacji medycznej. Wszystkie osoby były poddawane skojarzonemu leczeniu przeciwnaciśnieniowemu; średni czas trwania naciśnienia wynosił $12,7 \pm 8$ lat. Zebrano informacje na temat: wieku, masy ciała, wzrostu oraz

palenia tytoniu. Wykonano badanie echokardiograficzne oraz ultrasonograficzne tętnic szyjnych i pobrano próbkę krwi do wykonania oznaczeń biochemicznych i serologicznych. Oznaczenia biochemiczne wykonano po zebraniu całego materiału. Przeciwciała IgG skierowane przeciwko CMV oznaczono metodą immunoenzymatyczną za pomocą kitu *Vironostika anti-CMV II*. Wynik tego oznaczenia wyrażono w jednostkach względnych jako stosunek absorbancji próbki badanej do absorbancji kalibracyjnej. Wartości $> 1,9$ przyjęto za oznaczające surowicę dodatnią. Przeciwciała IgG skierowane przeciwko *Chlamydia pneumoniae* oznaczono metodą immunoenzymatyczną za pomocą kitu *Thermo Labsystems Oy Chlamydia pneumoniae IgG EIA*. Wynik oznaczenia został wyrażony w EIU (*enzyme immunounits*), wartości > 45 EIU przyjęto jako dodatnie. Stężenie przeciwciał klasy IgG, IgA oraz IgM skierowanych przeciwko ludzkiemu HSP60 oznaczono za pomocą kitu *Anti-Human HSP60* firmy Stressgen metodą immunoenzymatyczną (ELISA, minimalny zakres czułości 2,88 ng/ml). Stężenie CRP oznaczono metodą ultraczułą (*high sensitivity CRP*), analizatorem nefelometrycznym *Behring Nephelometer Analyzer II* przy zastosowaniu kitu *Dade Behring N Latex CRP mono* (zakres czułości: 0,175–11 mg/l). Wyniki powyżej 10 mg/l wykluczono z oznaczeń jako odzwierciedlające ostry proces zapalny. Stężenie TNF- α oceniono metodą ELISA, kit *Quantikine HS* firmy R & D Systems (minimalna czułość 0,12 pg/ml). Stężenie rozpuszczalnej formy integryny ICAM-1 wykonano metodą immunoenzymatyczną — kit *Human sICAM1* firmy R & D.

Badania echokardiograficzne wykonano aparatem Hewlett-Packard Sonos 2000, używając głowicy 2,5–3,5 MHz. Parametry lewej komory obliczono jako średnią z przynajmniej 3 kolejnych pomiarów. Badanie M-mode wykonano z dostępu przymostkowego pod kontrolą obrazu dwuwymiarowego, opierając się na wytycznych Amerykańskiego Towarzystwa Echokardiograficznego (*American Society of Echocardiography*). Wykonywano następujące pomiary: końcowo-rozkurczową grubość przegrody międzykomorowej (IVS, *interventricular septum*), końcoworozkurczową jak tu grubość tylnej ściany lewej komory (LVPW, *left ventricular posterior wall*), wymiar końcoworozkurczowy (LVEDD, *left ventricular end-diastolic diameter*), wymiar końcowoskurczowy lewej komory (LVESD, *left ventricular end-systolic diameter*). Do obliczenia masy lewej komory (LVM) zastosowano wzór Devereux skorygowany do pomiarów wykonywanych zgodnie z zaleceniami Amerykańskiego Towarzystwa Echokardiograficznego: $LVM = 0,8 \{1,04 [(IVS + LVEDD + LVPW)^3 - (LVEDD)^3] + 0,6 g$

Powierzchnię ciała (BSA, *body surface area*) obliczono, stosując wzór Dubois: $BSA = 0,0001 [71,84 \times \{\text{masa ciała w kg}\}^{0,425} \times \{\text{wzrost w cm}\}^{0,725}]$. Wskaźnik masy lewej komory (LVMI) obliczono, dzieląc masę lewej komory przez powierzchnię ciała.

$$LVMI = LVM/BSA$$

Badanie dopplerowskie metodą fali pulsacyjnej (PW, *posterior wall*) wykonano w projekcji koniuszkowej czterojamowej. Do pomiaru parametrów napływu mitralnego bramkę dopplerowską umieszczono na poziomie końców płatków mitralnych oraz oceniono następujące parametry: stosunek fali E (wczesny napływ mitralny) do fali A (napływ mitralny w czasie skurczu przedsionków), czas deceleracji fali E (EDT, *E wave deceleration time*) oraz czas rozkurczu izowolumetrycznego (IVRT, *isovolumic relaxation time*). W celu pełniejszej oceny funkcji rozkurczowej oceniono także profil napływu krwi z żył płucnych. Bramkę dopplerowską umieszczano w świetle prawej górnej żyły płucnej 1–2 cm od ujścia. Jeżeli ujście żyły płucnej nie było wyraźnie widoczne — lokalizowano napływ żylny, stosując tryb Doppler-kolor. Oceniano: stosunek fali S (maksymalna prędkość napływu w żyłach płucnych w fazie skurczu lewej komory) do D (maksymalna prędkość napływu w czasie rozkurczu) oraz maksymalną prędkość fali wstecznego przepływu krwi do żył płucnych w czasie skurczu przedsionka (AR, *reversal flow*).

