

**Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum Wydział Lekarski**

lek. med. RENATA RAJTAR - SALWA

**Białka szoku cieplnego (60/65) a wybrane markery zapalenia
w chorobie niedokrwiennej serca**

Praca doktorska

Promotor: Prof. dr hab.med. Władysława Kolasińska - Kłoch

**Praca została wykonana w II Klinice Kardiologii Instytutu Kardiologii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie**

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. Jacek Dubiel

Kraków 2008

Składam serdeczne podziękowania

Promotorowi

Pani Prof. dr hab. med. Władysławie Kolasieńskiej - Kloch

*za okazaną życzliwość i zachętę do podjęcia niniejszej pracy, cenne wskazówki
oraz zaufanie i wsparcie okazane w trakcie tworzenia pracy.*

Panu Prof. dr hab. med. Jackowi Dubielowi

Kierownikowi II Kliniki Kardiologii CMUJ

za okazaną życzliwość.

Koleżankom i Kolegom z II Kliniki Kardiologii

i Zakładu Biochemii Klinicznej CMUJ

za wsparcie i okazaną pomoc.

SPIS TREŚCI	str.
SPIS SKRÓTÓW UŻYTYCH W PRACY	5
I WPROWADZENIE	7
1. Patogeneza miażdżycy	8
1.1. Teoria lipidowa.....	8
1.2. Teoria oksydacyjna.....	8
1.3. Teoria uszkodzenia śródbłonna.....	9
1.4. Teoria immunologiczno-zapalna.....	10
2. Białka szoku cieplnego 60/65	13
2.1. Ogólna charakterystyka białek szoku cieplnego.....	13
2.2. Rodziny białek szoku cieplnego.....	15
2.3. Białka szoku cieplnego a odpowiedź immunologiczna.....	16
2.4. Hsp jako czynnik wywołujący chorobę naczyń.....	17
2.5. Hsp jako autoantygen.....	19
3. Potencjalna rola zakażenia w rozwoju miażdżycy	19
3.1. Chlamydia pneumoniae.....	20
3.2. Wirus cytomegali.....	26
3.3. Herpes simplex.....	26
3.4. Helicobacter pylori.....	26
4. Markery zapalenia i infekcji	27
4.1. Białko C reaktywne.....	27
4.2. Fibrynogen.....	31
II HIPOTEZA BADAWCZA	34
III CEL PRACY	35
IV MATERIAŁ I METODY	36
1. Charakterystyka grupy badanej	36
2. Badanie podmiotowe	37
3. Badanie przedmiotowe	39
4. Oznaczenia wybranych parametrów biochemicznych	40
4.1. Oznaczanie przeciwciał przeciwko ludzkiemu hsp 60.....	40
4.2. Oznaczanie białka hsCRP.....	41

4.3. Oznaczanie fibrynogenu.....	43
4.4. Oznaczanie przeciwciał anty-Chlamydia pneumoniae w klasie IgG i IgA.....	43
4.5. Pozostałe badania laboratoryjne.....	44
5. Analiza statystyczna.....	46
V WYNIKI.....	47
1. Charakterystyka badanej grupy.....	47
2. Przeciwciała anty-hsp60 i anty-Chlamydia pneumoniae.....	50
3. Białko hs-CRP, fibrynogen i leukocyty.....	51
4. Markery zapalenia i infekcji oraz parametry biochemiczne w grupie chorych z chorobą niedokrwienną serca.....	55
5. Seropozytywność w zakresie przeciwciał IgG i IgA anty-Chlamydia pneumoniae a markery zapalenia i wybrane parametry biochemiczne....	59
6. Markery zapalenia i infekcji, przeciwciała anty-hsp60 oraz wybrane parametry biochemiczne a ilość zajętych miażdżycowo naczyń i za- awansowanie choroby wieńcowej.....	64
VI OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA.....	79
1. Białka szoku cieplnego 60/65.....	79
2. HsCRP.....	81
3. Fibrynogen.....	87
4. Leukocyty.....	91
5. Infekcja Chlamydia pneumoniae.....	92
VII WNIOSKI.....	100
VIII STRESZCZENIE.....	101
IX PIŚMIENNICTWO.....	108
X SPIS TABEL.....	126
XI SPIS RYCIN.....	128

SPIS SKRÓTÓW UŻYTYCH W PRACY

ACEI	- inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę
APC	- komórka prezentująca antygen
ALAT	- aminotransferaza alaninowa
ASPAT	- aminotransferaza asparaginianowa
BMI	- wskaźnik masy ciała
CMV	- cytomegalowirus
Ch.n.s.	- choroba niedokrwienna serca
Ch.p.	- Chlamydia pneumoniae
EB	- ciałko elementarne
E.coli	- Escherichia coli (pałeczka okrężnicy)
EIU	- jednostka immunoenzymatyczna (enzyme immunounit)
FGF	- czynnik wzrostu fibroblastów
ET1	- endotelina 1
HDL	- lipoproteiny wysokiej gęstości
H.p.	- Helicobacter pylori
HSF	- czynnik szoku cieplnego
HSP	- białko szoku cieplnego (heat shock protein)
HSV	- wirus opryszczki
hsCRP	- ultraczułe białko C-reaktywne (high sensitive C-reactive protein)
IB	- wtręt cytoplazmatyczny
IL	- interleukina
ICAM-1	- międzykomórkowa molekula adhezyjna 1
LDL	- lipoproteiny niskiej gęstości
LPS	- lipopolisacharydy
MCP-1	- białko chemotaktyczne monocytów 1
NF-κB	- czynnik jądrowy kappa B
NO	- tlenek azotu
eNOS	- śródbłonkowa syntaza tlenku azotu
PAI-1	- inhibitor aktywatora plazminogenu 1

PDGF	- płytkowy czynnik wzrostu
PTCA	- przezskórna angioplastyka wieńcowa
RB	- ciało siateczkowe
SAA	- białko surowicze amyloidu
TF	- czynnik tkankowy
TNFα	- czynnik martwicy guza α
tPA	- tkankowy aktywator plazminogenu
TXA₂	- tromboksan A ₂
uPA	- tkankowy aktywator plazminogenu typu urokinazy
VCAM-1	- naczyniowa molekula adhezyjna 1
VEGF	- czynnik proliferacji śródbłona
VLDL	- lipoproteiny o bardzo małej gęstości

I WPROWADZENIE

Miażdżyca i rozwijające się na jej podłożu choroby układu krążenia to jeden z podstawowych problemów zdrowotnych współczesnej cywilizacji, a choroba niedokrwienna serca pozostaje nadal jedną z głównych przyczyn zgonów.

Aktualnie w Polsce na chorobę niedokrwienną serca (ch.n.s) zapada co roku jeden milion osób, w tym około 50% mężczyzn poniżej 65 roku życia umiera z powodu jej powikłań.

Miażdżyca zaczyna się i postępuje w dużych i średnich naczyniach, oszczędzając małe tętniczki przedporowe i oporowe, a zmiany miażdżycowe powstają głównie w sąsiedztwie odgałęzień naczyń o mniejszej średnicy. Związane to jest najprawdopodobniej z wpływem właściwości fizycznych przepływającego strumienia krwi.

Pierwsze zmiany miażdżycowe w naczyniach wieńcowych mogą pojawić się już bardzo wcześnie, co potwierdzają badania autopsyjne. Zmiany te w gałęzi międzykomorowej przedniej lewej tętnicy wieńcowej stwierdzono u 20% mężczyzn i 8% kobiet w wieku 30-34 lata, co powiązane było z podwyższonym poziomem całkowitego cholesterolu, obniżonym poziomem HDL oraz paleniem papierosów [1].

Procesy zapalne, których odzwierciedleniem jest podwyższony poziom niektórych markerów odgrywają istotną rolę w patogenezie miażdżycy, a ostatnio pojawiły się również sugestie, że jednym z czynników indukujących reakcję zapalną jest przewlekłe zakażenie.

Znaczenie przeciwciał skierowanych przeciwko poszczególnym czynnikom zakaźnym jako niezależnych markerów prognostycznych jest różne i obecnie za wykładnik ewentualnego zagrożenia powstania miażdżycy uznaje się całkowite obciążenie infekcyjne.

Lepsze zrozumienie procesów, które prowadzą do powstania miażdżycy i jej rozwoju oraz opracowanie strategii kontrolujących te procesy mogłoby mieć istotny wpływ na jej przebieg.

1. Patogeneza miażdżycy.

Zainteresowanie patogenią miażdżycy miało miejsce już od XIX wieku. Powstające wówczas teorie uwzględniały pojedyncze mechanizmy jako przyczyny zmian w naczyniach. W 1841 roku Thomas Vogel wykazał obecność cholesterolu w zmianach miażdżycowych, a Carl von Rokitński zaproponował teorię inkrustacji błony zewnętrznej naczyń warstwami fibryny, między którymi gromadzi się cholesterol, co powoduje ztwardnienie ścian naczyń i pękanie blaszki miażdżycowej. W przeciwieństwie do tej teorii Rudolf Virchow twierdził, iż proces miażdżycowy zaczyna się od przestrzeni podśródbłonkowej, a jego indukcja jest odpowiedzią naczyń na uszkodzenie śródbłonka [2].

Różnice w poglądach na temat patogeny miażdżycy zostało uwieńczone w latach 80-tych XX wieku połączeniem tych teorii i stwierdzeniem jej wieloczynnikowego, złożonego mechanizmu uwzględniającego rolę czynników zapalnych i infekcyjnych oraz uwarunkowań genetycznych w jej rozwoju.

1.1. Teoria lipidowa.

Według tej teorii największe znaczenie w powstawaniu miażdżycy odgrywają lipoproteiny o małej gęstości - LDL wnikające do ściany naczynia i przekształcające się w formy wychwytywane przez makrofagi, co prowadzi do powstawania komórek piankowatych (foam cells).

Wykazano także rolę innych lipoprotein w powstawaniu komórek piankowatych takich jak subtypu β lipoprotein o bardzo małej gęstości – β -VLDL, dla których makrofagi mają receptory oraz bogatych w triglicerydy lipoprotein resztkowych powstających z chylomikronów lub z VLDL [3].

1.2. Teoria oksydacyjna.

Obecnie wiadomo, że modyfikacji tlenowej LDL towarzyszy powstawanie różnych cząsteczek biologicznie czynnych, które mogą mieć istotne znaczenie w procesie wytwarzania komórek piankowatych. LDL utlenione w bardzo małym stopniu - MM-

LDL indukują powstanie bioaktywnych lipidów, które same mogą powodować chemotaksję monocytów oraz stymulować wytwarzanie białek adhezyjnych przyciągających komórki krążące we krwi do śródbłónka. Wytwarzanie bioaktywnych cząsteczek pojawia się bardzo wcześnie podczas oksydacji LDL, znacznie wcześniej niż przekształcenie LDL w formy rozpoznawane przez receptory zmiatające makrofagi. Utlenione LDL biorą udział w indukcji odpowiedzi immunologicznej i upośledzeniu funkcji motorycznej ściany naczyń [4].

Zgodnie z tą teorią hamowanie procesów utleniania lipoprotein powinno spowalniać proces miażdżycowy i tym samym opóźniać wystąpienie objawów choroby niedokrwiennej serca. Wyniki dużych prospektywnych badań (CHAOS, HOPE, SPACE, HPS, GISSI-Prevenzione) nie potwierdziły jednak w sposób zdecydowany skuteczności stosowania antyoksydantów w pierwotnej i wtórnej profilaktyce miażdżycy.

1.3. Teoria uszkodzenia śródbłónka.

Pod koniec lat 70-tych Ross i Glomset przedstawili teorię „odpowiedzi na uraz”, która starała się powiązać różnorodne poglądy dotyczące etiopatogenezy miażdżycy [5].

„Uraz” może mieć charakter zmiany o podłożu mechanicznym, zakaźnym, immunologicznym lub chemicznym. Uszkodzenie śródbłónka i odsłonięcie głębiej położonych warstw ściany tętnicy inicjuje różnorodne interakcje pomiędzy jej elementami komórkowymi a składnikami przepływającej krwi. Odsłonięta tkanka łączna ułatwia agregację, adhezję i uwalnianie czynników zgromadzonych w ziarnistościach trombocytów. Wzmoczona infiltracja miejsca urazu ściany tętnicy przez czynniki pochodzenia płytkowego, lipoproteiny osocza, a także czynniki o charakterze hormonów powoduje proliferację i migrację komórek mięśni gładkich ściany naczynia oraz wytwarzanie przez nie dużej ilości macierzy pozakomórkowej. W obrębie komórek i w otaczającej macierzy zaczynają gromadzić się lipidy powodując powstanie pierwotnej zmiany miażdżycowej.

Uszkodzona tkanka podśródbłónkowa jest narażona na bezpośredni kontakt z płytkami krwi i czynnikami krzepnięcia. Adhezja trombocytów i tworzenie skrzepu fibrynowego na powierzchni naczynia przyspiesza proces miażdżycowy. Pochodzące

z płytek czynniki wzrostu sprzyjają proliferacji komórek mięśniówki gładkiej, co powoduje dalsze zwężanie światła naczynia [6].

1.4. Teoria immunologiczno-zapalna.

Obecnie uważa się, że miażdżycy jest skutkiem długotrwałej odpowiedzi obronnej na czynniki działające destrukcyjnie na ścianę naczynia. Odpowiedź ta ma charakter przewlekłego fibroproliferacyjnego procesu zapalnego, w którym główną rolę odgrywają makrofagi. Dysfunkcja komórek śródbłoka z kumulacją makrofagów i limfocytów T w błonie wewnętrznej naczynia 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 [7, 8].

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) [9]. W następnych etapach miażdżycy dochodzić może do pęknięcia blaszki miażdżycowej lub jej zwapnienia (rycina 1).

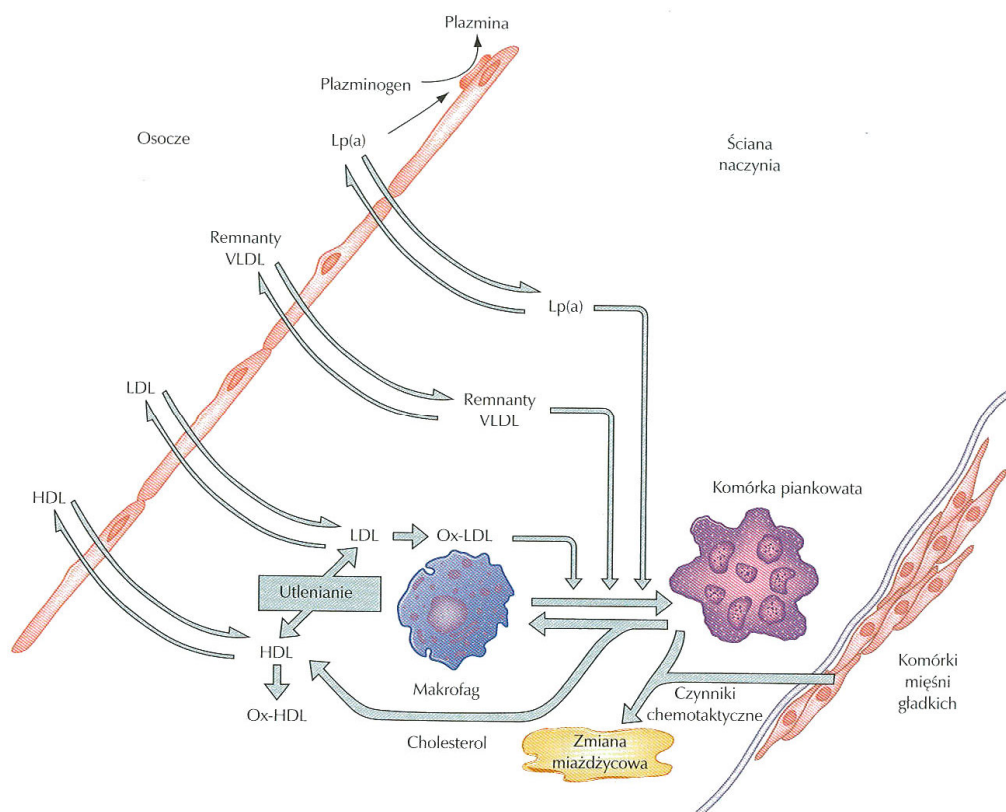
Transkrypcyjny czynnik jądrowy kappa B (nuclear factor κ B, NF- κ B) jest jednym z najwcześniejszych czynników uruchamiających kaskadę reakcji zapalnych. Do jego aktywacji dochodzi w wyniku uszkodzenia komórek śródbłoka, które może być spowodowane niedotlenieniem, nadmierną ekspozycją na tlen, stresem oksydacyjnym, działaniem promieniowania ultrafioletowego, angiotensyny II czy zakażeniem bakteryjnym lub wirusowym [10].

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 α), 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 śródbłoka naczyń i ekspresję cząsteczek adhezyjnych, co przyciąga monocyty i powoduje ich se-

kwestrację z krążącej krwi. Przechodzą one do warstwy podśródbłonkowej przekształcając się w makrofagi tkankowe a ostatecznie w komórki piankowe [11].

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 zapalnego 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 [12, 13].

Liczba markerów odczynu zapalno-immunologicznego wiązanych 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) [14, 15].



Rycina 1. Rola osoczowych lipoprotein w rozwoju zmian miażdżycowych.
(Braunwald E. Atlas Chorób Serca, 2006 r.)

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 śródbłonna (tabela II) [16, 17].

Tabela I. Markery zapalne uznawane za wskaźnik zwiększonego ryzyka sercowo-naczyniowego.

Ultraczułe białko C-reaktywne (hsCRP)
Surowiczy amyloid A
IL-1
IL-6
TNF α
Fibrynogen
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 (hsp65)
Fosfolipaza A2 związana z lipoproteinami
Metaloproteinaza związanego z ciężką osoczkowego białka A
Całkowita liczba leukocytów

Tabela II. Źródła markerów zapalenia i cytokin.

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 VCAM-1 Selektyna E Selektyna P CRP
Tkanka tłuszczowa	Cytokiny np. IL-6, inne czynniki?
Mięsień sercowy	Cytokiny?

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 śródbłonna naczyń, mięśni gładkich i makrofagach pobudza na drodze kontaktowej ekspresję mediatorów zapalnych [18, 19].

2. Białka szoku cieplnego 60/65.

2.1. 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. stresu oksydacyjnego, zakażenia wirusami, narażenia na niektóre

substancje chemiczne (etanol), ekspozycję na cytokiny i jony metali ciężkich. Podlegają one konstytutywnej ekspresji stanowiąc 5-10% całkowitej zawartości białka w warunkach prawidłowego wzrostu i do 15% całkowitej zawartości białka w komórce, gdy ich synteza wzrasta wskutek działania szkodliwych bodźców komórkowych.

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. Ta ochronna rola białek hsp spowodowała, że Ron Lasky nazwał je komórkowymi przyzwoitkami (molecular chaperone) [20].

Transkrypcję genu hsp w odpowiedzi na stres reguluje interakcja czynników transkrypcyjnych czynnika szoku cieplnego (HSF – heat shock factor) z elementami szoku cieplnego w regionach promotorowych genu hsp [21, 22]. Odpowiedź na stres jest tylko przejściowa, ponieważ przedłużająca się obecność cząsteczek wiążących się z białkami mogłaby nieodwracalnie wpłynąć na homeostazę białek i różne funkcje wewnątrzkomórkowe. Aktywność HSF1 jest hamowana przez wiązanie hsp70 z jego domeną transaktywacyjną i następnie dochodzi do zahamowania transkrypcji genu szoku cieplnego [23]. Inny mechanizm polega na interakcji czynnika 1 wiążącego hsp (HSBP1- hsp binding factor 1) z aktywną trójcząsteczkową formą HSF1 i z hsp70, co prowadzi do zahamowania zdolności HSF1 do wiązania z DNA [24].

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, w ich odbudowie po urazie, hamują tworzenie się lub rozbijają już utworzone wielocząsteczkowe, często nierozpuszczalne agregaty białkowe [25].

2.2. Rodziny białek szoku cieplnego.

Wyróżniamy pięć klas białek szoku cieplnego w zależności od masy cząsteczkowej. W tabeli III podano poszczególne grupy hsp z uwzględnieniem odpowiedników białek szoku cieplnego występujących w organizmach eukariotycznych i prokariotycznych [20].

Tabela III. Główne rodziny hsp u organizmów eukariotycznych.

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	GroEL (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

Hsp110 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.

Białko hsp90 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 zadziaływania stresu cieplnego [26].

W skład rodziny hsp 70 wchodzi 21 białek. Jedno z nich - hsp73 jest genem, do którego ekspresji dochodzi we wczesnym etapie zarodkowym w czasie aktywacji genomu zygoty. Inne - hsp 72 zwiększa swoją ekspresję w warunkach stresu oraz w odpowiedzi na transfekcję onkogenów takich jak c-myc.

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

Hsp o niskiej masie cząsteczkowej tworzą różnorodną grupę włączając oksygenazę hemu, staminę oraz mały polipeptyd ubikwitynę (8kDa). Białka te odgrywają rolę w nielizosomalnym procesie usuwania agregatów zdenaturowanych białek [27].

2.3. Białka szoku cieplnego a odpowiedź immunologiczna.

Hsp wykazują bardzo dużą homologię międzygatunkową nawet pomiędzy tak odległymi organizmami jak bakterie i ssaki. W przypadku rodziny hsp60 identyczne jest 50-60% reszt aminokwasowych, dlatego też przeciwciała i limfocyty T skierowane przeciwko hsp 65 bakterii mogą reagować krzyżowo z hsp60 człowieka.

Białka te 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 chorób autoimmunizacyjnych) [28].

Pojawienie się ludzkich, własnych hsp na powierzchni komórek śródbłona naczyń może prowadzić do cytotoksycznej reakcji autoimmunologicznej, zależnej od dopełniacza lub przeciwciał. Również wyniki badań dotyczących zakażenia mykobakteriami wykazują istotny wzrost miana przeciwciał przeciw mykobakteryjnemu hsp65, reagujących krzyżowo z hsp60 gospodarza. Miano to wzrasta wraz z nasileniem się zmian miażdżycowych ocenianych na podstawie obserwacji grubości ściany tętnic szyjnych. Zaobserwowano także, że hsp60 *Chlamydia pneumoniae* umiejscowione w makrofagach blaszek miażdżycowych aktywują metaloproteinazę 9 w macierzy łącznotkankowej. W wyniku działania tych enzymów może nastąpić degradacja tkanki łącznej w zewnętrznej warstwie blaszki miażdżycowej oraz destabilizacja blaszki.

W sytuacji ekspozycji własnych hsp60 na swojej powierzchni przez komórki śródbłona i makrofagi dochodzi do ich niszczenia przez immunoglobuliny anty-hsp60.

Istotne jest też, że zarówno ludzkie jak i pochodzące od chlamydii hsp aktywują śródbłonek naczyniowy, komórki mięśni gładkich i makrofagi uruchamiając różne mechanizmy reakcji zapalnej. Powodują m.in. wzrost stężenia IL-1 i TNF α , które stymulują wytwarzanie cząsteczek adhezyjnych przez śródbłonek naczyń, a za pośrednictwem IL-6 wydzielanie białek ostrej fazy: CRP, fibrynogenu czy amyloidu A [29].

Fizjologiczne znaczenie przeciwciał anty hsp60/65 *in vivo* nadal wymaga wyjaśnienia, ponieważ są one obecne choć w mniejszych stężeniach w surowicy osób zdrowych.

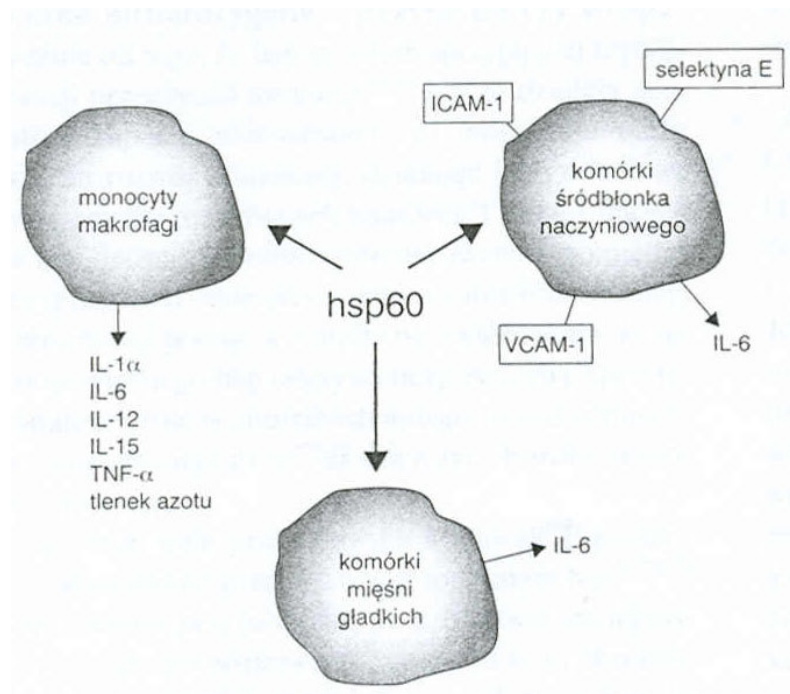
Odkrycie, iż wyizolowane z ludzkiej surowicy przeciwciała monoklonalne swoiste wobec hsp60 i przeciwciała przeciwko rodzinie hsp60 wpływają na cytotoksyczność komórek śródbłona, na których powierzchni wywołano ekspresję hsp60 TNF α lub działaniem wysokiej temperatury wskazuje, że takie przeciwciała mogą odgrywać rolę w uszkodzeniu naczyń i etiopatogenezie miażdżycy. Powiązanie takie najprawdopodobniej zachodzi w wyniku mechanizmu autoimmunologicznego, gdyż u osób z miażdżycą przeciwciała przeciw hsp60/65 rozpoznają trzy odrębne, własne sekwencje [30, 31, 32].

2.4. Hsp jako czynnik wywołujący chorobę naczyń.

Ekspresja hsp we wczesnych stadiach miażdżycy może być skutkiem jednego lub kilku czynników. Palenie papierosów, cukrzyca, hiperlipidemia czy nadciśnienie tętnicze wywołują stres oksydacyjny, który indukuje ekspresję hsp w komórkach mięśni gładkich naczyń, a naczynia poddane większemu obciążeniu mechanicznemu i siłom ścinającym wykazują ekspresję hsp i stają się bardziej podatne na rozwój miażdżycy. Prawdopodobne jest również, że komórki obciążone lipidami mogą w obrębie świeżo powstałej zmiany miażdżycowej wywoływać ekspresję hsp [33, 34].

Indukcja hsp może być także wtórna do procesu zapalnego, w którym ekspresja cytokin w śródbłoku naczyniowym i leukocytach powoduje również ekspresję hsp w ścianie naczynia.

Hsp zwykle uważane są za cząsteczki wewnątrzkomórkowe, jednakże białka te mogą być uwalniane z żywych komórek do środowiska pozakomórkowego w niejasnym jak dotąd mechanizmie. Pozakomórkowe hsp są międzykomórkowymi cząsteczkami sygnałowymi, które wpływają na szereg reakcji zapalnych (rycina 2).



Rycina 2. HSP60 jako międzykomórkowa cząsteczka sygnałowa (Pockley A.G. Circulation 2002 r.).

Hsp bakterii i prątków wywołują ekspresję sprzyjających zapaleniu cytokin takich jak IL-1, IL-6 i TNF α . U ludzi bakteryjne i ludzkie hsp 60 aktywują komórki śródbłónka naczyń do ekspresji E-selektyny, ICAM-1 i VCAM-1, które z kolei pobudzają komórki endotelialne mięśni gładkich oraz makrofagi do wydzielania IL-6 i TNF α [35, 36].

Zidentyfikowano receptor dla hsp60 na ludzkich komórkach jednojądrzastych i monocytach krwi obwodowej jako antygen CD14, który wykorzystuje szlak sygnałowy używany również przez lipopolisacharydy [37].

2.5. Hsp jako autoantygen.

Białka szoku cieplnego mogą także wpływać na rozwój miażdżycy działając jako docelowe autoantygeny dla reaktywnych komórek T, które niszczą własne hsp. Pomimo istnienia związku pomiędzy ekspresją hsp, a ich oddziaływaniem na autoimmunizację, wiele obserwacji poddaje w wątpliwość twierdzenie, że reaktywność własnego hsp odgrywa bezpośrednią, sprzyjającą zapaleniu rolę w chorobach z autoagresji czy też w chorobie sercowo-naczyniowej [38].

3. Potencjalna rola zakażenia w rozwoju miażdżycy.

Wyniki badań doświadczalnych i epidemiologicznych wskazują na zależność między zakażeniem pewnymi mikroorganizmami a zwiększonym ryzykiem choroby wieńcowej i incydentów sercowo-naczyniowych. Mikroorganizmy mogą osiedlać się w blaszkach miażdżycowych i poprzez wytwarzane przez nie substancje stymulować miejscowy proces zapalny. Odległy proces infekcyjny toczący się w organizmie także może przyczyniać się do zwiększenia poziomu mediatorów zapalenia stymulujących proces zapalny w naczyniu [39].

Zakażenie może prowadzić do reakcji zapalnej w obrębie naczyń poprzez indukowanie NF- κ B, interleukin i białka C-reaktywnego, utlenianie lipidów, proliferację komórek mięśni gładkich, aktywację makrofagów, wytwarzanie metaloproteinaz macierzy i czynnika tkankowego oraz tworzenie komórek piankowatych [11].

Najszerzej zbadano potencjalne mechanizmy aterogenezy dla *Chlamydia pneumoniae* (Ch.p.), wirusa CMV oraz innych wirusów z rodziny *Hermes viridae*. W kręgu zainteresowań pozostają także inne mikroorganizmy jak *Helicobacter pylori*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Hemophilus influenzae*, czy wirus zapalenia wątroby typu A.

Ciekawa wydaje się również koncepcja sumarycznego obciążenia patogenami (ang.- *patogen burden*), według której ryzyko zmian miażdżycowych i ewentualnych incydentów sercowo-naczyniowych jest proporcjonalne do liczby zakażeń różnymi mikroorganizmami o charakterze miażdżycorodnym u jednej osoby.

3.1. Chlamydia pneumoniae.

Mikrobiologia Chlamydia pneumoniae

Rodzaj Chlamydiae składa się z czterech gatunków patogennych dla ludzi: Ch. psittaci, Ch. trachomatis, Ch. pecorum i Ch. pneumoniae. Chlamydiae obecnie zaliczane do bakterii posiadają cechy zarówno bakterii jak i wirusów.

W 1989 r. Ch. p. została taksonomicznie wyodrębniona ze szczepu TWAR Ch. psittaci. Nazwa TWAR to laboratoryjne oznaczenie szczepów wyizolowanych od ludzi. Podstawą ustalenia nowego gatunku były przede wszystkim wyniki badań homologii DNA i unikalna struktura ciałek elementarnych Ch. p. [40].

Ch.p. charakteryzują się dwuetapowym cyklem rozwojowym. Te gram-ujemne bakterie są zakaźne tylko w formie metabolicznie nieaktywnych ciałek elementarnych (EB, elementary body). EB to struktury o średnicy ok. 300nm mające gruszkowaty kształt, otoczkę stanowiącą 15% masy i zawierające hemaglutyninę, substancję ułatwiającą chlamydiom wniknięcie do komórki żywiciela. Po całkowitym wniknięciu do cytoplazmy komórki żywiciela EB znajdują się w wakuoli utworzonej przez błonę biorącą początek z błony cytoplazmatycznej komórki. Proces ten obserwowany w hodowlach trwa 2-4 godz. od chwili zakażenia. W ciągu 6-8 godz. od wniknięcia do komórki EB powiększa się kilkakrotnie, po czym otoczka staje się przepuszczalna dla ATP pochodzącego z cytoplazmy komórki żywiciela oraz ulega redukcji do 5% masy całej komórki. Forma chlamydii o zredukowanej otoczce, znajdująca się wewnątrzkomórkowo nosi nazwę ciała siateczkowatego (RB, reticulate body), nie jest formą zakaźną dla komórek i może istnieć wyłącznie wewnątrzkomórkowo. RB jest formą wegetatywną rozmnażającą się przez podział poprzeczny. W warunkach laboratoryjnych proces ten zachodzi w ciągu 24-72 godz. od zakażenia. W taki sposób w komórce żywiciela tworzy się wtręt (IB, inclusion body), który doprowadza do jej zniszczenia. W tym czasie w obrębie wtrętu większość RB przekształca się w EB. Wtręt cytoplazmatyczny ulega pęknięciu i następuje uwalnianie ciałek elementarnych.

Chlamydiae w postaci EB po uwolnieniu się z rozpadłej komórki mogą zakażać komórki zdrowe. W czasie lizy z jednej zakażonej komórki uwalnia się 100-1000 EB.

Pełny cykl rozwojowy chlamydii trwa 72 godz. i obejmuje fazę wzrostu, rozmnażania, dojrzewania i uwalniania się bakterii [41].

Epidemiologia i chorobotwórczość *Chlamydia pneumoniae*

Badania seroepidemiologiczne dowiodły, że Ch.p. jest bardzo rozpowszechnionym patogenem ludzkim. Większość ludzi ulega zakażeniu częściej niż raz w życiu, a występowanie przeciwciał jest częstsze u mężczyzn i jest zależne od wieku. Szczyt zachorowalności przypada między 5 i 10 rokiem życia i wynosi 9,2% populacji. U osób w wieku 20 lat swoiste przeciwciała w klasie IgG występują u 50% badanych. Wobec szerokiego rozpowszechnienia przeciwciał przeciw Ch.p. ocenia się, że prawie wszyscy ludzie w jakimś okresie życia przebyli zakażenie Ch.p. [42].

Zakażenie Ch.p. prowadzi najczęściej do zapalenia płuc, oskrzeli oraz zatok obocznych nosa. Często zakażenia te przebiegają bezobjawowo albo skąpoobjawowo. Drobnoustrój ten został wyizolowany także od pacjentów z zapaleniem ucha środkowego, zapaleniem gardła, zapaleniem wsierdzia, zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych. Obecnie coraz częściej uważa się, że przewlekłe zakażenie Ch. p. może wiązać się z różnymi chorobami przewlekłymi jak np. z astmą oskrzelową, przewlekłą obturacyjną chorobą płuc, sarkoidozą, rumieniem guzowatym, zespołem Guillain-Barre, zapaleniem stawów, chorobą Alzheimera, czy miażdżycą tętnic [43, 44, 45, 46, 47].

Wykrywanie *Chlamydia pneumoniae* w blaszkach miażdżycowych i naczyniach tętniczych

W 1988 r. Saikku stwierdził obecność przeciwciał antychlamydowych u 68% pacjentów ze świeżym zawałem serca oraz 50% chorych ze stabilną chorobą niedokrwinną serca, podczas gdy w grupie kontrolnej odsetek ten wynosił zaledwie 17% [48]. Kolejne badanie Helsinki Heart Study wykazało częstsze występowanie przeciwciał klasy IgA świadczących o przewlekłej infekcji Ch.p. u pacjentów z hipercholesterolemią w okresie 3-6 miesięcy przed wystąpieniem zaostrzenia choroby niedokrwiennej serca jak również świeżego zawału serca [49].

Linnamaki i wsp. wykazali częstsze występowanie kompleksów immunologicznych z lipopolisacharydem Ch.p. w grupie pacjentów z chorobą wieńcową (41%) w porównaniu z grupą kontrolną (15% badanych) oraz u pacjentów z zawałem serca (57%) i w grupie kontrolnej (12%) [50].

W 1992 r. Shor i wsp. za pomocą mikroskopu elektronowego wykryli chlamydiopodobne struktury w blaszkach miażdżycowych tętnic wieńcowych pobranych podczas sekcji. W części pozytywnych próbek potwierdzenie uzyskano metodą immunocytochemiczną z użyciem gatunkowo swoistych przeciwciał monoklonalnych [51].

W wielu kolejnych badaniach posługując się różnymi technikami potwierdzono obecność ciałek elementarnych, antygenów i DNA Ch. p. w materiale pochodzącym z tętnic [52, 53, 54, 55].

Muhlestein w badaniach autopsyjnych wykazał Ch.p. w blaszkach miażdżycowych u 79% pacjentów z chorobą wieńcową i w 1% bez choroby wieńcowej [56]. W niektórych badaniach oceniano obecność DNA Ch.p. w blaszkach miażdżycowych. Blasi i wsp. stwierdzili, że miana swoistych przeciwciał przeciw Ch.p. były znacząco wyższe u pacjentów z potwierdzoną za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy obecnością DNA w blaszkach miażdżycowych [57].

