

Rola ludzkich i bakteryjnych białek szoku ciepłego w zapalno-immunologicznych mechanizmach rozwoju miażdżycy

The role of human and bacterial heat shock proteins in inflammatory and immunological mechanisms of atherosclerosis

II Klinika Kardiologii Instytutu Kardiologii
Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
Kierownik: Prof. dr hab. med. Jacek S. Dubiel

Dodatkowe słowa kluczowe:

białka szoku ciepłego
miażdżycy
zapalenie

Additional key words:

heat shock proteins
atherosclerosis
inflammation

Miażdżycy jest główną przyczyną zachorowalności i zgonów w wielu krajach. Badania ostatnich lat wykazały, że patogenezą miażdżycy nie jest tylko procesem odkładania się lipidów, ale również w jej etiopatogenezie uczestniczy czynnik zapalny. Białka szoku ciepłego (HSPS) są obecne w komórkach, ale ich ekspresja jest zależna od wielu czynników stresowych takich jak temperatura czy niedokrwienie. Odgrywają one ważną rolę w przestrzennym „zwijaniu” białek jak i w ich biologicznej degradacji.

Wprowadzenie

Miażdżycy powodując takie schorzenia jak choroba niedokrwienna serca, udar mózgu czy choroba naczyń obwodowych stanowią najczęstszą przyczynę zgonów w krajach wysoko rozwiniętych. Istnieje wiele teorii próbujących wyjaśnić patogenezę miażdżycy i wskazujących na udział czynników nieinfekcyjnych i infekcyjnych w tym procesie. Ostatnio podnosi się udział czynników infekcyjnych tj. bakterii (np. *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*) i wirusów (np. CMV, *Herpes simplex*) w inicjacji procesu zapalnego zapoczątkowującego aterosclerogenezę [2,9,14,43,46,47,48].

Obecnie uważa się, że miażdżycy jest skutkiem długotrwałej odpowiedzi obronnej na czynniki działające destrukcyjnie na ścianę naczyń. Odpowiedź ta ma charakter przewlekłego fibroproliferacyjnego procesu zapalnego, w którym główną rolę odgrywają makrofagi. Dysfunkcja komórek śródłonka z kumulacją makrofagów i limfocytów T w błonie wewnętrznej naczyń inicjuje pierwszy etap miażdżycy z powstawaniem z komórek piankowatych tzw. pasm tłuszczowych. Następnie dochodzi do proliferacji komórek mięśni gładkich, które wydzielają składowe tkanki łącznej prowadząc do powstania tzw. blaszki włóknisto-tłuszczowej [17,28,63].

Interakcje między limfocytami T a makrofagami prezentującymi antygen prowadzą do uruchomienia reakcji immunologicznej. Sugeruje się, że odpowiedź typu komórkowego (udział limfocytów Th1) promuje proces miażdżycowy, natomiast antymiażdżycowe działanie przypisuje się odpowiedzi humoralnej (udział limfocytów Th2) [39,63].

Atherosclerosis remains the leading cause of morbidity and mortality in many countries. Recent studies have demonstrated that the pathogenesis of atherosclerosis involves not only lipid deposition, but also the inflammatory process. The heat shock proteins (HSPS) are expressed in normal cells but their expression is enhanced by a number of different stress factors including heat and ischaemia. They play important roles in chaperoning the „folding” of other proteins and in protein degradation.

W następnych etapach miażdżycy dochodzi do pęknięcia blaszki miażdżycowej lub jej zwapnienia.

Udział czynników zapalno-immunologicznych w procesie miażdżycy

Transkrypcyjny czynnik jądrowy kappa B (*nuclear factor* κ B, NF- κ B) jest jednym z najwcześniejszych czynników uruchamiających kaskadę reakcji zapalnych. Do jego aktywacji dochodzi w wyniku uszkodzenia komórek śródłonka, które może być spowodowane niedotlenieniem, nadmierną ekspozycją na tlen, stresem oksydacyjnym, działaniem promieniowania ultrafioletowego, angiotensyny II czy zakażeniem bakteryjnym lub wirusowym [19,5,64].