Pomiar IMT wykonano w zakresie tętnicy szyjnej wspólnej lewej oraz prawej na ścianie bliższej i dalszej, 2 cm dystalnie od miejsca podziału na tętnicę szyjną wewnętrzną i zewnętrzną. Nie wykonywano pomiarów IMT w obszarach ewidentnych, zlokalizowanych pogrubień (przyrost IMT > 100% w stosunku do przylegających odcinków naczynia). Wynik dla każdego badanego wyrażono jako średnią z kolejnych 12 pomiarów. Badanie wykonywano aparatem HP Sonos 2000, głowicą sektorową 7,5 MHz w projekcji B-mode.

Ocenę PWV przeprowadzono na odcinku tętnica szyjna–tętnica biodrowa za pomocą urządzenia rejestrującego jednocześnie falę tętna w dwóch odległych od siebie punktach. Do pomiarów wykorzystano aparat Complio® (Complior, Colson, Garges les Genosse, Francja), współpracujący z ciśnieniowrażliwymi przetwornikami TY 306 Fukuda (Fukuda Denshi, Tokyo, Japonia). Przetworniki umieszczano nad prawą tętnicą szyjną oraz prawą tętnicą udową. Drogę przebytą przez falę tętna mierzono na powierzchni ciała jako odcinek między dwoma punktami rejestracji tętna. Komputer obliczał automatycznie szyjno-udowy PWV jako iloraz przebytej przez falę tętna drogi i różnicy w czasie pojawienia się fal tętna. Wykonano co najmniej 15 pojedynczych pomiarów w celu uzyskania wartości uśrednionej.

W analizie zastosowano następujące metody statystyczne: test *t*-Studenta dla zmiennych niepowiązanych, test Manna-Withneya, korelację Spearmana, regresję wieloczynnikową oraz analizę kowariancji. Zmienne o rozkładzie odbiegającym od normalnego przekształcono logarytmicznie. Do statystycznego opracowania wyników wykorzystano pakiet statystyczny Statistica for Windows wersja 6.0 PL (Stat-Soft Inc., Tulsa, Oklahoma, Stany Zjednoczone).

Wyniki

U 66 (59%) chorych stwierdzono występowanie seropozytywności w kierunku *Chlamydia pneumoniae*, a u 86 (77%) — w kierunku CMV. Oceniając wskaźniki przebudowy układu sercowo-naczyniowego u chorych seropozytywnych w kierunku *Chlamydia pneumoniae*, stwierdzono istotnie większą grubość kompleksu *intima-media* oraz niższą wartość stosunku fal E/A. Chorzy w tej grupie byli również starsi (tab. 1). Po skorygowaniu względem wieku różnice między chorymi seropozytywnymi i seronegatywnymi w kierunku *Chlamydia pneumoniae* w zakresie IMT i E/A okazały się nieistotne. U chorych z surowicą dodatnią w kierunku infekcji CMV stwierdzono większą szybkość fali tętna, niższą wartość stosunku fal E/A, dłuższy czas rozkurczu izowolumetrycznego lewej komory oraz większą szybkość przepływu wstecznego w żyłach płucnych (AR) (tab. 2). Pacjenci ci byli także starsi oraz charakteryzowali się wyższymi wartościami BMI i stężenia cholesterolu całkowitego. Po skorygowaniu względem wieku BMI oraz stężenia cholesterolu nie stwierdzono różnic między chorymi seropozytywnymi i seronegatywnymi w kierunku CMV w zakresie PWV i IVRT, jednak nadal istotne pozostały różnice w zakresie E/A i AR.

Oceniając korelacje między parametrami przebudowy naczyń a oznaczanymi przeciwciałami w analizie jednoczynnikowej, stwierdzono występowanie korelacji między PWV a poziomem przeciwciał anty-CMV ($r = 0,32$, $p = 0,0006$), między IMT a poziomem przeciwciał anty-CMV ($r = 0,27$, $p = 0,004$) oraz poziomem przeciwciał anty-*Chlamydia pneumoniae* ($r = 0,29$, $p = 0,002$). Stwierdzono również korelacje między badanymi przeciwciałami a parametrami funkcji rozkurczowej lewej komory: stosunkiem fal E/A ($r = -0,33$, $p < 0,001$) i prędkością fali AR ($r = 0,26$, $p = 0,016$) a przeciwciałami anty-CMV, a także IVRT a poziomem anty-HSP60 ($r = 0,20$, $p = 0,03$). W wieloczynnikowym modelu uwzględniającym wpływ wieku, BMI, stężenie cholesterolu, palenie tytoniu oraz przeciwciała anty-