Poza naczyniami tętniczymi wykrywano Ch.p. w żyłach, mięśniu sercowym, na płatkach aorty, wątrobie, śledzionie, szpiku kostnym i węzłach chłonnych [58, 59]. Znamiennej częściej wykrywano ją w tętnicach wieńcowych niż w innych tkankach, a obecność w narządach pozasercowych była zwykle skorelowana z obecnością w naczyniach wieńcowych [60, 61, 62, 63].

Badania in vitro

Stwierdzono, że Ch. p. może zakażać i dzielić się w ludzkich makrofagach, miocytach aorty i komórkach śródbłonna. Zaobserwowano, że ludzkie makrofagi zakażone Ch. p. i inkubowane z lipoproteinami o niskiej gęstości (LDL) przekształcały się w komórki piankowate w ciągu 22 h. Zakażenie komórek śródbłonna tą bakterią stymulowało przezśródbłonkową migrację monocytów i granulocytów obojętnochłonnych. Powstawanie komórek piankowatych i migracja leukocytów do ściany tętnicy odgrywa ważną rolę w aterogenezie [64].

W dotychczas przeprowadzonych badaniach najczęściej wykorzystywano króliki rasy New Zeland White, u których spontanicznie nie rozwija się miażdżyca, a eksperymentalnie można ją wywołać dietą wzbogaconą w cholesterol. Po zakażeniu królików Ch. p. stwierdzono akumulację komórek piankowatych w łuku aorty, proliferację miocytów i ogniskowe zapalenie okołoaortalne, a także zgrubienie błony wewnętrznej, rozerwanie włókien sprężystych i zwapnienia w blaszce miażdżycowej łuku aorty [65, 66, 67]. Muhlestein i wsp. porównywali preparaty aorty 3 grup królików zakażonych, niezakażonych i zakażonych leczonych azytromycyną. Wszystkie króliki otrzymywały dietę wzbogaconą w cholesterol. Stwierdzono, że maksymalna grubość błony wewnętrznej, procent zajętego obwodu światła naczynia i wskaźnik powierzchni blaszki miażdżycowej były większe u zakażonych królików niż u niezakażonych oraz zakażonych otrzymujących azytromycynę [68].

Hu i wsp. przeprowadzili badanie na myszach nie posiadających receptora dla lipoprotein LDL, u których miażdżyca nie rozwija się, jeśli otrzymują dietę o małej zawartości cholesterolu, natomiast obserwuje się jej rozwój pod wpływem diety bogatej w cholesterol. Stwierdzono, że podczas stosowania diety bogatej w cholesterol zakażenie Ch.p. znacząco przyspieszało rozwój miażdżycy [69].

Mechanizmy proaterogennego działania Chlamydia pneumoniae

Działania miejscowe w ścianie naczyń

Zakażenie śródbłónka przez Ch.p. i działanie toksyn bakteryjnych prowadzi do jego dysfunkcji. Zainfekowanie komórek śródbłónka przez Ch. p. może prowadzić do zwiększonej ekspresji na powierzchni komórek molekuł adhezyjnych: ICAM-1, VCAM-1 i selektyny E. Zwiększona ekspresja tych molekuł wiąże się z nasileniem przylegania leukocytów i ich wzmożoną rekrutacją do tworzącego się ogniska zapalnego. Zainfekowane komórki śródbłónka tracą swoje ochronne właściwości oraz zaczynają produkować w większej ilości TNF α , IL-1, IL-8 [70]. Zmniejszeniu natomiast ulega produkcja NO przez eNOS, istotnego czynnika wazodylatacyjnego o działaniu antyadhezyjnym i antymitotycznym [7]. W efekcie niedoboru NO i obecności cytokin

obserwuje się wzmożoną proliferację komórek mięśni gładkich naczyń. Oprócz wpływu infekcji na śródbłonek bakterie mogą działać również na komórki stanowiące elementy blaszki miażdżycowej, czyli na makrofagi i komórki mięśniówki gładkiej. Ch. p. aktywuje makrofagi i zwiększa powstawanie TNF α , który pobudza dalsze ogniwa miejscowego procesu zapalnego w blaszce miażdżycowej. Pod wpływem infekcji zwiększa się skłonność makrofagów do tworzenia komórek piankowatych. Infekcja komórek mięśni gładkich aktywuje produkcję IL-6 i czynnika wzrostu fibroblastów (FGF) [71].

Zakażenie Ch.p. poprzez uszkodzenie śródbłonka i aktywowanie zapalenia w obrębie istniejących blaszek miażdżycowych inicjuje pierwsze etapy miażdżycy, może powodować destabilizację blaszek oraz przewagę procesów zapalno-destrukcyjnych nad naprawczymi.

Indukcja ogólnoustrojowego, przewlekłego odczynu immunologiczno-zapalnego

Efekty ogólnoustrojowe infekcji mogą być związane ze zwiększeniem gotowości krzepkowej przez wpływ na czynniki krzepnięcia, z indukcją odpowiedzi immunologicznej, czy też z zaburzeniem profilu lipidowego.

Ch.p. poprzez wzrost produkcji czynnika tkankowego (TF) i inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1) zwiększa trombogenność i ranliwość blaszek miażdżycowych, a infekcja tą bakterią wiąże się z podwyższonym stężeniem fibrynogenu - białka ostrej fazy, który stanowi element kaskady krzepnięcia [72].

Odpowiedź immunologiczna na infekcję bakteryjną może mieć charakter nieswoisty poprzez indukcję reakcji ostrej fazy oraz bardziej swoisty przez mechanizmy odpowiedzi komórkowej i humoralnej.

Przewlekła infekcja może w sposób subkliniczny indukować wzrost białek ostrej fazy i cytokin prozapalnych zwiększając poziom systemowego zapalenia, co może sprzyjać rozwojowi miażdżycy. W dużych badaniach ACADEMIC i WIZARD wykazano, że wyższy poziom przeciwciał przeciw Ch.p. koreluje z podwyższonym poziomem CRP, a terapia antybiotykowa prowadzi do obniżenia wartości CRP [73, 74].

Niekorzystne wpływy infekcji Ch.p. związane z układem immunologicznym organizmu mogą być wynikiem obecności bakteryjnych lipopolisacharydów (LPS) oraz bakteryjnych białek szoku cieplnego (HSP).

HSP stanowią 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 miażdżycy. Bezpośrednim następstwem immunizacji i wytworzenia przeciwciał anti-hsp jest cytotoksyczny wpływ na śródbłonek w następstwie humoralnej i komórkowej reakcji autoimmunologicznej skierowanej przeciwko tym komórkom [38].

Powstające podczas zakażenia Ch. p. przeciwciała anti-hsp 65 przyczyniają się do niszczenia komórki eksponującej hsp 65, a rozwijający się odczyn zapalno-immunologiczny nasila proces miażdżycowy. Okazało się, że nie tylko makrofagi ściany naczyń, ale także komórki śródbłonna mogą spełniać funkcję komórek prezentujących antygen (APC - ang. antigen presenting cells). Ekspresja CD40 (członka rodziny receptorów dla TNF) oraz wydzielanie cytokin z komórek śródbłonna jest ważne dla antygenowego rozpoznania komórki przez limfocyt CD4+, który posiada na swej powierzchni CD 154 (ligand CD40) [7, 35, 75, 76]. Ponadto aktywacja limfocytów T może zachodzić przez IL-15, która zostaje uwalniana przez komórki APC, czy komórki T i śródbłonna. IL-15 powoduje proliferację komórek T, ich różnicowanie, migrację komórek NK (ang. natural killer) oraz komórek pamięci, współuczestniczy w uwalnianiu cytokin promując w ten sposób odpowiedź układu immunologicznego. Ekspresja CD40 na aktywowanych komórkach mezotelialnych jest połączona z uwalnianiem IL-15 i RANTES, czynnika podobnego do IL-8 aktywującego chemotaksję komórek pamięci T i monocytów oraz powodującego inicjację angiogenezy [4].

Kluczowe dla procesu miażdżycowego jest powstawanie z makrofagów komórek piankowatych oraz uszkodzenie śródbłonna naczyń przez oksydacyjne LDL. Wykazano, że Ch. p. może powodować powstanie komórek piankowatych w środowisku bogatym w LDL i nasilać proces oksydacji tych lipoprotein [77, 78].

Przewlekła infekcja Ch.p. występuje często z aterogennym profilem lipidowym tj. wysokim poziomem triglicerydów, obniżeniem frakcji HDL cholesterolu oraz z podwyższeniem frakcji LDL cholesterolu [49, 79].

3.2. Wirus cytomegali.

Cytomegalowirus (CMV) to częsty patogen ludzki. Częstość występowania przeciwciał przeciwko temu wirusowi wzrasta z wiekiem. Seropozytywna jest w ponad 70% populacji. Zakażony człowiek zostaje nosicielem do końca życia. W badaniach eksperymentalnych CMV indukował miażdżycę u zwierząt poprzez hamowanie fibrynolizy, zwiększenie stężenia lipoproteiny (a) oraz zwiększenie liczby receptorów dla utlenionych LDL [80].

Nie zostało jednoznacznie dowiedzione, że obecność przeciwciał anti-CMV jest wyznacznikiem pierwotnego zagrożenia chorobą niedokrwienną serca lub angiograficznie potwierdzonej miażdżycy tętnic wieńcowych [81].

3.3. Herpes simplex.

Obecność wirusa opryszczki (Herpes simplex-HSV) wykazano u ludzi w blaszkach miażdżycowych pochodzących z tętnic wieńcowych i szyjnych [81, 82].

W badaniu Helsinki Heart Study obecność przeciwciał anti-HSV-1 została uznana za czynnik ryzyka choroby wieńcowej, a ryzyko względne incydentów wieńcowych zwiększało się znacząco u chorych seropozytywnych z podwyższonym stężeniem CRP [83].

3.4. Helicobacter pylori.

W połowie lat 70-tych na podstawie wyników około 50 tysięcy autopsji osób zmarłych pomiędzy 40 a 59 rokiem życia stwierdzono, że choroba wrzodowa żołądka lub dwunastnicy była 5-krotnie częstsza u osób z niedrożną lewą tętnicą wieńcową w porównaniu do osób bez zwężenia tego naczynia [84].

W obserwacji 3,3 letniej Folsom i wsp. stwierdzili, że odsetek osób seropozytywnych wobec *Helicobacter pylori* (H.p.) jest znamienne wyższy u osób rasy czarnej w porównaniu z rasą białą oraz u osób z niższym wykształceniem w porównaniu do osób z wykształceniem wyższym. Znamienne wyższy był odsetek osób seropozytyw-

nych w zakresie IgG anty-H.p. u osób seropozytywnych wobec wirusa cytomegali w porównaniu z grupą seronegatywną wobec tego wirusa [85].

Strachan i wsp. na podstawie 13,5 letniej obserwacji 1796 mężczyzn udokumentowali, iż seropozytywność wobec H.p. zwiększa wśród mężczyzn ryzyko śmierci w tym śmierci z powodu chorób układu krążenia [86].

W piśmiennictwie można też znaleźć doniesienia, które nie potwierdzają częstszej infekcji H.p. u osób z chorobą wieńcową [87].

4. Markery zapalenia i infekcji.

4.1. Białko C reaktywne.

Białko C – reaktywne wykryte zostało w 1929 roku przez Tilleta i Francisa [88] u chorych na zapalenie płuc. Białko to zbudowane jest z pięciu polipeptydowych podjednostek o masie 24-kDA, z których każda zawiera 224 aminokwasy. Z jednej strony pojedynczej podjednostki znajduje się miejsce wiązania dla fosfocholiny, które zawiera dwa jony wapniowe i płytkie hydrofobowe zagłębienie. Po przeciwnej stronie zidentyfikowano głęboką szczelinę o otwartym, płytkim zakończeniu służącą za miejsce wiązania składowej C1q dopełniacza. Gen dla białka C-reaktywnego znajduje się na chromosomie 1, w okolicy zawierającej geny obronne organizmu [89]. Białko C – reaktywne syntetyzowane jest w wątrobie pod wpływem IL-6, której stymulatorami są IL-1 β oraz TNF α , a jego stężenie zależne jest głównie od produkcji de novo. W ostrych stanach zapalnych w odpowiedzi na zakażenie ustroju jego poziom w surowicy podnosi się w ciągu 10 godzin nawet 100-1000-krotnie i wraca do wartości wyjściowych w okresie od 7 do 12 dni. W chorobach wątroby, w chorobach z autoagresji i nowotworowych, w pourazowym uszkodzeniu tkanek oraz w oparzeniach obserwuje się również wzrost jego poziomu w surowicy. Białko to pełni liczne role w niespecyficznej odpowiedzi immunologicznej organizmu przez wiązanie się z fosfocholiną obcych patogenów oraz uszkodzonych komórek, ułatwiając ich rozpoznawanie i eliminację, potrafi aktywować komplement oraz wiązać się z komórkami fagocytarnymi. Za wartości prawidłowe w surowicy CRP jako białka ostrej fazy uważa się przedział

między 0,8-10 mg/l, natomiast u 90% zdrowych ludzi jego poziom jest niższy od wartości 4mg/l [90].

Palenie papierosów, hiperlipidemia, cukrzyca oraz otyłość wiąże się z podwyższonym poziomem CRP i może utrudniać ocenę ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych z chorobą niedokrwienną serca [91, 92, 93]. Stężenie CRP jest także zwiększone u kobiet w wieku pomenopauzalnym z nadwagą oraz u kobiet stosujących hormonalną terapię zastępczą [94].

Do wykrycia ostrego stanu zapalnego i infekcji używa się metod immunoturbidymetrycznych lub immunonefelometrycznych oznaczeń CRP jako markera ostrej fazy. Zakres pomiarów białka waha się tutaj od około 3 mg/l do ponad 200 mg/l. Czułość tych metod nie pozwala jednak na zastosowanie CRP jako predyktora incydentów wieńcowych. W ocenie ryzyka chorób sercowo-naczyniowych używa się oznaczeń ultraczułego białka C-reaktywnego (ang. high-sensitive C-reactive protein, hs-CRP) wykonywanego metodą z użyciem wysoce swoistych przeciwciał monoklonalnych i wzmocnienia lateksowego (Dade- Behring). Metoda ta jest bardzo czuła (wykrywa poziom hs-CRP od 0,15mg/l) oraz zapewnia dobrową odtwarzalność pomiarów niskich wartości. Nie jest wrażliwa na zwykłe interferujące składniki endogenne. CRP jest białkiem stabilnym przy przechowywaniu próbek w stanie zamrożenia. W temperaturze -70 do -80 ° C jest trwałe od 4,5 do 7 lat [95].

Dzięki ultraczułym testom wykrywania hs-CRP stwierdzono, że osoby z poziomami CRP klinicznie nieistotnymi mogą w rzeczywistości mieć różne stężenie CRP, co odzwierciedla najprawdopodobniej różny stopień nasilenia przewlekłego, subklinicznego zapalenia toczącego się w organizmie.

Rola białka C-reaktywnego w rozwoju miażdżycy

Obecnie etiopatogeneza miażdżycy rozpatrywana jest przez pryzmat uszkodzenia funkcji śródbłonna. Uszkodzenie funkcji śródbłonna jest wynikiem działania wolnych rodników powstających z bogatych w lipidy lipoproteinach. Za zjawisko wtórne uważa się natomiast akumulację lipidów w ścianie naczyń przez adhezję lipoprotein do białek podścieliska oraz przez receptory typu „scavenger” głównie makrofagów. Proliferacja mięśni gładkich ściany naczyń, aktywacja syntezy białek podścieliska i

ich rozkład przez metaloproteinazy, zaburzenie procesów krzepnięcia krwi ma wynikać z aktywacji fagocytozy i uwalniania dużej liczby różnych czynników takich jak np. IL-1, TNF α , VEGF (ang. vascular endothelial growth factor), PDGF (ang. platelet derived growth factor), a także czynników aktywujących krzepnięcie i hamujących fibrylizację np. uPA (ang. urokinase-type plasminogen activator) [96].

Za proliferację komórek, ich przebudowę i stan napięcia naczyń odpowiadają substancje kurczące ścianę naczyń krwionośnych jak angiotensyna II (Ag II), tromboksan A₂ (TXA₂), endotelina1(ET1). Niedotlenione komórki ścian naczyń uwalniają czynnik proliferacji śródbłonna VEGF, który sprzyja regeneracji śródbłonna, ale i nasila patologiczną angiogenezę w blaszce miażdżycowej. Obraz kliniczny destabilizacji blaszki miażdżycowej wynika z nasilenia procesów wykrzepiania na jej powierzchni w połączeniu z destrukcją białek podścieliska przez metaloproteinazy [97].

CRP obecne w ścianie naczynia przyczynia się do ekspresji cząsteczek adhezyjnych (selektyny E, VCAM-1, ICAM-1) w komórkach śródbłonna działając także chemotaktycznie na monocyty przez co powoduje syntezę MCP-1. CRP ułatwia wnikanie lipoprotein LDL do makrofagów za pośrednictwem receptora CD32. Poprzez aktywację dopełniacza CRP gromadzi się w blaszkach miażdżycowych w wyniku wiązania się z receptorami dla układu dopełniacza na powierzchni komórek mięśni gładkich naczyń [98].

Wpływ statyn na stężenie hsCRP

Z leków, które mogą wpływać na stężenie hs-CRP i/lub ryzyko z nim związane wymienia się przede wszystkim statyny. Jednym z pierwszych doniesień na ten temat była praca Strandberga i wsp., w której oceniano wpływ simwastatyny i atorwastatyny na stężenie CRP u pacjentów z chorobą wieńcową i hypercholesterolemią [99]. Po 4 miesiącach terapii simwastatyną lub atorwastatyną w grupie 66 osób okazało się, że statyny istotnie obniżyły stężenie CRP (mediana wartości stężenia CRP zmniejszyła się o 35%).

W badaniu CARE (*Cholesterol and Recurrent Events*) dotyczącego wtórnej prewencji choroby wieńcowej, w analizowanej grupie 472 pacjentów bez incydentów wieńcowych wykazano w obserwacji 5-letniej istotnie statystycznie obniżenie stężenia

CRP pod wpływem stosowania prawastatyny. Różnica pomiędzy średnią stężenia CRP w grupie leczonej statyną, a średnią stężenia CRP w grupie placebo wyniosła 37,8%. Efekt ten był niezależny od innych czynników ryzyka miażdżycy, również od wpływu statyn na poziom cholesterolu LDL [100].

Badaniem oceniającym wpływ terapii statyną na poziom białka CRP jako pierwszorzędowego punktu końcowego było badanie PRINCE (*Pravastatin Inflammation CRP Evaluation*). W tym programie klinicznym wzięło udział 2400 osób, u których w trakcie 12 i 24-tygodniowej obserwacji badano wpływ 20 mg prawastatyny lub placebo na poziom lipidów oraz stężenie hsCRP. Stwierdzono istotne statystycznie zmniejszenia stężenia hsCRP zarówno w prewencji pierwotnej jak i wtórnej (odpowiednio o 13,7% i 13%). Zmniejszenie stężenia hsCRP było w 98% niezależne od efektów hipolipemizujących statyn [101].

Kolejnymi badaniami, w których oceniano wpływ statyn na stężenie białka hsCRP były badania REVERSAL (*Reversing Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering*) i PROVE IT-TIMI 22 (*Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy Trial- Thrombolysis in Myocardial Infarction 22*) [102, 103].

W badaniu REVERSAL uczestniczyły osoby ze stabilną postacią choroby niedokrwiennej serca, a redukcja stężenia hsCRP była znamienne większa w grupie chorych przyjmujących 80mg atorwastatyny na dobę niż w grupie leczonej prawastatyną w dawce 40mg na dobę (36,4% vs 5,2%). Tak więc siła działania hipolipemizującego i wielkość dawki przekładały się na stopień redukcji stężenia hsCRP. Natomiast w badaniu PROVE IT-TIMI 22 przeprowadzonym u chorych z ostrym zespołem wieńcowym, pomimo stosowania takich samych dawek statyn jak w badaniu REVERSAL, stwierdzono zbliżony wpływ prawastatyny i atorwastatyny na redukcję stężenia hsCRP. W badaniu tym nie wykazano również wpływu gatifloxacyny (400mg/dobę przez 10 dni w miesiącu przez dwa lata lub placebo) na poziom przeciwciał anti-Ch.p.

Zależność stopnia redukcji CRP od rodzaju statyny i jej dawki nie została do tychczas jednoznacznie potwierdzona i wymaga dalszych badań, podobnie jak postulowane coraz szerzej uzależnienie decyzji o leczeniu statynami od stężenia CRP w populacji osób z względnie prawidłowym stężeniem cholesterolu.

W 2003 roku rozpoczęło się badanie JUPITER (*Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin*), którego

wyniki przyniosą odpowiedź na pytanie, czy terapia hipolipemizująca rosuwastatyną w dawce 20mg dziennie zmniejsza częstość zdarzeń sercowo-naczyniowych u pacjentów bez hiperlipidemii ($LDL < 130 \text{ mg/dl}$) lecz z wysokim poziomem hs-CRP ($hs\text{-CRP} > 2 \text{ mg/dl}$) [104].

4.2. Fibrynogen.

Fibrynogen, czynnik I to białko osoczone o masie 340 000 daltonów i długości 46 nm należące do frakcji globulin, które produkowane jest przez wątrobę i megakariocyty, a uwalniane do krwi obwodowej w czasie agregacji płytek krwi. W skład jego cząsteczki wchodzi parę trzech rodzajów łańcuchów: $A\alpha$, $B\beta$ i gamma. W rejonach o postaci pręcika występują trójniciowe α helisy zwinięte w superhelisę, co jest budową charakterystyczną dla wielu białek. Trombina hydrolizuje cztery wiązania peptydowe między arginina i glicyną, znajdujące się w środkowym kulistym rejonie cząsteczki fibrynogenu, uwalniając w ten sposób peptyd A składający się z 18 aminokwasów z każdego z dwóch łańcuchów i peptyd B obejmujący 20 aminokwasów z każdego z dwóch łańcuchów β . Peptydy A i B nazywane są fibrynopeptydami, cząsteczka fibrynogenu pozbawiona fibrynopeptydów - monomerem fibryny. Monomery fibryny ulegają spontanicznej agregacji tworząc fibrynę [105].

Fibrynopeptyd A uważany jest za czuły marker generacji trombiny, która jest silnym czynnikiem o właściwościach aterogennych. Fibrynogen B odgrywa natomiast bezpośrednią rolę w patogenezie wczesnych zmian miażdżycowych. W puli wewnątrznaczyniowej występuje w osoczu 90% całkowitej ilości fibrynogenu, a jego reszta w przestrzeni pozanaczyniowej. Fibrynogen stanowi rolę łącznika między płytkami przy ich agregacji i wiązany jest za pośrednictwem receptora płytkowego $GpIIb/IIIa$ - kompleksu glikoproteiny $IIIa$ (CD61) z IIb (CD41). Wiązanie fibrynogenu do płytkowego receptora $GpIIb/IIIa$ odbywa się głównie poprzez sekwencję peptydową Arg-Gli-Asp (RGD). Stwierdzono, że związki zawierające sekwencję RGD mogą mieć silne działanie hamujące agregację płytek oraz zależną od integryn adhezję komórek. Zablokowanie sekwencji RGD hamuje adhezję i aktywację płytek [106].

Półokres zanikania fibrynogenu z osocza ($T_{1/2}$) ocenia się na 2-4 dni i jest on zależny od podstawowej przemiany białek, wewnątrznaczyniowego tworzenia fibryny i fibrynogenolizy.

Pomimo powiązania poziomu fibrynogenu z ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych brak jest jednoznacznych ustaleń, co do sposobu interpretacji wyników w praktyce klinicznej. Fibrynogen jest parametrem, który trudno poddaje się modyfikacji i dlatego niełatwo jest określić jakiej wielkości zmiana powinna być w praktyce uznana za istotną. Brak także ustaleń co do wartości granicznych jego stężeń. Wyniki części badań wskazują na wartość 350mg/dl, zaś badania MONICA-GLASGOW sugerują, iż punkt ten powinien być przesunięty do poziomu 300mg/dl [107]. W praktyce najczęściej poziom fibrynogenu oznaczany jest metodą Claussa, wykorzystującą pomiar czasu protrombinowego [108]. Wartości prawidłowe dla tej metody znajdują się w przedziale 1,5-4,0g/l.

Niektóre badania kliniczne wykazały, iż stężenie fibrynogenu powyżej 3,5 g/l należy rozpatrywać jako wartość powodującą zwiększone ryzyko zakrzepowe, a tym samym zwiększone ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca czy udaru mózgu. Ryzyko to zwiększa się, jeśli współistnieją inne czynniki ryzyka [109, 110].

Poza stanami klinicznymi manifestującymi się zaburzeniem krzepnięcia krwi, stężenie fibrynogenu może ulec zmianie także w przebiegu chorób wątroby, w stanach zapalnych, ponieważ jest on białkiem ostrej fazy. Wzrost stężenia fibrynogenu obserwuje się w takich stanach jak: ostre i przewlekłe stany zapalne, nowotwory złośliwe, kolagenozy, ostatni trymestr ciąży i okres okołoporodowy oraz w zakrzepicy, natomiast jego spadek w ciężkich chorobach miększu wątroby (marskość), zespole rozsianego wykrzepiania śródnaczyniowego, pierwotnie aktywowanej fibrynolizie oraz wrodzonej afibrynogenemii lub hypofibrynogenemii.

Podwyższony poziom fibrynogenu zwiększa ryzyko wystąpienia w młodym wieku zawału mięśnia sercowego, nasilenia częstości epizodów wieńcowych, miażdżycy naczyń mózgowych i obwodowych [111, 112].

Statyny a fibrynogen

Obecnie brak danych z dużych badań klinicznych dotyczących wpływu statyn na stężenie fibrynogenu, a doniesienia z piśmiennictwa z badań na mniejszych grupach przynoszą rozbieżne wyniki.

Beigel i Isaacsohn w badaniach na 24-260 osobowych grupach obserwowali wzrost poziomu fibrynogenu o 5-24% pod wpływem terapii lowastatyną, natomiast dane z innych doniesień nie potwierdzają takiej zależności [113, 114, 115, 116]. Niejasny jest również wpływ prawastatyny. Tsuda w badaniu na 28 osobowej grupie stwierdził istotne statystycznie obniżenie stężenia fibrynogenu pod wpływem tej statyny [117], jakkolwiek w piśmiennictwie są prace, w których leczenie prawastatyną nie wpłynęło na poziom fibrynogenu [118, 119], a nawet zaobserwowano jego wzrost [120]. Nie wykazano wpływu simwastatyny na poziom fibrynogenu, jednak Mitropoulos w pracy z 1997 roku doniósł o jego obniżeniu pod wpływem terapii z jej zastosowaniem [121].

W badaniach z zastosowaniem syntetycznych statyn wykazano ostatnio, że wywierają one wpływ na poziom fibrynogenu. W jednorocznej obserwacji 722 chorych poddanych leczeniu atorwastatyną z powodu pierwotnej hipercholesterolemii zaobserwowano 4% podwyższenie poziomu fibrynogenu [122], a Wierzbicki i Nair donoszą o nawet 19-22% jego wzroście [123, 124]. Nie udowodniono istotnego wpływu fluwastatyny na stężenie fibrynogenu [125].

W 2000 roku Rauch w trzymiesięcznej obserwacji 50 chorych nie wykazał wpływu prawastatyny i simwastatyny na poziom fibrynogenu [126].

Różna metodologia oznaczania poziomu fibrynogenu, wahania sezonowe jego stężenia w populacji powodują, że wyniki uzyskane z badań klinicznych są trudne do porównania.

Wyniki dotychczasowych obserwacji nie wskazują jednoznacznie na wpływ różnych statyn na poziom fibrynogenu i konieczne są dalsze badania w tym zakresie.

II HIPOTEZA BADAWCZA

Aktywność zapalna oceniana na podstawie markerów ogólnoustrojowego zapalenia może być jednym z elementów służących do oceny chorych z chorobą wieńcową oraz mieć znaczenie w stratyfikacji ryzyka sercowo-naczyniowego.

U chorych ze stabilną postacią choroby niedokrwiennej serca częściej niż w zdrowej populacji obecne mogą być markery infekcji i przewlekłego zapalenia, a poziom ich nasilenia zależy od indywidualnej reaktywności układu immunologicznego. Można założyć, iż nadmierna i przedłużona reakcja zapalna pogłębia uszkodzenie śródbłonna i przyczynia się do progresji miażdżycy w naczyniach wieńcowych, co prowadzi do częstszych zaostrzeń choroby wieńcowej oraz ostatecznie do ostrego niedokrwienia mięśnia serca.

Poziom przeciwciał przeciwko hsp 60/65, hsCRP, fibrynogenu, leukocytów może być częściowo zależny od przebycia infekcji *Chlamydia pneumoniae*, co manifestuje się podwyższonym mianem ich przeciwciał. W konsekwencji wskazuje to na istnienie związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy infekcją a podwyższonym poziomem wskaźników zapalnych w patogenezie miażdżycy. Wyższy poziom przeciwciał anty-hsp 60/65 u chorych ze stabilną postacią choroby wieńcowej bez innych, klasycznych czynników ryzyka miażdżycy może wskazywać, że marker ten okaże się niezależnym czynnikiem ryzyka choroby wieńcowej.

III CEL PRACY

1. Ocena poziomu przeciwciał anty-hsp 60, wybranych markerów zapalenia i infekcji *Chlamydia pneumoniae* u chorych ze stabilną postacią choroby niedokrwiennej serca.

- a) Oznaczenie poziomów wskaźników zapalenia (przeciwciał anty-hsp 60, białka hsCRP, fibrynogenu, leukocytów) i infekcji (przeciwciał IgG i gA anty-*Chlamydia pneumoniae*) w grupie osób z chorobą wieńcową oraz w grupie zdrowych.
- b) Porównanie poziomów przeciwciał anty-hsp 60, markerów zapalenia i infekcji u chorych z chorobą niedokrwinną serca w zależności od ilości naczyń zajętych procesem miażdżycowym oraz nasilenia dławicy według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego.

2. Zbadanie związku pomiędzy przeciwciałami anty-hsp60, seropozytywnością w kierunku infekcji *Chlamydia pneumoniae* (poziom przeciwciał IgG i IgA), a poziomem hsCRP, fibrynogenu i leukocytów pomiędzy badanymi z chorobą niedokrwinną serca a grupą kontrolną oraz w grupie z chorobą niedokrwinną serca w zależności od klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego i ilości zajętych miażdżycą naczyń.

IV MATERIAŁ I METODY

1. Charakterystyka grupy badanej.

Do badania włączono 40 mężczyzn w wieku od 37 do 53 lat ($47,07 \pm 4,23$ lat) leczonych z powodu stabilnej choroby niedokrwiennej serca w Poradni Kardiologicznej II Kliniki Kardiologii Instytutu Kardiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w latach 2002-2004 spełniających kryteria włączenia.

Grupę kontrolną stanowiło 31 zdrowych mężczyzn, w wieku od 37 do 53 lat ($44,97 \pm 5,38$ lat), ochotników dobranych pod względem płci i wieku. Były to osoby bez wywiadu w kierunku nadciśnienia tętniczego, niepalący, bez otyłości ($BMI < 30 \text{ kg/m}^2$), zaburzeń lipidowych oraz bez współistnienia innych schorzeń.

Kryteria włączenia

Do badania włączano kolejno leczonych mężczyzn, u których rozpoznanie zostało ustalone na podstawie wywiadu, badania fizykalnego, badań klinicznych: Ekg, Ekg wysiłkowego, koronarografii oraz badań biochemicznych. Do badań zakwalifikowano chorych, u których wykonano skuteczny zabieg przezskórnej angioplastyki wieńcowej (PTCA) będących na ujednoliconym leczeniu według obowiązujących standardów. Koronarografia oraz PTCA wykonane zostały w Zakładzie Hemodynamiki i Angiokardiografii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Chorzy zostali włączeni do badania po 6 miesiącach po skutecznej angioplastyce wieńcowej. Pacjenci przyjmowali standardową terapię stosowaną w stabilnej chorobie wieńcowej: kwas acetylosalicylowy, β -bloker, ACE-inhibitor, statynę.

Kryteria wyłączenia

Do badania nie włączono osób w wieku powyżej 53 lat, z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą, po przebytym zawale serca, z niewydolnością krążenia, po udarze mózgu, z miażdżycą tętnic obwodowych, z wadami serca, z migotaniem przedsionków,

z aktywną (ostatnie 8 tygodni) i przewlekłą chorobą zapalną lub infekcyjną, chorobami autoimmunologicznymi i nowotworowymi, innymi chorobami endokrynologicznymi oraz ze schorzeniami wątroby.

Wszyscy badani to osoby z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego (ciśnienie skurczowe < 140mmHg, ciśnienie rozkurczowe < 90mmHg), niepalący papierosów co najmniej 2 lata.

Pozwoliło to na wyeliminowanie części czynników mających wpływ na wyniki badań.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego nr zgody KBET/335/B/2002. Wszyscy badani zostali poinformowani o celu i sposobie przeprowadzenia badania i wyrazili na nie pisemną zgodę.

W tabeli IV przedstawiono ogólną charakterystykę badanej grupy.

2. Badanie podmiotowe.

Podczas wywiadu lekarskiego przeprowadzanego przy rekrutacji zebrano informacje na temat charakteru, czasu trwania i lokalizacji bólu w klatce piersiowej, wydolności fizycznej zgodnie ze skalą Nowojorskiego Towarzystwa Kardiologicznego (NYHA), stosowanych leków, czynników ryzyka miażdżycy (wywiad rodzinny, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, palenie papierosów) oraz obecności chorób współistniejących.

Zebrano także szczegółowe informacje na temat występowania czynnego i przewlekłego procesu zapalnego. Pytano o występowanie chorób nowotworowych, chorób wątroby i nerek oraz chorób o podłożu autoimmunologicznym.

Tabela IV. Ogólna charakterystyka grupy badanych z ch.n.s. i grupy kontrolnej.

Parametr	chorzy z ch.n.s. (40)	gr.kontrolna (31)	<i>p</i>
Wiek [lata]	47,07 ± 4,23	44,97 ± 5,38	0,11
BMI [kg/m ²]	27,78 ± 3,60	25,72 ± 1,87	0,003
CTK skurczowe [mmHg]	122,09 ± 8,24	122,50 ± 6,30	0,98
CTK rozkurczowe [mmHg]	80,64 ± 4,78	81,75 ± 5,72	0,44
HR [uderzenia/min]	68,90 ± 6,05	72,45 ± 5,74	0,01
Glukoza na czczo [mmol/l]	5,22 ± 0,43	5,02 ± 0,63	0,23
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,15 ± 1,31	4,97 ± 0,42	0,99
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,02 ± 1,29	3,06 ± 0,50	0,5
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,19 ± 0,25	1,30 ± 0,25	0,08
Triglicerydy [mmol/l]	2,07 ± 1,30	1,43 ± 0,43	0,02
Kwas moczowy [μmol/l]	383,64 ± 86,38	357,52 ± 62,39	0,48
Mocznik [mmol/l]	5,18 ± 1,08	5,41 ± 0,94	0,4
Kreatynina [μmol/l]	77,2 ± 8,86	85,12 ± 12,58	0,004
ALAT [U/l]	38,72 ± 17,04	34,32 ± 23,01	0,08
AspAT [U/l]	28,31 ± 8,02	25,97 ± 12,00	0,06
RBC [10 ⁶ /ul]	4,94 ± 0,32	4,99 ± 0,32	0,2
HGB [g/dl]	15,02 ± 0,95	15,00 ± 1,20	0,91
HCT [%]	43,72 ± 2,59	43,15 ± 2,87	0,43
PLT [10 ³ /ul]	232,27 ± 54,06	215,5 ± 33,96	0,13
Potas [mmol/l]	4,05 ± 0,31	3,98 ± 0,29	0,3
Sód [mmol/l]	141,46 ± 2,35	141,32 ± 2,52	0,63

p – grupa badana vs grupa kontrolna

CTK – ciśnienie tętnicze krwi, BMI – wskaźnik masy ciała (kg/m²), HR – akcja serca

3. Badanie przedmiotowe.

Celem badania przedmiotowego była ocena stanu ogólnego chorego i całościowe badanie fizykalne.

Pomiar ciśnienia tętniczego krwi

U każdego badanego pomiar ciśnienia tętniczego wykonano sfingomanometrem rtęciowym zgodnie z wytycznymi British Society of Hypertension. Standardowe pomiary ciśnienia wykonywano w pozycji siedzącej, po 10 minutowym odpoczynku, pięciokrotnie w czasie badania, w odstępach dwuminutowych. Wartość ciśnienia tętniczego obliczano jako średnią z wykonanych pomiarów [127].