NF- κ B jest aktywowany przez cytokiny i stres oksydacyjny. Ma on zasadnicze znaczenie w ekspresji genów kodujących białka zapalne (np. TNF- α – *tumor necrosis factor*), chemokin (np. MCP-1 – *monocyte chemoattractant protein*) i cząsteczki adhezyjne (np. naczyniowe [*vascular*], międzykomórkowe [*intercellular*] *adhesion molecules* – VCAM-1, ICAM-1). Indukuje on uwalnianie chemokin z komórek śródłonka naczyń i ekspresję cząsteczek adhezyjnych, co przyciąga monocyty i powoduje ich sekwestrację z krążącej krwi. Przechodzą one do warstwy podśródbłonkowej przekształcając się w makrofagi tkankowe a ostatecznie w komórki piankowate [20,53].

Procesy zapalno-immunologiczne odgrywają istotną rolę na wszystkich etapach rozwoju miażdżycy. Infekcja bakteryjna może być jednym z czynników, które wywołują i podtrzymują procesy zapalne w ścianie naczyń. Obecność odczynu zapalne-

Adres do korespondencji:

Dr hab. med. Władysława Kolasińska-Kloch
II Klinika Kardiologii Instytutu Kardiologii
CM UJ
31-501 Kraków, ul. Kopernika 17

go związanego z obecnością bakterii nasila proces miażdżycowy i wywołuje ogólnoustrojowy odczyn zapalny ze zwiększoną produkcją cytokin (IL-1, IL-6, TNF α) oraz białek ostrej fazy (fibrinogen, CRP). Te markery zapalne korelują ze stopniem zaawansowania miażdżycy [24,54,55,56].

Liczba markerów odczynu zapalno-immunologicznego związanych z rozwojem miażdżycy wciąż rośnie. Należą do nich CRP, interleukina IL-1, IL-6, IL-8, czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF α), liczne cząsteczki adhezji krwinek białych i innych komórek (VCAM, ICAM), fibrinogen, białko amyloidowe A i inne (tabela I) [64].

Coraz więcej danych wskazuje również, że krążące we krwi produkty stanu zapalnego są nie tylko markerami przewlekłego odczynu zapalno-immunologicznego związanego z rozwojem zmian, ale i czynnikami bezpośrednio uszkadzającymi śródbłonek naczyń, a więc sprzyjającymi rozwojowi miażdżycy. Głównym źródłem markerów zapalnych i cytokin jest wątroba, tkanka tłuszczowa, makrofagi oraz komórki śródbłona (tabela II) [4,64].

Limfocyty T są częstym elementem komórkowym niestabilnych blaszek miażdżycowych, a zarazem ważnymi składowymi i komórkami efektorowymi reakcji zapalnej. Naciekając tę okolicę wydzielają interferon γ , który aktywuje monocyty i makrofagi. Zaaktywowane limfocyty T wykazują ekspresję powierzchniowej cząsteczki wiążącej CD40. To właśnie połączenie z receptorem CD40 na komórkach śródbłona naczyń, mięśni gładkich i makrofagach pobudza na drodze kontaktowej ekspresję mediatorów zapalnych [11,25,26].

Ogólna charakterystyka białek szoku cieplnego

Białka szoku cieplnego (*heat shock protein* – HSP) nazywane również „białkami stresowymi” to białka, których synteza jest stymulowana w komórkach w warunkach nagłego podwyższenia temperatury, a także w wyniku działania wielu innych czynników stresowych, np. etanolu, jonów metali ciężkich. Białka te wykazują bardzo dużą homologię międzygatunkową, nawet pomiędzy tak odległymi organizmami jak bakterie i ssaki. Do białek szoku cieplnego należą głównie białka opiekuńcze oraz proteazy. Białka opiekuńcze zapewniają uzyskanie prawidłowej konformacji tworzących się łańcuchów polipeptydowych, chronią inne białka przed denaturacją oraz umożliwiają renaturację białek, które uległy częściowej denaturacji. Rolą proteaz jako białek stresowych jest degradacja zdenaturowanych białek, których renaturacja nie jest możliwa nawet w wyniku działania białek opiekuńczych. Białka szoku cieplnego często współdziałają ze sobą, w związku z tym wyróżnia się tzw. maszyny białkowe lub systemy białek szoku cieplnego, których nazwy pochodzą od masy cząsteczkowej głównego białka w danym systemie, np. HSP70, HSP60.