Tabela I. Porównanie osób seropozytywnych i seronegatywnych w kierunku *Chlamydia pneumoniae***Table I.** *Chlamydia pneumoniae* infection comparison of seropositive and seronegative patients

	IgG anty- <i>Chlamydia pneumoniae</i> EIU < 45	IgG anty- <i>Chlamydia pneumoniae</i> EIU ≥ 45	p
n	46	66	
Wiek (lata)	51,6 ± 12	58,6 ± 10	0,002
Paczkolata	6,7 ± 11	8,9 ± 12	0,09
BMI [kg/m ²]	27,3 ± 3,9	27,5 ± 3,5	0,76
Cholesterol [mmol/l]	5,56 ± 0,80	5,60 ± 1,0	0,94
IMT [mm]	0,84 ± 0,15	0,93 ± 14	0,001
IMT skorygowane* [mm]	86,6	89,9	0,13
PWV [m/s]	10,1 ± 1,9	10,4 ± 1,9	0,37
IVRT [ms]	94,9 ± 15	94,3 ± 29	0,86
E/A	1,07 ± 0,34	0,94 ± 0,29	0,03
E/A skorygowane*	1,03	0,99	0,50
S/D	1,26 ± 0,30	1,23 ± 0,35	0,70
EDT [ms]	167,3 ± 36	172,3 ± 28	0,42
AR [cm/s]	33,8 ± 6,6	34,1 ± 5,7	0,84
LVMl [g/m ²]	129 ± 41	139 ± 65	0,34
ICAM-1 [pg/ml]	258**	264**	0,63
Anty-HSP60 [ng/ml]	11,9**	13,6**	0,30
TNF-α [pg/ml]	2,10**	2,47**	0,12
CRP [mg/l]	1,29**	1,9**	0,07
CRP skorygowane* [mg/l]	1,37**	1,82**	0,13

*skorygowane względem wieku

**wartości przedstawiono jako średnie geometryczne

CMV, anty-HSP60 i anty-*Chlamydia pneumoniae* obserwowano tendencję (na pograniczu istotności, $p = 0,08$), sugerującą, że przeciwciała anty-*Chlamydia pneumoniae* mogą być niezależnym czynnikiem wpływającym na pogrubienie kompleksu *intima-media*. W modelu tym przeciwciała anty-CMV okazały się niezależnym czynnikiem wpływającym na parametry funkcji rozkurczowej serca: na E/A oraz AR (tab. 3). Rozpatrując PWV i IVRT, w modelu wieloczynnikowym stwierdzono jedynie wpływ wieku na te wskaźniki przebudowy.

U 6 chorych stwierdzono występowanie stężenia CRP > 10 mg/l — zostali oni wykluczeni z analiz statystycznych obejmujących CRP. U chorych seropozytywnych w kierunku *Chlamydia pneumoniae* stwierdzono wyższe stężenia CRP ($p = 0,07$), a u pacjentów z surowicą dodatnią w kierunku infekcji CMV — wyższe stężenia CRP i ICAM-1. Po skorygowaniu względem wieku różnica w zakresie CRP utrzymała się tylko między podgrupami cho-

rych seropozytywnych i seronegatywnych w kierunku CMV ($p = 0,07$). Stężenie przeciwciał anty-CMV i anty-*Chlamydia pneumoniae* wykazywało również istotną pozytywną korelację ze stężeniem CRP, odpowiednio $r = 0,20$ ($p = 0,04$) i $r = 0,22$ ($p = 0,03$).

Dyskusja

Przebiec infekcji lub utrzymująca się bezobjawowa infekcja *Chlamydia pneumoniae* lub wirusem cytomegalii są powszechne w populacji ogólnej. W badanej grupie stwierdzono seropozytywność w kierunku CMV u 77% badanych, a w kierunku *Chlamydia pneumoniae* — u 59% badanych. Rozpowszechnienie infekcji tymi patogenami wśród chorych na nadciśnienie jest więc podobne do częstości klasycznych czynników ryzyka w tej grupie chorych: zaburzeń lipidowych, palenia tytoniu czy nadwagi/otyłości, choć częstość infekcji rozpowszechnionej tymi patogenami

Tabela II. Porównanie osób seropozytywnych i seronegatywnych w kierunku CMV
Table II. *Cytomegalovirus* infection — comparison of seropositive and seronegative patients