Pomiary antropometryczne

W dniu rekrutacji chorych ważono i mierzono. Ciężar ciała i wzrost posłużyły do obliczenia wskaźnika masy ciała: BMI (body mass index).

$BMI = M / W^2$ (kg/m²), gdzie M - aktualna masa ciała (kg), W - wzrost (m)

Przy wartościach BMI w zakresie 25-30 kg/ m² rozpoznawano nadwagę, a powyżej 30 kg/m² otyłość.

12-odprowadzeniowy elektrokardiogram spoczynkowy

Badanie wykonywano 3 kanałowym aparatem elektrokardiograficznym Multicard E30. Rejestrowano 12 odprowadzeń przy szybkości przesuwu papieru 25mm/s.

Określano częstość akcji serca, obecność zaburzeń rytmu, przewodnictwa oraz cechy niedokrwienia mięśnia sercowego.

4. Oznaczenia wybranych parametrów biochemicznych.

Warunki pobrania krwi

Badania biochemiczne wykonane zostały w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Katedry Biochemii Klinicznej i Diagnostyki Collegium Medium Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (kierownik: prof. dr hab. Jerzy Naskalski).

Badania przeciwciał anti-hsp 60/65 wykonano w Zakładzie Biochemii Klinicznej Katedry Biochemii Klinicznej i Diagnostyki Collegium Medium Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (kierownik: prof. dr hab. Aldona Dembińska-Kieć).

Badania serologiczne (przeciwciała IgA i IgG anti-Ch.p.) zostały wykonane w Zakładzie Wirusologii Instytutu Mikrobiologii Collegium Medium Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (kierownik: dr med. Barbara Zawilińska).

Wszystkie próbki krwi pobierano w godzinach rannych między godziną 7³⁰ a 8³⁰, po upływie co najmniej 12 godzin od ostatniego posiłku. Po odwirowaniu krwi otrzymano trzy probówki po 1ml osocza oraz trzy probówki po 1ml surowicy. Probówki zostały zamrożone w temperaturze -70⁰ C do czasu wykonania wszystkich oznaczeń biochemicznych.

4.1. Oznaczanie przeciwciał przeciwko ludzkiemu hsp60.

Przeciwciała klasy IgG, IgA oraz IgM przeciwko ludzkiemu hsp60 oznaczano w surowicy. Pobraną krew po wykrzepieniu (ok. 30 min.) wirowano przez 10 min. przy obrotach 1000 x g. Po odwirowaniu oddzielano surowicę i przechowywano ją w temperaturze -70 stopni C do czasu rozpoczęcia analizy. Oznaczenie wykonywano metodą immunoenzymatyczną (ELISA) przy użyciu zestawów odczynnikowych firmy Stressgen Biotechnologies. Każde oznaczenie wykonywano w duplikacie i sporządzano dla każdej serii oznaczeń krzywą standardową ze standardów o znanych stężeniach przeciwciała przeciw ludzkiemu hsp (w klasach IgG, IgA, IgM). Stężenia standardów mieściły się w zakresie 7,81 - 250 ng/ml.

Zasada oznaczenia polegała na wiązaniu wykrywanych w surowicy przeciwciał anti-hsp w różnych klasach do związanego na płytce antygenu hsp. W procesie detek-

cji utworzonego kompleksu wykorzystywane jest drugie poliklonalne przeciwciało przeciwko ludzkim immunoglobulinom związane z peroksydazą. Do wywołania reakcji barwnej używano tetrametylobenzydyny. Natężenie reakcji barwnej było proporcjonalne do badanego stężenia przeciwciał anty-hsp60. Mierzono je wspólnie z krzywą standardową na czytniku mikropłytek firmy Lab-System przy długości fali 450nm.

Czułość użytej metody wynosiła ok. 3 ng/ml, a precyzja wyrażona jako współczynnik zmienności (CV%) wynosiła <10% zarówno w obrębie pojedynczego oznaczenia (intra-assay) jak i pomiędzy oznaczeniami (inter-assay).

4.2. Oznaczanie białka hsCRP.

Założenia metody

CRP ultraczułe (hsCRP) oznaczano metodą immunonefelometryczną na analizatorze Behring Nephelometer II firmy DADE Behring, z zastosowaniem testu latek-sowego *CardioPhase hsCRP*. Odczynnik ten składa się z zawiesiny cząsteczek polistyrenu opłaszczonych mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciwko CRP. Cząsteczki te tworzą kompleksy po zmieszaniu z próbkami zawierającymi CRP. Powstałe kompleksy powodują rozproszenie wiązki światła przechodzącego przez próbkę. Intensywność rozproszonego światła jest proporcjonalna do stężenia odpowiedniego białka w próbce. Wynik ocenia się przez porównanie z wzorcem o znanym stężeniu. Wartość przypisana CRP w surowicy wzorcowej N Rheumatology Standard SL jest standaryzowana w odniesieniu do międzynarodowego preparatu referencyjnego BCR - CRM 470.

Wyznaczenie krzywej referencyjnej

Krzywą referencyjną sporządzano metodą kalibracji wielopunktowej. Seryjne rozcieńczenia białka wzorcowego N Rheumatology Standard SL za pomocą rozcieńczalnika N Diluent (firmy DADE Behring) wykonywano automatycznie w analizatorze Behring Nephelometer II. Ważność krzywej referencyjnej wynosiła 4 tygodnie, jednak mogła być stosowana dłużej pod warunkiem, że dokładność próbki kontrolnej,

określana przy użyciu surowic kontrolnych N/T Rheumatology Control SL/1 i SL/2 lub Apolipoprotein Control Serum CHD była powtarzalna w zakresie odpowiedniego przedziału ufności. W przypadku zastosowania innej partii odczynnika wykonywano nową krzywą kalibracyjną. Dokładność mierzonych zakresów wartości była zależna od stężenia białka w każdej serii białka wzorcowego N Rheumatology Standard SL.

Badanie próbek

Do badania wykorzystano próbki surowicy świeżej, uprzednio w pełni wykrzepionej a następnie odwirowanej. Próbki nie zawierały żadnych cząsteczek ani śladów włókienka. W metodzie *CardioPhase hsCRP* próbki były automatycznie rozcieńczane za pomocą rozcieńczalnika N Diluent w stosunku 1:20. W przypadku uzyskania wyniku powyżej zakresu pomiarowego oznaczenie powtarzano stosując rozcieńczenie 1:100. Wyniki były automatycznie interpretowane w analizatorze i wyświetlane w mg/l.

Wewnętrzna kontrola jakości

Surowice kontrolne N/T Rheumatology Control SL/1 i SL/2 lub Apolipoprotein Control Serum CHD stosowano każdorazowo po wyznaczeniu krzywej wzorcowej, po pierwszym otwarciu fiolki z odczynnikiem, jak i przy każdym oznaczeniu serii próbek. Kontrola była oznaczana i oceniana identycznie jak próbki pochodzące od badanych pacjentów.

Czułość metody

Analityczną czułość testu wyznaczono jako dolną, graniczną wartość krzywej referencyjnej, zależną zatem od stężenia białka w białku wzorcowym N Rheumatology Standard SL. Dla próbek rozcieńczonych w stosunku 1:20 granica detekcji wyniosła 0,175 mg/l. W dziesięciu powtórzeniach próbki zawierającej CRP w stężeniu 0,41 mg/l odnotowano współczynnik zmienności (CV) wynoszący 7,6%.

Swoistość

Reakcje krzyżowe nie są znane.

4.3. Oznaczanie fibrynogenu.

Oznaczenia poziomu fibrynogenu w surowicy krwi dokonywano przy pomocy zmodyfikowanej metody Klaussa kitem Dade Behring Multifibren U za pomocą automatycznego analizatora Boehringer Coagulation System. Zakres czułości metody: 0,8 - 12 g/l. Zakres normy: 1,8 - 3,5 g/l.

4.4. Oznaczanie przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae w klasie IgG i IgA.

Przeciwciała anti-Chlamydia pneumoniae w klasie IgG i IgA oznaczono metodą immunoenzymatyczną przy użyciu odczynników firmy ANI Labssystem (Finlandia).

Surowice do czasu wykonania oznaczenia przechowywano w stanie zamrożenia w -30° C.

Badania wykonano zgodnie z zaleceniami producenta.

Wyniki oznaczenia przeciwciał wyrażono w jednostkach międzynarodowych EIU (enzyme immunounits) obliczonych następująco:

1. Dla przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae w klasie IgG

$$EIU = \frac{A \text{ sample} - A \text{ blank}}{A \text{ cal.} - A \text{ blank}} \times 130$$

A sample – absorpcja próbki badanej

A blank - absorpcja próbki ślepej (rozcieńczalnik dla surowic i kontroli)

A cal. – absorpcja próbki kalibracyjnej (EIU kalibratora = 130)

Interpretacja wyników:

< 30 EIU - wynik negatywny

30 - 45 EIU - wynik wątpliwy

> 45 EIU - wynik dodatni

2. Dla przeciwciał anty-Chlamydia pneumoniae w klasie IgA

$$EIU = \frac{A \text{ sample} - A \text{ blank}}{A \text{ cal.} - A \text{ blank}} \times 30$$

A sample – absorpcja próbki badanej

A blank - absorpcja próbki ślepej

A cal. – absorpcja próbki kalibracyjnej (EIU kalibratora = 30)

Interpretacja wyników:

< 8 EIU - wynik negatywny

8 - 12 EIU - wynik wątpliwy

> 12 EIU - wynik dodatni

4.5. Pozostałe badania laboratoryjne.

Morfologia krwi

Do analizy parametrów morfotycznych krwi wykorzystywano 18 parametrowy analizator automatyczny Sysmex K 4500. Aparat wykonuje konduktometryczną metodę liczenia krwinek. Obraz odsetkowy krwi obwodowej oceniano automatycznie.

Kreatynina

Kreatynina została oznaczona przy pomocy zautomatyzowanego analizatora Hitachi 917 stosując metodę Jaffe, odczynniki firmy Roche. Zakres czułości: 8,8-2210 μmol/l. Zakres normy laboratorium: 45 - 97 μmol/l.

Kwas moczowy

Kwas moczowy został oznaczony przy pomocy zautomatyzowanego analizatora Hitachi 917 stosując metodę enzymatyczną z urykazą i peroksydazą. Zakres normy laboratorium: 202 - 416 μmol/l.

Lipidogram

Oznaczenie lipidów surowicy: cholesterolu całkowitego (TC), cholesterolu LDL, cholesterolu HDL oraz triglicerydów (TG) wykonywano za pomocą analizatora biochemicznego Hitachi 911. TC oznaczano metodą enzymatyczną CHOD-PAP, cholesterol HDL oznaczano metodą bezpośrednią po wcześniejszym wytrąceniu cholesterolu LDL i VLDL mieszaniną heparyny i chlorku manganu. TG oznaczano metodą oksydazową GPO-PAP. W oparciu o wzór Friedewalda obliczano cholesterol frakcji LDL:

$$LDL = Chol. ca\acute{l}. - HDL - \frac{TG}{2.2}$$

Stężenie LDL obliczano tylko wówczas, gdy stężenie triglicerydów było mniejsze od 4,6 mmol/l.

Zakres norm: cholesterol całkowity < 5,2 mmol/l, cholesterol HDL > 0,9 mmol/l, cholesterol LDL < 3,4 mmol/l, triglicerydy < 2,0 mmol/l.

5. Analiza statystyczna.

Do statystycznego opracowania wyników wykorzystano pakiet statystyczny Statistica for Windows wersja 7.1 PL (StatSoft Inc., Tulusa, Oklahoma, USA).

Statystyki opisowe zastosowano do obliczenia wartości średnich, odchylenia standardowego, mediany, kwartyli oraz procentowego rozkładu zmiennych: a) dla zmiennych ilościowych obliczono: liczebność, wartość maksymalną i minimalną, rozstęp, medianę, dolny i górny kwartyl oraz średnią i odchylenie standardowe b) dla zmiennych jakościowych obliczono: liczebności, procenty kolumn, procenty wierszy oraz procenty z całości dla danych przedstawionych w postaci tabel wielodzzielczych

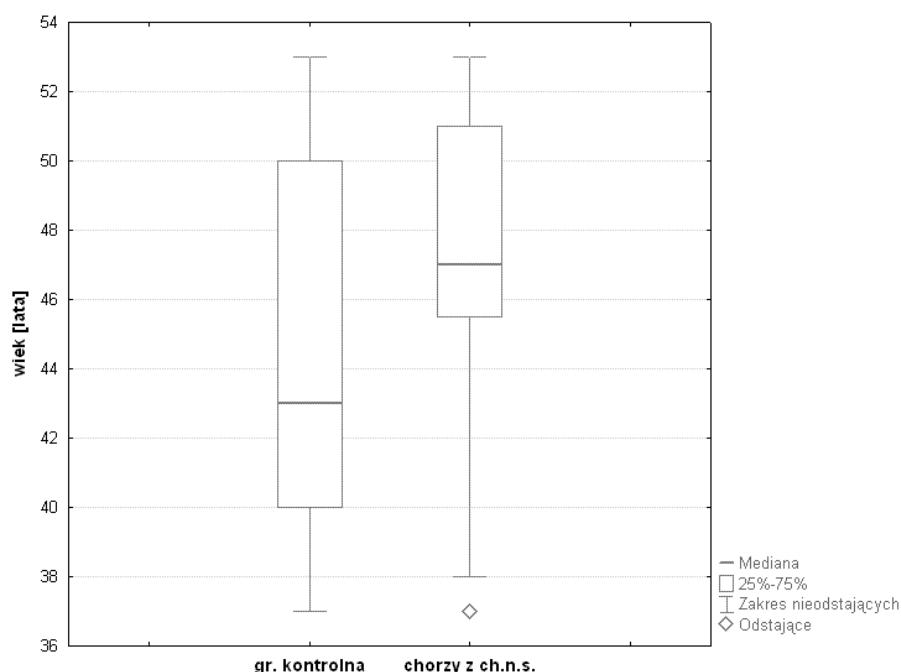
Test Kołmogorowa-Smirnowa i Shapiro-Wilka zastosowano do oceny normalności rozkładu ocenianych zmiennych. Test t-studenta dla zmiennych niepowiązanych do porównania średnich badanych zmiennych pomiędzy dwoma grupami. Test U Manna-Whitney'a do porównania średnich badanych zmiennych pomiędzy dwoma grupami w przypadku rozkładu odbiegającego od rozkładu normalnego. Test istotności dla porównania dwóch proporcji zmiennych jakościowych. Do oceny powiązań pomiędzy oznaczanymi markerami zapalnymi w surowicy a występowaniem choroby niedokrwiennej serca wykorzystano analizę korelacji Pearsona lub Spearmana w zależności od rozkładu zmiennych. Analiza regresji wieloczynnikowej zastosowana została do oceny wpływu kilku czynników na wartości badanych parametrów. Za istotność statystyczną przyjęto $p < 0,05$.

V WYNIKI

1. Charakterystyka badanej grupy

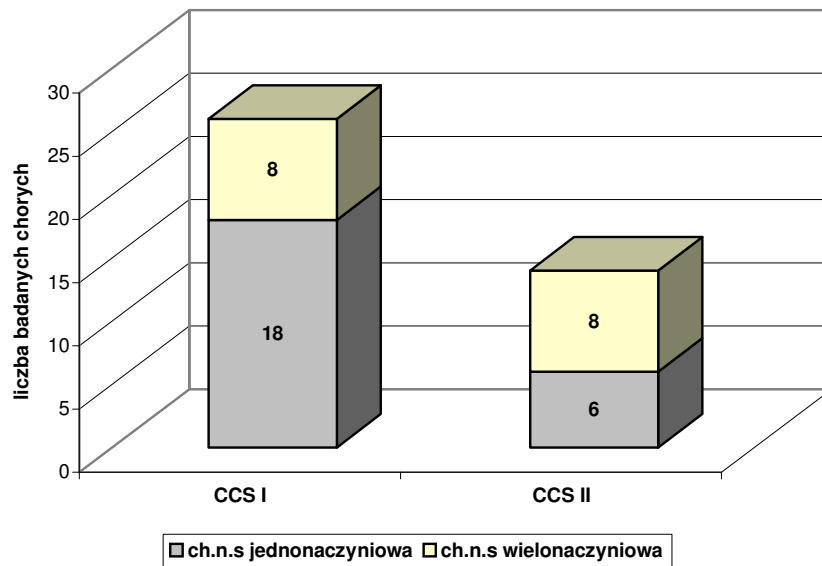
Do badania włączono 40 mężczyzn w wieku 37-53 lat ($47,07 \pm 4,23$ lat) ze stabilną ch.n.s. i 31 zdrowych mężczyzn w wieku 37-53 lat ($44,97 \pm 5,38$ lat). Obie grupy nie różniły się istotnie statystycznie pod względem wieku ($p > 0,05$) - rycina 3.

Rycina 3. Charakterystyka badanej grupy i grupy kontrolnej ze względu na zmienną wiek.



W grupie chorych z ch.n.s. 65% badanych prezentowało objawy CCS I w klasyfikacji czynnościowej dławicy piersiowej według Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego, a 35% zakwalifikowano do jej II stopnia. U 60% badanych stwierdzono występowanie jednonaczyniowej choroby wieńcowej, a u 40% pacjentów choroby wieńcowej wielonaczyniowej. Choroba wieńcowa jednonaczyniowa występowała u 69,23% osób z CCS I i 42,86% z CCS II, a u 30,77% badanych z CCS I i 57,14% badanych z CCS II stwierdzono wielonaczyniową chorobę wieńcową. Powyższe dane przedstawiono na rycinie 4.

Rycina 4. Charakterystyka badanych pacjentów ze stabilną ch.n.s. według czynnościowej klasyfikacji dławicy piersiowej (CCS) i ilości zajętych naczyń.



W grupie badanych chorych 26 pacjentów zostało poddanych zabiegowi przezskórnej angioplastyki wieńcowej z implantacją stentu, a u 14 badanych poszerzenie zmiany miażdżycowej dokonano za pomocą przezskórnej angioplastyki wieńcowej (rycina 5).

Analiza rozkładu badanych parametrów (test Kołmogorowa-Smirnowa) pokazała, że jedynymi zmiennymi, które miały rozkład zbliżony do normalnego zarówno w grupie kontrolnej jak i w grupie chorych były: BMI, częstość akcji serca, poziom mocznika, kreatyniny, liczba erytrocytów oraz hematokryt. Dla tych zmiennych analiza porównawcza średnich pomiędzy grupami została wykonana testem t oraz testem U Manna-Whitney’a.

Rycina 5. Analiza badanych chorych ze stabilną ch.n.s. w zależności od zastosowanego leczenia inwazyjnego.



Średnia wartość BMI pacjentów z ch.n.s. wynosiła $27,78 \text{ kg/m}^2$, u 55% stwierdzono nadwagę ($\text{BMI } 25\text{-}30 \text{ kg/m}^2$), a u 25% chorych rozpoznano otyłość ($\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$). Średnie wartości skurczowego ciśnienia tętniczego krwi wynosiły $122,09 \text{ mmHg}$ a ciśnienia rozkurczowego $80,64 \text{ mmHg}$.

Grupę kontrolną stanowiło 31 zdrowych mężczyzn, u których średnie wartości skurczowego ciśnienia tętniczego krwi wynosiły $122,5 \text{ mmHg}$ a ciśnienia rozkurczowego $81,75 \text{ mmHg}$. Średnia wartość BMI w grupie kontrolnej wynosiła $25,72 \text{ kg/m}^2$. Nadwagę rozpoznano u 68% badanych, natomiast u żadnego z ochotników nie stwierdzono otyłości.

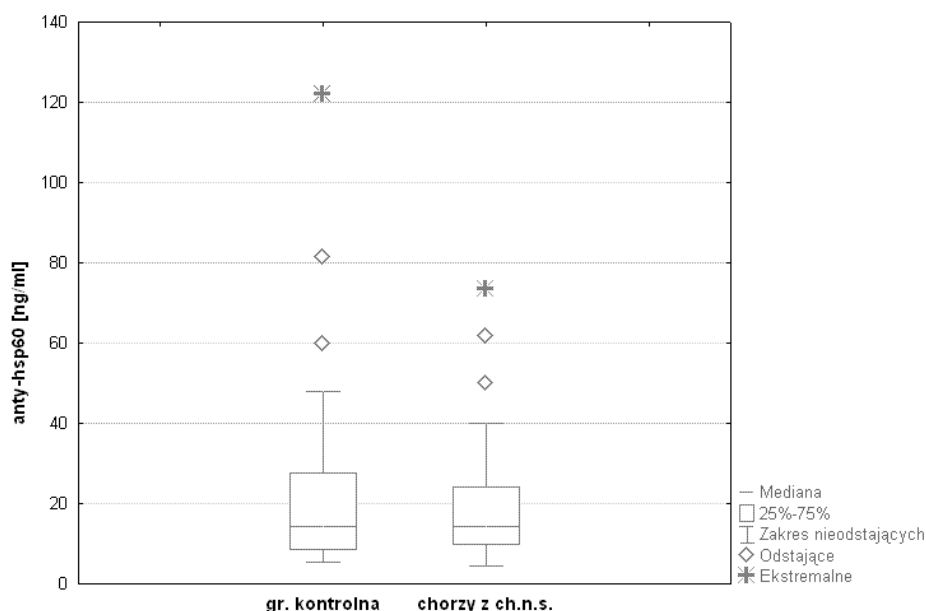
Porównanie obydwu grup ze względu na inne parametry wykazało, że średnie wartości skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego krwi, poziomu cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL i HDL nie różniły się. U osób z ch.n.s. poziom triglicerydów był istotnie statystycznie wyższy niż w grupie kontrolnej ($p = 0,02$). Poziom kreatyniny w surowicy krwi był znamienne statystycznie niższy u chorych z ch.n.s. ($p = 0,004$). Grupę osób z ch.n.s. charakteryzowała istotnie statystycznie wolniejsza akcja serca w porównaniu do grupy zdrowych ochotników ($p = 0,01$). Grupa osób z ch.n.s. charakteryzowała się istotnie statystycznie większym wskaźnikiem masy ciała w stosunku do osób zdrowych ($p = 0,003$).

2. Przeciwciała anti-hsp60 i anti-Chlamydia pneumoniae

U chorych z ch.n.s. nie obserwowano istotnie statystycznie wyższego poziomu przeciwciał anti-hsp60 w porównaniu z grupą kontrolną. Oba rozkłady były lewostronnie skośne ($p < 0,01$ dla testu Kołmogorowa-Smirnowa). Średnia wartość poziomu przeciwciał anti-hsp60 w grupie kontrolnej była nieco wyższa ($24,47 \pm 26,16$ ng/ml) niż w grupie badanej ($20,61 \pm 16,5$ ng/ml), ale nie uzyskała znamienności statystycznej ($p = 0,73$). Po odrzuceniu z grupy kontrolnej dwóch wartości ekstremalnych również nie uzyskano znamienności statystycznej w zakresie poziomu przeciwciał anti-hsp60 między porównywanymi grupami ($p = 0,34$), tabela V.

W badanej grupie poziom przeciwciał anti-hsp60 wynosił poniżej 24,3 ng/ml u 75% chorych, a poniżej 27,7ng/ml u 75% zdrowych ochotników. W obu grupach porównywalne były natomiast mediany poziomu przeciwciał anti-hsp60 (14,21 vs 14,39ng/ml). Przedstawia to rycina 6.

Rycina 6. Charakterystyka badanej grupy z ch.n.s. i grupy kontrolnej ze względu na poziom przeciwciał anti-hsp60.



U chorych z ch.n.s. nie obserwowano istotnie statystycznie wyższego poziomu przeciwciał anti-IgG Ch.p. w porównaniu z grupą kontrolną. Średnia wartość poziomu przeciwciał anti-IgG Ch.p. w grupie z ch.n.s. była wyższa ($94,4 \pm 98,98$ EIU) niż

w grupie kontrolnej ($67,23 \pm 82,87$ EIU), ale nie uzyskała znamienności statystycznej ($p = 0,22$).

W poziomie przeciwciał anty-IgA Ch.p. także nie stwierdzono znamienności statystycznej pomiędzy badanymi grupami ($p = 0,86$). Średnia wartość poziomu przeciwciał anty-IgA Ch.p. w grupie z ch.n.s wynosiła $12,71 \pm 16,94$ EIU, a w grupie osób zdrowych $11,7 \pm 12,84$ EIU (tabela V).

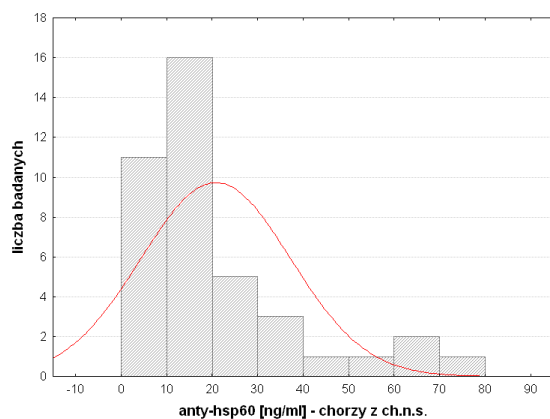
Na rycinie 7 przedstawiono rozkłady analizowanych zmiennych wraz z wynikiem testu Kołmogorowa-Smirnowa.

3. Białko hs-CRP, fibrynogen i leukocyty.

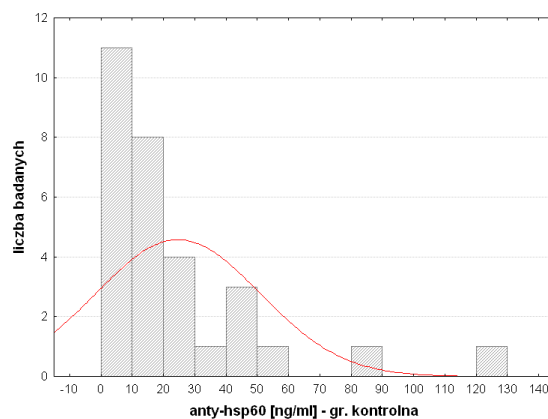
Analiza rozkładu badanych parametrów pokazała, że jedyną zmienną, która miała rozkład zbliżony do normalnego zarówno w grupie kontrolnej jak i w grupie chorych, był poziom leukocytów. Poniżej przedstawiono rozkłady analizowanych zmiennych wraz z wynikiem testu Kołmogorowa-Smirnowa (rycina 8).

Rycina 7. Rozkład przeciwciał anti-hsp60 oraz IgG i IgA anti-Ch.p. w obu analizowanych grupach.

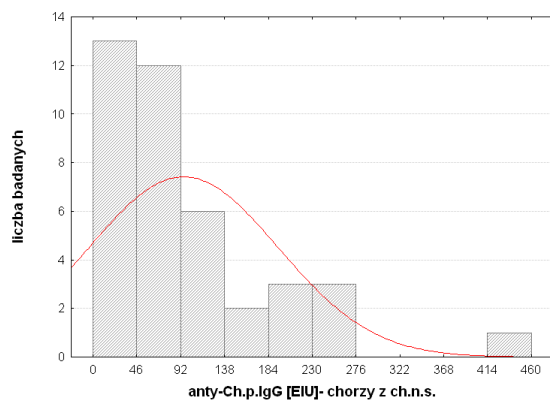
$p < 0,01$



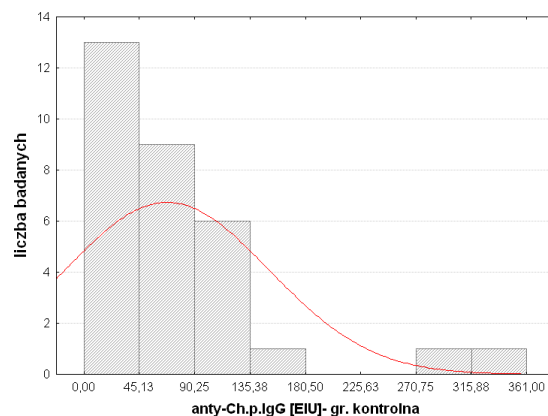
$p < 0,01$



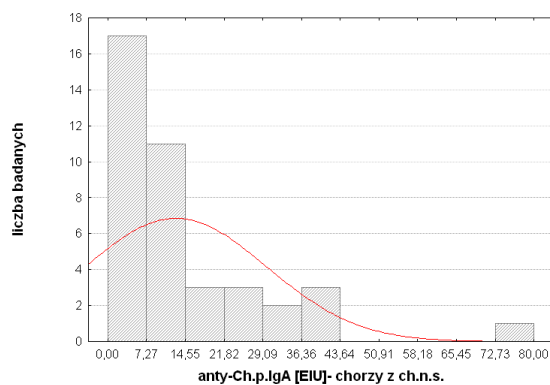
$p < 0,01$



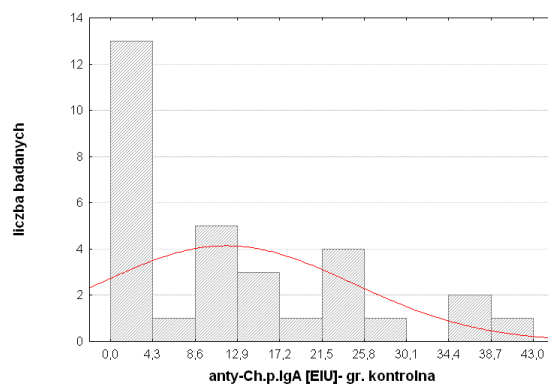
$p < 0,01$



$p < 0,01$

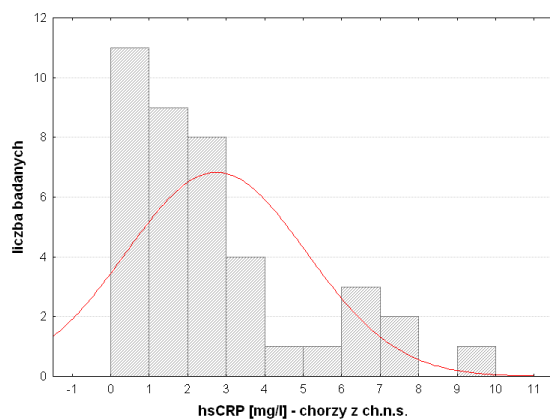


$p < 0,01$

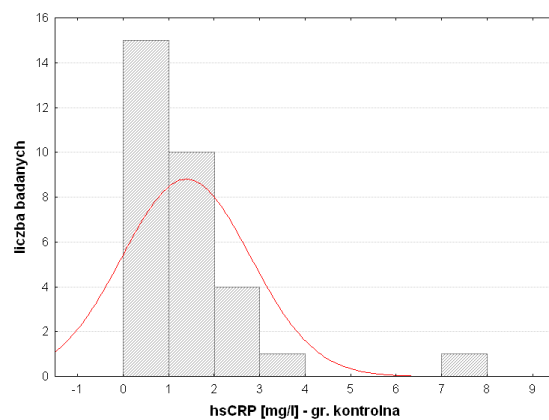


Rycina 8. Rozkład hsCRP, fibrynogenu i leukocytów w obu badanych grupach.

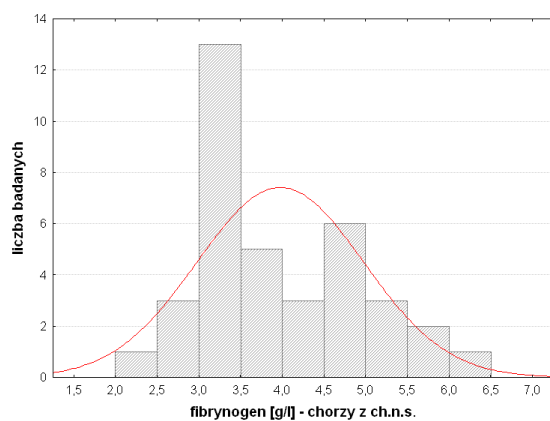
$p < 0,01$



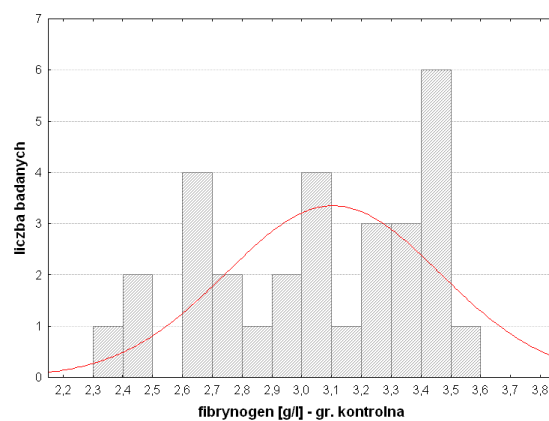
$p < 0,01$



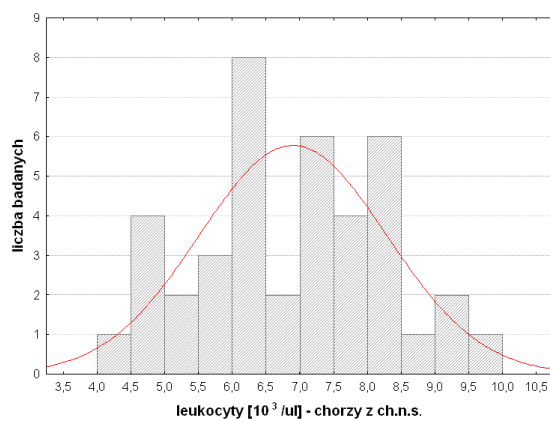
$p < 0,01$



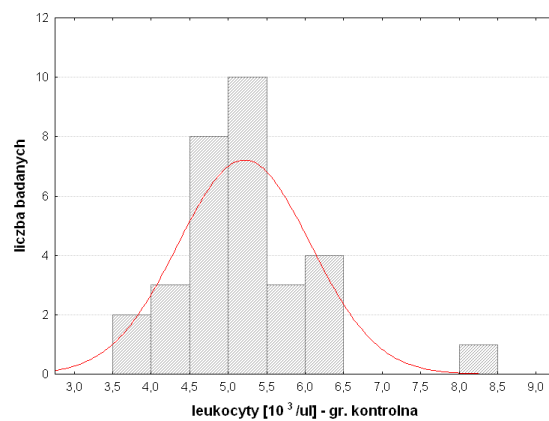
$p = 0,01$



$p > 0,5$



$p = 0,7$



U chorych z ch.n.s. stwierdzono istotnie statystycznie wyższy poziom hsCRP w porównaniu z grupą kontrolną ($p = 0,003$). Średnia wartość poziomu hsCRP w grupie osób chorych wynosiła $2,07 \pm 2,34$ mg/l, a w grupie kontrolnej $1,37 \pm 1,41$ mg/l (tabela V).

Po zaszeregowaniu wyników hsCRP do trzech przedziałów 0-1 mg/l, 1-3 mg/l i 3-10 mg/l stwierdzono istotnie statystycznie wyższy odsetek osób z $\text{hsCRP} > 3\text{mg/l}$ w grupie badanych z ch.n.s. w porównaniu do osób z grupy kontrolnej (30,0% vs 6,4%, $p = 0,03$), tabela VI.

Tabela V. Porównanie poziomu markerów zapalenia i infekcji pomiędzy badaną grupą z ch.n.s. a grupą kontrolną.

Parametr	chorzy z ch.n.s. (40)	gr. kontrolna (31)	p
hsCRP [mg/l]	$2,07 \pm 2,34$	$1,37 \pm 1,41$	0,003
Fibrynogen [g/l]	$3,96, \pm 0,99$	$3,1 \pm 0,36$	0,0002
Leukocyty [$10^3/\text{ul}$]	$6,89 \pm 1,38$	$5,2 \pm 0,86$	< 0,00001
anty-Ch.p.IgG [EIU]	$94,4 \pm 98,98$	$67,23 \pm 82,87$	0,22
anty-Ch.p.IgA [EIU]	$12,71 \pm 16,94$	$11,7 \pm 12,84$	0,86
anty-hsp60 [ng/ml]	$20,61 \pm 16,5$	$24,47 \pm 26,16$	0,73
	$20,61 \pm 16,5$	$18,94 \pm 16,4(29)^*$	0,34

p – grupa badana vs grupa kontrolna

* - wyniki po odrzuceniu wartości ekstremalnych

Poziom fibrynogenu w grupie osób z ch.n.s. był znamienne statystycznie wyższy w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej ($p = 0,0002$). Średnia wartość poziomu fibrynogenu u chorych z ch.n.s.wynosiła $3,96 \pm 0,99$ g/l, a w grupie kontrolnej $3,1 \pm 0,36$ g/l.

U chorych z ch.n.s. stwierdzono istotnie statystycznie wyższy poziom leukocytów w porównaniu z grupą kontrolną ($6,89 \pm 1,38$ vs $5,2 \pm 0,86 10^3/\text{ul}$, $p < 0,00001$). Powyższe dane przedstawiono w tabeli V.