Białka opiekuńcze odgrywają rolę w zapobieganiu uszkodzeniu komórek oraz w naprawie po urazie. Rodzina HSP ulega znaczącej ekspresji w zmianach miażdżycowych zarówno u zwierząt eksperymentalnych jak i u ludzi [59]. Rola białek szoku

cieplnego w regulacji reakcji odpornościowej i stresowej jest przedmiotem intensywnych badań, wiedza zaś uzyskana dotychczas umożliwiła nawet wdrożenia pierwszych prób terapii genowej z zastosowaniem białek HSP. Tematyka ta znajduje zainteresowanie nie tylko wśród immunologów eksperymentalnych lecz również wśród badaczy zajmujących się schorzeniami autoimmunizacyjnymi i nowotworami. Profesorowi Maciejowi Żyliczowi zawdzięczamy odkrycie, że białka opiekuńcze, oprócz zapobiegania działaniu szkodliwych czynników, regulują także funkcjonowanie wielu podstawowych procesów komórkowych [15,21,22,23,34].

Białka HSP należą do najstarszych ewolucyjnie systemów ochronnych w komórce. Ludzkie białka HSP są tak podobne do bakteryjnych, że układ odpornościowy człowieka czasem nie potrafi ich zidentyfikować i zdarza się, że przeciwciała atakują białka HSP własnego organizmu (prawdopodobnie zjawisko to leży u podstaw niektórych chorób zwanych autoimmunizacyjnymi) [25,30,31].

Ostatnio podnosi się również rolę białek szoku cieplnego w procesie rozwoju miażdżycy.

Badania nad białkami szoku cieplnego rozwinęły się, kiedy wykazano, że powstają w organizmie narażonym na działanie różnorodnych szkodliwych czynników, nie tylko temperatury. Rolą tych białek w sytuacji stresowej jest opieka nad innymi, niezbędnymi do życia białkami, konformacja przestrzenna oraz niedopuszczenie do nieodwracalnych zmian. Ta ochronna rola białek HSP spowodowała, że Ron Lasky nazwał je komórkowymi przyzwoitkami (molecular chaperone) [28,32,35,40,41]. Badając białka opiekuńcze bakterii profesor Żylicz postawił tezę, że odgrywają one także bardzo ważną rolę w regulacji podstawowych procesów w komórce. Zapobiegają tworzeniu się lub rozbijają już utworzone wielocząsteczkowe, często nierozpuszczalne agregaty białkowe. Upośledzenie działania białek opiekuńczych może więc leżeć u podstaw choroby *Alzheimera* i chorób prionowych, ponieważ w ich przebiegu obserwuje się powstawanie podobnych agregatów [33,36,49,55].

Stosunkowo niedawno odkryto nietypowe zachowanie białek opiekuńczych w niektórych nowotworach. W zdrowych komórkach w niekorzystnych warunkach białka opiekuńcze gromadzą się wokół jądra komórkowego, natomiast w komórkach nowotworowych białka opiekuńcze lokalizują się na zewnątrz, w dodatku pokrywając je bardzo krótkimi cząsteczkami białkowymi. Rodzaj użytych do tego celu peptydów zależy nie tylko od rodzaju nowotworu, ale też od chorego. Podczas badań prowadzonych na myszach wykazano, że wstrzyknięcie szczepionki przygotowanej z takich indywidualnych białek opiekuńczych cofa wszystkie przerzuty danego nowotworu. Co więcej, mysz staje się odporna na powstawanie nowych [7,11,16,37,42].

Aktualnie trwają badania nad ludzkimi komórkami nowotworowymi, a także nad niektórymi genami biorącymi udział w rozwoju tych chorób i wyjaśnieniem roli białek

Tabela I

Markery zapalne uznawane za wskaźnik zwiększonego ryzyka sercowo-naczyniowego.

Inflammatory markers of increased cardio-vascular risk.

Ultraczułe białko C-reaktywne (hs-CRP)
Surowicy amyloid A
IL-6
IL-1
TNF α
Fibrinogen
D-dimery
Inhibitor aktywatora plazminogenu 1 (PAI - 1)
spadek stężenia tkankowego aktywatora plazminogenu (tPA)
Rozpuszczalna międzykomórkowa cząsteczka adhezyjna - 1 (ICAM - 1)
Białko szoku cieplnego 65 (hsp 65)
Fosfolipaza A2 związana z lipoproteinami
Metaloproteinaza związanego z ciężą osoczkowego białka A
Całkowita liczba leukocytów

opiekuńczych w ich przebiegu. Być może w perspektywie białka szoku cieplnego zostaną wykorzystane przy opracowaniu szczepionki przeciwnowotworowej i przeciwwirusowej [25,38,44].