	IgG anty-CMV < 1,9	IgG anty-CMV ≥ 1,9	p
n	26	86	
Wiek (lata)	50,9 ± 16	57,1 ± 10	0,018
Paczkolata	6,2 ± 10	10,2 ± 12	0,47
BMI [kg/m ²]	26,1 ± 3,2	27,8 ± 3,7	0,052
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,25 ± 0,89	5,64 ± 0,94	0,069
IMT [mm]	0,85 ± 0,17	0,90 ± 0,14	0,12
PWV [m/s]	9,3 ± 1,8	10,5 ± 1,9	0,006
PWV skorygowane* [m/s]	9,63	10,22	0,15
IVRT [ms]	88,8 ± 18	96,3 ± 18	0,06
IVRT skorygowane* [ms]	89,1	95,2	0,15
E/A	1,20 ± 0,36	0,93 ± 0,28	0,0001
E/A skorygowane*	1,22	0,94	0,005
S/D	1,3 ± 0,3	1,2 ± 0,3	0,68
EDT [ms]	167 ± 36	171 ± 30	0,60
AR [cm/s]	30,7 ± 4	34,9 ± 6	0,007
AR skorygowane* [cm/s]	31,0	34,8	0,02
LVMi [g/m ²]	124,5 ± 28	137,9 ± 63	0,29
ICAM-1 [pg/ml]	237,2**	269,9**	0,019
ICAM-1 skorygowane* [pg/ml]	237,2**	267,7**	0,028
antyHSP60 [ng/ml]	11,3**	13,46**	0,24
TNF-α [pg/ml]	2,51**	2,26**	0,39
CRP [mg/l]	1,17**	1,80**	0,037
CRP skorygowane* [mg/l]	1,14**	1,70**	0,072

*skorygowane względem wieku, BMI i cholesterolu

**wartości przedstawiono jako średnie geometryczne

wśród chorych na nadciśnienie tętnicze nie była dotychczas szerzej oceniana. Można było oczekiwać, że odsetki te będą podobne do podawanych w badaniach, które przeprowadzono zarówno w grupach osób zdrowych, jak i u chorych na schorzenia miażdżycowe [20–25]. Pitiriga i wsp. oceniając stężenie przeciwciał IgG anty-*Chlamydia pneumoniae* w grupie z nadciśnieniem białego fartucha, stwierdzili seropozytywność (miano > 1/80) u 56% badanych, a Cook i wsp. w grupie z ciężkim samoistnym nadciśnieniem — tylko u 35% (IgG > 1/64) [26, 27].

W niniejszej pracy wykazano, że chorzy na nadciśnienie tętnicze, seropozytywni wobec tych patogenów charakteryzują się bardziej zaawansowaną przebudową układu sercowo-naczyniowego. U pacjentów seropozytywnych w kierunku CMV stwierdzono większą szybkość fali tętna, większą grubość kompleksu *intima-media* oraz gorszą funkcję rozkurczową le-

wej komory objawiającą się niższymi wartościami współczynnika E/A, dłuższym czasem rozkurczu izowolumetrycznego oraz większą szybkością przepływu wstecznego w żyłach płucnych. Występowały również istotne korelacje między poziomem przeciwciał anty-CMV a powyższymi wskaźnikami przebudowy. Wyniki te są zgodne z zależnością między IMT a przeciwciałami anty-CMV obserwowaną w populacji ogólnej [28]. W kilku przekrojowych oraz prospektywnych badaniach wykazano również korelację między mianem przeciwciał anty-CMV a obecnością *Chlamydia pneumoniae*, co może wskazywać na infekcję CMV jako czynnik wpływający na miażdżycową przebudowę naczyń [29, 30]. W niniejszym badaniu chorzy seropozytywni w kierunku CMV byli o 6 lat starsi od osób seronegatywnych. Ponadto, stwierdzono korelację między wiekiem a stężeniem przeciwciał anty-CMV, co przypuszczalnie jest przejawem większej

Tabela III. Wpływ przeciwciał IgG anti-*Chlamydia pneumoniae* i anti-CMV na wybrane parametry przebudowy układu sercowo-naczyniowego w analizie regresji wieloczynnikowej**Table III.** IgG anti-*Chlamydia pneumoniae* and anti-CMV antibodies in relation to selected indices of cardiovascular remodeling multifactorial regression analysis

	IMT Beta (p)	PWV Beta (p)	IVRT Beta (p)	E/A Beta (p)	AR Beta (p)
IgG anti- <i>Chlamydia pneumoniae</i>	0,14 (0,08)	0,01 (0,93)	-0,02 (0,84)	-0,001 (0,99)	-0,046 (0,70)
IgG anti-CMV	0,02 (0,79)	0,11 (0,21)	0,09 (0,36)	-0,29 (0,001)	0,25 (0,04)
Wiek (lata)	0,57 (< 0,0001)	0,46 (< 0,0001)	0,26 (0,01)	-0,41 (< 0,0001)	0,08 (0,50)
Paczkolata	0,09 (0,29)	-0,09 (0,32)	0,19 (0,13)	0,035 (0,67)	0,034 (0,77)
BMI	0,13 (0,08)	0,10 (0,26)	0,15 (0,12)	-0,11 (0,16)	-0,08 (0,48)
Cholesterol całkowity	-0,007 (0,93)	0,03 (0,73)	-0,07 (0,47)	-0,09 (0,28)	0,008 (0,94)