Tabela VI. Rozkład hsCRP po podzieleniu wartości na trzy kategorie w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.

Parametr	chorzy z ch.n.s. (40)	gr. kontrolna (31)	<i>p</i>
hsCRP (0-1) mg/l	27,5% (11)	48,4% (15)	0,03
hsCRP (1-3) mg/l	42,5% (17)	45,2% (14)	
hsCRP (3-10) mg/l	30% (12)	6,4% (2)	

p – grupa badana vs grupa kontrolna

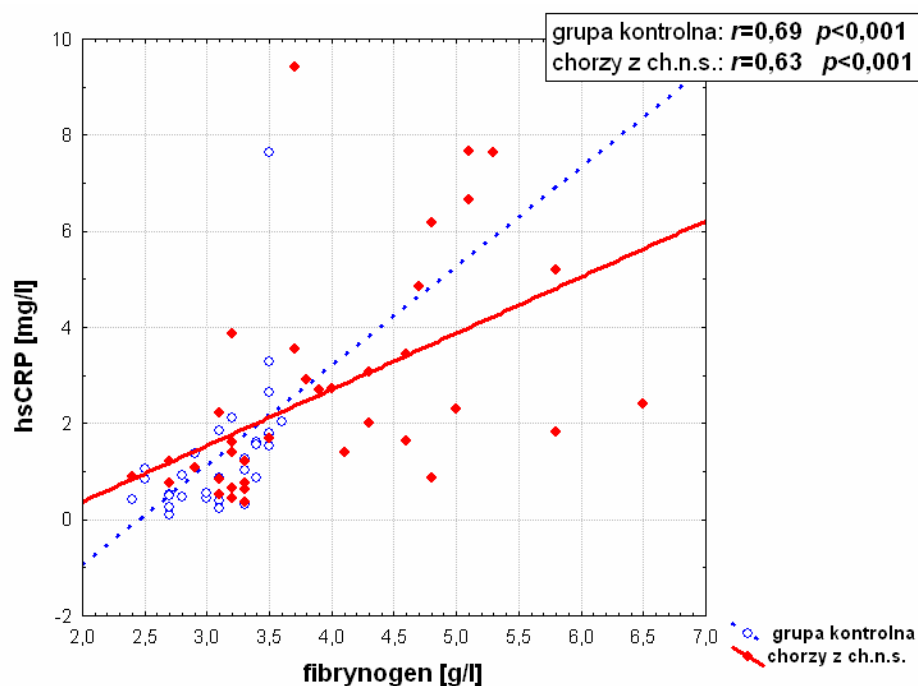
Modele regresji wieloczynnikowej, w których jako zmienne objaśniające użyto wiek oraz BMI wykazały, że różnice w poziomach leukocytów, hsCRP i fibrynogenu nadal zachowały istotność statystyczną.

4. Markery zapalenia i infekcji oraz parametry biochemiczne w grupie z chorobą niedokrwienną serca.

W grupie chorych z ch.n.s. stwierdzono istotną dodatnią korelację pomiędzy poziomem fibrynogenu a poziomem hsCRP ($r = 0,63$, $p < 0,001$). Podobną zależność obserwowano w grupie osób zdrowych ($r = 0,69$, $p < 0,001$). Przedstawia to rycina 9.

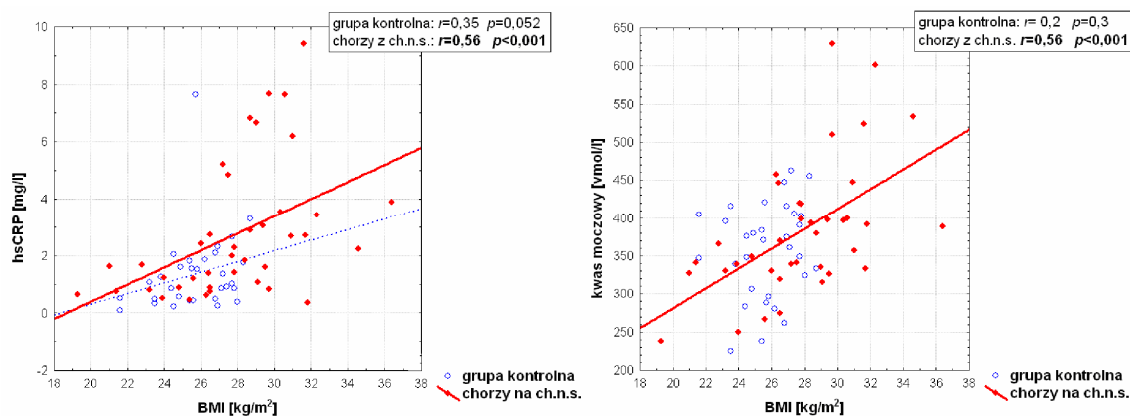
W grupie badanych z ch.n.s. stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy BMI a poziomem hsCRP i kwasu moczowego ($r = 0,56$, $p < 0,001$). W grupie kontrolnej wpływ BMI na poziom hsCRP pozostawał na granicy istotności statystycznej ($r = 0,35$, $p = 0,052$), rycina 10.

Rycina 9. Korelacja pomiędzy poziomem fibrynogenu a poziomem hsCRP w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.



r - współczynnik korelacji Spearman'a

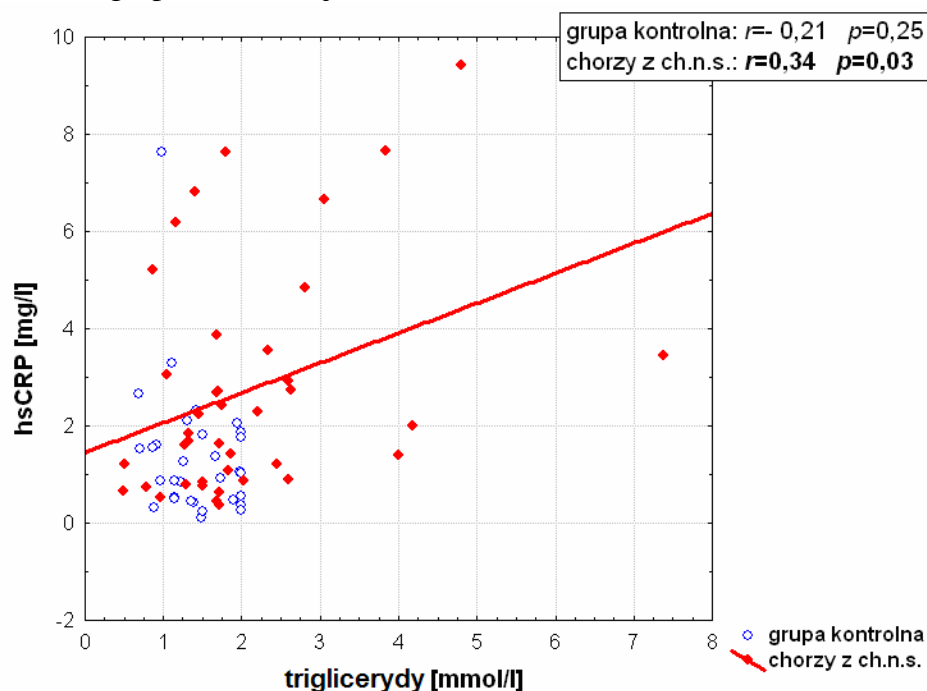
Rycina 10. Korelacje pomiędzy BMI a poziomem hsCRP i kwasu moczowego w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.



r - współczynnik korelacji Spearman'a

W grupie z ch.n.s. stwierdzono ponadto występowanie dodatniej korelacji pomiędzy poziomem hsCRP a poziomem triglicerydów ($r = 0,34$, $p = 0,03$). Zależności takiej nie obserwowano w grupie kontrolnej (rycina 11).

Rycina 11. Korelacja pomiędzy poziomem hsCRP a poziomem triglicerydów w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.

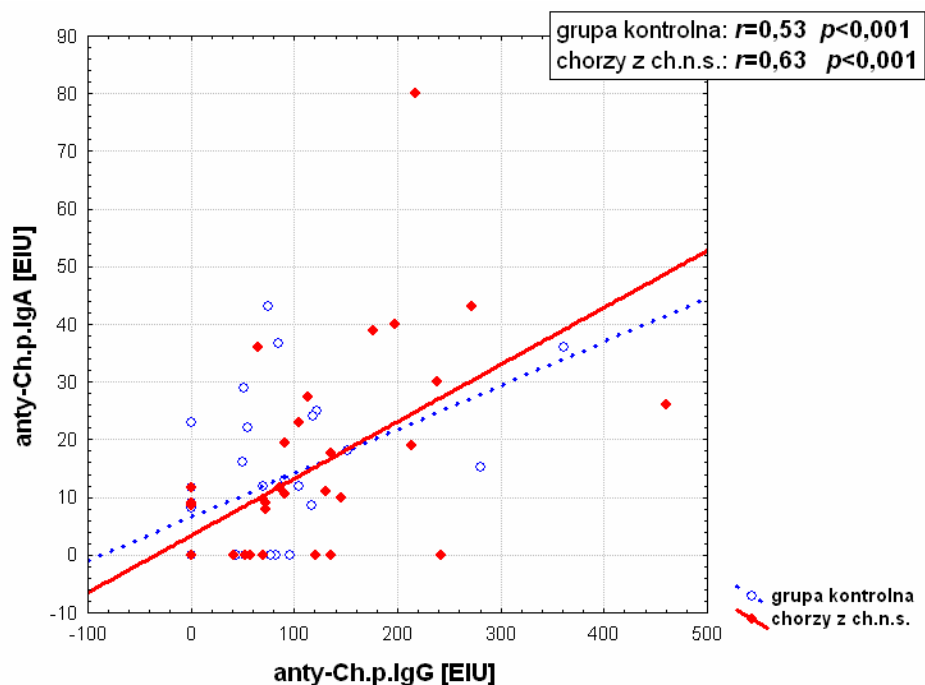


r - współczynnik korelacji Spearman'a

W obydwu analizowanych grupach poziom przeciwciał IgG anti-Ch.p. korelował z poziomem przeciwciał IgA anti-Ch.p. Dla grupy z ch.n.s. $r = 0,63$, $p < 0,001$, a dla grupy kontrolnej $r = 0,53$, $p < 0,001$ (rycina 12).

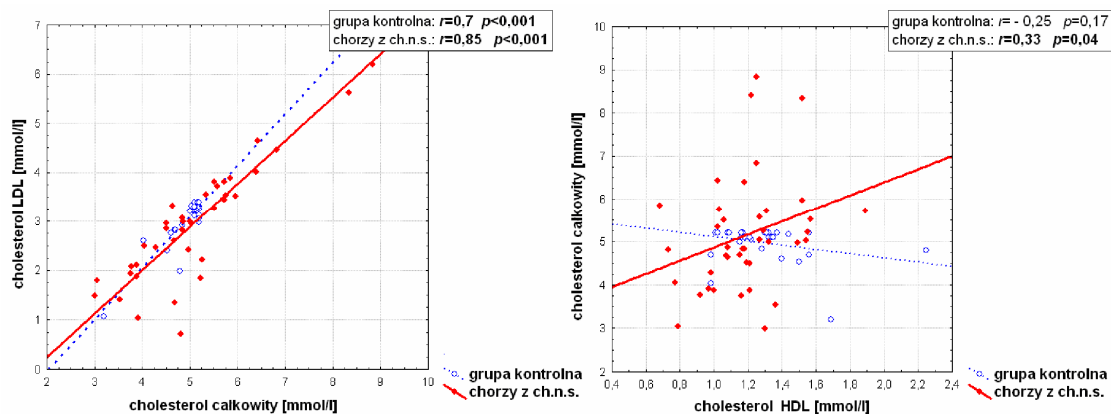
Stwierdzono występowanie dodatniej korelacji pomiędzy cholesterolem LDL a cholesterolem całkowitym. Zależność ta obserwowana była zarówno dla grupy z ch.n.s. ($r = 0,85$, $p < 0,001$) jak i dla grupy kontrolnej ($r = 0,7$, $p < 0,001$). Natomiast tylko w grupie z ch.n.s. stwierdzono wystąpienie dodatniej korelacji pomiędzy poziomem cholesterolu HDL a poziomem cholesterolu całkowitego ($r = 0,33$, $p = 0,04$) oraz ujemnej korelacji pomiędzy poziomem cholesterolu LDL a poziomem kwasu moczowego ($r = -0,39$, $p = 0,01$). W grupie kontrolnej zależności te miały odwrotne trendy niż w grupie z ch.n.s. lecz nie uzyskały znaczącości statystycznej. Powyższe zależności przedstawia rycina 13.

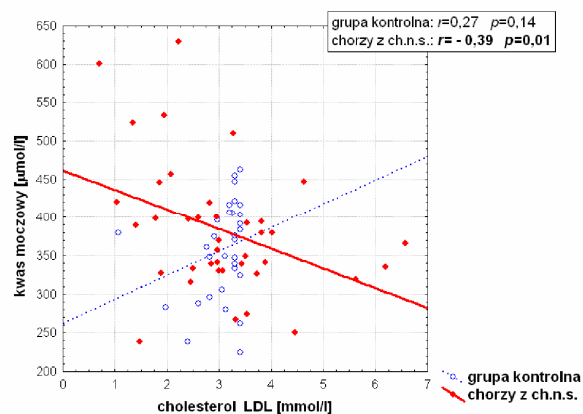
Rycina 12. Korelacja pomiędzy przeciwciałami IgG anty-Chlamydia pneumoniae a IgA anty-Ch.p. w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.



r - współczynnik korelacji Spearman'a

Rycina 13. Korelacje pomiędzy poziomem cholesterolu LDL a cholesterolu całkowitym, cholesterolu HDL a cholesterolu całkowitym oraz cholesterolu LDL a kwasem moczowym w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.





r - współczynnik korelacji Spearman'a

U osób ze stabilną chorobą niedokrwienną serca nie stwierdzono występowania korelacji pomiędzy poziomem przeciwciał anti-hsp60 a poziomami hsCRP ($r = 0,02$, $p = 0,9$), fibrynogenu ($r = -0,1$, $p = 0,56$), leukocytów ($r = 0,27$, $p = 0,09$) oraz poziomami przeciwciał IgG anti-Ch.p. ($r = 0,18$, $p = 0,27$) i IgA anti-Ch.p. ($r = 0,14$, $p = 0,4$). Korelacji tych nie obserwowano także w grupie osób zdrowych.

5. Seropozytywność w zakresie przeciwciał IgG i IgA anti-Chlamydia pneumoniae a markery zapalenia i wybrane parametry biochemiczne.

W grupie z ch.n.s. 70% chorych (28 osób) było seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG anti-Ch.p. w porównaniu do 58,06% z grupy kontrolnej (18 osób). Odsetek osób seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgA anti-Ch.p. w grupie z ch.n.s. wyniósł 42,5% (17 chorych), natomiast w grupie zdrowych ochotników odsetek ten wyniósł 45,16% (14 osób) - tabela VII.

Tabela VII. Odsetek osób seropozytywnych i seronegatywnych w zakresie przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.

Chlamydia pneumoniae	chorzy z ch.n.s. (40)	gr. kontrolna (31)	<i>p</i>
anty-Ch.p.IgG (+) [>45EIU]	70,0% (28)	58,06% (18)	0,29
anty-Ch.p.IgG (-) [<30EIU]	30,0% (12)	41,94% (13)	
anty-Ch.p.IgA (+) [>12 EIU]	42,5% (17)	45,16% (14)	0,82
anty-Ch.p.IgA (-) [<8EIU]	57,5% (23)	54,84% (17)	

p – grupa badana vs grupa kontrolna

Badani chorzy z ch.n.s seropozytywni w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p. mieli wyższy wskaźnik BMI ($p = 0,054$) oraz charakteryzowali się istotnie wyższymi poziomami leukocytów ($p = 0,00007$), hsCRP ($p = 0,025$) i fibrynogenu ($p = 0,025$) oraz istotnie niższymi poziomami kreatyniny ($p = 0,006$) w porównaniu do osób seropozytywnych w zakresie tych przeciwciał z grupy kontrolnej. Po usunięciu z analizy w obu badanych grupach wyników ekstremalnych stwierdzono istotnie statystycznie wyższy poziom przeciwciał anty-hsp60 ($p = 0,02$) u osób z ch.n.s. seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p. w porównaniu do osób seropozytywnych względem przeciwciał anty-IgG z grupy kontrolnej (tabela VIII).

U osób z ch.n.s. seronegatywnych w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p. stwierdzono istotnie statystycznie wyższy poziom fibrynogenu ($p = 0,002$) i leukocytów ($p = 0,004$) w porównaniu z osobami seronegatywnych w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p. z grupy kontrolnej. Natomiast poziom cholesterolu HDL oraz triglicerydów był istotnie statystycznie niższy w grupie osób z ch.n.s. seronegatywnych w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p. w porównaniu do osób seronegatywnych w zakresie tych przeciwciał z grupy kontrolnej ($p = 0,02$), tabela VIII.

W grupie badanych z ch.n.s. seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p. wykazano istotnie statystycznie wyższy poziom leukocytów ($p = 0,0005$) oraz istotnie statystycznie niższy poziom kreatyniny ($p = 0,02$) w porównaniu do zdrowych ochotników seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p.

Po odrzuceniu wyników ekstremalnych uzyskano znamienne statystycznie wyższy poziom przeciwciał anty-hsp60 ($p = 0,02$) w grupie osób z ch.n.s. seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p. w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej seropozytywnych w zakresie tych przeciwciał. Nie stwierdzono natomiast znamienych statystycznie różnic w poziomie hsCRP i fibrynogenu pomiędzy badanymi grupami (tabela IX).

Grupa osób z ch.n.s. seronegatywna względem przeciwciał IgA anty-Ch.p. charakteryzowała się istotnie statystycznie wyższym poziomem hsCRP ($p = 0,01$), fibrynogenu ($p = 0,001$), poziomem leukocytów ($p = 0,0003$) oraz triglicerydów ($p = 0,00009$), a niższym cholesterolem HDL ($p = 0,01$) w porównaniu do osób z grupy kontrolnej seronegatywnych w zakresie tych przeciwciał (tabela IX).

Tabela VIII. Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anty-hsp60 i wybranych parametrów biochemicznych pomiędzy badaną grupą chorych z ch.n.s. a grupą kontrolną.

a) seropozytywność w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p.

Parametr	chorzy z ch.n.s. anty-Ch.p.Ig.G (+) (28)	gr. kontrolna anty-Ch.p.Ig.G (+) (18)	p
hsCRP [mg/l]	2,4 ± 1,97	1,18 ± 0,82	0,025
Fibrynogen [g/l]	3,73 ± 0,86	3,12 ± 0,37	0,025
Leukocyty [10^3 /ul]	6,97 ± 1,39	5,29 ± 0,95	0,00007
anty-hsp60 [ng/ml]	23,12 ± 18,16	21,54 ± 21,48	0,22
	16,69 ± 8,53(24)*	11,26 ± 6,98(13)*	0,02
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,18 ± 1,31	4,94 ± 0,49	0,66
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,09 ± 1,24	3,0 ± 0,62	0,89
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,24 ± 0,26	1,33 ± 0,3	0,4
Triglicerydy [mmol/l]	1,88 ± 0,95	1,53 ± 0,4	0,29
Kwas moczowy [μ mol/l]	369,85 ± 81,08	346,39 ± 69,14	0,48
Kreatynina [μ mol/l]	75,48 ± 8,43	85,12 ± 13,58	0,006

b) seronegatywność w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p.

Parametr	chorzy z ch.n.s. anty-Ch.p.Ig.G (-) (12)	gr. kontrolna anty-Ch.p.Ig.G (-) (13)	p
hsCRP [mg/l]	3,49 ± 3,0	1,63 ± 1,96	0,06
Fibrynogen [g/l]	4,44 ± 1,11	3,07 ± 0,35	0,002
Leukocyty [10^3 /ul]	6,68 ± 1,41	5,07 ± 0,72	0,004
anty-hsp60 [ng/ml]	14,76 ± 9,59	28,29 ± 31,78	0,25
	12,45 ± 5,57(10)*	16,87 ± 9,31(12)*	0,34
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,09 ± 1,37	5,0 ± 0,34	0,41
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,09 ± 1,24	3,0 ± 0,62	0,38
Cholesterol HDL [mmol/l]	2,86 ± 1,44	3,15 ± 0,25	0,02
Triglicerydy [mmol/l]	1,08 ± 0,21	1,25 ± 0,25	0,02
Kwas moczowy [μ mol/l]	414,67 ± 93,38	372,92 ± 50,16	0,55
Kreatynina [μ mol/l]	81,32 ± 9,0	84,12 ± 11,59	0,57

p – grupa badana vs grupa kontrolna

* - wyniki po odrzuceniu wartości ekstremalnych

Tabela IX. Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anty-hsp60 i wybranych parametrów biochemicznych pomiędzy badaną grupą chorych z ch.n.s. a grupą kontrolną:

a) seropozytywność w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p.

Parametr	chorzy z ch.n.s. anty-Ch.p.Ig.A (+) (17)	gr. kontrolna anty-Ch.p.Ig.A (+) (14)	p
hsCRP [mg/l]	2,46 ± 2,2	1,22 ± 0,82	0,1
Fibrynogen [g/l]	3,82 ± 0,93	3,17 ± 0,34	0,08
Leukocyty [10^3 /ul]	6,29 ± 1,25	5,44 ± 1,04	0,0005
anty-hsp60 [ng/ml]	23,35 ± 15,13	16,52 ± 13,87	0,06
	19,02 ± 9,25(15)*	11,73 ± 7,17(12)*	0,02
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,07 ± 1,24	5,09 ± 0,16	0,92
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,05 ± 1,25	3,17 ± 0,38	0,51
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,24 ± 0,25	1,26 ± 0,32	0,68
Triglicerydy [mmol/l]	1,71 ± 0,96	1,61 ± 0,39	0,75
Kwas moczowy [μ mol/l]	377,25 ± 87,7	358,93 ± 64,26	0,74
Kreatynina [μ mol/l]	75,67 ± 5,99	85,31 ± 14,5	0,02

b) seronegatywność w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p.

Parametr	chorzy z ch.n.s. anty-Ch.p.Ig.A (-) (23)	gr. kontrolna anty-Ch.p.Ig.A (-) (17)	p
hsCRP [mg/l]	2,92 ± 2,46	1,5 ± 1,76	0,01
Fibrynogen [g/l]	4,06 ± 1,05	3,04 ± 0,37	0,001
Leukocyty [10^3 /ul]	6,85 ± 1,5	5,0 ± 0,65	0,0003
anty-hsp60 [ng/ml]	18,58 ± 17,34	31,42 ± 32,33	0,25
	13,92 ± 8,03(21)*	21,36 ± 16,45(14)*	0,29
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,22 ± 1,39	4,86 ± 0,54	0,91
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,0 ± 1,34	2,97 ± 0,57	0,82
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,15 ± 0,24	1,32 ± 0,18	0,01
Triglicerydy [mmol/l]	2,34 ± 1,46	1,27 ± 0,42	0,00009
Kwas moczowy [μ mol/l]	388,09 ± 87,14	365,35 ± 62,76	0,51
Kreatynina [μ mol/l]	78,12 ± 10,45	84,96 ± 11,22	0,11

p – grupa badana vs grupa kontrolna

* - wyniki po odrzuceniu wartości ekstremalnych

6. Markery zapalenia i infekcji, przeciwciała anty-hsp60 oraz wybrane parametry biochemiczne a ilość zajętych miażdżycowo naczyń i zaawansowanie choroby wieńcowej.

Zaawansowanie choroby wieńcowej w badanej grupie oceniano według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS). Grupę chorych podzielono na dwie grupy ze względu na stopień nasilenia bólu wieńcowego: klasę I (CCS I) - 26 chorych i klasę II (CCS II) - 14 chorych. Oceniano różnice w poziomach markerów zapalenia i infekcji pomiędzy tymi grupami. U badanych chorych zakwalifikowanych do CCS II poziom przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. miał tendencję do wyższych wartości niż u badanych z grupy CCS I jednak nie osiągnął znamienności statystycznej. W obu grupach nie zaobserwowano istotnych różnic w poziomach przeciwciał hsCRP, fibrynogenu, anty-hsp60 i leukocytów. Nie stwierdzono różnic w poziomach lipidów pomiędzy badanymi grupami chorych z ch.n.s. U chorych zaliczonych do CCS II obserwowano znamienne statystycznie wyższy poziom Aspat ($p = 0,03$) niż u chorych z grupy CCS I (tabela X, rycina 14).

Tabela X. Wartości markerów zapalenia i infekcji oraz wybrane parametry biochemiczne w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zaawansowania choroby wieńcowej według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS).

Parametr	ch.n.s. - CCS I (26)	ch.n.s. - CCS II (14)	p
hsCRP [mg/l]	2,62 ± 2,42	2,92 ± 2,25	0,28
Fibrynogen [g/l]	3,84 ± 0,95	4,16 ± 1,08	0,35
Leukocyty [10^3 /ul]	6,64 ± 1,5	7,33 ± 1,05	0,1
anty-hsp60 [ng/ml]	21,12 ± 17,34	19,66 ± 15	0,97
IgG anty-Ch.p. [EIU]	79,61 ± 74,94	121,86 ± 131,7	0,4
IgA anty-Ch.p.[EIU]	10,53 ± 17,41	16,76 ± 15,83	0,16
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,17 ± 1,79	5,13 ± 1,31	0,81
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,15 ± 1,14	2,77 ± 1,55	0,27
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,19 ± 0,22	1,19 ± 0,31	0,82
Triglicerydy [mmol/l]	1,82 ± 0,91	2,55 ± 1,76	0,19
AspAT [U/l]	26,7 ± 8,02	31,06 ± 12,00	0,03

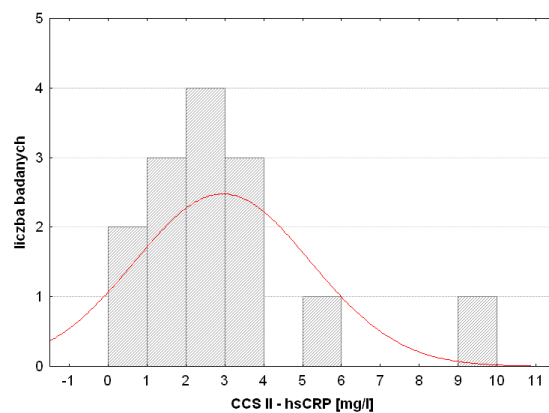
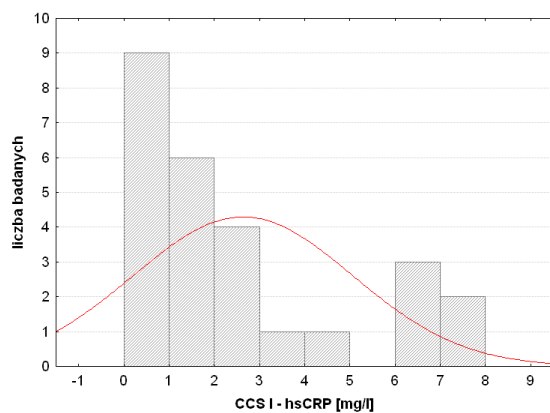
p – grupa CCS II vs grupa CCS I

71,42% osób z ch.n.s. zakwalifikowanych do CCS II było seropozytywne w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p. w porównaniu do 69,23% badanych zaliczonych do CCS I i seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p. Odsetek osób seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p. w grupie osób zaliczonych do CCS II wyniósł 50%, a w grupie osób seropozytywnych w zakresie przeciwciał anty-Ch.p. zakwalifikowanych do CCS I 38,47%. W analizowanych powyżej grupach nie uzyskano istotnych statystycznie różnic w częstości występowania infekcji przebytej i przetrwałej Ch.p. ($p = 0,88$ i $p = 0,48$) - tabela XI.

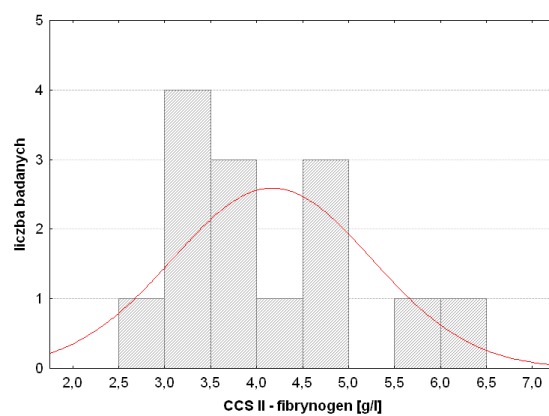
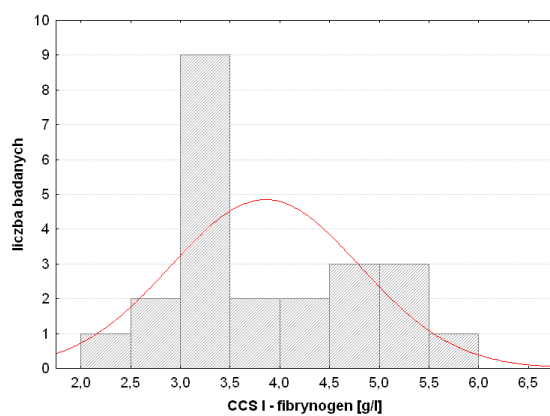
W grupie chorych z ch.n.s. zaliczonych do CCS II seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. nie stwierdzono istotnych różnic w poziomie leukocytów, fibrynogenu, hsCRP i przeciwciał anty-hsp60 w stosunku do chorych zakwalifikowanych do grupy CCS I seropozytywnych w zakresie tych przeciwciał.

Rycina 14. Markery zapalenia i infekcji w grupach chorych z ch.n.s. w zależności od zaawansowania choroby wieńcowej według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS).

a) hsCRP



b) fibrynogen



c) anty-hsp60

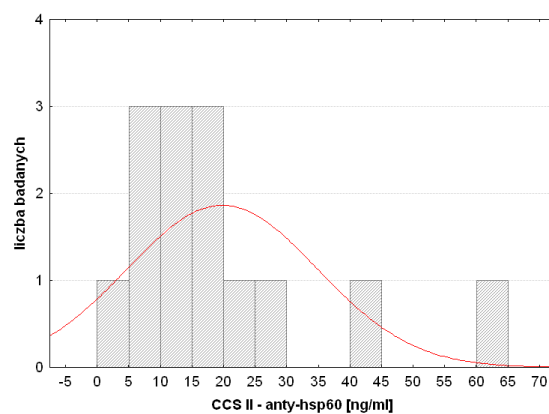
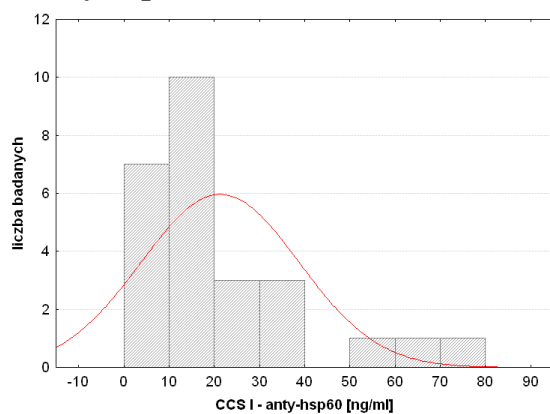


Tabela XI. Odsetek osób seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG i IgA anty-Chlamydia pneumoniae w grupie badanych z ch.n.s. w zależności od klasyfikacji Kandyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS).

Chlamydia pneumoniae	ch.n.s.-CCS I (26)	ch.n.s.-CCS II (14)	<i>p</i>
anty-Ch.p.IgG (+) [>45EIU]	69,23% (18)	71,42% (10)	0,88
anty-Ch.p.IgG (-) [<30EIU]	30,77% (8)	28,58% (4)	
anty-Ch.p.IgA (+) [>12 EIU]	38,47% (10)	50,0% (7)	0,48
anty-Ch.p.IgA (-) [<8EIU]	61,53% (16)	50,0% (7)	

p – grupa CCS II vs grupa CCS I

Chorzy z grupy CCS II seronegatywni w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p. charakteryzowali się wprawdzie istotnie statystycznie wyższym poziomem leukocytów w porównaniu do badanych z grupy CCS I seronegatywnych wobec przeciwciał IgG anty-Ch.p. ($p = 0,04$), ale z racji małej liczebności w analizowanych grupach wynik ten może być mało wiarygodny. Brak infekcji Ch.p. w klasie przeciwciał IgA również związany był ze znamienne statystycznie wyższym poziomem leukocytów w grupie badanych będących w CCS II w stosunku do chorych prezentujących objawy CCS I ($p = 0,01$). Poziom triglicerydów u badanych seronegatywnych względem przeciwciał IgA anty-Ch.p. z grupy CCS II był znamienne statystycznie wyższy w porównaniu do osób seronegatywnych względem tych przeciwciał zaliczonych do grupy CCS I ($p = 0,04$). W grupie badanych z CCS I stwierdzono wyższy poziom cholesterolu LDL w stosunku do grupy z CCS II co uzyskało znamienność statystyczną na granicy istotności ($p = 0,053$) - tabele XII, XIII.

Tabela XII. Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anty-hsp60 i wybranych parametrów biochemicznych w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zaawansowania choroby wieńcowej według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS I vs CCS II).

a) seropozytywność w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p.

Parametr	CCS I anty-Ch.p.IgG (+) (18)	CCS II anty-Ch.p.IgG (+) (10)	p
hsCRP [mg/l]	2,34 ± 2,27	2,5 ± 1,35	0,21
fibrynogen [g/l]	3,54 ± 0,77	4,01 ± 0,96	0,21
Leukocyty [10^3 /ul]	6,87 ± 1,59	7,14 ± 0,96	0,52
anty-hsp60 [ng/ml]	24,96 ± 19,54	19,8 ± 15,76	0,58
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,08 ± 1,24	5,36 ± 1,48	0,63
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,04 ± 1,04	3,16 ± 1,59	0,96
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,21 ± 0,22	1,28 ± 0,31	0,61
Triglicerydy [mmol/l]	1,81 ± 0,99	2,0 ± 0,91	0,52
Kwas moczowy [μ mol/l]	377,53 ± 95,66	356,8 ± 49,23	0,82
Kreatynina [μ mol/l]	76,29 ± 8,89	73,61 ± 7,54	0,37

b) seronegatywność w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p.

Parametr	CCS I anty-Ch.p.Ig.G (-) (8)	CCS II anty-Ch.p.Ig.G (-) (4)	p
hsCRP [mg/l]	3,24 ± 2,76	3,97 ± 3,81	0,61
Fibrynogen [g/l]	4,4 ± 1,03	4,52 ± 1,42	0,93
Leukocyty [10^3 /ul]	6,12 ± 1,16	7,82 ± 1,26	0,04
anty-hsp60 [ng/ml]	12,47 ± 5,35	19,31 ± 15,12	0,4
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,37 ± 1,61	4,53 ± 0,51	0,31
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,39 ± 1,36	1,78 ± 0,98	0,09
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,14 ± 0,2	0,97 ± 0,19	0,09
Triglicerydy [mmol/l]	1,83 ± 0,76	3,9 ± 2,73	0,15
Kwas moczowy [μ mol/l]	383,0 ± 67,89	478,0 ± 114,88	0,23
Kreatynina [μ mol/l]	76,6 ± 8,39	83,47 ± 10,54	0,62

p – grupa CCS II vs CCS I

Tabela XIII. Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anty-hsp60 i wybranych parametrów biochemicznych w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zaawansowania choroby wieńcowej według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS I vs CCS II).

a) seropozytywność w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p.

Parametr	CCS I anty-Ch.p.IgA (+) (10)	CCS II anty-Ch.p.IgA (+) (7)	p
hsCRP [mg/l]	2,36 ± 2,66	2,61 ± 1,49	0,17
Fibrynogen [g/l]	3,49 ± 0,76	4,2 ± 1,01	0,13
Leukocyty [10^3 /ul]	7,08 ± 1,52	6,7 ± 0,77	0,84
anty-hsp60 [ng/ml]	24,35 ± 13,12	21,93 ± 18,66	0,43
Cholesterol całkowity [mmol/l]	4,83 ± 0,93	5,42 ± 1,6	0,38
Cholesterol LDL [mmol/l]	2,81 ± 0,95	3,4 ± 1,61	0,49
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,2 ± 0,17	1,3 ± 0,35	0,43
Triglicerydy [mmol/l]	1,79 ± 1,22	1,58 ± 0,46	0,88
Kwas moczowy [μ mol/l]	392,78 ± 114,9 (9)	357,28 ± 28,26	0,34
Kreatynina [μ mol/l]	76,85 ± 6,8 (9)	73,0 ± 2,56	0,44

b) seronegatywność w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p.