Przeprowadzone badania sugerują, że szczepionki HSP mogą być skuteczną terapią dla różnego rodzaju nowotworów u myszy. Podawanie białek HSP, wyizolowanych z konkretnych komórek nowotworowych obecnych u chorej myszy, stanowi skuteczną zindywidualizowaną terapię [3,23].

Rodziny białek szoku cieplnego

Jak już wspomniano wyróżniamy pięć klas białek szoku cieplnego w zależności od masy cząsteczkowej. W tabeli III [64] podano poszczególne grupy HSP z uwzględnieniem odpowiedników HSP występujących w organizmach eukariotycznych i prokariotycznych [16].

HSP 110 znajduje się w jądrze komórkowym i produkowane jest jedynie przez komórki ssaków. Sugeruje się, że może ono odgrywać pewną rolę w odnowie aktywności jądra komórkowego [21,45].

Białko HSP 90 powiązane jest z niektórymi receptorami dla hormonów steroidowych i kinazami białkowymi oraz z co najmniej dwoma białkami związanymi z glukozą. Wywiera ono głównie działanie ochronne poprzez interakcje z białkami, które nie wymagają hydrolizy ATP.

Obecne jest również w komórkach nieeksponowanych na czynniki stresowe, jednakże jego stężenie może wzrosnąć nawet pięciokrotnie w wyniku zadziałania stresu cieplnego [23,50].

W skład rodziny HSP 70 wchodzi 21 białek. Jedno z nich - HSP 73 jest jednym z genów, do którego ekspresji dochodzi na wczesnym etapie zarodkowym w czasie aktywacji genomu zygoty. Inne - HSP 72 zwiększa swoją ekspresję w warunkach

Tabela II
Źródła markerów zapalenia i cytokin.
 Origin of inflammatory markers and cytokines.

Narząd	Markery zapalenia i cytokiny
Wątroba (cytokiny krążące we krwi stymulują produkcję substancji wskaźnikowych)	CRP Fibrynogen Surowiczy amyloid A
Makrofagi i komórki pokrewne	Cytokiny (IL-1 β , IL-6, TNF- α) Sekrecyjna fosfolipaza A2 Fosfolipaza A2 związana z lipoproteinami CRP
Ściana tętnicy (śródbłonek, komórki mięśni gładkich)	ICAM-1 Selektyna E Selektyna P CRP
Tkanka tłuszczowa	Cytokiny np. IL-6, inne czynniki?
Mięsień sercowy	Cytokiny?

Tabela III
Główne rodziny HSP u organizmów eukariotycznych.
 Main HSP families in eucariotic organisms.

Rodzina HSP	Rodzaje białek HSP	Prokariotyczny odpowiednik
HSP 90	HSP100, HSP 90, Grp 94	C62.5 (E. coli)
HSP 70	Grp 78, HSP 72, HSP 73, HSX 70	Dna K (E.coli)
HSP 60	HSP 60	Gro EL (E.coli), mykobakteryjny antygen 65 kD
HSP 56	HSP 56	-
HSP 32	HSP 32	-
HSP 27	HSP 27, HSP 26	Mykobakteryjny antygen 18 kD
Ubikwityna	Ubikwityna	Brak

stresu oraz w odpowiedzi na transfekcję onkogenów takich jak c-myc [22].

HSP o średniej masie cząsteczkowej – do ich ekspresji dochodzi w niewielkim stopniu w mitochondriach i błonach komórkowych w warunkach nieobecności czynników stresowych [27].

HSP o niskiej masie cząsteczkowej tworzą różnorodną grupę, włączając oksygenazę hemu, staminę oraz mały polipeptyd ubikwitynę (8kDa). Białka te odgrywają rolę w nie lizosomalnym procesie usuwania agregatów zdenaturowanych białek [29].

HSP a proces miażdżycowy

Coraz więcej danych wskazuje, że krążące we krwi produkty stanu zapalnego są nie tylko markerami przewlekłego odczynu zapalno-immunologicznego związanego z rozwojem zmian, ale i czynnikami bezpośrednio uszkodzającymi śródbłonek naczyń, a więc sprzyjającymi rozwojowi miażdżycy [34].