skumulowanej ekspozycji na CMV u osób w starszym wieku. W konsekwencji, po uwzględnieniu w analizie wieloczynnikowej wieku, różnice między grupami w zakresie PWV, IVRT, AR i E/A uległy zmniejszeniu, pozostając istotne tylko dla E/A i AR, a korelacje pomiędzy anti-CMV a IMT i PWV przestały być istotne. Chorzy seropozytywni w kierunku *Chlamydia pneumoniae* również charakteryzowali się większą grubością kompleksu *intima-media* oraz niższą wartością współczynnika E/A. W analizie wieloczynnikowej stężenie przeciwciał anti-*Chlamydia pneumoniae* było, poza wiekiem, jedynym niezależnym czynnikiem związanym z IMT. Jest to zgodne z wynikami badań wykazujących korelację między stężeniem przeciwciał anti-*Chlamydia pneumoniae* a IMT w populacji ogólnej oraz u chorych ze schorzeniami układu sercowo-naczyniowego [31, 32]. Na szczególną uwagę zasługuje badanie Schmidta i wsp. przeprowadzone w podobnej liczbie jak w niniejszym badaniu grupie osób z nadciśnieniem tętniczym. W badaniu tym chorzy seropozytywni w kierunku *Chlamydia pneumoniae* charakteryzowali się, podobnie jak w niniejszym badaniu, wyższymi wartościami IMT (1,0 mm vs. 0,92 mm) [18]. W niniejszym badaniu chorzy seropozytywni w kierunku *Chlamydia pneumoniae* nie wykazywali zwiększonej sztywności dużych naczyń tętniczych, chociaż zależność taką wykazali inni autorzy w grupie zdrowych osób [33]. W objętej badaniem grupie chorych seropozytywnych w kierunku CMV i/lub *Chlamydia pneumoniae* obserwowano wyższe stężenia wskaźników reakcji immunologiczno-zapal-

nych, co może wynikać z mechanizmów, na drodze których infekcja tymi patogenami prowadzi do przebudowy serca i naczyń tętniczych. Zainfekowanie komórek śródbłonna przez CMV i/lub *Chlamydia pneumoniae* prowadzi do zwiększonej ekspresji, na ich powierzchni, molekuł adhezyjnych: ICAM-1, VCAM-1 i selektyny E. Zwiększona ekspresja tych molekuł wiąże się z nasileniem przylegania leukocytów i ich wzmożoną rekrutacją, a tym samym — z nasileniem reakcji zapalnej w ścianie naczynia [34, 35]. Zainfekowane komórki śródbłonna zaczynają produkować w większej ilości czynnik tkankowy oraz cytokiny zapalne, mitogenne i chemotaktyczne: TNF- α , IL-1, IL-8 [36, 37]. W efekcie stwierdza się wzmożoną proliferację komórek mięśni gładkich naczyń i przebudowę ściany naczynia. Zgodnie z tym w niniejszym badaniu obserwowano zależność między infekcją CMV a wyższym stężeniem ICAM-1. U chorych seropozytywnych w kierunku *Chlamydia pneumoniae* występowała tendencja do wyższych wartości stężenia TNF- α ($p = 0,12$), co Schumacher i wsp. [38] wykazali w większej grupie chorych. Pockley i wsp. wskazali na występowanie podwyższonego stężenia HSP60 oraz przeciwciał anti-HSP65 u osób z nadciśnieniem tętniczym [39]. Autorzy ci sugerują, że wzmożona ekspresja HSP i skierowana przeciw nim reakcja immunologiczna mogą stanowić wytłumaczenie przyspieszonego rozwoju zmian miażdżycowych w nadciśnieniu tętniczym. W badaniu własnym nie stwierdzono wpływu seropozytywności w kierunku *Chlamydia pneumoniae* na poziom przeciwciał skierowanych