Parametr	CCS I anty-Ch.p.IgA (-) (16)	CCS II anty-Ch.p.IgA (-) (7)	p
hsCRP [mg/l]	2,78 ± 2,32	3,24 ± 2,92	0,59
Fibrynogen [g/l]	4,03 ± 1,0 (15)	4,11 ± 1,22	0,91
Leukocyty [10^3 /ul]	6,36 ± 1,45	7,97 ± 0,23	0,01
anty-hsp60 [ng/ml]	19,1 ± 19,73	17,4 ± 11,26	0,5
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,38 ± 1,52	4,83 ± 1,0	0,32
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,37 ± 1,21	2,15 ± 1,3	0,053
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,18 ± 0,25	1,08 ± 0,25	0,24
Triglicerydy [mmol/l]	1,83 ± 0,7	3,51 ± 2,08	0,04
Kwas moczowy [μ mol/l]	371,68 ± 68,63	425,57 ± 117,09	0,19
Kreatynina [μ mol/l]	77,25 ± 10,18	79,6 ± 11,49	0,8

p – grupa CCS II vs CCS I

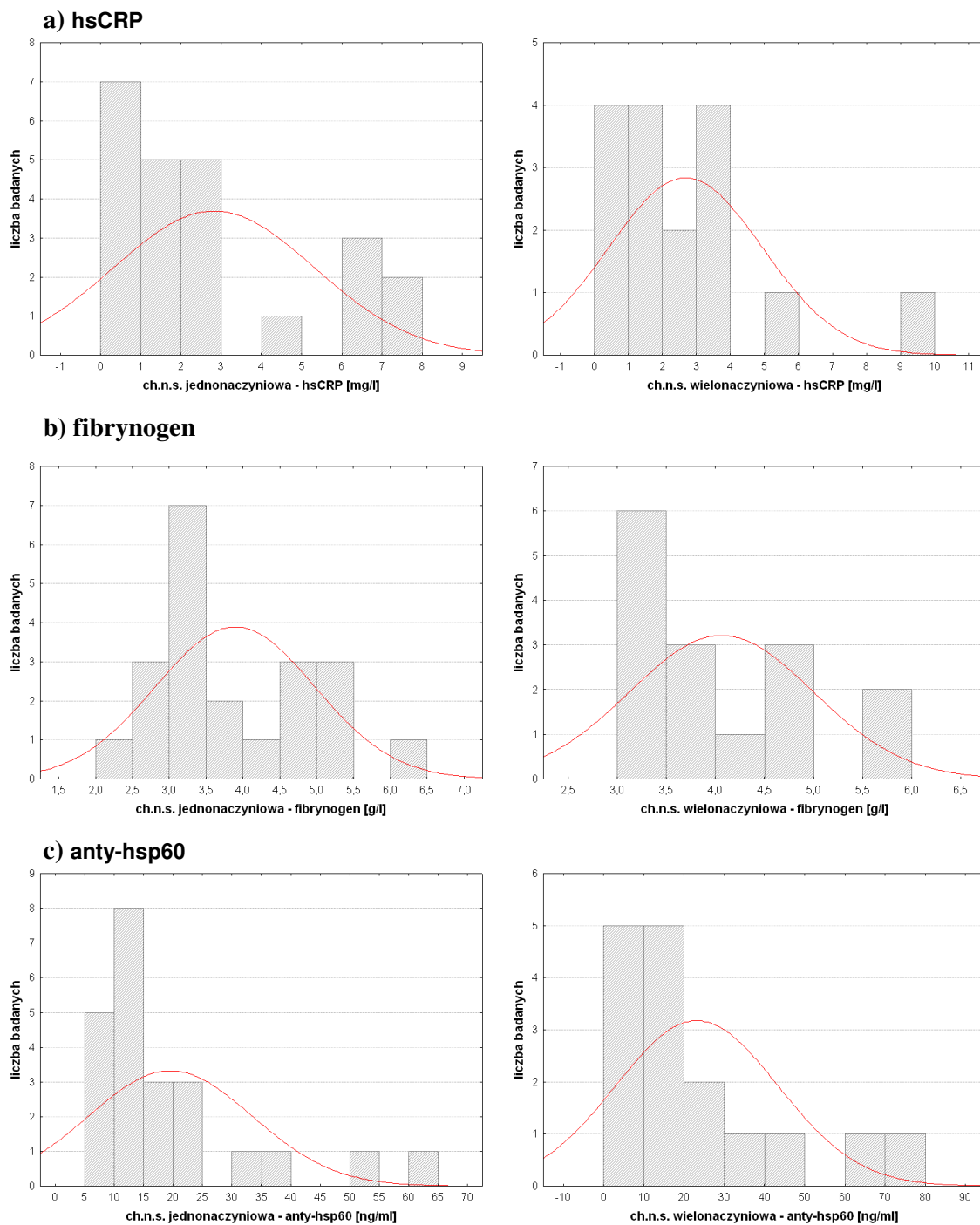
Grupę chorych z ch.n.s. podzielono na dwie grupy ze względu na ilość naczyń wieńcowych zajętych procesem miażdżycowym: chorobę jednonaczyniową i wielonaczyniową (2 lub 3 naczyniową) i badano różnice w poziomach markerów zapalenia i infekcji w tych grupach. U chorych z chorobą wieńcową wielonaczyniową nie obserwowano znamienne statystycznie wyższego poziomu leukocytów, fibrynogenu, hsCRP, przeciwciał anti-hsp60 oraz przeciwciał IgG i IgA anti-Ch.p.w stosunku do badanych z jednonaczyniową chorobą niedokrwienną serca. Nie stwierdzono również różnic statystycznych w innych parametrach biochemicznych pomiędzy tymi grupami. Wyniki analizy przedstawiono w tabeli XIV i rycinie 15.

Tabela XIV. Wartości markerów zapalenia i infekcji, przeciwciał anti-hsp60 oraz wybrane parametry biochemiczne w grupie badanych z ch.n.s. w zależności od ilości naczyń wieńcowych zajętych procesem miażdżycowym.

Parametr	ch.n.s. 1 naczyniowa (24)	ch.n.s. 2-3 naczyniowa (16)	p
hsCRP [mg/l]	2,8 ± 2,49	2,66 ± 2,25	0,8
Fibrynogen [g/l]	3,88 ± 0,08	4,05 ± 0,93	0,51
Leukocyty [10^3 /ul]	6,8 ± 1,38	6,9 ± 1,41	0,82
anti-hsp60 [ng/ml]	19,45 ± 13,82	22,97 ± 20,1	0,9
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,42 ± 1,34	4,85 ± 1,23	0,11
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,35 ± 1,25	2,66 ± 1,21	0,09
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,18 ± 0,21	1,22 ± 0,3	0,74
Triglicerydy [mmol/l]	1,95 ± 0,89	2,12 ± 1,7	0,51
IgG anti-Ch.p. [EIU]	101,69 ± 109,65	84,12 ± 87,43	0,68
IgA anti-Ch.p.[EIU]	13,57 ± 18,92	11,61 ± 14,69	0,95
AspAT [U/l]	27,67 ± 8,58	29,46 ± 7,53	0,44
Kreatynina [μ mol/l]	77,44 ± 9,0	77,43 ± 8,09	0,79

p – ch.n.s. 2-3 naczyniowa vs ch.n.s. 1 naczyniowa

Rycina 15. Markery zapalenia i infekcji w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od ilości naczyń wieńcowych zajętych procesem miażdżycowym.



W grupie osób z chorobą wielonaczyniową nie obserwowano wyższego odsetka osób seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. w stosunku do grupy z zajęciem miażdżycowo jednym naczyniem (tabela XV).

Tabela XV. Odsetek osób seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG i IgA anty-Ch. p. w grupie badanych z ch.n.s. w zależności od ilości naczyń zajętych procesem miażdżycowym.

Chlamydia pneumoniae	ch.n.s. 1 naczyniowa (24)	ch.n.s. 2-3 naczyniowa (16)	<i>p</i>
Anty-Ch.p.IgG (+) [>45EIU]	70,8% (17)	68,75% (11)	0,83
anty-Ch.p.IgG (-) [<30EIU]	29,2% (7)	31,25% (5)	
anty-Ch.p.IgA (+) [>12 EIU]	50,0% (10)	37,5% (6)	0,43
anty-Ch.p.IgA (-) [<8EIU]	50,0% (12)	62,5% (10)	

p – ch.n.s. 2-3 naczyniowa vs ch.n.s. 1 naczyniowa

W tabeli XVI i XVII przedstawiono dane dotyczące seropozytywności i seronegatywności wobec przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. w grupie pacjentów z chorobą jednonaczyniową i wielonaczyniową. W grupach tych nie obserwowano istotnych statystycznie różnic w poziomach hsCRP, fibrynogenu, leukocytów oraz przeciwciał anty-hsp60. Chorzy z jednonaczyniową chorobą wieńcową i seronegatywni w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p.charakteryzowali się wyższym poziomem LDL cholesterolu w porównaniu do badanych z wielonaczyniową chorobą niedokrwienną serca i seronegatywnych wobec przeciwciał IgA anty-Ch.p., lecz zależność ta nie była istotna statystycznie ($p = 0,07$). Ze względu na małą liczebność badanych w niektórych grupach trudno ocenić rzeczywiście występujące zależności.

Tabela XVI. Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anty-hsp60 i wybranych parametrów biochemicznych w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od ilości naczyń zajętych procesem miażdżycowym.

a) seropozytywność w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p.

Parametr	ch.n.s. 1 naczyniowa anty-Ch.p.Ig.G (+) (17)	ch.n.s. 2-3 naczyniowa anty-Ch.p.Ig.G (+) (11)	p
hsCRP [mg/l]	2,47 ± 2,33	2,33 ± 1,51	0,73
Fibrynogen [g/l]	3,58 ± 0,86	3,88 ± 0,91 (10)	0,36
Leukocyty [10^3 /ul]	7,02 ± 1,34	6,74 ± 1,48	0,77
anty-hsp60 [ng/ml]	21,93 ± 15,76	26,08 ± 22,08	0,67
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,4 ± 1,26	4,97 ± 1,4	0,27
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,29 ± 1,25	2,98 ± 1,14	0,46
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,21 ± 0,21	1,29 ± 0,31	0,52
Triglicerydy [mmol/l]	1,96 ± 0,95	1,54 ± 0,65	0,25
Kwas moczowy [μ mol/l]	368,25 ± 92,5	367,4 ± 66,63 (10)	0,89
Kreatynina [μ mol/l]	76,98 ± 9,57 (15)	73,43 ± 5,9 (7)	0,39

b) seronegatywność w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p.

Parametr	ch.n.s. 1 naczyniowa anty-Ch.p.Ig.G (-) (7)	ch.n.s. 2-3 naczyniowa anty-Ch.p.Ig.G (-) (5)	p
hsCRP [mg/l]	3,56 ± 2,86	3,39 ± 3,51	0,56
Fibrynogen [g/l]	4,47 ± 1,28	4,4 ± 0,97	0,77
Leukocyty [10^3 /ul]	6,28 ± 1,4	7,25 ± 1,34	0,56
anty-hsp60 [ng/ml]	13,77 ± 5,02	16,12 ± 14,52	1
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,46 ± 1,63	4,57 ± 0,79	0,56
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,49 ± 1,33	1,96 ± 1,16	0,56
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,09 ± 0,2	1,06 ± 0,23	0,56
Triglicerydy [mmol/l]	1,9 ± 0,78	3,38 ± 2,63	0,56
Kwas moczowy [μ mol/l]	381,86 ± 72,8	460,6 ± 107,27	0,56
Kreatynina [μ mol/l]	78,84 ± 7,81	84,42 ± 10,57	1

p – ch.n.s. 2-3 naczyniowa vs ch.n.s. 1 naczyniowa

Tabela XVII. Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anty-hsp60 i wybranych parametrów biochemicznych w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od ilości naczyń zajętych procesem miażdżycowym.

a) seropozytywność w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p.

Parametr	ch.n.s. 1 naczyniowa anty-Ch.p.Ig.A (+) (12)	ch.n.s. 2-3 naczyniowa anty-Ch.p.Ig.A (+) (6)	p
hsCRP [mg/l]	2,47 ± 2,48	2,44 ± 1,78	0,84
Fibrynogen [g/l]	3,73 ± 0,81 (9)	3,95 ± 1,15	0,72
Leukocyty [10^3 /ul]	7,08 ± 1,48	6,64 ± 0,65	0,84
anty-hsp60 [ng/ml]	25,25 ± 17,88	19,88 ± 8,4	0,92
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,29 ± 1,39	4,67 ± 0,87	0,36
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,2 ± 1,43	2,77 ± 0,9	0,61
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,22 ± 0,22	1,28 ± 0,33	1
Triglicerydy [mmol/l]	1,89 ± 1,09	1,37 ± 0,62	0,39
Kwas moczowy [μ mol/l]	392,36 ± 97,98	344,0 ± 53,22 (5)	0,31
Kreatynina [μ mol/l]	76,65 ± 6,48	72,4 ± 2,4	0,45

b) seronegatywność w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch.p.

Parametr	ch.n.s. 1 naczyniowa anty-Ch.p.Ig.A (-) (12)	ch.n.s. 2-3 naczyniowa anty-Ch.p.Ig.A (-) (10)	p
hsCRP [mg/l]	3,1 ± 2,57	2,97 ± 2,57	0,89
Fibrynogen [g/l]	4,0 ± 1,26	4,12 ± 0,82 (9)	0,7
Leukocyty [10^3 /ul]	6,53 ± 1,28	7,06 ± 1,74	0,51
anty-hsp60 [ng/ml]	14,13 ± 5,17	24,82 ± 24,98	1
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,54 ± 1,36	4,96 ± 1,44	0,19
Cholesterol LDL [mmol/l]	3,49 ± 1,1	2,6 ± 1,41	0,07
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,13 ± 0,21	1,19 ± 0,3	0,62
Triglicerydy [mmol/l]	2,0 ± 0,7	2,57 ± 2,01	0,82
Kwas moczowy [μ mol/l]	354,08 ± 71,77	425,7 ± 95,08	0,11
Kreatynina [μ mol/l]	78,24 ± 11,3 (10)	79,3 ± 9,84 (8)	0,86

p – ch.n.s. 2-3 naczyniowa vs ch.n.s. 1 naczyniowa

Grupa osób z ch.n.s. zakwalifikowana do leczenia przezskórną angioplastyką wieńcową z implantacją stentu lub poddana zabiegowi przezskórnej angioplastyki wieńcowej nie różniła się znamienne pod względem odsetka osób seropozytywnych i seronegatywnych w zakresie infekcji IgG i IgA anty-Ch.p. - tabela XVIII.

Tabela XVIII. Odsetek osób seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG i IgA anty-Ch. p. w grupie badanych z ch.n.s. w zależności od zastosowanej metody leczenia.

Chlamydia pneumoniae	ch.n.s. PTCA+stent (26)	ch.n.s. PTCA (14)	<i>p</i>
anty-Ch.p.IgG (+) [>45EIU]	69,23% (18)	71,43% (10)	0,82
anty-Ch.p.IgG (-) [<30EIU]	30,77% (8)	28,57% (4)	
anty-Ch.p.IgA (+) [>12 EIU]	42,3% (11)	42,86% (6)	0,97
anty-Ch.p.IgA (-) [<8EIU]	57,7% (15)	57,14% (8)	

p – ch.n.s. PTCA vs PTCA + stent

Badani, u których wykonano zabieg przezskórnej angioplastyki wieńcowej z implantacją stentu w zakresie zmienionego naczynia nie charakteryzowali się istotnie statystycznie wyższym poziomem hsCRP, fibrynogenu, leukocytów, przeciwciał anty-hsp60 oraz przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p.w stosunku do osób poddanych leczeniu za pomocą przezskórnej angioplastyki wieńcowej. Nie stwierdzono istotnych różnic w poziomach innych parametrów biochemicznych pomiędzy tymi grupami (tabela XIX).

Poziom hsCRP u badanych seropozytywnych względem przeciwciał IgG anty-Ch.p. poddanych angioplastyce wieńcowej z implantacją stentu był wyższy w porównaniu do poziomu tego markera u osób seronegatywnych względem tych przeciwciał a poddanych zabiegowi angioplastyki wieńcowej, ale nie osiągnął znamienności statystycznej ($p = 0,07$). W grupie badanych poddanych zabiegowi angioplastyki wieńcowej seronegatywnych w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p. stwierdzono istotnie statystycznie wyższy poziom kreatyniny w stosunku do grupy leczonej za pomocą angio-

plastyki wieńcowej z implantacją stentu seronegatywnych w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p ($p = 0,04$) - tabela XX.

Analiza badanych markerów zapalenia, przeciwciał anty-hsp60 i wybranych parametrów biochemicznych w grupach seropozytywnych i seronegatywnych wobec przeciwciał IgA anty-Ch.p. nie wykazała znamienności statystycznej badanych wskaźników między ocenianymi grupami w zależności od zastosowanej metody leczenia (tabela XXI).

Tabela XIX. Wartości markerów zapalenia, infekcji oraz wybrane parametry biochemiczne w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zastosowanego leczenia.

Parametr	ch.n.s. PTCA+stent (26)	ch.n.s. PTCA (14)	<i>p</i>
hsCRP [mg/l]	3,03 ± 2,38	2,16 ± 2,23	0,17
Fibrynogen [g/l]	4,02 ± 1,01 (23)	3,86 ± 0,99	0,72
Leukocyty [10^3 /ul]	6,95 ± 1,43	6,74 ± 1,33	0,67
anty-hsp60 [ng/ml]	21,01 ± 17,17	19,86 ± 15,49	0,76
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,06 ± 1,02	5,32 ± 1,77	0,71
Cholesterol LDL [mmol/l]	2,87 ± 1,14	3,29 ± 1,53	0,7
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,18 ± 0,27	1,21 ± 0,21	0,47
Triglicerydy [mmol/l]	2,22 ± 1,53	1,81 ± 0,65	0,91
IgG anty-Ch.p. [EIU]	84,5 ± 99,38	112,78 ± 99,18	0,29
IgA anty-Ch.p.[EIU]	11,0 ± 12,47	15,89 ± 23,33	0,96
Kreatynina [μ mol/l]	76,07 ± 7,29	79,44 ± 11,73	0,33

p – ch.n.s. PTCA vs PTCA + stent

Tabela XX. Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anty-hsp60 i wybranych parametrów biochemicznych i w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zastosowanej metody leczenia.

a) seropozytywność w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch. p.

Parametr	ch.n.s. PTCA+stent anty-Ch.p.Ig.G (+) (18)	ch.n.s. PTCA anty-Ch.p.Ig.G (+) (10)	p
hsCRP [mg/l]	2,97 ± 2,2	1,37 ± 0,78	0,07
Fibrynogen [g/l]	3,84 ± 0,84 (15)	3,58 ± 0,92	0,48
Leukocyty [10^3 /ul]	7,15 ± 1,32	6,64 ± 1,52	0,51
anty-hsp60 [ng/ml]	23,29 ± 19,29	22,82 ± 16,91	0,9
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,12 ± 1,15	5,3 ± 1,62	0,67
Cholesterol LDL [mmol/l]	2,97 ± 1,14	3,3 ± 1,44	0,76
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,24 ± 0,28	1,22 ± 0,23	0,98
Triglicerydy [mmol/l]	1,98 ± 1,1	1,7 ± 0,66	0,98
Kwas moczowy [μ mol/l]	377,23 ± 80,98	357,3 ± 84,0	0,96
Kreatynina [μ mol/l]	75,26 ± 7,86	75,89 ± 9,97	0,89

b) seronegatywność w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch. p.

Parametr	ch.n.s. PTCA+stent anty-Ch.p.Ig.G (-) (8)	ch.n.s. PTCA anty-Ch.p.Ig.G (-) (4)	p
hsCRP [mg/l]	3,16 ± 2,9	4,14 ± 3,52	0,87
Fibrynogen [g/l]	4,37 ± 1,26	4,57 ± 0,9	0,67
Leukocyty [10^3 /ul]	6,52 ± 1,65	7,01 ± 0,81	0,4
anty-hsp60 [ng/ml]	15,89 ± 10,28	12,48 ± 8,95	0,61
Cholesterol całkowity [mmol/l]	4,94 ± 0,68	5,38 ± 2,37	0,86
Cholesterol LDL [mmol/l]	2,65 ± 1,19	3,27 ± 2,0	1
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,04 ± 0,22	1,16 ± 0,16	0,23
Triglicerydy [mmol/l]	2,75 ± 2,25	2,07 ± 0,66	0,67
Kwas moczowy [μ mol/l]	432,12 ± 105,18	379,75 ± 61,0	0,4
Kreatynina [μ mol/l]	77,8 ± 6,05 (7)	93,65 ± 6,15 (2)	0,04

p – ch.n.s. PTCA vs PTCA + stent

Tabela XXI. Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anty-hsp60 i wybranych parametrów biochemicznych w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zastosowanej metody leczenia.

a) seropozytywność w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch. p.

Parametr	ch.n.s. PTCA+stent anty-Ch.p.Ig.A (+) (11)	ch.n.s. PTCA anty-Ch.p.Ig.A (+) (6)	<i>p</i>
hsCRP [mg/l]	3,1 ± 2,5	1,28 ± 0,64	0,19
Fibrynogen [g/l]	3,78 ± 1,0	3,88 ± 0,91	0,72
Leukocyty [10^3 /ul]	6,81 ± 1,29	7,13 ± 1,24	0,69
anty-hsp60 [ng/ml]	20,38 ± 12,45	28,8 ± 19,17	0,37
Cholesterol całkowity [mmol/l]	4,94 ± 0,89	5,31 ± 1,79	0,76
Cholesterol LDL [mmol/l]	2,9 ± 0,98	3,33 ± 1,73	0,76
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,23 ± 0,3	1,27 ± 1,15	0,48
Triglicerydy [mmol/l]	1,78 ± 1,13	1,57 ± 0,62	0,76
Kwas moczowy [μ mol/l]	389,5 ± 100,71	356,83 ± 63,38	0,91
Kreatynina [μ mol/l]	75,16 ± 6,11	76,82 ± 6,44	0,67

b) seronegatywność w zakresie przeciwciał IgA anty-Ch. p.

Parametr	ch.n.s. PTCA+stent anty-Ch.p.Ig.A (-) (15)	ch.n.s. PTCA anty-Ch.p.Ig.A (-) (8)	<i>p</i>
hsCRP [mg/l]	2,97 ± 2,37	2,82 ± 2,79	0,65
Fibrynogen [g/l]	4,18 ± 1,03 (14)	3,85 ± 1,12	0,52
Leukocyty [10^3 /ul]	7,06 ± 1,55	6,45 ± 1,4	0,37
anty-hsp60 [ng/ml]	21,47 ± 20,37	13,16 ± 7,96	0,37
Cholesterol całkowity [mmol/l]	5,15 ± 1,12	5,33 ± 1,87	0,8
Cholesterol LDL [mmol/l]	2,85 ± 1,28	3,27 ± 1,5	0,75
Cholesterol HDL [mmol/l]	1,14 ± 0,25	1,16 ± 0,24	0,6
Triglicerydy [mmol/l]	2,53 ± 1,74	1,98 ± 0,66	0,75
Kwas moczowy [μ mol/l]	398,34 ± 87,42	368,87 ± 89,07	0,6
Kreatynina [μ mol/l]	76,7 ± 8,19 (13)	81,18 ± 14,61 (6)	0,33

p – ch.n.s. PTCA vs PTCA + stent

VI OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

1. Białka szoku cieplnego 60/65

Białka szoku cieplnego należą do konserwatywnych białek występujących prawie u wszystkich organizmów. Białka te produkowane są zarówno przez człowieka, jak i przez mikroorganizmy np. przez *Chlamydiae pneumoniae* i mykobakterie. W prawidłowych warunkach obecne są głównie w mitochondriach, gdzie biorą udział w stabilizowaniu ich białek oraz ułatwianiu transportu przez błonowy wewnątrz komórki. Pojawienie się tak ludzkich jak i pochodzących od chlamydii białek szoku cieplnego na powierzchni komórek śródbłona prowadzić może do cytotoksycznej reakcji autoimmunologicznej zależnej od dopełniacza lub przeciwciał, a tym samym inicjować proces miażdżycowy. Zwiększona ilość hsp60 obserwowana była w komórkach śródbłona, makrofagach oraz w komórkach mięśni gładkich u ludzi ze zmianami miażdżycowymi [128, 129].

Veresa i wsp. oraz Burian i wsp., wykazali, iż pomimo 75% homologii mykobakteryjnego hsp65 i ludzkiego hsp60 poziomy ich przeciwciał są tylko słabo skorelowane i w związku z tym w badaniach na ludziach należy skupić się na odpowiedzi immunologicznej na ludzkie białka szoku cieplnego [130, 131].

Badania przeprowadzone przez Xu i wsp. w losowo wybranej 867-osobowej grupie 40-79-letnich mieszkańców Brunico wykazały korelacje pomiędzy wyższymi poziomami przeciwciał przeciwko hsp60/65, a ryzykiem miażdżycy mierzonej grubością tętnic szyjnych. Badacze ci znaleźli wykrywalne stężenia hsp60 w surowicy u 2/3 badanej populacji [132].

U 20% badanych stężenie hsp60 sięgało 280-11 000 ng/ml czemu towarzyszyły większe miana przeciwciał skierowanych przeciwko hsp60, chlamydiom i lipopolisacharydom *E.coli*, większe stężenie alfa1-antytrypsyny, ceruloplazminy, CRP, endotoksyny i rozpuszczalnej cząsteczki adhezji międzykomórkowej, a także częstsze występowanie przewlekłych infekcji w porównaniu z chorymi o stężeniu hsp60/65 < 280 ng/ml. Zdaniem autorów hsp60 ułatwia rozwój miażdżycy w sposób podobny do cy-

tokin stymulując bezpośrednio receptor (CD40L) dla $\text{TNF}\alpha$ i metaloproteinaz zębów przez komórki ściany naczyniowej i makrofagi [133, 134].

Praca własna, jak dotychczas jest jedną z niewielu, która bada poziom ludzkich przeciwciał anty-hsp60 u chorych ze stabilną postacią choroby wieńcowej, u których nie stwierdzono wcześniej innych klasycznych czynników ryzyka tej choroby.

W badaniu własnym nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic w poziomie przeciwciał anty-hsp60 pomiędzy grupą z ch.n.s. a grupą kontrolną. Nie wykazano także istotnych statystycznie różnic zarówno pomiędzy chorymi ze stopniem nasilenia dusznicy bolesnej CCS I i chorymi z nasileniem dusznicy bolesnej CCS II, jak również pomiędzy chorymi z ch.n.s. jednonaczyniową i wielonaczyniową.

Bardzo podobne wyniki uzyskał Mahdi i wsp., którzy w 250 osobowej grupie z ch.n.s. oznaczali ludzkie przeciwciała IgG anty-hsp60. Badacze ci nie wykazali obecności podwyższonego poziomu tych przeciwciał w grupie badanych z ch.n.s. w porównaniu z grupą kontrolną [135].

W badaniu przeprowadzonym przez Hoppichler i wsp. wykazano wyższy poziom przeciwciał anty-hsp65 u chorych z ch.n.s. w porównaniu do grupy chorych z zawałem serca i grupy kontrolnej [136].

W pracy oceniającej związek pomiędzy nasileniem zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych u 391 pacjentów poddanych koronarografii, a mianem przeciwciał anty-hsp60, Zhu i wsp. wykazali występowanie tych przeciwciał u 85% osób z chorobą trójnaczyniową w stosunku do 65% w grupie osób bez choroby wieńcowej [137].

W badaniu własnym nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic w poziomie przeciwciał anty-hsp60 pomiędzy grupą z ch.n.s. a grupą kontrolną. Nie wykazano także istotnych statystycznie różnic zarówno pomiędzy chorymi ze stopniem nasilenia dusznicy bolesnej CCS I i chorymi z nasileniem dusznicy bolesnej CCS II, jak również pomiędzy chorymi z ch.n.s. jednonaczyniową i wielonaczyniową.

W wykonanym badaniu nie stwierdzono występowania wyższych wartości przeciwciał anty-hsp60 pomiędzy grupą z ch.n.s. a grupą kontrolną w zależności od ilości naczyń zajętych procesem miażdżycowym. Nie obserwowano również istotnie statystycznie wyższego poziomu tych przeciwciał pomiędzy badanymi grupami w za-

leżności od nasilenia ch.n.s. według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego.

Huittinen i wsp. w prospektywnym kohortowym badaniu trwającym 8,5 roku przeprowadzonym w 4081 osobowej grupie Finów wykazali, iż przeciwciała IgA a nie IgG przeciw ludzkiemu hsp60 dwukrotnie zwiększają ryzyko zawału lub śmierci z przyczyn sercowych. Ryzyko to jest większe, gdy podwyższony poziom przeciwciał IgA anty-hsp60 występuje razem z podniesionym poziomem przeciwciał IgA anty-Ch.p. oraz podniesionym poziomem białka CRP po uwzględnieniu wieku i palenia tytoniu (OR 5.0 95% CI 1,8-14,2) [138].

Birnie i wsp. w 2005 roku w trwającej jeden rok obserwacji stwierdzili, że podwyższony poziom przeciwciał anty-hsp60 u chorych z ostrym bólem w klatce piersiowej związany był z dalszym niekorzystnym rokowaniem sercowym [139].

Na uwagę zasługuje jednak fakt, iż grupa z ch.n.s w pracy własnej leczona była statynami, które obniżają poziom przeciwciał przeciw białkom szoku cieplnego 60/65, co może ostatecznie wpłynęło na wynik przeprowadzonego badania. Wyniki te są zgodne z badaniem Ghayour-Mobarhan, w którym także nie stwierdzono istotnych różnic w poziomie przeciwciał anty-hsp60 w grupie chorych z ch.n.s w porównaniu z grupą kontrolną [140].

Istotnym elementem w zapobieganiu miażdżycy jest poszukiwanie nowych biochemicznych i immunologicznych markerów o wartości prognostyczno- rokowniczej, a do takich wskaźników zaliczane są obecnie białka szoku cieplnego. To marker powstawania i progresji zmian miażdżycowych, ale jego zastosowanie w praktyce klinicznej wymaga dalszych badań [141, 142].

2. HsCRP

W klinice oznaczenie hsCRP powinno być wykonane u osoby bez aktualnego, czy przebytego niedawno procesu zapalnego, czemu odpowiadają poziomy CRP powyżej 15mg/l. Oznaczenie hsCRP wykonuje się około 2-3 tygodnie po infekcji, czy urazie, kiedy poziomy CRP wracają do wartości prawidłowych. Znaczenie prognostyczne badania zwiększa się przy wykonaniu dwóch pomiarów w odstępie miesiąca.

W praktyce klinicznej nie jest to łatwe, wobec czego zaleca się weryfikację wyników hsCRP $>5\text{mg/l}$ celem eliminacji bezobjawowej infekcji. Mimo wątpliwości, co do wartości punktu odcięcia przyjmuje się, że w prewencji pierwotnej poziom powyżej $2,1\text{mg/l}$ wskazuje na istotny wzrost ryzyka. Korzyści z oznaczeń poziomu hsCRP spodziewać się należy u osób z innymi czynnikami ryzyka oraz posiadających krewnych pierwszego i drugiego stopnia, u których rozpoznano przedwczesną chorobą niedokrwinną serca [143].

W prewencji wtórnej przyjmuje się punkt odcięcia dla hsCRP wynoszący 3mg/l , od którego wzrasta zagrożenie incydentami wieńcowymi. HsCRP stratyfikuje ryzyko u chorych ze stabilną i niestabilną dusznicą bolesną (przydatne jest oznaczenie poziomu troponin) oraz określa prawdopodobieństwo restenozy po angioplastyce naczyń wieńcowych [144].

Dodatkowo oznaczenie poziomu hsCRP może stać się cenną wskazówką w wyborze odpowiedniej farmakoterapii. Pacjenci z poziomem hsCRP $> 2,1\text{mg/l}$ odnoszą korzyść z leczenia aspiryną w przeciwieństwie do chorych, u których wartość hsCRP wynosi $< 0,55\text{mg/l}$ [145].

W badaniu CARE (*Cholesterol and Recurrent Events*) wykazano, że u osób ze stabilną ch. n. s. i uprzednio przebytym zawałem, które otrzymywały prawastatynę częstość ponownych zawałów lub śmiertelnych incydentów wieńcowych była o 24% mniejsza w porównaniu do grupy otrzymującej placebo. Zmniejszenie ryzyka było większe (54%) u chorych z podwyższonymi poziomami hsCRP w porównaniu do badanych o niskich wartościach hs-CRP (25%) przy porównywalnych w obu grupach poziomach lipidów. Leczenie prawastatyną było związane z 17,4% zmniejszeniem mediany poziomu hsCRP, w porównaniu do grupy otrzymującej placebo, w której wzrosło po pięciu latach obserwacji o 4,2% [100].

Badania ostatnich lat wskazują na doniosłą rolę ultraczułego CRP jako predyktora ryzyka zawału i nagłej śmierci sercowej.

Haverkate i wsp. w badaniu ECAT (*European Action on Thrombosis and Disabilities*) obserwowali przez dwa lata 2121 pacjentów ze stabilną i niestabilną chorobą wieńcową stwierdzając w przybliżeniu dwukrotny wzrost w okresie dwóch lat ryzyka incydentu wieńcowego u pacjentów, u których poziom CRP w osoczu wynosił ponad $3,6\text{ mg/l}$ w porównaniu z chorymi ze stężeniem CRP poniżej $0,71\text{ mg/l}$ [146].

W pracy własnej wykazano istotnie statystycznie wyższy poziom białka hsCRP u chorych ze stabilną ch.n.s. w porównaniu do grupy kontrolnej (2,07 vs 1,37 mg/l, $p = 0,003$).

Farmakoterapia statynami w grupie z ch.n.s. miała z pewnością wpływ na ostateczny wynik przeprowadzonego badania, u chorych wykluczono klasyczne czynniki ryzyka miażdżycy, które wpływają na poziom hsCRP np. nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, palenie papierosów.

Konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań celem ustalenia korzyści związanych ze stosowaniem statyn u pacjentów z podwyższonym poziomem hs-CRP przy prawidłowym lipidogramie.

Oznaczenie białka hsCRP nie może zastąpić oznaczania profilu lipidowego, ale może być jego cennym uzupełnieniem przede wszystkim u osób z grupy średniego ryzyka sercowo-naczyniowego, u których 10-letnie ryzyko incydentu mieści się w zakresie 5-20% [147, 148].

W badaniu własnym wykazano silny wpływ poziomu białka hsCRP na poziom fibrynogenu w obu badanych grupach ($r = 0,63$ $p < 0,001$ dla chorych z ch.n.s. i $r = 0,69$ $p < 0,001$ dla grupy kontrolnej). Wpływ taki stwierdzono także na BMI ($r = 0,56$, $p < 0,001$ dla chorych z ch.n.s. i $r = 0,35$, $p = 0,052$ dla grupy kontrolnej). W pracy własnej obserwowano również dodatnią korelację pomiędzy poziomem hsCRP a poziomem triglicerydów w grupie z ch.n.s. ($r = 0,34$, $p = 0,03$).

W obu badanych grupach nie wykazano występowania korelacji pomiędzy poziomem hsCRP a infekcją Ch.p.

Podobne wyniki uzyskał również de Backer i wsp., którzy stwierdzili, że statystycznie wyższy poziom CRP u 446 chorych z przewlekłą ch.n.s. w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Autorzy tego badania także nie wykazali występowania korelacji pomiędzy mierzonymi markerami zapalnymi a przeciwciałami IgG i IgA anty-Ch.p. ani w grupie z ch.n.s. ani w grupie kontrolnej [149].

W metaanalizie badań prospektywnych do 1998 roku dotyczących różnych czynników zapalenia w chorobie wieńcowej wykazano, że względne ryzyko incydentów wieńcowych wynosi średnio 1,7 dla wzrostu stężenia CRP o 1,4 mg/L [150].

Berk i wsp. stwierdzili, że poziom CRP w osoczu wynosił ≥ 6 mg/d u 90% pacjentów z niestabilną ch.n.s. serca w porównaniu do 13% chorych z jej stabilną posta-

cią. Wśród chorych hospitalizowanych z powodu niestabilnej dławicy piersiowej zwiększona wartość CRP w osoczu $>3\text{mg/l}$ pozwalała przewidywać większą częstość występowania nawracających incydentów niedokrwienia, konieczności rewaskularyzacji oraz progresji do świeżego zawału mięśnia sercowego w porównaniu z pacjentami z niższymi poziomami CRP[151].