Podnosi się w tym procesie znaczenie HSP. Białka te dzięki dużej homogenności międzygatunkowej mogą nasilać reakcję odpowiedzi autoimmunologicznej skierowanej przeciwko śródbłonkowi naczyń tętniczych. Nasilenie „sił ścinających” oraz inne czynniki fizykochemiczne indukują w komórkach śródbłonka HSP 60. Białko to nie tylko pozostaje w cytoplazmie komórek śródbłonka naczyń, ale ulega również ekspresji na błonie komórkowej, stając się komórką prezentującą antygen- APC (ang. *antigen presenting cell*), jak również jest uwalniane do krwiobiegu, co staje się przyczyną induk-

cji przeciwciał anti-HSP 60 i w konsekwencji może powodować lizę komórek śródbłonka w mechanizmie cytolizy związanej z aktywacją komplementu, czy w mechanizmie ADCC (*antibody-dependent cellular cytotoxicity*) [1,4,51].

Wiadomo, że przeciwciała anti-HSP 65 występujące u *Chlamydia pneumoniae* reagują krzyżowo z ludzkim HSP 60. U znacznej grupy osób (ok. 30-40%) z chorobami układu krążenia o podłożu miażdżycowym nie stwierdza się występowania podstawowych czynników ryzyka takich jak nadciśnienie tętnicze, hipercholesterolemia, palenie papierosów czy cukrzyca. Obowiązująca obecnie teoria miażdżycy kładzie nacisk na istotną rolę procesów immunologiczno-zapalnych we wszystkich etapach rozwoju zmian miażdżycowych. Znaczną rolę w procesie tym odgrywa infekcja *Chlamydia pneumoniae*. Zainfekowanie komórek śródbłonka przez *Chlamydia pneumoniae* prowadzi do zwiększonej ekspresji na powierzchni śródbłonka molekuł adhezyjnych: ICAM-1, VCAM-1 i selektyny E [8,10]. Spośród antygenów mogących wywołać reakcję immunologiczną w ścianie naczyń tętniczych największej uwagi poświęca się zmodyfikowanym oksydatywnie lipoproteinom oraz HSP. HSP stanowią, jak już wspomniano, rodzinę białek o bardzo homologicznej sekwencji aminokwasów, ich struktura niewiele różni się pomiędzy gatunkami, dlatego też przeciwciała i limfocyty T skierowane przeciwko HSP-65 bakterii mogą reagować krzyżowo z HSP-60 człowieka. Inicjuje to pierwszy etap aterosklerozy [13,18,52].

Powstające podczas zakażenia *Chlamydia pneumoniae* przeciwciała anty HSP-65 przyczyniają się do niszczenia komórki ekspozującej HSP-65, a rozwijający się odczyn zapalno-immunologiczny nasila proces miażdżycowy. Okazało się, że nie tylko makrofagi ściany naczyń, ale także komórki śródbłonka mogą spełniać funkcję komórek prezentujących antygen (APC – ang. *antigen presenting cells*). Ekspresja CD40 (członka rodziny receptorów dla TNF) oraz wydzielanie cytokin z komórek śródbłonka jest ważne dla antygenowego rozpoznania komórki przez limfocyt CD4+, który posiada na swojej powierzchni CD 154 (*ligand* CD40), dlatego też przeciwciała skierowane przeciwko HSP 65 bakterii mogą reagować krzyżowo z HSP 60 człowieka. Inicjuje to ekspresję receptora dla TNF α i indukuje proces aterosklerozy. Bezpośrednim następstwem immunizacji i wytworzenia przeciwciał anti-HSP 60/65 jest cytotoksyczny wpływ na śródbłonek w następstwie humoralnej i komórkowej reakcji autoimmunologicznej skierowanej przeciwko tym komórkom [58,60].

Wciąż nie jest jasne, jaki jest udział przewlekłych infekcji w rozwoju miażdżycy, ale ocenia się, że tradycyjne czynniki ryzyka miażdżycy odpowiadają nie za więcej jak 50-60% zachorowań. Być może to właśnie infekcje stanowią uzupełnienie tej liczby. Koncepcja zapalno-immunologicznego tła miażdżycy znalazła potwierdzenie najpierw w wynikach badań eksperymentalnych przeprowadzonych na zwierzętach. W badaniach tych immunizacja zwierząt bakteriami lub samymi białkami szoku cieplnego rodziny HSP 65 pozyskanymi z bakterii powoduje rozwój zmian miażdżycowych [48,57].