przeciw HSP60. Sugeruje to, że mimo obserwowanej zwiększonej ekspresji białek HSP60 w nadciśnieniu tętniczym i podobnej struktury HSP *Chlamydia pneumoniae* oraz HSP człowieka, reakcja immunologiczna skierowana przeciw HSP60 człowieka nie wiąże się z infekcją *Chlamydia pneumoniae*. Zarówno chorzy seropozytywni w kierunku *Chlamydia pneumoniae*, jak i pacjenci seropozytywni w kierunku CMV charakteryzowali się wyższymi stężeniami CRP. Wykazano także dodatnią korelację między stężeniem przeciwciał anty-CMV i anty-*Chlamydia pneumoniae* a stężeniem CRP. Może na to wskazywać na obecność przewlekłego subklinicznego odczynu zapalnego wywołanego infekcją tymi patogenami u chorych na nadciśnienie tętnicze. Korelację między stężeniem przeciwciał a stężeniem CRP wykazano w kilku innych badaniach [25, 40, 41], jednak niektórzy autorzy nie stwierdzili takiej zależności [4, 42]. Rozbieżność ta może odzwierciedlać niedoskonałość przeciwciał jako wyznacznika subklinicznej infekcji lub może być spowodowana dużą zmiennością w nasileniu reakcji zapalnej w odpowiedzi na infekcję tymi patogenami. Możliwe również, że za podwyższone stężenie CRP odpowiada infekcja wielu różnych patogenów i badanie wpływu tylko jednego lub dwóch patogenów uniemożliwia wykrycie zależności między przebyłą bądź subkliniczną infekcją a stężeniem wskaźników zapalenia. Zhou i wsp. badając wpływ jednoczesnej infekcji CMV i *Chlamydia pneumoniae* oraz wirusami opryszczki HSV-1, HSV-2, a także wirusem zapalenia wątroby, wykazali, że nasilenie zmian miażdżycowych oraz stężenie CRP wzrasta wraz z liczbą współistniejących infekcji, czyli całkowitym „obciążeniem” organizmu infekcjami proaterogennymi [41].

Zwraca uwagę, że wśród chorych seropozytywnych, a nie seronegatywnych, zdecydowana większość ocenianych wskaźników przebudowy oraz wskaźników biochemicznych wykazywała wyższe wartości — choć poniżej poziomu istotności statystycznej (np. LVMI, EDT czy antyHSP-60). Może to wskazywać na niewystarczającą moc statystyczną badania do wykazania niewielkich różnic, jakie występują między chorymi seropozytywnymi i seronegatywnymi w kierunku *Chlamydia pneumoniae* i CMV. Wydaje się więc, że hipoteza badawcza może być słuszna w znacznie szerszym zakresie, niż wykazano to w niniejszym badaniu.

Wnioski

Stwierdzane w niniejszym badaniu zależności między poziomem przeciwciał anty-CMV i anty-*Chlamydia pneumoniae* a przebudową układu sercowo-naczyniowego i stężeniem wskaźników zapalno-immunologicz-

nych sugerują, że jednym z czynników wpływających na przebudowę naczyń i serca może być infekcja wirusem cytomegalii oraz *Chlamydia pneumoniae* oraz związana z nimi przewlekła reakcja immunologiczno-zapalna.

Streszczenie

Wstęp Podjęto ocenę wpływu infekcji *Chlamydia pneumoniae* (Ch.p.) oraz wirusem cytomegalii (CMV) na nadciśnieniową przebudowę serca i naczyń.

Materiał i metody Badaniem objęto 112 chorych na samoistne nadciśnienie tętnicze ($55,7 \pm 12$ lat, czas trwania nadciśnienia $12,7 \pm 8$ lat). Oznaczono przeciwciała IgG anty-*Chlamydia pneumoniae* i anty-CMV, a także anty-human HSP60, ICAM-1, CRP i TNF- α . W celu oceny przebudowy układu sercowo-naczyniowego oceniono: grubość kompleksu *intima-media* tętnic szyjnych (IMT), prędkość fali tętna (PWV) na odcinku szyjno-udowym, wskaźnik masy lewej komory (LVMI), czynność rozkurczową lewej komory (IVRT — czas rozkurczu izowolumetrycznego lewej komory, E/A — stosunek fal napływu mitralnego E i A, EDT — czas deceleracji fali E, AR — szybkość przepływu wstecznego w żyłach płucnych, S/D stosunek fal napływu w żyłach płucnych).

Wyniki U 66 chorych (59%) stwierdzono występowanie seropozytywności w kierunku *Chlamydia pneumoniae*, a u 86 (77%) — w kierunku CMV. Chorzy *Chlamydia pneumoniae* (+) mieli wyższe wartości IMT ($0,84$ vs. $0,93$ mm, $p = 0,001$), niższe E/A ($0,94$ vs. $1,03$, $p = 0,03$) oraz wyższe stężenie CRP ($1,8$ vs. $1,37$ mg/l, $p = 0,07$). Po skorygowaniu, względem wieku, różnice przestały być istotne. Chorzy CMV (+) mieli dłuższy IVRT ($96,3$ vs. $88,8$ ms, $p = 0,06$), większą PWV ($10,5$ vs. $9,3$ m/s, $p = 0,006$), niższy E/A ($0,93$ vs. $1,2$, $p = 0,0001$), wyższą AR ($34,9$ vs. $30,7$ cm/s, $p = 0,007$), wyższe CRP ($1,8$ vs. $1,17$ mg, $p = 0,037$) i ICAM-1 ($269,9$ vs. $237,2$, $p = 0,028$). Po skorygowaniu względem wieku, BMI, cholesterolu różnice pozostały istotne w zakresie E/A, AR i CRP. W analizie jedno- i wieloczynnikowej występowały istotne korelacje między stężeniem przeciwciał a parametrami przebudowy i wskaźnikami zapalno-immunologicznymi.