Oznaczenie białka C-reaktywnego ma duże znaczenie w prognozowaniu incydentów wieńcowych u chorych z niestabilną chorobą wieńcową, co potwierdził de Winter i wsp.[152]. Autorzy oznaczali poziom hsCRP oraz troponinę I u chorych z niestabilną dusznicą bolesną i zawałem non Q. Po 6 miesięcznym okresie obserwacji wykazali, że u pacjentów z podwyższonymi wartościami troponiny I ($0,4\text{ }\mu\text{g/l}$) i hsCRP ($>5\text{mg/l}$) częściej występowały incydenty wieńcowe (42%) w porównaniu z grupą, w której podwyższona była tylko troponina I (4,5%). U badanych z obniżonym poziomem troponiny I ($< 0,4\text{ }\mu\text{g/l}$) incydenty wieńcowe pojawiały się częściej przy podwyższonym hsCRP, aniżeli przy niskich jego wartościach (11% vs 0%).

Podobnych danych dostarczyło badanie TIMI 11A (*Thrombolysis in Myocardial Infarction 11A*), w którym oceniano 437 chorych hospitalizowanych z powodu niestabilnej dusznicy bolesnej i zawału non Q leczonych enoksaparyną. W analizowanej grupie oznaczano poziom hs-CRP. Wartości hsCRP $>15,5\text{ mg/l}$ przy ujemnym wyniku troponiny T korelowały ze zwiększoną umieralnością w ciągu 14 dni wynoszącą 5,8% w porównaniu z umieralnością 0% wśród chorych z poziomem hsCRP $<15,5\text{ mg/l}$ i dodatnią troponiną T [153].

Wyniki omówionych badań wskazują na istnienie zależności pomiędzy wartością hsCRP a występowaniem ostrych incydentów wieńcowych i może to mieć znaczenie rokownicze w klinicznym wykorzystaniu tych pomiarów [154, 155].

Zgodnie z najnowszymi zaleceniami AHA dotyczącymi markerów zapalenia, poziom CRP $< 1\text{mg/l}$ należy interpretować jako odpowiadający niskiemu ryzyku, 1-3 mg/l umiarkowanemu, a powyżej 3 mg/l wiąże się z dużym ryzykiem. W materiale własnym poziom hsCRP $> 3\text{mg/l}$ stwierdzono u 30% osób z ch.n.s. i u 6,4% w grupie kontrolnej.

Taka forma analizy dodatkowo uwidacznia znaczenie podwyższonego poziomu hsCRP wskazującego na zwiększone ryzyko niekorzystnych incydentów sercowo-naczyniowych w grupie z ch.n.s. jak i w grupie kontrolnej.

W prewencji pierwotnej ch.n.s. duże ryzyko względne ($\text{hsCRP} > 3 \text{ mg/l}$) może przemawiać za potrzebą zintensyfikowania leczenia zachowawczego w celu zmniejszenia ryzyka niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych i sprzyjać motywacji chorych do poprawy stylu życia i przestrzegania zaleconego leczenia w celu zmniejszenia zagrożenia [156].

U chorych ze stabilną ch.n.s. lub ostrymi zespołami wieńcowymi pomiar hsCRP może być użyteczny jako niezależny marker do oceny prawdopodobieństwa nawracających incydentów sercowych, w tym zgonu, zawału mięśnia serca lub restenozy po przezskórnej angioplastyce wieńcowej [157, 158].

Dodatkowych dowodów na związek CRP z chorobami układu krążenia przyniosły dwa duże badania: Physicians Health Study (PHS) [145, 159] oraz Women's Health Study (WHS) [160]. W badaniu PHS wzięły udział 543 osoby początkowo zdrowe, u których w toku 14-letniej obserwacji wystąpił zawał mięśnia sercowego, udar mózgu, miażdżycza tętnic obwodowych oraz 543 osoby bez wymienionych schorzeń. Ridker i wsp. w badaniu PHS wykazali, że u osób, u których początkowe wartości hsCRP znajdowały się w najwyższym kwartylu, ryzyko udaru wzrastało 2-krotnie, ryzyko zawału mięśnia sercowego 3-krotnie, a ryzyko zaawansowanej obwodowej choroby naczyń 4-krotnie. Ryzyko to było niezależne od innych klasycznych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Podobne wyniki uzyskano w badaniu WHS. Obserwowano w nim przez okres trzech lat kohortę 366 kobiet. Wykazano 5-krotne zwiększenie ryzyka epizodu naczyniowego oraz 7-krotny wzrost wystąpienia zawału mięśnia sercowego i udaru u kobiet, u których poziomy hs-CRP mieściły się w najwyższym kwartylu. Dane z dwóch powyższych badań dowiodły, że oznaczenie poziomu hsCRP i stosunku cholesterolu całkowitego do HDL cholesterolu jest silniejszym wskaźnikiem prognostycznym niż każdy z tych składników z osobna.

W grupie 2021 pacjentów z potwierdzoną koronarograficznie ch.n.s. mierzono stężenie hsCRP w badaniu ECAT (*European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities*) i stwierdzono dwukrotny wzrost 2-letniego ryzyka incydentu wieńcowego u pacjentów ze stężeniem $\text{hsCRP} > 3,6 \text{ mg/l}$ w porównaniu z pacjentami, u których ten poziom wynosił $< 0,71 \text{ mg/l}$ [161].

W badaniu AFCAPS/TexCAPS (*Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study*) oprócz czynników ryzyka oceniano zwiększony poziom hs-CRP .

Wyodrębniono podgrupę chorych ze stosunkowo małymi wartościami lipidów, która mimo to odniosła korzyści z leczenia statynami. Poziom hsCRP oznaczano na początku badania oraz po upływie jednego roku u 5742 spośród 6605 badanych osób. Leczenie lowastatyną w dawce 40 mg dziennie spowodowało zmniejszenie poziomu hsCRP o 14,8% [162].

W badaniu własnym nie stwierdzono znamiennych różnic w poziomie hsCRP w zależności od zastosowanej metody leczenia. U osób, u których zastosowano zabieg przezskórnej angioplastyki wieńcowej z implantacją stentu średni poziom hsCRP wyniósł 3,03 mg/l w porównaniu do 2,16 mg/l u badanych, u których metodą leczenia była angioplastyka wieńcowa bez implantacji stentu ($p = 0,17$).

W analizowanym materiale nie stwierdzono istotnych różnic w poziomie hsCRP w grupie badanych z wielonaczyniową ch.n.s. w porównaniu do osób z jednonaczyniową ch.n.s (2,66 mg/l vs 2,8, $p = 0,8$).

W badaniu nie wykazano także istotnych różnic w poziomie białka hsCRP w zależności od stopnia nasilenia miażdżycy według CCS. U badanych z ch.n.s. z CCS II średni poziom hsCRP wyniósł 2,92 mg/l, a w grupie z CCS I 2,62 mg/l ($p = 0,28$).

Białko hsCRP nie ma prawdopodobnie większego związku z zaawansowaniem angiograficznie ocenianej miażdżycy a jego przydatność przy wyborze chorych do zabiegów na tętnicach wieńcowych pozostaje ograniczona.

Osoby z ch.n.s. seropozytywne w zakresie przeciwciał IgG anty-Ch.p. charakteryzowały się znamienne wyższym poziomem hsCRP w porównaniu do osób z grupy kontrolnej seropozytywnych w zakresie tych przeciwciał. Może to pośrednio świadczyć o wpływie hsCRP na powstawanie miażdżycy.

Białko C-reaktywne jest ważnym wskaźnikiem prognostycznym incydentów wieńcowych w stabilnej i niestabilnej chorobie niedokrwiennej serca. Pozostaje niejasne natomiast, czy marker ten może stanowić czynnik sprawczy tych incydentów, choć niektóre dane wskazują na możliwą jego rolę jako czynnika przyczynowego miażdżycy [163, 164].

3. Fibrynogen.

Przeprowadzono wiele badań klinicznych i epidemiologicznych, w których stwierdzono, że fibrynogen jest niezależnym czynnikiem ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych.

W latach 80-tych stwierdzono po raz pierwszy w badaniu prospektywnym zależność pomiędzy wysokim stężeniem fibrynogenu, a ryzykiem chorób układu sercowo-naczyniowego [165].

W badaniu PROCAM (*Prospective Cardiovascular Munter Study*) przeprowadzonym w latach 90-tych w ciągu 6 letniego okresu obserwacji stwierdzono znacznie wyższy poziom fibrynogenu u kobiet niż u mężczyzn niezależnie od przedziału wiekowego, przy czym gwałtowny wzrost stężeń w grupie kobiet obserwowano po 45 roku życia. Ryzyko epizodów wieńcowych było niskie przy niskich wartościach fibrynogenu niezależnie od poziomu LDL cholesterolu, a zwiększało się gwałtownie przy jego wyższych stężeniach. Ryzyko to było 6-krotnie większe u chorych z jednoczesnym wyższym poziomem fibrynogenu i LDL cholesterolu. W badaniu tym hypercholesterolemia była słabszym czynnikiem ryzyka u tych osób, u których stwierdzono stężenie fibrynogenu poniżej 2,36g/l [166].

Pięcioletnia obserwacja chorych w badaniu NPHS (*Norwick Park Heart Study*) wykazała 84% wzrost zapadalności na ch.n.s. u osób z jednocześnie podwyższonymi poziomami fibrynogenu i cholesterolu, przy czym wzrost ten malał do 43% przy wyższym tylko poziomie cholesterolu [167].

Wysoki poziom fibrynogenu oznaczany u mężczyzn z zawałem serca poddanych 42 miesięcznej obserwacji okazał się niezależnym czynnikiem rokowniczym zgonu [168].

W badaniu własnym wykazano znamienne statystycznie różnice w poziomie fibrynogenu pomiędzy grupą z ch.n.s. a grupą kontrolną ($p = 0,0002$).

Bossowska i wsp. nie wykazali znamiennych różnic w poziomie fibrynogenu w grupie chorych ze stabilną ch.n.s. w porównaniu do zdrowych ochotników. Różnice takie obserwowali w grupie osób ze świeżym zawałem mięśnia serca i z niestabilną dławicą piersiową a grupą kontrolną [169].

W grupie chorych z ch.n.s. i w grupie kontrolnej stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy poziomem fibrynogenu a poziomem hsCRP ($r = 0,63$, $p < 0,001$ i $r = 0,69$, $p < 0,001$). Nie stwierdzono natomiast wpływu fibrynogenu na poziom przeciwciał anty-hsp 60, leukocytów oraz markerów infekcji Ch.p.

Znamiennie wyższy poziom fibrynogenu obserwowano u 30 % osób z trójnaczyniową stabilną ch.n.s. przed operacją pomostowania aortalno-wieńcowego [170]].

Wyższy poziom fibrynogenu w pracy własnej nie był znamienne statystycznie wyższy w grupie o większym nasileniu dławicy piersiowej i większej ilości naczyń zajętych procesem miażdżycowym. Rodzaj zastosowanego leczenia inwazyjnego (PTCA vs PTCA + stent) również nie wpływał na poziom fibrynogenu. Świadczyć to może o mniejszej jego przydatności w szacowaniu nasilenia ch.n.s. tylko w oparciu o oznaczenie poziomu fibrynogenu.

Hipercholesterolemia u osób z niskim poziomem fibrynogenu jest słabszym czynnikiem ryzyka, co dodatkowo potwierdziło badanie ECAT AP (*European Concrete Action in Thrombosis Angina Pectoris*), w którym stwierdzono 2-krotnie częstszą ilość epizodów wieńcowych u osób z jednocześnie podwyższonym poziomem fibrynogenu i cholesterolu w porównaniu do osób z prawidłowym poziomem lipidów [161].

Cennych informacji dostarczyło badanie Framingham Heart Study, w którym częstość epizodów wieńcowych z powodu hiperfibrynogenemii zwiększyła się szczególnie u mężczyzn w starszym wieku (50-70 lat) i wzrastała proporcjonalnie wraz z poziomem fibrynogenu i badanej grupy wiekowej (50,60,70 lat). Natomiast u kobiet najwięcej incydentów wieńcowych na tle hiperfibrynogenemii przypadało na 50 i 60 rok życia [165].

Z kohortowego bada ARIC (*Atherosclerosis Risk in Communities*) wynika, że wyższe stężenie fibrynogenu występuje głównie u kobiet rasy czarnej. Podwyższone stężenie fibrynogenu miało większe znaczenie w patogenezie epizodów wieńcowych niż mózgowych [171].

Natomiast w badaniu CARDIA (*Coronary Artery Risk Development in Young Adults*) wykazano powiązanie pomiędzy ch.n.s. a stężeniem fibrynogenu u osób młodych. Poziom fibrynogenu wykazywał silną dodatnią korelację z paleniem tyto-

niu, wskaźnikiem masy ciała, stężeniem cholesterolu frakcji LDL i lipoproteiną (a), a nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą i hormonalną antykoncepcją oraz ujemną korelację z aktywnością ruchową [172]. Na podstawie podwyższonego stężenia fibrynogenu (przy współistniejących innych czynnikach ryzyka) można ocenić stopień zagrożenia ch.n.s. lub przewidywać występowanie nagłych epizodów wieńcowych w postaci ponownego zawału serca i nagłej śmierci sercowej.

Stężenie fibrynogenu koreluje z ilością dziennie wypalonych papierosów, masą ciała, stężeniem cholesterolu LDL i triglicerydów, poziomem lipoproteiny (a), z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą i liczbą leukocytów. Stwierdzono również wyższe jego wartości u osób z niższym stężeniem cholesterolu frakcji HDL i niską aktywnością ruchową. W badaniach EARS (*European Atherosclerosis Research Study*) oraz SHHS (*Scottish Heart Health Study*) wykazano współzależność pomiędzy stężeniem fibrynogenu a czynnikami genetycznymi. Osoby z obciążającym wywiadem rodzinnym w zakresie chorób sercowo-naczyniowych (przedwczesny zawał serca przebyty przed 55 rż., nadciśnienie tętnicze, chromanie przestankowe, cukrzyca) cechowało występowanie wyższych stężeń fibrynogenu [173, 111]. Uważa się, że podwyższone stężenie fibrynogenu może być markerem określającym ryzyko progresji chorób sercowo-naczyniowych u dzieci rodziców z dodatnim wywiadem rodzinnym. Dzieci pochodzące z tych rodzin mają wyższe stężenia fibrynogenu, wyższe ciśnienie tętnicze krwi i aterogeny profil lipidowy podobnie jak ich rodzice [174, 175, 176].

Z badań GRIPS (*Gottingen Risk Incidence and Prevalence Study*) wynika, że fibrynogen i lipoproteina (a) są rozważane jako genetycznie uwarunkowane czynniki ryzyka choroby wieńcowej, które powinny być uwzględniane we wczesnej profilaktyce i diagnostyce zawału serca. Ponadto wśród pacjentów z wysokim ryzykiem ch.n.s. występują wyższe stężenia fibrynogenu i lipoproteiny (a) w porównaniu z chorymi z niskim ryzykiem tej choroby, przy nie różniących się w sposób istotny stężeniach cholesterolu całkowitego [177].

Podwyższony poziom fibrynogenu szczególnie często stwierdza się u chorych z zawałem serca przebytym przed 55 rż., z miażdżycą naczyń wieńcowych, mózgowych i obwodowych, u chorych z cukrzycą typu II powikłaną miażdżycą tętnic wieńcowych w porównaniu z cukrzycą bez zmian naczyniowych [173].

W niektórych badaniach wykazano również, że wyższy poziom miana przeciwciał anti-Ch.p. koreluje z podwyższonym poziomem fibrynogenu, a terapia antybiotykowa skierowana przeciwko tej bakterii przynosi obniżenie jego poziomu [73, 178].

W ocenianym materiale u osób z ch.n.s. seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG anti-Ch.p. poziom fibrynogenu charakteryzował się istotnymi różnicami ($p = 0,025$) w porównaniu do osób seropozytywnych w zakresie tych przeciwciał z grupy kontrolnej.

Wzrost stężenia fibrynogenu w ostrych zespołach wieńcowych (w świeżym zawałe serca i niestabilnej duszniczy bolesnej) jest odpowiedzią ostrej fazy. W pierwszych dniach dokonania się zawału serca występuje wzrost poziomu fibrynogenu, osiągając swój szczyt w 4-5 dniu choroby ($>5\text{g/l}$). Zachowanie się fibrynogenu nie wykazuje korelacji ani z typem niedokrwienia (zawał pełnościenny i niepełnościenny) i objawami klinicznymi ani też z rozległością zawału [179]. W związku z tym wzrost jego stężenia w ostrych zespołach wieńcowych ma mniejsze znaczenie kliniczne a większe znaczenie prognostyczne. Podwyższone stężenie fibrynogenu wraz z współwystępowaniem innymi czynnikami ryzyka pogarsza rokowanie w już istniejącej chorobie niedokrwiennej serca i mózgu. Hiperfibrynogemia powyżej $3,5\text{g/l}$ jest złym wskaźnikiem rokowniczym wystąpienia restenozy po zabiegu angioplastyki wieńcowej [180]. Z badań przeprowadzonych 2 miesiące po przebytym pierwszym zawałe serca wynika, że u około 8% chorych z podwyższonym poziomem fibrynogenu powyżej $3,5\text{g/l}$ doszło do ponownego zawału, co jest efektem niekorzystnego działania fibrynogenu na warunki reologiczne krwi [181].

W metaanalizie 31 prospektywnych badań, w których wzięło łącznie udział 154 211 uczestników wykazano silną zależność poziomu fibrynogenu na ryzyko wystąpienia ch.n.s., udaru mózgu oraz śmiertelności z innych przyczyn naczyniowych i nienaczyniowych [182].

W badaniach doświadczalnych zwrócono uwagę na aterogenne właściwości fibrynogenu, który nasila płytkowozależną estryfikację cholesterolu przez monocyty lub makrofagi, prowadząc do przekształcania monocytów w komórki piankowate. Z kolei dożylna iniekcja adrenaliny czy angiotensyny II do aorty królika powoduje wy-

chwyt fibrynogenu i LDL przez błonę wewnętrzną tętnic oraz odkładanie fibryny i LDL w ścianie naczyniowej [3].

Badania genetyczne wykazały, że polimorfizm fibrynogenu (substytucja G455A) jest czynnikiem ryzyka chorób układu krążenia, a duża zmienność stężeń fibrynogenu występująca w różnych regionach Europy jest związana z mutacją genu kodującego łańcuch b fibrynogenu. W populacji występują trzy różne genotypy t.j. homozygoty AA o najwyższym stężeniu fibrynogenu, heterozygoty AG oraz homozygoty GG o najniższym stężeniu fibrynogenu [183].

4. Leukocyty.

Wśród mechanizmów odpowiedzialnych za powstawanie blaszki miażdżycowej podnosi się rolę leukocytów migrujących przez śródbłonek naczyniowy. Uważa się, że ten proces stanowi pierwszy element odpowiedzi zapalnej ściany naczynia [184].

W złożonych mechanizmach adhezji monocytów do śródbłonka ich rekrutacji i migracji przez ścianę naczyniową uczestniczą cząsteczki adhezyjne śródbłonka (m.in. selektyna P, ICAM-1, VCAM-1) i chemokiny (np. MCP-1).

W dużym prospektywnym badaniu przeprowadzonym w grupie 72 242 kobiet w wieku 50-79 lat w czasie ponad 6 letniej obserwacji wykazano ponad 2 krotnie większe ryzyko wystąpienia twardego punktu końcowego (zgon, zawał mięśnia serca, udar) u tych kobiet, u których liczba leukocytów mieściła się w czwartym kwartylu w porównaniu do liczby leukocytów z pierwszego kwartylu [185].

Brown i wsp. stwierdzili znamienne wyższy poziom liczby leukocytów u badanych, którzy zmarli z powodu ch.n.s. w stosunku do grupy kontrolnej. Wynik ten był niezależny od klasycznych czynników ryzyka ch.n.s. [186]. Podobne wyniki otrzymał zespół Mänttäre, który stwierdził większe ryzyko niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych u mężczyzn z wyższym poziomem leukocytów [187].

W analizowanym materiale w grupie pacjentów ze stabilną ch.n.s. stwierdzono istotnie statystycznie wyższy poziom leukocytów w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,00001$). W badaniu własnym nie wykazano korelacji pomiędzy liczbą leukocytów a poziomem innych markerów zapalenia i infekcji. Nie wykazano również istotnych różnic w poziomie leukocytów u chorych z jednonaczyniową ch.n.s. w porówna-

niu do chorych z ch.n.s. dwu- i trójnaczyniową oraz u badanych z CCS II w porównaniu do badanych z CCS I. Zastosowane leczenie inwazyjne w grupie osób z ch.n.s.(PTCA + stent vs PTCA) także nie wpłynęło znacząco na poziom leukocytów.

Wynik prezentowanej pracy jest zgodny z badaniem przeprowadzonym przez zespół Bossowskiej, w którym również stwierdzono znamienne statystycznie wyższy poziom leukocytów w 25 osobowej grupie osób ze stabilną postacią ch.n.s. w porównaniu do 20 zdrowych ochotników [169].

W piśmiennictwie spotyka się prace, w których wyższy poziom leukocytów obserwowano u badanych z ostrym zespołem wieńcowym, natomiast u chorych ze stabilną postacią ch.n.s. liczba leukocytów była porównywalna do pacjentów bez ch.n.s. [188].

5. Infekcja Chlamydia pneumoniae.

Hipotezę dotyczącą udziału zakażenia w powstawaniu miażdżycy sformułowano w XIX wieku, ale dopiero w latach 70 XX wieku opublikowano wyniki badań wskazujących na istnienie takiego związku. Ważnym bodźcem do dalszej dyskusji było znalezienie czynników zakaźnych w blaszkach miażdżycowych, lecz trudno obecnie określić czy mają one znaczenie etiologiczne, czy są mikroorganizmami komensalnymi.

Dotychczas dużo uwagi poświęcono zakażeniu bakterią Chlamydia pneumoniae jako głównemu czynnikowi infekcyjnemu biorącemu udział w etiologii miażdżycy.

Odpowiedź serologiczna na infekcję Ch.p. zależy od typu infekcji i reakcji indywidualnej. Przy ostrej infekcji wzrasta poziom przeciwciał IgM oraz IgG. Infekcja przewlekła lub reinfekcja cechuje się wysokimi mianami przeciwciał IgG i IgA

W przypadku infekcji wtórnych i przewlekłych, które spotyka się u pacjentów z miażdżycą naczyń, diagnostyka opiera się na pomiarze poziomu przeciwciał klasy IgG i IgA. W przypadku infekcji chronicznych wysokie miano przeciwciał IgA może utrzymywać się przez wiele miesięcy.

Diagnostyka przebytych infekcji Ch.p., która ma zastosowanie w badaniach epidemiologicznych może być pomocna przy ocenie grup ryzyka w ch.n.s. Fakt ten

jest szczególnie istotny u tych osób, u których nie stwierdzono żadnego z klasycznych czynników ryzyka ch.n.s.

Badając związek pomiędzy potwierdzoną angiograficznie ch.n.s. a poziomem przeciwciał skierowanych przeciwko Ch.p. Thom i wsp. udokumentowali, że podwyższony ich poziom zwiększa trzykrotnie prawdopodobieństwo wystąpienia choroby wieńcowej [189].

W wielu pracach wykazano obecność Ch.p. w obrębie tętnic mózgowych oraz blaszek miażdżycowych tętnic szyjnych [62, 190, 191]. Wyniki badań prospektywnych wskazują na wzrost ryzyka udaru mózgu u osób z wysokim mianem przeciwciał anti-Ch.p. [192].

Cook i wsp. stwierdzili obecność przeciwciał IgA anti-Ch.p. u 35% pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, podczas gdy w grupie kontrolnej odsetek ten wynosił 17.9%. Jednakże mechanizmy, na bazie których zakażenie tą bakterią miałyby wpływać na rozwój nadciśnienia wymagają dalszego potwierdzenia [193].

Gnarpe i wsp. obserwowali częstsze występowanie przeciwciał antychlamiidowych klasy IgA u pacjentów z zapaleniem mięśnia sercowego [58]. Juvonen i wsp. stwierdzili częstsze występowanie drobnoustroju Ch.p. w zmienionych zastawkach aorty sugerując jego udział w etiologii nabytego jej zwężenia [59].

Częstsze występowanie przeciwciał IgG i IgA anti-Ch.p. u chorych z potwierdzoną angiograficznie ch.n.s. udokumentowano w wielu pracach [194].

W badaniu przeprowadzonym przez Jantos i wsp. częstość występowania niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych seropozytywnych względem przeciwciał IgG i IgA anti-Ch.p. była wyższa niż u badanych seronegatywnych w zakresie tych przeciwciał ($p = 0,04$ vs $p = 0,1$) [195].

Natomiast w badaniu grupy 208 osób z potwierdzoną koronarograficznie ch.n.s. Sotiropoulos i wsp. nie stwierdzili częstszego występowania przeciwciał IgG anti-Ch.p. w stosunku do grupy kontrolnej (91% vs 86%, $p > 0,05$) [196].

Analiza materiału badania własnego nie wykazała istotnie statystycznie wyższego poziomu przeciwciał anti-IgG Ch.p. u chorych z ch.n.s. w porównaniu z grupą kontrolną (94,4 vs 67,23 EIU, $p = 0,22$). W poziomie przeciwciał anti-IgA Ch.p. także nie stwierdzono znamienności statystycznej pomiędzy badanymi grupami (12,71 vs 11,7 EIU, $p = 0,86$).

W badaniu własnym nie obserwowano częstszego występowania infekcji Ch.p. w zakresie przeciwciał IgG (70% vs 58,06%, $p = 0,29$) oraz IgA (42,5% vs 45,16%, $p = 0,82$) pomiędzy analizowanymi grupami.

U osób ze stabilną ch. n. s. oraz w grupie zdrowych ochotników nie stwierdzono występowania korelacji pomiędzy badanymi markerami zapalnymi, przeciwciałami anti-hsp60 a poziomami przeciwciał IgG i IgA anti-Ch.p.

Podobne wyniki uzyskał również de Backer i wsp., którzy nie stwierdzili znamiennych statystycznie różnic w poziomach przeciwciał IgG i IgA anti-Ch.p. u 446 chorych z przewlekłą ch.n.s. w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Autorzy tego badania również nie wykazali występowania korelacji pomiędzy mierzonymi markerami zapalnymi a przeciwciałami IgG i IgA anti-Ch.p. w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej [149].

W pracy własnej badani chorzy z ch.n.s. seropozytywni w zakresie przeciwciał IgG anti-Ch.p. mieli wyższy wskaźnik BMI ($p = 0,054$) oraz charakteryzowali się istotnie wyższymi poziomami leukocytów ($p = 0,0007$), hsCRP ($p = 0,025$) i fibrynogenu ($p = 0,025$) oraz istotnie niższymi poziomami kreatyniny ($p = 0,006$) w porównaniu do osób seropozytywnych w zakresie tych przeciwciał z grupy kontrolnej.

U osób z ch.n.s. seronegatywnych w zakresie przeciwciał IgG anti-Ch.p. stwierdzono istotnie statystycznie wyższy poziom fibrynogenu ($p = 0,002$) i leukocytów ($p = 0,004$) w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej. Natomiast poziom cholesterolu HDL i triglicerydów był istotnie niższy w grupie z ch.n.s. w porównaniu do grupy kontrolnej ($p = 0,02$).

Przewlekła infekcja Ch. p. występuje często z aterogennym profilem lipidowym tj. wysokim poziomem triglicerydów, obniżeniem frakcji HDL cholesterolu oraz z podwyższeniem frakcji LDL cholesterolu [197]. Przyjmowanie statyn w badaniu własnym przez chorych z ch.n.s. przyczyniło się niewątpliwie do zmian w profilu lipidowym i tym samym wpłynęło na ostateczny wynik badania.

W grupie badanych z ch.n.s. seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgA anti-Ch.p. wykazano istotnie statystycznie wyższy poziom leukocytów ($p = 0,0005$) oraz znamienne statystycznie niższy poziom kreatyniny ($p = 0,02$) w porównaniu do zdrowych ochotników seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgA anti-Ch.p. Niższy poziom kreatyniny u badanych może mieć związek z korzystnym wpływem ACE-

inhibitorów stosowanych w tej grupie. Nie stwierdzono natomiast znamiennych statystycznie różnic w poziomie hsCRP i fibrynogenu w badanej grupie. Po odrzuceniu ekstremalnych wartości poziom przeciwciał anty-hsp60 był znamienne statystycznie wyższy w grupie chorych z ch.n.s. w stosunku do grupy kontrolnej.

W analizie materiału własnego nie stwierdzono znamiennych różnic w poziomie przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. w grupie badanych CCS II w porównaniu z badanymi z grupy CCS I.

Wyniki pracy własnej są zgodne z badaniami Imai i wsp., którzy w badanej 130 osobowej grupie z ch.n.s. poddanych koronarografii również nie stwierdzili częstszego występowania przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. w zależności od stopnia nasilenia dławicy piersiowej [198].

U chorych z chorobą wieńcową wielonaczyniową nie obserwowano znamienne statystycznie wyższego poziomu leukocytów, fibrynogenu, hsCRP, przeciwciał anty-hsp60 oraz przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. w stosunku do badanych z jednonaczyniową ch.n.s. W grupie badanych, u których wykonano przezskórną angioplastyką wieńcową z implantacją stentu w zakresie zmienionego naczynia nie wykazano znamienne statystycznie wyższego poziomu przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. w stosunku do osób poddanych leczeniu za pomocą przezskórnej angioplastyki wieńcowej.

Obecność przeciwciał IgG anty-Ch.p. stanowi dowód przebytego zakażenia, a nie infekcji naczyniowej zatem w rzeczywistości obecność przeciwciał słabo koreluje z występowaniem ch.n.s.

Związek czynnej infekcji Ch.p. charakteryzującej się wyższym poziomem przeciwciał IgM z występowaniem ostrych zespołów wieńcowych wykazał Hoshiba i wsp. Badacze ci stwierdzili również istotnie statystycznie wyższy poziom przeciwciał IgG anty-hsp60 u chorych z ostrym zespołem wieńcowym w porównaniu z badanymi ze stabilną ch.n.s. i grupą kontrolną. Zależności takiej nie wykazano w stosunku do przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p.[199].

Danesh i wsp. w badaniu prospektywnym przeprowadzonym w grupie 5661 osób nie wykazali związku występowania podwyższonych przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. z rozwojem ch.n.s. w ogólnej populacji [200, 201].

Metaanaliza 14 prac wykonanych w grupie 3169 badanych, seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG wykazała, że skorygowany iloraz szans rozwoju dusznicy

bolesnej u tych osób wynosił 1,15 (95%CL 0,97-1,36). Analiza danych z 9 metaanaliz obejmujących 2283 badanych, seropozytywnych w zakresie IgA anty-Ch.p. także nie wykazała związku podwyższonego ich poziomu z obecnością ch.n.s.(OR-1,24, 95%CL 1,03-1,53) [202, 203,204].

Częstość występowania przeciwciał anty-Ch.p. w populacji ogólnej jest duża i wzrasta z wiekiem tak, że w grupie kontrolnej dla badanych z ch.n.s. dobranych pod względem wieku wynosi nawet do 70%, co może dodatkowo zmniejszać użyteczność oznaczeń tych przeciwciał w praktyce klinicznej [205].

Pośrednich dowodów na sprawczą rolę procesu zapalnego wywołaną przez bakterie w procesie aterogenezy i ostrych zespołów wieńcowych mogą dostarczyć prospektywne badania z użyciem antybiotyków. W dotychczas przeprowadzonych badaniach stosowano antybiotyki makrolidowe oceniając ich wpływ na przebieg ch.n.s.

W badaniu ROXIS (*Roxithromycini in non-Q-wave coronary syndromes*) leczeniem objęto 202 pacjentów z niestabilną ch. n. s. lub zawałem mięśnia sercowego. W grupie tej 102 pacjentów otrzymywało roksytromycynę, a 100 chorych placebo. W 30, 90 i 180 dniu obserwacji stwierdzono statystycznie znamiennej redukcję ciężkiego niedokrwienia mięśnia sercowego, liczby epizodów zawału mięśnia sercowego i częstości zgonu z przyczyn kardiologicznych w grupie otrzymującej roksytromycynę w porównaniu z grupą kontrolną. Miana przeciwciał klasy IgG anty-Ch. p. nie zmieniły się w obu grupach, obniżył się natomiast poziom białka CRP szczególnie w grupie otrzymującej roksytromycynę [178].

Inne badanie z zastosowaniem antybiotyku makrolidowego - ACADEMIC (*The Azithromycin in Coronary Artery Disease: Elimination of Myocardial Infection with Chlamydia*) obejmujące 302 pacjentów z udokumentowaną ch.n.s. nie wykazało zmniejszenia liczby incydentów wieńcowych ani miana przeciwciał anty-Ch.p. po kuracji azytromycyną. Po 3 miesięcznej antybiotykoterapii obniżył się natomiast poziom markerów zapalnych takich jak CRP, IL-1, IL-6, TNF α [73].

Autorzy badania STAMINA (*South Thames Trial of Antibiotics in Myocardial Infarction and Unstable Angina*) obejmującego 325 zrandomizowanych chorych wykazali 40% redukcję dużych zdarzeń sercowych u pacjentów otrzymujących azytromycynę w przeciągu rocznej obserwacji [206].

W 2002 roku ukończono badanie AZACS (*Azithromycin in Acute Coronary Syndrome*), w którym chorzy po ostrym incydencie wieńcowym otrzymywali oprócz standardowej farmakoterapii azytromycynę lub placebo. Badanie to miało wykazać, czy dodatkowe zastosowanie antybiotyku zmniejsza liczbę kolejnych zdarzeń wieńcowych. Antybiotyk podawano w dawce 500 mg/d w pierwszym dniu oraz 250 mg/d przez kolejne 4 dni. Do badania zakwalifikowano 1439 osób losowo przydzielonych do otrzymywania antybiotyku (716 osób) lub placebo (723 osoby). Krótkoterminowe, 5-dniowe leczenie azytromycyną nie miało wpływu na ryzyko ponownych zdarzeń wieńcowych w 6 miesięcznej obserwacji. Obserwowane grupy pacjentów nie różniły się istotnie częstością zgonów, zawałów serca, potrzebą rewaskularyzacji, złożonym punktem końcowym. Różnic tych również nie obserwowano w podgrupie chorych (80% badanych z obu grup), u których wykazano obecność przeciwciał anti-Ch.p.[207].

Kolejnym badaniem dowodzącym, że antybiotykoterapia nie wpływa na częstość zdarzeń sercowo-naczyniowych było badanie ACES (*Azithromycin and Coronary Events Study*), do którego zrandomizowano 4012 chorych z ostrym zespołem wieńcowym i oceniano skuteczność długotrwałej antybiotykoterapii (azytromycyna w dawce 600mg jeden raz na tydzień przez jeden rok i placebo). Po 4 latach obserwacji częstość występowania twardego punktu końcowego była prawie identyczna w obu grupach (22,3% w grupie placebo i 22,4% w grupie azytromycyny), a korzystnych skutków antybiotykoterapii nie zaobserwowano nawet u chorych z najwyższym mianem przeciwciał anti-Ch.p. [208].

W badaniu WIZARD (*Weekly Intervention with Zithromax against Atherosclerotic-Related Disorders*) osoby co najmniej 6 tygodni po zawale serca, z podwyższonym mianem przeciwciał dla Ch.p. włączano do randomizowanego, z podwójnie ślepą próbą badania mającego oszacować korzyść z podawania azytromycyny. Azytromycynę podawano w dawce 600 mg/d przez 3 dni, a następnie 600 mg co tydzień przez kolejne 11 dni. Do grupy leczenia antybiotykiem włączono 3868 osób, 3856 osób przydzielono do grupy placebo. Terapia azytromycyną wiązała się z 7% redukcją złożonego punktu końcowego (zgon, zawał, potrzeba rewaskularyzacji, ponowna hospitalizacja). Największy zysk z terapii osiągany był w podgrupie mężczyzn, palaczy papierosów, chorych na cukrzycę. Badanie to wykazało więc, że azytromycyna podawa-

na w schemacie wielotygodniowym jest bezpieczna i dobrze tolerowana przez chorych, chociaż nie wpływa w istotny sposób na rokowanie po zawale serca. Korzyści ze stosowania antybiotyku nie były również skorelowane z mianem przeciwciał przeciwko Ch.p. Badanie to nie potwierdza, ale i nie zaprzecza tezie, że wybrane antybiotyki mogłyby znaleźć miejsce w prewencji wtórnej bliżej nieokreślonych grup chorych po zawale serca [74].