HSP w klinice choroby niedokrwiennej serca

Badania przeprowadzone przez Xu i wsp. w losowo wybranej 867-osobowej grupie 40-79-letnich mieszkańców Brunico wykazały korelację pomiędzy wyższymi poziomami przeciwciał przeciwko HSP60/HSP65 (duże podobieństwo, stąd krzyżowa reakcja), a ryzykiem miażdżycy mierzonej grubością tętnic szyjnych). Badacze ci znaleźli wykrywalne stężenia białka szoku cieplnego 60 w surowicy u 2/3 badanej populacji [59,61].

U 20% badanych stężenie HSP 60 sięgało 280-11 000 ng/ml, czemu towarzyszyły większe miana przeciwciał skierowanych przeciwko HSP 60, chlamydium i lipopolisacharydom *E. coli*, większe stężenie alfa-1-antytrypsyny, ceruloplazminy, CRP, endotoksyny i rozpuszczalnej cząsteczki adhezji międzykomórkowej, a także częstsze występowanie przewlekłych infekcji w porównaniu z chorymi o stężeniu HSP 65/60 < 280 ng/ml. Zdaniem autorów HSP 60 ułatwia rozwój miażdżycy w sposób podobny do cytokin stymulując bezpośrednio receptor (CD40L) dla TNF α i metaloproteinaz zębów przez komórki ściany naczyń i makrofagi [61].

W badaniu przeprowadzonym przez Hoppichler i wsp., wykazano wyższy poziom przeciwciał anti-HSP 65 u chorych z chorobą niedokrwinną serca w porównaniu do

grupy chorych z zawałem serca i grupy kontrolnej [12].

Ponadto w badaniu oceniającym związek pomiędzy nasileniem zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych, a mianem przeciwciał anty-HSP 60 *Zhu* i wsp. wykazali występowanie tych przeciwciał u 85% osób z chorobą trójnaczyńową w stosunku do 65% w grupie osób bez choroby wieńcowej [65].

Zwiększona ilość HSP 60 obserwowana była w komórkach śródbłonna, makrofagach oraz w komórkach mięśni gładkich u ludzi ze zmianami miażdżycowymi. Powszednie wiadomym jest, że zwiększone ryzyko miażdżycy koreluje z wiekiem powyżej 40 lat. Wyniki badań pozwalają postulować, że miażdżycę rozwija się początkowo jako choroba (auto)immunizacyjna, która jest zastrzana przez czynniki ryzyka takie jak hiperlipidemia, cukrzyca, nikotynizm czy nadciśnienie tętnicze [62].

Zasadnym zatem staje się pytanie, czy poziom przeciwciał przeciwko HSP 60 może służyć jako samodzielny, prognostyczny marker zagrożenia rozwojem miażdżycy niezależnie od innych czynników ryzyka.