Wnioski Infekcja CMV i *Chlamydia pneumoniae* wpływają w niewielkim stopniu na parametry przebudowy sercowo-naczyniowej oraz wskaźniki zapalno-immunologiczne w nadciśnieniu tętniczym.

słowa kluczowe: *Chlamydia pneumoniae*, Cytomegalowirus, nadciśnienie tętnicze, kompleks *intima-media*, szybkość fali tętna, funkcja rozkurczowa serca

Nadciśnienie Tętnicze 2005, tom 9, nr 4, strony 266–275.

Piśmiennictwo

1. Blankenberg S., Rupprecht H.J., Bickel C. i wsp. Cytomegalovirus infection with interleukin-6 response predicts cardiac mortality in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 103: 2915–2921.
2. Muhlestein J.B., Hammond E.H., Carlquist J.F. i wsp. Increased incidence of Chlamydia species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996; 27: 1555–1561.
3. Ridker P.M., Hennekens C.H., Stampfer M.J., Wang F. Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and the risk of future myocardial infarction and stroke. *Circulation* 1998; 98: 2796–2799.
4. Ridker P.M., Kundsin R.B., Stampfer M.J., Poulin S., Hennekens C.H. Prospective study of Chlamydia pneumoniae IgG seropositivity and risks of future myocardial infarction. *Circulation* 1999; 99: 1161–1164.
5. Danesh J., Whincup P., Walker M. i wsp. Chlamydia pneumoniae IgG titres and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *BMJ* 2000; 321: 208–213.
6. Ridker P.M., Hennekens C.H., Buring J.E., Kundsin R., Shih J. Baseline IgG antibody titers to Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, herpes simplex virus, and cytomegalovirus and the risk for cardiovascular disease in women. *Ann. Intern. Med.* 1999; 131: 573–577.
7. Chiu B., Viira E., Tucker W., Fong I.W. Chlamydia pneumoniae, cytomegalovirus, and herpes simplex virus in atherosclerosis of the carotid artery. *Circulation* 1997; 96: 2144–2148.
8. Gaydos C.A., Summersgill J.T., Sahney N.N., Ramirez J.A., Quinn T.C. Replication of Chlamydia pneumoniae in vitro in human macrophages, endothelial cells, and aortic artery smooth muscle cells. *Infect. Immun.* 1996; 64: 1614–1620.
9. Godzik K.L., O'Brien E.R., Wang S.K., Kuo C.C. In vitro susceptibility of human vascular wall cells to infection with Chlamydia pneumoniae. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33: 2411–2414.
10. 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.* 2002; 9: 66–74.
11. Huittinen T., Leinonen M., Tenkanen L. i wsp. Autoimmunity to human heat shock protein 60, Chlamydia pneumoniae infection, and inflammation in predicting coronary risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22: 431–437.
12. Rajzer M., Kawecka-Jaszcz K. Podatność tętnic w nadciśnieniu tętniczym. Od patofizjologii do znaczenia klinicznego. *Nadciśnienie Tętnicze* 2002; 6: 61–73.
13. 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.* 1998; 3: 171–184.
14. Hendrix M.G., Salimans M.M., van Boven C.P., Brugge-man C.A. High prevalence of latently present cytomegalovirus in arterial walls of patients suffering from grade III atherosclerosis. *Am. J. Pathol.* 1990; 136: 23–28.
15. Melnick J.L., Petrie B.L., Dreesman G.R., Burek J., McCollum C.H., DeBakey M.E. Cytomegalovirus antigen within human arterial smooth muscle cells. *Lancet* 1983; 2: 644–647.
16. 2003 European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J. Hypertens.* 2003; 21: 1011–1053.
17. Folsom A.R., Pankow J.S., Tracy R.P. i wsp. Association of C-reactive protein with markers of prevalent atherosclerotic disease. *Am. J. Cardiol.* 2001; 88: 112–117.
18. Schmidt C., Hulthe J., Wikstrand J. i wsp. Chlamydia pneumoniae seropositivity is associated with carotid artery intima-media thickness. *Stroke* 2000; 31: 1526–1531.
19. Slama M., Susic D., Varagic J., Frohlich E.D. Diastolic dysfunction in hypertension. *Curr. Opin. Cardiol.* 2002; 17: 368–373.
20. Muhlestein J.B., Horne B.D., Carlquist J.F. i wsp. Cytomegalovirus seropositivity and C-reactive protein have independent and combined predictive value for mortality in patients with angiographically demonstrated coronary artery disease. *Circulation* 2000; 102: 1917–1923.
21. Rothenbacher D., Hoffmeister A., Bode G., Wanner P., Koenig W., Brenner H. Cytomegalovirus infection and coronary heart disease: results of a German case-control study. *J. Infect. Dis.* 1999; 179: 690–692.
22. Haider A.W., Wilson P.W., Larson M.G. i wsp. The association of seropositivity to Helicobacter pylori, Chlamydia pneumoniae, and cytomegalovirus with risk of cardiovascular disease: a prospective study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002; 40: 1408–1413.
23. Dyszkiewicz W., Paul M., Chylak J., Jemielity M. Przeciwciała IgG, IgA, IgM przeciwko C. pneumoniae u chorych kwalifikowanych do operacyjnego leczenia z powodu choroby wieńcowej serca. *Pol. Mer. Lek.* 2002; 12: 11–14.
24. Pieniazek P., Karczewska E., Stepien E., Tracz W., Konturek S.J. Incidence of Chlamydia pneumoniae infection in patients with coronary artery disease subjected to angioplasty or bypass surgery. *Med. Sci. Monit.* 2001; 7: 995–1001.
25. Blanc P., Corsi A.M., Gabbuti A. i wsp. Chlamydia pneumoniae seropositivity and cardiovascular risk factors: The In CHIANTI Study. *J. Am. Geriatr. Soc.* 2004; 52: 1626–1631.
26. Cook P.J., Lip G.Y., Davies P., Beevers D.G., Wise R., Honeybourne D. Chlamydia pneumoniae antibodies in severe essential hypertension. *Hypertension* 1998; 31: 589–594.
27. Pitiriga V.C., Kotsis V.T., Papamichail C.M. i wsp. High prevalence of Chlamydia pneumoniae antibodies in white-coat hypertensives. *Atherosclerosis* 2003; 167: 231–235.
28. Nieto F.J., Adam E., Sorlie P. i wsp. Cohort study of cytomegalovirus infection as a risk factor for carotid intimal-medial thickening, a measure of subclinical atherosclerosis. *Circulation* 1996; 94: 922–927.
29. Adam E., Melnick J.L., Probstfield J.L. i wsp. High levels of cytomegalovirus antibody in patients requiring vascular surgery for atherosclerosis. *Lancet* 1987; 2: 291–293.
30. Sorlie P.D., Nieto F.J., Adam E., Folsom A.R., Shahar E., Massing M. A prospective study of cytomegalovirus, herpes simplex virus 1, and coronary heart disease: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Arch. Intern. Med.* 2000; 160: 2027–2032.
31. Markus H.S., Sitzer M., Carrington D., Mendall M.A., Steinmetz H. Chlamydia pneumoniae infection and early asymptomatic carotid atherosclerosis. *Circulation* 1999; 100: 832–837.
32. Sander D., Winbeck K., Klingelhofer J., Etgen T., Conrad B. Enhanced progression of early carotid atherosclerosis is related to Chlamydia pneumoniae (Taiwan acute respiratory) seropositivity. *Circulation* 2001; 103: 1390–1395.
33. Tasaki N., Nakajima M., Yamamoto H. i wsp. Influence of Chlamydia pneumoniae infection on aortic stiffness in healthy young men. *Atherosclerosis* 2003; 171: 117–122.