Wykazano, że zastosowanie roksytromycyny u chorych z wysokim mianem przeciwciał anti-Ch.p. i poddanych zabiegowi przezskórnej angioplastyki wieńcowej z implantacją stentu zmniejsza odsetek restenozy w pierwszym roku po zabiegu [209].

W innym badaniu stwierdzono znamienne statystycznie obniżenie poziomu fibrynogenu u pacjentów z przewlekłą infekcją Ch.p. poddanych terapii klarytromycyną [206].

Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań klinicznych nie można sformułować jednoznacznej odpowiedzi na pytanie jakie są efekty stosowania antybiotykoterapii u pacjentów z chorobami układu krążenia i współistniejącym zakażeniem Ch.p., ale zastosowanie antybiotyków makrolidowych o antychlamydowym działaniu nie przyniosło spektakularnych wyników w prospektywnych, kontrolowanych, randomizowanych badaniach klinicznych.

Stan serologiczny pacjentów jest niedoskonałym wskaźnikiem zakażenia tętnic przez Ch.p., zatem w celu rzeczywistego określenia wpływu antybiotyków na przebieg miażdżycy tętnic i jej powikłań należy do tych badań włączać jedynie pacjentów z potwierdzonym przewlekłym zakażeniem. Jednak dotychczas jedyną metodą pozwalającą na bezpośrednie potwierdzenie zakażenia jest badanie wycinka naczynia, z drugiej strony nie w każdym wycinku jest możliwe stwierdzenie Ch.p. Być może obecność DNA Ch.p. w leukocytach krążących we krwi okaże się odpowiednim wskaźnikiem zakażenia tętnic [210].

Przy planowaniu badań klinicznych istotny jest czas trwania leczenia i wielkość dawek antybiotyku. Wyniki badań klinicznych wyrażające się poprawą stanu klinicznego pacjentów otrzymujących antybiotyk mogą sugerować korzystne działanie antybiotykoterapii, jednak mogą też być skutkiem różnych nieswoistych właściwości antybiotyków makrolidowych, które posiadają właściwości przeciwzapalne. W celu wykluczenia tych nieswoistych właściwości antybiotyków, należy obejmować badaniami

również pacjentów seronegatywnych dla Ch.p., pamiętając że ujemny wynik badania serologicznego nie zawsze świadczy o nieobecności Ch.p. w ścianach naczyń.

W metaanalizie przeprowadzonej przez Andrawsa i wsp. w 2005 roku uwzględniającej 19217 badanych wykazano brak wpływu stosowania antybiotykoterapii na śmiertelność u chorych leczonych antybiotykiem w porównaniu do osób nieleczonych (OR-1,02, 95% CL 0,89-1,16, $p = 0,83$) [211].

Obecnie uważa się, że sama ocena stężenia przeciwciał anti-Ch.p. nie jest wystarczająca do oceny stopnia nasilenia procesu zapalnego w naczyniach a oszacowanie zaawansowania choroby można dokonywać dopiero przy łącznej ocenie z poziomami markerów stanu zapalnego (hsCRP, fibrynogenu, leukocytozy) [212].

Całkowite obciążenie infekcyjne, które stanowi sumę stężeń przeciwciał przeciwko bakteriom i wirusom może okazać się bardziej stałym i wiarygodnym wykładnikiem zagrożenia niż miano przeciwciał skierowanych przeciwko poszczególnym czynnikom zakaźnym [213].

Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań nie można jednoznacznie określić roli Ch.p. w patogenezie miażdżycy. Najprawdopodobniej wpływ zakażenia Ch.p. na rozwój miażdżycy jest bardzo zróżnicowany i zależny od reakcji immunologicznej organizmu jak i od innych czynników rozwoju miażdżycy.

Nie ulega wątpliwości, że drobnoustroj ten występuje w zmianach miażdżycowych, ale nie dowiedziono, jakie znaczenie ma to w patogenezie tej choroby. Konieczne są dalsze badania zarówno eksperymentalne, z wykorzystaniem zwierząt o zmodyfikowanym genotypie odpowiedzi immunologicznej, jak również szeroko zakrojone badania epidemiologiczne i kliniczne w celu ustalenia rzeczywistego związku zakażenia Ch.p. z miażdżycą tętnic.

VII WNIOSKI

1. U chorych ze stabilną chorobą niedokrwienną serca poddanych zabiegowi przezskórnej angioplastyki wieńcowej w porównaniu do grupy kontrolnej stwierdza się obecność przewlekłego stanu zapalnego wyrażającego się podwyższonymi wartościami oznaczanych wskaźników zapalenia (białko hsCRP, fibrynogen, leukocyty).
2. Stwierdzono występowanie dodatniej korelacji pomiędzy poziomem białka hsCRP a poziomem fibrynogenu u badanych ze stabilną chorobą niedokrwienną serca i w grupie kontrolnej.
3. Poziom przeciwciał anti-hsp60 nie różnił się istotnie pomiędzy chorymi z chorobą niedokrwienną serca a grupą kontrolną. Konieczne są dalsze badania oceniające wartość tego markera jako prognostycznego, niezależnego od innych czynników ryzyka wskaźnika zagrożenia rozwojem choroby niedokrwiennej serca.
4. Poziom przeciwciał IgG oraz IgA anti-Chlamydia pneumoniae w grupie chorych z chorobą niedokrwienną serca nie różnił się od osób zdrowych. Nie stwierdzono powiązań pomiędzy obecnością przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae (w klasie IgG i IgA) a stężeniem badanych markerów zapalenia (białkiem hsCRP, fibrynogenem, leukocytami).
5. Wykazano brak różnic w poziomie przeciwciał anti-Chlamydia pneumoniae zarówno pomiędzy chorymi z CCS I i CCS II jak i badanymi z chorobą niedokrwienną serca jednonaczyniową i wielonaczyniową. Rodzaj zastosowanej metody leczenia (PTCA vs PTCA + stent) nie wpływał na poziom przeciwciał anti-hsp60, markerów zapalenia i infekcji w badanej grupie chorych.
6. Badane markery zapalenia są przydatne w ocenie procesu zapalnego i immunologicznego toczącego się w śródbłonku naczyń oraz mogą mieć wartość prognostyczną niezależną od klasycznych czynników ryzyka w wyborze grup zwiększonego ryzyka wśród chorych z chorobą wieńcową, ocenie ryzyka całkowitego i modyfikacji dotychczasowego leczenia w tej grupie chorych.

VIII STRESZCZENIE

W ostatnich latach coraz powszechniej uznaje się rolę zapalenia w rozwoju miażdżycy, a jej patogenety nie rozpatruje się wyłącznie przez pryzmat gromadzenia się lipidów w ścianie tętnic. Postępy w naukach podstawowych i eksperymentalnych rzuciły światło na udział procesów zapalno-immunologicznych i stanowiących ich podłoże mechanizmów komórkowych i molekularnych w tworzeniu blaszki miażdżycowej.

Wysoka częstość chorób układu sercowo-naczyniowego powstających na tle miażdżycy sprawiła, że ich prewencja to jeden z priorytetów medycyny. Ocena ryzyka rozwoju choroby niedokrwiennej serca i wystąpienia incydentów klinicznych stanowi podstawę działań interwencyjnych. Obecnie coraz większą uwagę zwraca się na inne niż tradycyjne biomarkery i możliwość ich stosowania w praktyce klinicznej w ocenie ryzyka choroby niedokrwiennej serca.

W badaniu podjęto próbę oceny poziomu przeciwciał anti-hsp 60, białka hsCRP, fibrynogenu, leukocytów oraz przeciwciał anti-Ch.p. w klasie IgG i IgA w grupie ze stabilną ch.n.s. i w grupie zdrowych ochotników. W pracy porównano poziom przeciwciał anti-hsp 60, białka hsCRP, fibrynogenu, leukocytów oraz przeciwciał IgG i IgA anti-Ch.p. w zależności od ilości naczyń zajętych procesem miażdżycowym oraz nasilenia dławicy według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego. Dodatkowo zbadano związek pomiędzy przeciwciałami anti-hsp 60, seropozytywnością w kierunku infekcji Ch.p. (poziom przeciwciał IgG i IgA) a poziomem białka hsCRP, fibrynogenu i leukocytów pomiędzy badanymi z ch.n.s. a grupą kontrolną oraz w grupie z ch.n.s. w zależności od nasilenia dławicy według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego i ilości zajętych miażdżycą naczyń.

Badaniem objęto 71 osób: 40 mężczyzn ze stabilną ch. n. s. w wieku od 37 do 53 lat ($47,07 \pm 4,23$ lat) leczonych w Poradni Kardiologicznej II Kliniki Kardiologii Instytutu Kardiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz 31 zdrowych mężczyzn w wieku 37 do 53 lat ($44,97 \pm 5,38$ lat) dobranych pod względem płci i wieku. Były to osoby bez wywiadu w kierunku nadciśnienia tętniczego, niepalący,

bez otyłości ($BMI < 30 \text{ kg/m}^2$) i zaburzeń lipidowych. U każdego badanego na podstawie wywiadu oraz dostępnej dokumentacji medycznej wykluczono aktywną (ostatnie 8 tygodni) i przewlekłą chorobę zapalną i infekcyjną, choroby autoimmunologiczne i nowotworowe, cukrzycę, choroby endokrynologiczne oraz schorzenia wątroby.

Wszyscy badani to osoby z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego (ciśnienie skurczowe $< 140 \text{ mmHg}$, ciśnienie rozkurczowe $< 90 \text{ mmHg}$), niepalący nikotyny co najmniej 2 lata. W ten sposób wyeliminowano część czynników mogących mieć wpływ na wyniki badań.

U chorych z ch.n.s. rozpoznanie zostało ustalone na podstawie wywiadu, badania fizykalnego, badań klinicznych: Ekg, Ekg wysiłkowego, koronarografii oraz badań biochemicznych. U badanych z ch.n.s. wykonano skuteczny zabieg przezskórnej angioplastyki wieńcowej (PTCA) a parametry biochemiczne oznaczano 6 miesięcy po PTCA.

65% badanych z ch.n.s. prezentowało objawy CCS I a 35% CCS II w klasyfikacji czynnościowej dławicy piersiowej według Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego. U 60% badanych z ch.n.s. stwierdzono występowanie jednonaczyniowej choroby wieńcowej, a u 40% pacjentów choroby wieńcowej wielonaczyniowej. Wszyscy pacjenci przyjmowali standardową terapię stosowaną w stabilnej ch.n.s.: kwas acetylosalicylowy, β -bloker, ACE-inhibitor, statynę.

Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego.

U wszystkich badanych pobrano na czczo próbki krwi celem wykonania następujących oznaczeń biochemicznych: przeciwciał anty-hsp60, białka C-reaktywnego metodą ultraczułą, fibrynogenu, leukocytów oraz przeciwciał w klasie IgG i IgA anty-Ch.p.

W celu oznaczenia parametrów biochemicznych wykorzystano metodę immunoenzymatyczną dla oznaczenia przeciwciał anty-hsp60 i przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p., metodę immunonefelometryczną celem oznaczenia białka hsCRP, zmodyfikowaną metodę Klaussa dla oznaczenia poziomu fibrynogenu oraz przy użyciu analizatora automatycznego oznaczono poziom leukocytów.

W analizie statystycznej zastosowano metody parametryczne (test t-studenta) jak i nieparametryczne: korelacje Spearmana, chi-kwadrat, test Manna-Whitneya.

Wykazano występowanie istotnie statystycznie wyższego poziomu hsCRP ($2,07 \pm 2,34$ vs $1,37 \pm 1,41$, $p = 0,003$), fibrynogenu ($3,96 \pm 0,99$ vs $3,1 \pm 0,36$, $p = 0,0002$) i leukocytów ($6,89 \pm 1,38$ vs $5,2 \pm 0,86$, $p < 0,00001$) w grupie badanych z ch.n.s. w porównaniu do grupy kontrolnej. W badanej grupie mężczyzn 30% osób z ch.n.s. i 6,4% badanych ochotników miało stężenia hsCRP > 3 mg/l, co świadczy o zwiększonym ryzyku sercowo naczyniowym w tej grupie.

Stężenie przeciwciał anti-hsp60 oraz przeciwciał IgG i IgA anti-Ch.p. nie różniło się istotnie pomiędzy grupą badanych z ch.n.s. a grupą kontrolną.

Stwierdzono występowanie dodatniej korelacji pomiędzy poziomem fibrynogenu a poziomem hsCRP w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej ($r = 0,63$, $p < 0,001$ i $r = 0,69$, $p < 0,001$). Poziom przeciwciał anti-hsp60 nie korelował z występowaniem podwyższonych poziomów markerów zapalenia i infekcji Ch.p. Nie obserwowano wpływu zakażenia Ch.p. na poziom markerów zapalnych w obu analizowanych grupach.

Wykazano brak różnic w poziomie przeciwciał anti-hsp60, hsCRP, fibrynogenu, leukocytów i przeciwciał IgG i IgA anti-Ch.p. zarówno pomiędzy chorymi z CCS I i CCS II jak i badanymi z ch.n.s. jednonaczyniową i wielonaczyniową. Rodzaj zastosowanej metody leczenia (PTCA vs PTCA + stent) nie wpływał na poziom przeciwciał anti-hsp60, markerów zapalenia i infekcji w badanej grupie chorych.

U chorych ze stabilną ch. n s. poddanych zabiegowi przezskórnej angioplastyki wieńcowej w porównaniu do grupy kontrolnej stwierdza się obecność przewlekłego, subklinicznego stanu zapalnego wyrażającego się podwyższonymi wartościami białka hsCRP, fibrynogenu i leukocytów.

Nie ma jednoznacznych dowodów na przyczynową rolę przetrwałej i przebytej infekcji Ch.p. w rozwoju miażdżycy, a określenie udziału zakażenia Ch.p. w powstawaniu zmian miażdżycowych wymaga dalszych badań klinicznych.

Dodatkowych badań wymaga wyjaśnienie udziału przeciwciał anti-hsp60 w etiologii procesu miażdżycowego, co doprowadzić może do wprowadzenia nowych sposobów modyfikacji odpowiedzi zapalno-immunologicznej za pomocą immunoterapii, a oznaczenie w przyszłości poziomu przeciwciał anti-hsp 60 może być pomocne w ocenie zagrożenia rozwojem miażdżycy.

Badane markery zapalenia są przydatne w ocenie toczącego się w naczyniu procesu zapalno-immunologicznego, mogą mieć wartość prognostyczną w wyborze grup o zwiększonym ryzyku sercowo-naczyniowym i przyczynić się do zmiany stosowanej dotychczas terapii w ocenianej grupie chorych.

SUMMARY

The theories formulated to explain atherogenesis have been evolving from vessel wall lipid accumulation to endothelial dysfunction with vascular wall remodelling. The progress in basic and experimental science have shown that inflammatory and immunological processes, cell and molecular mechanism can initiate atherogenesis. High frequency of cardiac and vessel disease creating on the ground of atherosclerosis caused that prevention is one of major aim of medicine. Estimating the risk of coronary artery disease and coming of clinical incidents is the basic aim of intervention work.

Markers of endothelial damage and activation inflammatory response have a prognostic value independent of classic risk factors. Diagnostic these markers, although still limited, should become the basic way of identification patients, that are the most danger with atherosclerosis complications.

In the study tried to estimate the level of anti-hsp60 antibody, C-reactive protein, fibrinogen, leucocytes and anti-Ch.p. in class IgG and IgA in group with stable coronary artery disease (CAD) and in group with healthy subjects.

In the research compared the level of anti-hsp60 antibodies, C-reactive protein, fibrinogen, leucocytes and anti-Ch.p. in class IgG and IgA in depending on amount of vessels involved in atherosclerosis and progressing atherosclerosis according to classification of Canadian Cardiological Association. Additionally examined correlation between anti-hsp60 antibody, seropositivity to Ch.p. infection (the level of IgG and IgA antibodies) and the level of C-reactive protein, fibrinogen, leucocytes in patients with CAD and in group with healthy volunteers and also in group in CAD depending on amount of vessels involved in atherosclerosis and progressing atherosclerosis according to classification of Canadian Cardiological Association.

The study group consisted of 71 patients aged 37-53 ($47,07 \pm 4,23$ lat) from the 2nd Department of Cardiology at the Medical College of Jagiellonian University in Cracow, with stable CAD. The control group consisted of 31 healthy volunteers aged 37-53, ($44,97 \pm 5,38$ lat) matched according to sex and age, non-smokers, with normal lipid levels, blood pressure and body mass. The exclusion criteria from the study were: an active inflammatory process hypertension diabetes mellitus obesity ($BMI < 30 \text{ kg/m}^2$), and lipids disorders, absence of autoimmune states and neoplasms.

In all patients according to the medical history excluded active (the last 8 weeks) and chronic inflammatory and infective disease, autoimmunological states and neoplasm, diabetes, endocrinological disorders and liver disease.

All patients had proper blood pressure values (systolic pressure < 140mmHg, diastolic pressure < 90mmHg), non-smokers at least since 2 years. In this way excluded part of factors involving in research results.

To confirm the diagnosis by all participants medical history, patient examination, clinical measurements, ecg, exercise ecg, coronarography were made. In examined patients percutaneous angioplasty were made (PTCA) and biochemical parameters were taken 6 months after successful coronary angioplasty.

65% of patients with CAD demonstrated symptoms of CCS I and 35% CCS II according to classification of Canadian Cardiological Association. By 60% patients with CAD confirmed one vessel coronary disease and by 40% patients multi-vessel disease. Patients were treated with standard pharmacological therapy according obligatory guidelines (aspirin, ACE-inhibitor, beta-blocker, statin).

The study protocol was approved by the Jagiellonian University Medical College Ethics Committee and informed consent was obtained from all participants.

Venous blood samples were drawn after an overnight fast to measure the level of anti-hsp60 antibody, high sensitive C-reactive protein, fibrinogen, leucocytes and anti-Ch.p. in class IgG and IgA antibodies.

The level of anti-hsp60 and anti-Ch.p. antibodies were measured by, an immunoenzymatic method (ELISA), high sensitivity CRP levels were measured using the immunonephelometric method and using modified Klaus method the level of fibrinogen were measured. The level of leucocytes were measured using automatic analyzer.

The following statistical tests were performed: parametric tests (Student's t-test) and non-parametric tests - chi-square, Spearman's rank correlation. Mann-Whitney's.

Patients with confirmed coronary artery disease had significantly higher levels of hs-CRP ($2,07 \pm 2,34$ ng/ml vs $1,37 \pm 1,41$ ng/ml, $p = 0,003$), fibrinogen ($3,96 \pm 0,99$ g/l vs $3,1 \pm 0,36$ g/l, $p = 0,0002$), and leukocytes ($6,89 \times 10^3 \pm 1,38$ vs $5,2 \times 10^3 \pm 0,86$, $p < 0,00001$) as compared with healthy subjects. In examined study men group 30% patients with CAD and 6,4% healthy volunteers presented hsCRP concentrations > 3mg/l, that cause an elevated coronary-artery risk in that group.

The statistical significant difference in levels of anti-hsp60 antibodies and IgG and IgA anti-Ch.p. antibodies has not been proved between study groups.

The positive correlation between the level of fibrinogen and hsCRP in patients with CAD and control group was observed ($r = 0,63$, $p < 0,001$ i $r = 0,69$, $p < 0,001$). The level of anti-hsp60 antibodies did not correlate with presence of elevated level of inflammatory markers and Ch.p. infection. Influence of Ch.p. infection on elevated inflammatory markers in patients with CAD and in healthy subjects was not proved.

There was no difference between the level of anti-hsp60 antibodies, hsCRP, fibrinogen, leucocytes and IgG i IgA anti-Ch.p. antibodies in patients with CCS I and CCS II as well in patients with CAD and one-vessel disease or multi-vessel disease. Type of used method (PTCA vs PTCA + stent) did not influence on level of anti-hsp60 antibodies, inflammatory and infection markers in study group of patients.

In patients with stable CAD undergoing percutaneous angioplasty in comparison to healthy subjects is confirmed, persistent inflammatory reaction initiates the whole body activation inflammatory response with subclinical view demonstrated with higher level of C-reactive protein, fibrinogen and leukocytes.

There is no clearly evidence for cause reason for chronic and persistent infection of Ch.p. in developing of atherosclerosis and describing role of Ch.p. infection in atherosclerotic lesions needs further clarifications.

Further study needs also describing role of anti-hsp60 antibodies in etiology of atherosclerosis that can cause to new way of immuno-inflammatory response using immunotherapy and measure in future anti-hsp60 antibodies can help to estimate to develop atherosclerosis.

Examined inflammatory markers are useful for estimating immuno-inflammatory process developing in an artery, may have a prognostic value in choosing group with elevated coronary-artery risk and may cause have change therapy used so far in estimated group of patients.

IX PIŚMIENICTWO

1. McGill H.C.Jr, McMahan C.A., Zieske A.W., Tracy R.E., Malcom G.T., Herderick E.E., Styron J.P.: Association of coronary heart disease factors with microscopic qualities of coronary atherosclerosis in youth. *Circulation* 2000; 102: 374-379.
2. Schwartz C.J., Valente A.J., Kelley J.L., Sprague E.A., Edwards E.H.: Thrombosis and the development of atherosclerosis: Rokitsky revisited. *Semin. Thromb. Hemost.*, 1988; 14: 189-195.
3. Born G.V.R.: Determinants of LDL and fibrinogen uptake by artery walls. *Atherosclerosis* 1994; 109: 348-351.
4. Partyka Ł., Hartwich J., Kieć-Wilk B., Polus A., Wybrańska I., Dembińska-Kieć A.: Miażdżycy procesem autoimmunologicznym? *Przegl. Lek.*, 2001; 58: 1067-1070.
5. Ross R., Glomset J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis (second of two parts). *N. Engl. J. Med.*, 1976; 295: 420-425.
6. Libby P.: Vascular biology of atherosclerosis. *Am. J. Cardiol.*, 2003; 91: 3A-6A.
7. Dembińska-Kieć A.: Miażdżycy naczyń jako odpowiedź immunologiczna ustroju. Udział tlenku azotu (NO). *Acta Angiol.*, 1995; 1: 5-14.
8. Kleindienst R., Schett G., Amberger A., Seitz C.S., Michaelis D., Metzler B., Dietrich H., Xu Q., Wick G.: Atherosclerosis as an autoimmune condition. *Isr. J. Med. Sci.*, 1995; 31: 596-599.
9. Ptak W., Ptak M.: *Podstawy Immunologii*. Kraków, 1999.
10. Valen G., Yan Z.Q., Hansson G.K.: Nuclear factor kappa-B and the heart. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2001; 38: 307-314.
11. Ross R.: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809.
12. Lind L.: Circulating markers of inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003; 169: 203-214.
13. Zapolska-Downar D.: Markery stanu zapalnego w diagnostyce progresji miażdżycy. *Terapia* 2001; 10: 48-52.
14. Libby P., Ridker P.M., Maseri A.: Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002, 105: 1135-1143.

15. Ley K., Huo Y.: VCAM-1 is critical in atherosclerosis. *J. Clin. Invest.*, 2001;107: 1209-1210.
16. Zebrack J.S., Anderson J.L.: The role of inflammation and infection in the pathogenesis and evolution of coronary artery disease. *Kardiol. Rep.*, 2002; 4: 278-288.
17. Chłopicki S., Gryglewski R.P.: Farmakologia śródbłónka. *Kardiol. Pol.*, 2002; 57: 5-15.
18. Mach F., Schonbeck U., Libby P.: CD40 signaling in vascular cells: a key role in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998; 137: 89-95.
19. Hansson G.K., Jonasson L., Seifert P.S., Stemme S.: Immune mechanisms in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1989; 9: 567-578.
20. Latchman D.S.: Stress proteins. Springer 1999.
21. Voelmmmy R.: Transduction of the stress signal and mechanisms of transcriptional regulation of heat shock/stress protein gene expression in higher eukaryotes. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.*, 1994; 4 : 357-401.
22. Morimoto R.: Cells in stress: transcriptional activation of heat shock genes. *Science* 1993; 259: 1409-1410.
23. Shi Y., Mosser D.D., Morimoto R.I.: Molecular chaperones as HSF1-specific transcriptional repressors. *Genes Dev.*, 1998; 12: 654-666.
24. Voelmmmy R., Boellmann F.: Chaperone regulation of heat shock protein response. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2007; 594: 89-99.
25. Welch W.J.: How cells respond to stress. *Sci. Am.*, 1993; 268: 56-64.
26. Young R., Elliott T.: Stress proteins, infection and immune surveillance. *Cell* 1989; 59, 5-8.
27. Latchman D.S.: Heat shock proteins: protective effect and potential therapeutic use. *Int. J. Mol. Med.*, 1998; 2: 375-381.
28. Lamb J.R., Bal V., Mendez-Samperio A., Mehlert A., So A., Rothbard J., Jindal S., Young R.A., Young D.B.: Stress proteins may provide a link between the immune response to infection and autoimmunity. *Int. Immunol.*, 1989; 1: 191-196.
29. Kol A., Sukhova G.K., Lichtman A.H., Libby P.: Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor- α and matrix metalloproteinase expression. *Circulation* 1998; 98: 300-3007.
30. Kaufmann S.H: Heat shock proteins and the immune response. *Immunol. Today* 1990; 11: 129-136.

31. Mandal K., Foteinos G., Jahangiri M., Xu Q.: Role of antiheat shock protein 60 autoantibodies in atherosclerosis. *Lupus* 2005; 14: 742-746.
32. Latchman D.S.: Heat shock proteins and cardiac protection. *Cardiovas. Res.*, 2001; 51: 637-646.
33. Schett G., Xu Q., Amberger A., Van der Zee R., Recheis H., Willeit J., Wick G.: Autoantibodies against heat shock protein mediate endothelial cytotoxicity. *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 2569-2577.
34. Xu Q.: Role of heat shock proteins in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2002; 22: 1547-1559.
35. Kol A., Bourcier T., Lichtman A.H., Libby P.: Chlamydial and human heat shock protein 60 activates human vascular endothelium, smooth muscle cells and macrophages. *J. Clin. Invest.*, 1999; 103: 571-577.
36. Pockley A.G.: Heat shock proteins, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation* 2002; 105: 1012-1017.
37. Kol A., Litchman A.H., Finberg R.W., Libby P., Kurt-Jones E.A.: Heat shock protein (HSP) 60 activates the innate immune response: CD14 is an essential receptor for HSP60 activation of mononuclear cells. *J. Immunol.*, 2000; 164: 13-17.
38. Jones D.B., Coulson A.F., Duff G.W.: Sequence homologies between hsp 60 and autoantigens. *Immunol. Today* 1993; 14: 115-118.
39. Noll G.: Pathogenesis of atherosclerosis: a possible relation to infection. *Atherosclerosis* 1998; 140: 3-9.
40. Kuo C.C., Jackson L.A., Campbell L.A., Grayston J.T.: Chlamydia pneumoniae (TWAR). *Clin. Microbiol. Rev.*, 1995; 8: 451-461.
41. Nitsch-Osuch A., Choroszy-Król I., Wardyn A.K.: Zakażenia wywołane przez Chlamydia pneumoniae. Górnickie Wydawnictwo Medyczne, Wrocław 2001.
42. Cook P.J., Honeybourne D.: Clinical aspects of Chlamydia pneumoniae infection. *Presse Med.*, 1995; 24: 278-282.
43. Ljungström L., Franzén C., Schlaug M., Elowson S., Viidas U.: Reinfection with Chlamydia pneumoniae may induce isolated and systemic vasculitis in small and large vessels. *Scand. J. Infect. Dis., suppl.*, 1997; 104 : 37-40.
44. Nystrom-Rosander C., Thelin S., Hjelm E., Lindquist O., Pålsson C., Friman G.: High incidence of Chlamydia pneumoniae in sclerotic heart valves of patient undergoing aortic valve replacement *Scand. J. Infect. Dis.*, 1997; 29: 513-516.

45. Von Hertzen L.: Chlamydia pneumoniae infection and its role in chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Med.*, 1998; 30: 27-37.
46. Shor A., Phillips J.I., Ong G., Thomas B.J., Taylor-Robinson D.: Chlamydia pneumoniae in atheroma: consideration of criteria for causality. *J. Clin. Pathol.*, 1998; 51: 812-817.
47. Jackson L.A., Campbell L.A., Schmidt R.A., Kuo C.C., Cappuccio A.L., Lee M.J., Grayston J.T.: Specificity of detection of Chlamydia pneumoniae in cardiovascular atheroma. *Am.J. Pathol.*, 1997; 150: 1785-1790.
48. Saikku P., Leinonen M., Mattila K., Ekman M.R., Nieminen M.S., Mäkelä P.H., Huttunen J.K., Valtonen V.: Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988; 2: 983-986.
49. Laurila A., Bloigu A., Näyhä S., Hassi J., Leinonen M., Saikku P.: Chlamydia pneumoniae antibodies associated with altered serum lipid profile. *Int. J. Circumpolar Health.*, 1998; 57: 329-332.
50. Linnanmaki E., Leinonen N., Mattila K., Nieminen M.S., Valtonen V., Saikku P.: Chlamydia pneumoniae - specific circulating immune complexes in patients with chronic coronary heart disease. *Circulation* 1993; 87: 1130-1134.
51. Shor A., Kuo C.C., Patton D.L.: Detection of Chlamydia pneumoniae in coronary arterial fatty streaks and atheromatous plaques. *S. Afr. Med. J.*, 1992; 82:158-161.
52. Shor A., Phillips J.I., Ong G., Thomas B.J., Taylor-Robinson D.: Chlamydia pneumoniae in atheroma: consideration of criteria for causality. *J. Clin. Pathol.*, 1998; 51: 812-817.
53. Kuo C.C., Coulson A.S., Campbell L.A., Cappuccio A.L., Lawrence R.D., Wang S.P., Grayston J.T.: Detection of Chlamydia pneumoniae in the walls of arteries of lower extremities from patients undergoing bypass operation for arterial obstruction. *J. Vasc. Surg.*, 1997; 26: 29-31.
54. Kuo C.C., Grayston J.T., Cambel L.A., Goo Y.A., Wissler R.W., Benditt E.P.: Chlamydia pneumoniae (TWAR) in coronary arteries of young adults (15-34 years old). *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1995; 92: 6911-6914.
55. Kuo C.C., Shor A., Cambell L.A., Fukushi H., Patton D.L., Grayston J.T.: Demonstration of Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic lesions of coronary arteries. *J. Infect. Dis.*, 1993; 167: 841-845.
56. Muhlestein J.B., Hammond E.H., Carlquist J.F., Radike E., Thomson M.J., Karagounis L.A., Woods M.L., Anderson J.L.: Increased incidence of Chlamydia species within the coronary arteries of patients with sympto-

matic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1996; 27:1555-1561.

57. Blasi F., Denti F., Erba M., Cosentini R., Raccanelli R., Rinaldi A., Fagetti L., Esposito G., Ruberti U., Allegra L.: Detection of *Chlamydia pneumoniae* but not *Helicobacter pylori* in atherosclerotic plaques of aortic aneurysms. *J. Clin. Microbiol.*, 1996; 34: 2766-2769.
58. Gnarpe H., Gnarpe J., Gästrin B., Hallander H.: *Chlamydia pneumoniae* and myocarditis. *Scand. J. Infect. Dis.*, suppl., 1997; 104: 50-52.
59. Juvonen J., Laurila A., Juvonen T., Aläkärrppä H., Surcel H.M., Lounatmaa K., Kuusisto J., Saikku P.: Detection of *Chlamydia pneumoniae* in human nonrheumatic stenotic aortic valves. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1997; 29: 1054-1059.
60. Ong G., Thomas B.J., Mansfield A.O., Davidson B.R., Taylor-Robinson D.: Detection and widespread distribution of *Chlamydia pneumoniae* in the vascular system and its possible implications. *J. Clin. Pathol.*, 1996; 49:102-106.
61. Ramirez J.A.: Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from the coronary artery of a patient with coronary atherosclerosis. The *Chlamydia pneumoniae/Atherosclerosis Study Group*. *Ann. Intern. Med.*, 1996; 125: 979-982.
62. Grayston J.T., Kuo C.C., Coulson A.S., Campbell L.A., Lawrence R.D., Lee M.J., Strandness E.D., Wang S.P.: *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) in atherosclerosis of the carotid artery. *Circulation* 1995; 92: 3397-3400.
63. Juvonen J., Juvonen T., Laurila A., Alakärppä H., Lounatmaa K., Surcel H.M., Leinonen M., Kairaluoma M.I., Saikku P.: Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in the walls of abdominal aortic aneurysms. *J. Vasc. Surg.*, 1997; 25: 499-505.
64. Molestina R.E., Miller R.D., Ramirez J.A., Summersgill J.T.: Infection of human endothelial cells with *Chlamydia pneumoniae* stimulates transendothelial migration of neutrophils and monocytes. *Infect. Immun.*, 1999; 67: 1323-1330.
65. Moazed T.C., Kuo C.C., Patton D.L. Grayston J.T., Cambell A.: Experimental rabbit models of *Chlamydia pneumoniae* infection. *Am. J. Pathol.*, 1996; 148: 667-676.
66. Fong I.W., Chiu B., Viira E., Fong M.W., Jang D., Mahony J.: Rabbit model for *Chlamydia pneumoniae* infection. *J. Clin. Microbiol.*, 1997; 35: 48-52.
67. Laitinen K., Laurila A., Pyhälä L., Leinonen M., Saikku P.: *Chlamydia pneumoniae* infection induces inflammatory changes in the aortas of rabbits. *Infect. Immun.*, 1997; 65: 4832-4835.
68. Muhlestein J.B., Anderson J.L., Hammond E.H., Zhao L., Trehan S., Schwobe E.P., Carlquist J.F.: Infection with *Chlamydia pneumoniae* accele-

rates the development of atherosclerosis and treatment with azithromycin prevents it in a rabbit model. *Circulation* 1998; 97: 633-636.

69. Hu H., Pierce G.N., Zhong G.: The atherogenic effects of Chlamydia are dependent on serum cholesterol and specific to Chlamydia pneumoniae. *J. Clin. Invest.*, 1999; 103: 747-753.
70. Fryer R.H., Schwobe E.P., Woods M.L., Rodgers G.M.: Chlamydia species infect human vascular endothelial cell and induce procoagulant activity. *J. Investig. Med.*, 1997; 45: 168-174.
71. Kaul R., Wenman W.M.: Chlamydia pneumoniae facilitates monocytes adhesion to endothelial and smooth muscle cells. *Microb. Pathog.*, 2001; 30: 149-155.
72. Dechend R., Maass M., Giffers J., Dietz R., Scheidereit C., Leutz A., Gulba D.C.: Chlamydia pneumoniae infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF-KB and induces tissue factor and PAI-1 expression. *Circulation* 1999; 100:1369-1373.
73. Anderson J.L., Muhlestein J.B., Carlquist J., Allen A., Trehan S., Nielson C., Hall S., Brady J., Egger M., Horne B., Lim T.: Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease and serological evidence for Chlamydia pneumoniae infection. The azithromycin in coronary artery disease: elimination of myocardial infection with Chlamydia (ACADEMIC) study. *Circulation* 1999; 99:1540-1547.
74. O' Connor C.M., Dunne M.W., Pfeffer M.A., Muhlestein J.B., Yao L., Gupta S., Benner R.J., Fisher M.R., Cook T.D.: Azithromycin for the secondary prevention of coronary heart disease events: the WIZARD study: a randomized controlled trial Investigators in the WIZARD Study. *JAMA* 2003; 290: 1459-1466.
75. Rödel J., Assefa S., Prochnau D., Woytas M., Hartmann M., Groh A., Straube E.: Interferon beta induction by Chlamydia pneumoniae in human smooth muscle cells. *Immunol. Med. Microbiol.*, 2001; 32: 9-15.
76. Ross R.: Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340:115-126.
77. Moazed T.C., Kuo C.C., Grayston J.T., Cambell A.: Evidence of systemic dissemination of Chlamydia pneumoniae via macrophages in the mouse. *J. Infect. Dis.*, 1998; 177: 1322-1325.
78. Moazed T.C., Kuo C., Grayston J.T., Campbell L.A.: Murine models of Chlamydia pneumoniae infection and atherosclerosis. *J. Infect. Dis.*, 1997; 175: 883-890.