Piśmiennictwo

1. Chłopicki S., Gryglewski R.P.: Farmakologia śródbłonna. *Kardiologia. Pol.* 2002, 57, 5.
2. Danesh J., Collins R., Peto R. et al.: Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet* 1997, 350, 430.
3. Dechend R., Maass M., Giffers J., et al.: Chlamydia pneumoniae infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF- κ B and induces tissue factor and PAI-1 expression. *Circulation* 1999, 100, 1369.
4. Dembińska-Kieć A., Partyka Ł., Polus A.: Miażdżycę procesem autoimmunologicznym? *Przegl. Lek.* 2001, 58, 12.
5. Dembińska-Kieć A.: Miażdżycę naczyń jako odpowiedź immunologiczną ustroju. *Udział tlenu azotu (NO)*. *Acta Angiol.* 1995, 1, 5.
6. Falck E.: Stable versus unstable atherosclerosis: clinical aspects. *Am. Heart J.* 1999, 138, 421.
7. Farsi A., Domeneghetti M.P., Brunelli T. et al.: Activation of the immune system and coronary artery disease: the role of anti-endothelial cell antibodies. *Atherosclerosis* 2001, 154, 429.
8. Fryer R.H., Schwobe E.P., Woods M.L. et al.: Chlamydia species infect human vascular endothelial cell and induce procoagulant activity. *J. Investig. Med.* 1997, 45, 168.
9. Grayston J.T., Kuo C.C., Coulson A.S. et al.: Ch. pneumoniae (TWAR) in atherosclerosis of the carotid artery. *Circulation* 1995, 92, 3397.
10. Gupta S.: Chronic infection in the etiology of atherosclerosis - focus on Ch. pneumoniae. *Atherosclerosis* 1999, 143, 1.
11. Hansson G.K., Jonasson L., Seifert P.S., Stemme S.: Immune mechanisms in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1989, 9, 567.
12. Hoppichler F., Lechleitner M., Traweger Ch. et al.: Changes of serum antibodies to heat-shock protein 65 in coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1996, 126, 333.
13. Hu H.: The atherogenic effects of Chlamydia are dependent on serum cholesterol and specific to Ch. pneumoniae. *J. Clin. Invest.* 1999, 103, 747.
14. Johnston S.C., Messina L., Browner W.S. et al.: C-reactive protein levels and viable Ch. pneumoniae in carotid artery atherosclerosis. *Stroke* 2001, 32, 2748.
15. Jones D.B., Coulson A., Duff G. et al.: Sequence homologies between hsp 60 and autoantigens. *Immunol. Today* 1993, 14, 115.
16. Kaufmann S.: Heat shock proteins and the immune response. *Immunol. Today* 1990, 11, 129.
17. Kaul R.: Chlamydia pneumoniae facilitates monocytes adhesion to endothelial and smooth muscle cells. *Microb. Pathog.* 2001, 30, 149.
18. Kol A., Sukhova G.K., Lichtman A.H. et al.: Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor- α and matrix metalloproteinase expression. *Circulation* 1998, 98, 300.
19. Kuo C.C., Shor A., Cambell L.A. et al.: Demonstration of Ch. pneumoniae in atherosclerotic lesions of coronary arteries. *J. Infect. Dis.* 1993, 167, 841.
20. Laitinen K., Laurila A., Pyhala L. et al.: Chlamydia pneumoniae infection induces inflammatory changes in the aortas of rabbits. *Infect Immun.* 1997, 65, 4832.
21. Latchman D.S.: Heat shock proteins and cardiac protection. *Cardiovas. Res.* 2001, 51, 637.
22. Latchman D.S.: Heat shock proteins: protective effect and potential therapeutic use. *Int. J. Mol. Med.* 1998, 2, 375.
23. Latchman D.S.: Stress proteins. *Springer* 1998, 422.
24. Ley K., Huo Y.: VCAM-1 is critical in atherosclerosis. *J. Clin. Invest.* 2001, 107, 1209.
25. Libby P., Hansson G.K.: Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions. *Lab. Invest.* 1991, 64, 5.
26. Libby P., Egan D., Skarlatos S.: Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation* 1997, 96, 4095.
27. Libby P.: Molecular basis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995, 91, 2844.
28. Libby P.: The vascular biology of atherosclerosis. *Heart Disease* 2001, 995.
29. Lind L.: Circulating markers of inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003, 169, 203.
30. Linnanmaki E., Leinonen N., Mattila K. et al.: Ch. pneumoniae-specific circulating immune complexes in patients with chronic coronary heart disease. *Circulation* 1993, 87, 1130.
31. Liuba P., Karnani P., Pesonen E. et al.: Endothelial dysfunction after repeated Chlamydia pneumoniae infection in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation* 2000, 102, 1039.
32. Maass M., Gieffers J.: Cardiovascular disease risk from prior Ch. pneumoniae infection can be related to certain antigens recognized in the immunoblot profile. *J. Infect.* 1997, 35, 171.
33. Mach F., Schonbeck U., Libby P.: CD40 signaling in vascular cells: a key role in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998, 137, 889.