34. Kaul R, Wenman W.M. Chlamydia pneumoniae facilitates monocyte adhesion to endothelial and smooth muscle cells. *Microb. Pathog.* 2001; 30: 149–155.
35. Laitinen K., Laurila A., Pyhala L., Leinonen M., Saikku P. Chlamydia pneumoniae infection induces inflammatory changes in the aortas of rabbits. *Infect. Immun.* 1997; 65: 4832–4835.
36. Fryer R.H., Schwobe E.P., Woods M.L., Rodgers G.M. Chlamydia species infect human vascular endothelial cells and induce procoagulant activity. *J. Investig. Med.* 1997; 45: 168–174.
37. Dechend R., Maass M., Gieffers J. i wsp. Chlamydia pneumoniae infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF-kappaB and induces tissue factor and PAI-1 expression: a potential link to accelerated arteriosclerosis. *Circulation* 1999; 100: 1369–1373.
38. Schumacher A., Seljeflot I., Lerkerod A.B., Sommervoll L., Otterstad J.E., Arnesen H. Positive Chlamydia pneumoniae serology is associated with elevated levels of tumor necrosis factor alpha in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2002; 164: 153–160.
39. Pockley A.G., Wu R., Lemne C., Kiessling R., de Faire U., Frostegard J. Circulating heat shock protein 60 is associated with early cardiovascular disease. *Hypertension* 2000; 36: 303–307.
40. Zhu J., Quyyumi A.A., Norman J.E., Csako G., Epstein S.E. Cytomegalovirus in the pathogenesis of atherosclerosis: the role of inflammation as reflected by elevated C-reactive protein levels. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999; 34:1738–1743.
41. Zhu J., Quyyumi A.A., Norman J.E. i wsp. Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-reactive protein levels. *Am. J. Cardiol.* 2000; 85: 140–146.
42. Hoffmeister A., Rothenbacher D., Wanner P. i wsp. Seropositivity to chlamydial lipopolysaccharide and Chlamydia pneumoniae, systemic inflammation and stable coronary artery disease: negative results of a case-control study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35: 112–118.