79. Lopes-Virella M.F.: Interactions between bacterial lipopolysaccharides and serum lipoproteins and their possible role in coronary heart disease. *Eur. Heart J.*, suppl., 1993; 14: 118-124.
80. Epstein S.E., Zhou Y.E., Zhu J.: Infection and atherosclerosis: emerging mechanistic paradigms. *Circulation* 1999; 100: 20-28.
81. Nieto F.J.: Viruses and atherosclerosis: a critical review of the epidemiologic evidence. *Am. Heart J.*, 1999; 138: 453-460.
82. Chiu B.: Multiple infections in carotid atherosclerotic plaques. *Am. Heart J.*, 1999; 138: 534-536.
83. Roivainen M., Viik-Kajander M., Palosuo T., Toivanen P., Leinonen M., Saikku P., Tenkanen L., Manninen V., Hovi T., Mänttari M.: Infection, inflammation, and risk of coronary heart disease. *Circulation* 2000; 101: 252-257.
84. Sternby N.: Atherosclerosis and peptic ulcer. *Biulletin of the World Health Organisation* 1976; 53: 571-580.
85. Folsom A.R., Nieto F.J., Sorlie P., Chambless L.E., Graham D.Y.: *Helicobacter pylori* seropositivity and coronary heart disease incidence. *Circulation* 1998; 98: 845-850.
86. Strachan D.P., Mendall M.A., Carrington D., Butland B., Yarnell J.W.G., Sweetnam P.M., Elwood P.C.: Relation of *Helicobacter* infection to 13-year mortality and incident ischemic heart disease in the Cearphilly Prospective Heart Disease Stud. *Circulation* 1998; 98: 1286-1290.
87. Danesh J.: Coronary heart disease, *Helicobacter pylori*, dental disease, *Chlamydia pneumoniae* and cytomegalovirus: meta-analyses of prospective studies. *Am. Heart.J.*, 1999; 138: 434-437.
88. Tillett W.S., Francis T.: Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J. Exp. Med.*, 1930; 52: 561-567.
89. Thomson D., Pepys M.B., Wood S.P.: The physiological structure of human C-reactive protein and its coplex with phosphocholine. *Structure Fold. Des.*, 1999; 7: 169-177.
90. Gabay C., Kushner L.: Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 448-454.
91. Tracy R.P., Psaty B.M., Macy E., Bovil E.G., Cushman M., Cornell E.S., Kuller L.H.: Lifetime smoking exposure affects the association of C-reactive protein with cardiovascular disease risk factors and subclinical disease in healthy elderly subjects. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1997; 17: 2167-2176.

92. Visser M., Bouter L.M., McQuillan G.M., Wener M.H., Harris T.B.: Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *Jama* 1999; 282: 2131-2135.
93. Rader D.J.: Inflammatory markers of coronary risk. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 343: 1179-1182.
94. Barinas-Mitchell E., Cushman M., Meilahn E.N., Tracy R.P., Kuller L.H.: Serum levels of C-reactive protein are associated with obesity, weight gain, and hormone replacement therapy in healthy postmenopausal women. *Am. J. Epidemiol.*, 2001; 153: 1094-1101.
95. Whicher J.T., Ritchie R.F., Johnson A.M., Baudner S., Bienvenu J., Blirup-Jensen S., Carlstrom A., Dati F., Ward A.M., Svendsen P.J.: New international reference preparation for proteins in human serum (RPPHS). *Clin. Chem.*, 1994; 40: 934-938.
96. Zwaka T.P., Hombach V., Torzewski J.: C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103: 1194-1197.
97. Yu H., Rifai N.: High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerosis: from theory to therapy. *Clin. Biochem.*, 2000; 33: 601-10.
98. Pasceri V., Willerson J.T., Yeh T.H.E.: Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000; 102: 2165-2168.
99. Stranberg T.E., Vanhanen H., Tikkanen M.J.: Effect of statins on C-reactive protein in patients with coronary artery disease. *Lancet* 1999; 353: 118-119.
100. Ridker P.M., Rifai N., Pfeffer M., Sacks F.M., Moyer L.A., Goldman S., Flaker G.C., Braunwald E.: Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1998; 98: 839-844.
101. Albert M.A., Danielson E., Rifai N., Ridker P.M.: Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study.
102. Nissen S.E.: Effect of intensive lipid lowering on progression of coronary atherosclerosis: evidence for an early benefit from the Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering (REVERSAL) trial. *Am. J. Cardiol.*, 2005; 96: 61-68.
103. Ray K.K., Cannon C.P., Cairns R., Morrow D.A., Rifai N., Hirtane A.J., McCabe C.H., Skene A.M., Gibson C.M., Ridker P.M., Braunwald E.: Relationship between uncontrolled risk factors and C-reactive protein levels in patients receiving standard or intensive statin therapy for acute coronary syn-

- dromes in the PROVE IT-TIMI 22 trial. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2005; 46: 1417-1424.
104. Ridker P.M.: JUPITER Study Group: Rosuvastatin in the primary prevention of cardiovascular disease among patients with low levels of low-density lipoprotein cholesterol and elevated high-sensitivity C-reactive protein: rationale and design of the JUPITER trial. *Circulation* 2003; 108: 2292-2297.
 105. Stryer L.: *Biochemia*. PWN, Warszawa 1997.
 106. Senior R.M., Skogen W.F., Griffin G.L., Wilner G.D.: Effects of fibrinogen derivatives upon the inflammatory response. Studies with human fibrinopeptide B. *J. Clin. Invest.*, 1986; 77: 1014-1019.
 107. Woodward M., Lowe G.D., Rumley A., Tunstall-Pedoe H., Philippou H., Lane D.A., Morrison C.E.: Epidemiology of coagulation factor, inhibitors and activation markers. The THIRD GLASGOW MONICA Survey. II. Relationships to cardiovascular risk factor and prevalent cardiovascular disease. *Br. J. Haematol.*, 1997; 97: 785-797.
 108. Augustyniak W., Judkiewicz L., Gębicki L., Stańczyk L., Babiński S.: Metody oznaczania stężenia fibrynogenu. *Pol. Tyg. Lek.*, 1984; 39: 1587-1589.
 109. Ernst E., Resch K.L.: Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. *Ann. Intern. Med.*, 1993; 118: 956-963.
 110. Ernst E.: Plasma fibrinogen - an independent cardiovascular risk factor. *J. Intern. Med.*, 1990; 227: 365-372.
 111. Lee A.J., Lowe G.D., Woodward M., Tunstall-Pedoe H.D.J.: Fibrinogen in relation personal history of prevalent hypertension, diabetes, stroke, intermittent claudication coronary heart disease and family history: the Scottish Heart Health Study. *Br. Heart J.*, 1993; 69: 338-342.
 112. Jastrzębska M., Torbus-Lisiecka B., Pieczul-Mróz J., Chelstowski K., Naruszewicz M.: Fibrinogen, factor VII, antithrombin III, cholesterol and triglycerides in young men with myocardial infarction and in their sons. *Mater Med. Pol.*, 1997; 29: 3-7.
 113. Beigel Y., Fuchs J., Snir M., Green P., Lurie Y., Djaldetti M.: Lovastatin therapy in hypercholesterolemia: effect on fibrinogen, hemorrheologie parameters, platelet activity and red blood cell morphology. *J. Clin. Pharmacol.*, 1991; 31: 512-517.
 114. Isaacsohn J., Setaro J.F., Nicholas C., Davey J.A., Diotallevi L.J., Christianson D.S., Liskov E., Stein E.A., Black H.R.: Effects of lovastatin therapy on plasminogen activator inhibitor-1 antigen levels. *Am. J. Cardiol.*, 1994; 74: 735-737.
 115. Koenig W., Heher R., Ditschuneit H.H., Kuhn K., Ernst E., Rosenthal J., Hombach V.: Lovastatin alters blood rheology in primary hiperlipopro-

- teinemia: dependence on lipoprotein (a)? *J. Clin. Pharmacol.*, 1992; 32: 539-545.
116. Koppensteiner R., Minar E., Ehringer H.: Effect of lovastatin on hemorheology in type II hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 1990; 83: 53-58.
 117. Tsuda Y., Satoh K., Kitadai M., Izumi Y., Hosomi N.: Effects of pravastatin sodium and simvastatin on plasma fibrinogen level and blood rheology in type II hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 1996; 122: 225-233.
 118. Branchi A., Rovellini A., Sommariva D., Gugliandolo A.G., Fasoli A.: Effect of three fibrate derivatives and of two HMG-CoA reductase inhibitors on plasma fibrinogen level in patients with primary hypercholesterolemia. *Thromb. Haemost.*, 1993; 70: 241-243.
 119. Wada H., Mori, Y., Kaneko T., Wakita Y., Minamikawa K., Ohiwa M., Tamaki S., Yokoyama N., Kobayashi T., Deguchi K.: Hypercoagulable state in patients with hypercholesterolemia: effects of pravastatin. *Clin. Ther.*, 1992; 14: 829-834.
 120. Salonen R., Nyyssonen K., Porkkala E., Rummukainen J., Belder R., Park J.S., Salonen J.T.: Kuopio Atherosclerosis Prevention Study (KAPS): a population based primary preventive trial of the effect of LDL lowering on atherosclerotic progression in carotid and femoral arteries. *Circulation* 1995; 92:1758-1764.
 121. Mitropoulos K.A., Armitage J.M., Collins R., Meade T.W., Reeves B.E., Wallendszus K.R., Wilson S.S., Lawson A., Peto R.: Randomized placebo-controlled study of the effects of simvastatin on haemostatic variables, lipoproteins and free fatty acids. The Oxford Cholesterol Study Group. *Eur. Heart. J.*, 1997;18: 235-241.
 122. Davidson M., McKenny J., Stein E., Schrott H., Bakker-Arkema R., Fayyad R., Black D.: Comparison of one-year efficacy and safety of atorvastatin versus lovastatin in primary hypercholesterolemia. *Am. J. Cardiol.*, 1997; 79:1475-1481.
 123. Wierzbicki A.S., Lumb P.J., Semra Y.K., Crook M.A.: Effect of atorvastatin on plasma fibrinogen. *Lancet* 1998; 351: 569-579.
 124. Nair D.R., Papadakis J.A., Jagroop Mikhailidis D.P., Winder A.F.: Statins and fibrinogen. *Lancet* 1998; 351: 1430-1432.
 125. Cortellaro M., Cofrancesco E., Boschetti C., Cortellaro F., Mancini M., Paoletti R.: Effects of fluvastatin and bezafibrate combination on plasma fibrinogen level, t-plasminogen activator inhibitor and C reactive protein levels in coronary artery disease patients with mixed hiperlipidemia (FACT study). Fluvastatin alone and in Combination Treatment. *Thromb. Haemost.*, 2000; 83: 549-553.

126. Rauch U., Osende J.I., Chesebro J.H., Fuster V., Vorchheimer D.A., Harris K., Harris P., Sandler D.A., Fallon J.T., Jayaraman S., Badimon J.J.: Statins and cardiovascular diseases: the multiple effects of lipid-lowering therapy by statins. *Atherosclerosis* 2000; 153: 181-189.
127. Petrie J.C., O'Brien E.T., Littler W.A., de Swiet M.: Recommendations on blood pressure measurement. *Br. Med. J.*, 1986; 293: 611-615.
128. Perschinka H., Mayr M., Millonig G., Mayerl C., van der Zee R., Morrison S.G., Morrison R.P., Xu Q., Wick G.: Cross-reactive B-cell epitopes of microbial and human heat shock protein 60/65 in atherosclerosis. *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.*, 2003; 23: 1060-1065.
129. Mehta J., Saldeen T., Rand K.: Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. *Am. J. Coll. Cardiol.*, 1998; 31: 1217-1225.
130. Veres A., Füst G., Smieja M., McQueen M., Horváth A., Yi Q., Bíró A., Pogue J., Romics L., Karádi I., Singh M., Gnarpe J., Prohászka Z., Yusuf S.: Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study Investigators: Relationship of anti-60 kDa heat shock protein and anti-cholesterol antibodies to cardiovascular events. *Circulation* 2002; 106: 2775-2780.
131. Burian K., Kis Z., Virok D., Endresz V., Prohaszka Z., Duba J., Berencsi K., Boda K., Horvath L., Romics L., Fust G., Gonczol E.: Independent and joint effects of antibodies to human heat-shock protein 60 and *Chlamydia pneumoniae* infection in the development of coronary atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103: 1503-1508.
132. Xu Q., Willeit J., Marosi M., Kleindienst R., Oberhollenzer F., Kiechl S., Stulnig T., Luef G., Wick G.: Associations of serum antyodies to heat shock protein 65 with carotid atherosclerosis. *Lancet* 1993; 341: 255-259.
133. Xu Q., Kleindienst R., Schett G., Waitz W., Jindal S., Gupta R.S., Dietrich H., Wick G.: Regresion of arteriosclerotic lesions induced by immunization with heat shock protein 65 containing material in normocholesterolemic, but not hypercholesrerolemic rabbits. *Atherosclerosis* 1996; 123: 145-155.
134. Xu Q., Kleindienst R., Waitz W., Dietrich H., Wick G.: 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. *J. Clin. Invest.*, 1993; 91: 2693-2702.
135. Mahdi O.S., Horne B.D., Mullen K., Muhlestein J.B., Byrne G.I.: Serum immunoglobulin G antibodies to chlamydial heat shock protein 60 but not to human and bacterial homologs are associated with coronary artery disease. *Circulation* 2002; 106: 1659-1663.
136. Hoppichler F., Lechleitner M., Traweger C., Schett G., Dzien A., Sturm W., Xu Q.: Changes of serum antibodies to heat-shock protein 65 in coronary

heart disease and acute myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1996; 126: 333-338.

137. Zhu J., Quyyumi A.A., Rott D., Csako G., Wu H., Halcox J., Epstein S.E.: Antibodies to human heat- shock protein 60 are associated with the presence and severity of coronary artery disease: evidence for autoimmune component of atherogenesis. *Circulation* 2001; 103: 1071-1075.
138. Huittinen T., Leinonen M., Tenkanen L., Mänttari M., Virkkunen H., Pitkänen T., Wahlström E., Palosuo T., Manninen V., Saikku P.: Autoimmunity to human heat shock protein 60, *Chlamydia pneumoniae* infection, and inflammation in predicting coronary risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2002; 22: 431-437.
139. Birnie D.H., Vickers L.E., Hillis W.S., Norrie J., Cobbe S.M.: Increased titres of anti-human heat shock protein 60 predict an adverse one year prognosis in patients with acute cardiac chest pain. *Heart* 2005; 91:1124-1126.
140. Ghayour-Mobarhan M., Lamb D.J., Vaidya N., Livingstone C., Wang T., Ferns G.A.: Heat shock protein antibody titers are reduced by statin therapy in dyslipidemic subjects: a pilot study. *Angiology* 2005; 56:61-68.
141. Pockley A.G., Wu R., Lemne C., Kiessling R., de Faire U., Frostegård J.: Circulating heat shock protein 60 is associated with early cardiovascular disease. *Hypertension* 2000; 36: 303-307.
142. Xu Q., Schett G., Perschinka H., Mayr M., Egger G., Oberhollenzer F., Willeit J., Kiechl S., Wick G.: Serum soluble heat shock protein 60 is elevated in subjects with atherosclerosis in a general population. *Circulation* 2000; 102: 14-20.
143. Maass R., Böger R.H.: Old and new cardiovascular risk factors: from unresolved issues to new opportunities. *Atherosclerosis suppl.*, 2003; 4: 5-17.
144. Rohde L., Hennekens Ch., Ridker P.M.: Survey of C-reactive protein and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. *Am. J. Cardiol.*, 1999; 84:1018-1022.
145. Ridker P.M., Cushman M., Stampfer M., Tracy R.P., Hennekens C.H.: Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N. Engl. J. Med.*, 1997; 336: 973-979.
146. Haverkate F., Thompson S.G., Pyke S.D., Gallimore J.R., Pepys M.B.: Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet* 1997; 349: 462-466.
147. Koenig W., Sund M., Fröhlich M., Fischer H.G., Löwel H., Döring A., Hutchinson W.L., Pepys M.B.: C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy

middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999; 99: 237-242.

148. Rifai N., Ridker P.M.: Proposed cardiovascular risk assessment algorithm using high-sensitivity C-reactive protein and lipid screening. *Clin. Bioch.*, 2001; 47: 28-30.
149. De Backer J., Mak R., De Bacquer D., Van Renterghem L., Verbraekel E., Kornitzer M., De Backer G.: Parameters of inflammation and infection in a community based case-control study of coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2002; 160: 457-463.
150. Danesh J., Collins R., Appleby P., Peto R.: Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA* 1998; 279: 1477-1482.
151. Berk B.C., Weintraub W.S., Alexander R.W.: Elevation of C-reactive protein in „active” coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.*, 1990; 65: 168-172.
152. De Winter R., Bholasingh R., Lijmer J., Koster R.W., Gorgels J.P., Schouten Y., Hoek F.J., Sanders G.T.: Independent prognostic value of C-reactive protein and troponin I in patient with unstable angina or non-Q wave myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.*, 1999; 42: 240-45.
153. Morrow D., Rifai N., Antman E. M., Weiner D.L., McCabe C.H., Cannon C.P., Braunwald E.: C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes. A TIMI 11A substudy. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998; 31:1460-1465.
154. Zebrak J.S., Muhlestein J.B., Horne B.D., Anderson J.L.: Intermountain Heart Collaboration Study Group: C-reactive protein and angiographic coronary artery disease: independent and additive predictors of risk in subjects with angina. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2002; 29: 632-637.
155. Rosenson R.S., Koenig W.: High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular risk in patients with coronary heart disease. *Curr. Opin. Cardiol.*, 2002; 17: 325-331.
156. Ridker P.M.: Novel risk factors and markers for coronary risk. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 45: 391-418.
157. Falk E.: Stable versus unstable atherosclerosis:clinical aspects. *Am. Heart. J.*, 1999; 138: 421-425.
158. Versaci F., Gaspardone A.: Prevention of restenosis after stenting: the emerging role of inflammation. *Coron. Artery Dis.*, 2004; 15: 307-311.
159. Ridker P., Cushman M., Stampfer M., Tracy R.P., Hennekens C.H.: Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation* 1998; 97: 425-428.

160. Ridker P., Hennekens Ch., Buring J., Rifai N.: C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 342:836-843.
161. Bolibar I., Kienast J., Thompson S.G., Matthias R., Niessner H., Fechttrup C.: Relation of fibrinogen to presence and severity of coronary artery disease in independent of other coexisting heart disease. The ECAT Angina Pectoris Study Group. *Am. Heart J.*, 1993; 125: 1601-1605.
162. Ridker P., Rifai N., Clearfield M., Downs J.R., Weis S.E., Miles J.S., Gotto A.M. Jr: Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study Investigators: Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N. Engl. J. Med.*, 2001; 344: 1959-1965.
163. Rifai N., Ridker P.M.: Inflammatory markers and coronary artery disease. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2002; 13: 383-389.
164. Shah P.K.: Circulating markers of inflammation for vascular risk prediction: are they ready for prime time. *Circulation* 2000; 101: 1758-1759.
165. Kannel W.B., Wolf P.A., Castelli W.P., D'Agostino R.B.: Fibrinogen and risk cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA* 1987; 258: 1183-1186.
166. Heinnel J., Balleisen L., Schulte H., Assmann G., van de Loo J.: Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk. Results from the PROCAM Study in healthy men. *Arterioscler. Thromb.*, 1994; 14: 54-59.
167. Meade T.W., Mellows S., Brozovic M., Miller G.J., Chakrabarti R.R., North W.R., Haines A.P., Stirling Y., Imeson J.D., Thompson S.G.: Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986; 6: 533-537.
168. Coppola G., Rizzo M., Abrignani M.G., Corrado E., Di Girolamo A., Braschi G., Novo S.: Fibrinogen as a predictor of mortality after acute myocardial infarction: a forty-two-month follow up study. *Ital. Heart J.*, 2005; 6: 315-322.
169. Bossowska A., Kiersnowska-Rogowska B., Bossowski A., Galar B., Sowiński P.: Ocena stężenia wybranych cząsteczek adhezyjnych (sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin) w stabilnej i niestabilnej chorobie niedokrwiennej serca oraz w zawale mięśnia sercowego. *Przegl. Lek.*, 2003; 60: 445-450.
170. Jegier B.: Charakterystyka wybranych wskaźników zapalnych w grupie pacjentów z chorobą wieńcową kwalifikowanych do bezpośredniej rewaskularyzacji mięśnia sercowego. *Pol. Przegl. Kard.*, 2004; 6: 415-421.
171. Wu K.K., Folsom A.R., Heiss G., Davis C.E., Conlan M.G., Barnes G.: Association of coagulation factors and inhibitors with carotid artery atheroscle-

- rosis. Early results from Atherosclerosis Risk in Communities ARIC Study. *Ann. Epidemiol.*, 1992; 2: 471-480.
172. Folsom A.R., Qamhieh H.T., Flack J.M., Hilner J.E., Liu K., Howard B.V., Tracy R.P.: Plasma fibrinogen levels and correlates in young adults. The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA Study). *Am. J. Epidemiol.*, 1993; 138: 1023-1036.
 173. Bara L., Nicaud V., Tiret L., Cambien F., Samama M.M.: Expression of paternal history of premature myocardial infarction on fibrinogen, factor VII and PAI-2 in European offspring - the EARS Study - European Atherosclerosis Research Study Group. *Tromb. Haemost.*, 1994; 71: 434-440.
 174. Iwata F., Okada T., Harada K., Okuni M.: Coronary risk factors in school children in relation to their family history heart disease and hyperlipidemia. *Acta Paediatr. Jpn.*, 1998; 40: 30-34.
 175. Jay R.H., McCarthy S.N., Rampling M.W., Betteridge D.J.: Blood rheology and fibrinogen in children with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1991; 91: 117-21.
 176. Mihai K., Jancso T.: Correlation between juvenile myocardial infarct in parents and plasma fibrinogen levels in their offspring. *Orv. Hetil.*, 1991; 132: 1861-1863.
 177. Cremer P., Nagel D., Labrot B., Mann H., Muehe R., Elster H., Seidel D.: Lipoprotein (a) as predictor myocardial infarction in comparison to fibrinogen, LDL cholesterol and other risk factors: results from the prospective Gottingen Risk Incidence and Prevalence Study (GRIPS) *Eur. J. Clin. Invest.*, 1994; 24: 444-453.
 178. Gurfinkel E., Bozovich G., Beck E., Testa E., Livellara B., Mautner B.: Treatment with the antibiotic roxithromycin in patients with acute non-Q-wave coronary syndromes. The final report of the ROXIS study. *Eur. Heart. J.*, 1999; 20:121-127.
 179. Tousoulis D., Davies G., Tentolouris C., Bosinakou E., Toutouzas P.: Relation of von Willebrand factor to occurrence of Q waves and thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.*, 1998; 81: 497-500.
 180. Montalescot G., Ankri A., Vicaud E., Drobinski G., Grosgeat Y., Thomas D.: Fibrinogen after coronary angioplasty as a risk factor for restenosis. *Circulation* 1995; 92: 31-38.
 181. Moss A.J., Goldstein R.E., Marder V.J., Sparks C.E., Oakes D., Greenberg H., Weiss H.J., Zareba W., Brown M.W., Liang C.S., Lichstein E., Little W.C., Gillespie J.A., Van Voorhees L., Krone R.J., Bodenheimer M.M., Hochman J., Dwyer E.M. Jr, Arora R., Marcus F.I., Watelet L.F., Case R.B.: Thrombogenic factors and recurrent coronary events. *Circulation* 1999; 99: 2517-2522.

182. Danesh J., Lewington S., Thompson S.G., Lowe G.D., Collins R., Kostis J.B., Wilson A.C., Folsom A.R., Wu K., Benderly M., Goldbourt U., Willett J., Kiechl S., Yarnell J.W., Sweetnam P.M., Elwood P.C., Cushman M.: Fibrinogen Studies Collaboration.: Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005; 294: 1799-1809.
183. Humphries S.E., Ye S., Talmud P., Bara L., Wilhelmsen L., Tiret L.: European Atherosclerosis Research Study: genotype at the fibrinogen locus (G 455-A (-gene) is associated with differences in plasma fibrinogen levels in young men and women from different regions in Europe. Evidence for gender-genotype-environment interaction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1995; 15: 96-104.
184. Libby P., Hansson G.K.: Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions. *Lab. Invest.*, 1991; 64: 5-15.
185. Margolis K.L., Manson J.E., Greenland P., Rodabough R.J., Bray P.F., Safford M., Grimm R.H. Jr, Howard B.V., Assaf A.R., Prentice R.: Women's Health Initiative Research Group: Leukocyte count as a predictor of cardiovascular events and mortality in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Observational Study. *Arch. Intern. Med.*, 2005; 165: 500-508.
186. Brown D.W., Giles W.H., Croft J.B.: White blood cell count: an independent predictor of coronary heart disease mortality among a national cohort: *J. Clin. Epidemiol.*, 2001; 54: 316-322.
187. Mänttari M., Manninen V., Koskinen P., Huttunen J.K., Oksanen E., Tenkanen L., Heinonen O.P., Frick M.H.: Leukocytes as a coronary risk factor in a dyslipidemic male population. *Am. Heart J.*, 1992; 123: 873-877.
188. Takeda Y., Suzuki S., Fukutomi T., Kondo H., Sugiura M., Suzumura H., Murasaki G., Okutani H., Itoh M.: Elevated white blood cell count as a risk factor of coronary artery disease: inconsistency between forms of the disease. *Jpn. Heart J.*, 2003; 44: 201-211.
189. Thom D.H., Grayston J.T., Siscovick D.S., Wang S.P., Weiss N.S., Daling J.R.: Association of prior infection with *Chlamydia pneumoniae* and angiographically demonstrated coronary artery disease. *JAMA* 1992; 1: 268:68-72.
190. Maass M., Krause E., Engel P.M., Krüger S.: Endovascular presence of *Chlamydia pneumoniae* in patients with hemodynamically effective carotid artery stenosis. *Angiology* 1997; 48 : 699-706.
191. Johnston S.C., Messina L., Browner W.S., Lowton M.T., Morris C., Dean D.: C-reactive protein levels and viable *Chlamydia pneumoniae* in carotid artery atherosclerosis. *Stroke* 2001; 32: 2748-2752.

192. Gupta S.: Chronic infection in the etiology of atherosclerosis – focus on *Chlamydia pneumoniae*. *Atherosclerosis* 1999; 143: 1-6.
193. 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.
194. Guecg-Ongey M., Brenner H., Twardella D., Rothenbacher D.: *Chlamydia pneumoniae*, heat shock proteins 60 and risk of secondary cardiovascular events in patients with coronary heart disease under special consideration of diabetes: a prospective study. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2006; 12: 17.
195. Jantos C.A., Crombach C., Wuppermann F.N., Gardemann A., Beper S., Assan H., Hagemann J.H., Haberbosch W.: Antibody response to the 60-kDA heat shock protein of *Chlamydia pneumoniae* in patients with coronary artery disease. *J. Infect. Dis.*, 2000; 181: 1700-1705.
196. Sotiropoulos A., Gikas A., Skourtis S., Merkouris P., Pentzeridis P., Polydorou A., Pappas S.: Seropositivity to *Chlamydia pneumoniae* or *Helicobacter pylori* and coronary artery disease. *Int. J. Cardiol.*, 2006 May 24;109: 420-421.
197. Murray L.J. O'Reilly D.P., Ong G.M., O'Neill C., Evans A.E., Bamford K.B.: *Chlamydia pneumoniae* antibodies are associated with an atherogenic lipid profile. *Heart* 1999; 81: 239-244.
198. Imai S., Matsubara T., Hori T., Nakagawa I., Ozaki K., Hatada K., Mezaki T., Nasuno A., Kubota K., Tanaka T., Aizawa Y.: Relationship of *Chlamydia pneumoniae* infection to severity of coronary atherosclerosis in patients with chronic coronary artery disease and with normal coronary arteries. *Am. J. Cardiol.*, 2001; 37: 293-299.
199. Hoshida S., Nishino M., Tanouchi J., Kishimoto T., Yamada Y.: Acute *Chlamydia pneumoniae* infection with heat shock protein 60 related response in patients with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 2005; 83:109-12.
200. Danesh J., Whincup P., Walker M., Lennon L., Thomson A., Appleby P., Wong Y., Bernardes-Silva M., Ward M.: *Chlamydia pneumoniae* IgA titres and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Eur. Heart J.*, 2002; 23: 371-375.
201. Danesh J., Whincup P., Walker M., Lennon L., Thomson A., Appleby P., Wong Y., Bernardes-Silva M., Ward M.: *Chlamydia pneumoniae* IgG titres and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *Br. Med. J.*, 2000; 321: 208-213.
202. Haim M., Tanne D., Battler A., Boyko V., Reshef T., Goldbourt U., Brunner D., Mekori Y.A., Behar S.; Bezafibrate Infarction Prevention Study Group.: *Chlamydia pneumoniae* and future risk in patients with coronary heart disease. *Int. J. Cardiol.*, 2004; 93: 25-30.

203. Tavendale R., Parratt D., Pringle S.D., A'brook R., Tunstall-Pedoe H.: Serological markers of Chlamydia pneumoniae infection in men and women and subsequent coronary events; the Scottish Heart Health Study Cohort. *Eur. Heart J.*, 2002; 23: 301-307.
204. Wald N.J., Law M.R., Morris J.K., Zhou X., Wong Y., Ward M.E.: Chlamydia pneumoniae infection and mortality from ischaemic heart disease: large prospective study. *Br. Med. J.*, 2000; 321: 204-207.
205. Taylor-Robinson D., Thomas B.J.: Chlamydia pneumoniae in arteries: the facts, their interpretation and future studies. *J. Clin. Pathol.*, 1998; 51: 793-797.
206. Grayston J.T.: Antibiotic treatment trials for secondary prevention of coronary artery disease events. *Circulation* 1999; 99: 1538-1539.
207. Cercek B., Shah P.K., Noc M., Zahger D., Zeymer U., Matetzky S., Maurer G., Mahrer P. AZACS Investigators.: Effect of short-term treatment with azithromycin on recurrent ischaemic events in patients with acute coronary syndrome in the Azithromycin in Acute Coronary Syndrome (AZACS) trial: a randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 809-813.
208. Jackson A.: Description and status of the azithromycin and coronary events study (ACES). *J. Infect. Dis.*, suppl., 2000; 181: 579-581.
209. Libby P., Egan D., Skarlatos S.: Role of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation* 1997; 96: 4095-4103.
210. Boman J., Söderberg S., Forsberg J., Birgander L.S., Allard A., Persson K., Jidell E., Kumlin U., Juto P., Waldenström A., Wadell G.: Chlamydia pneumoniae DNA in peripheral blood mononuclear cells in patients with cardiovascular disease and in middle-aged blood donors. *J. Infect. Dis.*, 1998; 178: 274-277.
211. Andraws R., Berger J.S., Brown D.L.: Effects of antibiotic therapy on outcomes of patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Jama* 2005; 293: 2641-2647.
212. Huittinen T., Leinonen M., Tenkanen L., Mänttari M., Palosuo T., Manninen V., Saikku P.: Synergistic effect of persistent Chlamydia pneumoniae infection, autoimmunity, and inflammation on coronary risk. *Circulation* 2003; 107: 2566-2570.
213. Maass M., Gieffers J.: Cardiovascular disease risk from prior Chlamydia pneumoniae infection can be related to certain antigens recognized in the immunoblot profile. *J. Infect.*, 1997; 35: 171-176.

X SPIS TABEL

Str.

Tabela I.	Markery zapalne uznawane za wskaźnik zwiększonego ryzyka sercowo-naczyniowego.....	12
Tabela II.	Źródła markerów zapalenia i cytokin.....	13
Tabela III.	Główne rodziny hsp u organizmów eukariotycznych.....	15
Tabela IV.	Ogólna charakterystyka grupy pacjentów z ch.n.s. i grupy kontrolnej.....	38
Tabela V.	Porównanie poziomu markerów zapalenia i infekcji pomiędzy badaną grupą z ch.n.s. a grupą kontrolną.....	54
Tabela VI.	Rozkład hsCRP po podzieleniu wartości na trzy kategorie w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.....	55
Tabela VII.	Odsetek osób seropozytywnych i seronegatywnych w zakresie przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p. w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.....	60
Tabela VIII.	Wartości markerów zapalenia, wybranych markerów biochemicznych i przeciwciał anty-hsp60 pomiędzy badaną grupą chorych z ch.n.s. a grupą kontrolną.....	62
Tabela IX.	Wartości markerów zapalenia, wybranych markerów biochemicznych i przeciwciał anty-hsp60 pomiędzy badaną grupą chorych z ch.n.s. a grupą kontrolną.....	63
Tabela X.	Wartości markerów zapalenia i infekcji oraz wybrane markery biochemiczne w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zaawansowania choroby wieńcowej według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS).....	65
Tabela XI.	Odsetek osób seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG i IgA anty-Ch.p.w grupie badanych z ch.n.s. w zależności od klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS).....	67
Tabela XII.	Wartości markerów zapalenia, wybranych markerów biochemicznych i przeciwciał anty-hsp60 w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zaawansowania choroby wieńcowej według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS I vs CCS II).....	68

Tabela XIII.	Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anti-hsp60 i wybranych markerów biochemicznych w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zaawansowania choroby wieńcowej według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS I vs CCS II).....	69
Tabela XIV.	Wartości markerów zapalenia i infekcji oraz wybrane parametry biochemiczne w grupie badanych z ch.n.s. w zależności od ilości naczyń wieńcowych zajętych procesem miażdżycowym.....	70
Tabela XV.	Odsetek osób seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG i IgA anti-Ch.p.w grupie badanych z ch.n.s. w zależności od ilości naczyń zajętych procesem miażdżycowym.....	72
Tabela XVI.	Wartości markerów zapalenia, wybranych markerów biochemicznych i przeciwciał anti-hsp60 w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od ilości naczyń zajętych procesem miażdżycowym.....	73
Tabela XVII.	Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anti-hsp60 i wybranych markerów biochemicznych w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od ilości naczyń zajętych procesem miażdżycowym.....	74
Tabela XVIII.	Odsetek osób seropozytywnych w zakresie przeciwciał IgG i IgA anti- Ch.p.w grupie badanych z ch.n.s. w zależności od zastosowanej metody leczenia.....	75
Tabela XIX.	Wartości markerów zapalenia, infekcji oraz wybrane parametry biochemiczne w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zastosowanego leczenia.....	76
Tabela XX.	Wartości markerów zapalenia, przeciwciał anti-hsp60 i wybranych markerów biochemicznych w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zastosowanej metody leczenia.....	77
Tabela XXI.	Wartości markerów zapalenia, wybranych markerów biochemicznych i przeciwciał anti-hsp60 w grupie chorych z ch.n.s. w zależności od zastosowanej metody leczenia.....	78

Rycina 1.	Rola osoczowych lipoprotein w rozwoju zmian miażdżycowych.....	11
Rycina 2.	HSP60 jako międzykomórkowa cząsteczka sygnałowa.....	18
Rycina 3.	Charakterystyka badanej grupy i grupy kontrolnej ze względu na zmienną wiek.....	47
Rycina 4.	Charakterystyka badanych pacjentów ze stabilną ch.n.s. według czynnościowej klasyfikacji dławicy piersiowej (CCS) i ilości zajętych naczyń.....	48
Rycina 5.	Analiza badanych chorych ze stabilną ch.n.s. w zależności od zastosowanego leczenia inwazyjnego.....	49
Rycina 6.	Charakterystyka badanej grupy z ch.n.s. i grupy kontrolnej ze względu na poziom przeciwciał anti-hsp60.....	50
Rycina 7.	Rozkład przeciwciał anti-hsp60 i anti-IgG i IgA Ch.p. w obu analizowanych grupach.....	52
Rycina 8.	Rozkład hsCRP, fibrynogenu i leukocytów w obu badanych grupach.....	53
Rycina 9.	Korelacja pomiędzy poziomem fibrynogenu a poziomem hsCRP w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.....	56
Rycina 10.	Korelacje pomiędzy BMI a poziomem hsCRP i kwasu moczowego w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.....	56
Rycina 11.	Korelacja pomiędzy poziomem hsCRP a poziomem triglicerydów w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.....	57
Rycina 12.	Korelacja pomiędzy przeciwciałami IgG anti-C.p. a IgA anti-Ch.p.w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.....	58
Rycina 13.	Korelacje pomiędzy poziomem cholesterolu LDL a cholesterolem całkowitym, cholesterolem HDL a cholesterolem całkowitym oraz cholesterolem LDL a kwasem moczowym w grupie z ch.n.s. i w grupie kontrolnej.....	58
Rycina 14.	Markery zapalenia i infekcji w grupach chorych z ch.n.s. w zależności od zaawansowania choroby wieńcowej według klasyfikacji Kanadyjskiego Towarzystwa Kardiologicznego (CCS).....	66
Rycina 15.	Markery zapalenia i infekcji w grupie ch.n.s. w zależności od ilości naczyń wieńcowych zajętych procesem miażdżycowym.....	71