34. Mehta J., Saldeen T., Rand K.: Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. *Jacc* 1998, 31, 1217.
35. Metzler B., Mayr M., Dietrich H., et al.: Inhibition of atherosclerosis by T-cell-depletion of normocholesterolemic rabbits immunized with heat shock protein 65. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999, 19, 1905.
36. Metzler B., Mayr M., Dietrich W. et al.: Association of serum antibodies to heat-shock protein 65 with carotid atherosclerosis. *Lancet*: 1993, 341, 255-59.
37. Molestina R.E.: Infection of human endothelial cells with Ch. pneumoniae stimulates transendothelial migration of neutrophils and monocytes. *Infect. Immun.* 1999, 67, 1323.
38. Muhlestein J.S., Hammond E.H., Carquist J.F. et al.: Chlamydia infection is associated with clinically significant atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996, 27, 1555.
39. Noll G.: Pathogenesis of atherosclerosis: a possible relation to infection. *Atherosclerosis* 1998, 140, 3.
40. Osler W.: Disease of arteries. *Modern Medicine* 1998, 429.
41. Ptak W., Ptak M.: Podstawy Immunologii. Kraków 1999r.
42. Rader D.J.: Inflammatory markers of coronary risk. *N. Engl. J. Med.* 2000, 101, 111.
43. Ralph H.: Interactions between bacterial lipopolysaccharides and serum lipoproteins and their possible role in coronary heart disease. *Eur. Heart J.* 1993, 14, 118.
44. Ridker P.M.: Novel risk factors and markers for coronary risk. *N. Engl. J. Med.* 2000, 343, 1179.
45. Rodel J., Woytas M., Groh A. et al.: Interferon beta induction by Chlamydia pneumoniae in human smooth muscle cells. *Immunol Med. Microbiol* 2001, 32, 9.
46. Ross R.: Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999, 340, 115.
47. Ross R.: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993, 362, 801.
48. Saikku P.: Ch. pneumoniae and atherosclerosis: an update. *Scand. J. Infect. Dis.* 1997, 104, 53.
49. Schett G., Metzler B., Mayr M. et al.: Macrophage-lysis mediated by autoantibodies to heat shock protein 65/60. *Atherosclerosis* 1997, 128, 27.
50. Shah P.K.: Circulating markers of inflammation for vascular risk prediction: are they ready for prime time. *Circulation* 2000, 101, 1758.
51. Shor A., Kuo C.C., Patton D.L. et al.: Detection of Ch. pneumoniae in coronary arterial fatty streaks and atheromatous plaques. *S. Afr. Med. J.* 1992, 82, 158.
52. Shor A.: Ch. pneumoniae in atheroma: consideration of criteria for causality. *J. Clin. Pathol.* 1998, 51, 812.
53. Valen G., Yan Z.Q., Hansson G.K.: Nuclear factor kappa-B and the heart. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001, 38, 307.
54. Wick G., Kleindienst R., Dietrich H., Xu Q.: Is atherosclerosis an autoimmune disease? *Trends Food Sci. Technol.* 1992, 3, 114.
55. Wick G., Millonig G., Xu Q.: The autoimmune pathogenesis of atherosclerosis-an evolutionary-darwinian concept. *Atherosclerosis and Autoimmunity* 2001, 5, 15.
56. Wick G., Perschinka H., Xu Q. et al.: Autoimmunity and atherosclerosis. *A. Heart J.* 1999, 138, 444.
57. Wong Y.K.: Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis. *Heart* 1999, 81, 232.
58. Xu Q., Kleindienst R., Schett G. et al.: Regression of arteriosclerotic lesions induced by immunization with heat shock protein 65 containing material in normocholesterolemic, but not hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis* 1996, 123, 145.
59. Xu Q., Kleindienst R., Waitz W. et al.: Increased expression of heat shock protein 65 coincides with a population of infiltrating T lymphocytes in atherosclerotic lesions of rabbits specifically responding to heat shock protein 65. *C. Clin. Invest.* 1993, 91, 2693.
60. Xu Q., Wick G., Wachter H. et al.: Relationship among serum hsp 65 antibodies, neopterin, autoantibodies and atherosclerosis. *Pteridines* 1994, 5, 139.
61. Xu Q., Willeit J., Marosi M. et al.: Associations of serum antibodies to heat shock protein 65 with carotid atherosclerosis. *Lancet* 1993, 341, 255.
62. Young R., Elliott T.: Stress proteins, infection, and immune surveillance. *Cell* 1989, 59, 5.
63. Zapolska-Downar D.: Markery stanu zapalnego w diagnostyce progresji miażdżycy. *Terapia* 2001, 10, 48.
64. Zebrack J., Anderson J.: Rola zapalenia i zakażenia w patogenezie i rozwoju choroby wieńcowej. *KpD* 2003, 2, 8.
65. Zhu J., Quyyumi A.A., Rott D. et al.: Antibodies to human heat-shock protein 60 are associated with the presence and severity of coronary artery disease: evidence for autoimmune component of atherogenesis. *Circulation* 2001, 103, 1071.