POSTĘPY BIOLOGII KOMÓRKI TOM 36 2009 NR 3 (419–428)

UDZIAŁ I ROLA BIAŁEK SZOKU TERMICZNEGO (HSP) W PATOGENEZIE CHLAMYDIOZ I CHLAMYDOFILOZ U LUDZI I ZWIERZĄT

PARTICIPATION AND FUNCTION OF HEAT SHOCK PROTEINS (HSPs) IN PATHOGENESIS OF CHLAMYDIOSIS AND CHLAMYDOPHILOSIS IN HUMANS AND ANIMALS

Małgorzata PAWLIKOWSKA, Wiesław DEPTUŁA

Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński

Streszczenie: Białka szoku termicznego (HSP) stanowią konserwatywną grupę białek i produkowane są przez komórki prokariotyczne i eukariotyczne w odpowiedzi na bodźce zewnętrze. Białka HSP podzielono na sześć grup ze względu na ich masę cząsteczkową. W zakażeniach chlamydialnych opisano udział trzech grup: HSP10, HSP60 i HSP70. Wykazano, że związane są one zarówno z pierwotnymi, jak i wtórnymi zakażeniami *Chlamydia (C.) trachomatis* i *Chlamydophila (Cp.) pneumoniae*. Białka HSP stymulują komórki układu odpornościowego, w wyniku czego następuje zwiększona synteza cytokin prozapalnych (IFNγ, TNFα, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-23), które są czynnikami wzmagającymi patogenne działanie tych bakterii, co wykazano w doświadczalnych zakażeniach na zwierzętach. Współdziałanie chlamydialnego i ludzkiego HSP60 wzmaga patogenne działanie m.in. *Cp. pneumoniae*, co ma duże znaczenie w chorobie wieńcowej. Z drugiej strony oznaczanie przeciwciał anty-HSP w surowicy może wskazywać na zakażenie chlamydiami i chlamydofilami, co ma znaczenie w chorobach, w których te bakterie są kofaktorami. Reasumując należy stwierdzić, że białka szoku termicznego są zarówno elementem związanym z patogennością, a z drugiej mogą być elementem stosowanym w diagnostyce schorzeń chlamydialnych.

Słowa kluczowe: HSP, *Chlamydia (C.) trachomatis, Chlamydophila (Cp.) pneumoniae.*

Summary: Heat shock proteins (HSPs) are conservative group of proteins which are produced by prokaryotic and eukaryotic cells as response to external signals. HSPs are divided into six groups depending on their molecular weight. In infection with *Chlamydia* sp. and *Chlamydophila* sp. three groups are involved: HSP10, HSP60 and HSP70. The researchers showed, that HSPs are connected with primary and secondary infection with *Chlamydia (C.) trachomatis* and *Chlamydophila (Cp.) pneumoniae*. HSPs can stimulate cells of immunological system, what can cause increase of synthesis of proinflammatory cytokines (IFNγ, TNFα, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-23), which increase pathogenic effect of those bacteria what was demonstrated in experimental infections in animals. Cooperation of human and chlamydial HSP60 also cause the increase of pathogenic effect of i.e. *Cp. pneumoniae*, what was shown in coronary heart disease. On the other hand, detection of anti-HSP antibodies in serum can show infection with *Chlamydia* sp. or *Chlamydophila* sp., what can be important in disease, where those bacteria are

cofactors. Heat shock proteins are responsible for pathogenic effect, and also may be used in diagnosis of those bacteria.

Key words: HSPs, *Chlamydia (C.) trachomatis, Chlamydophila (Cp.) pneumoniae.*

CO TO SĄ BIAŁKA HSP I CO TO SĄ CHLAMYDIE

HSP jest to duża rodzina białek filogenetycznie konserwatywnych, pod względem budowy i funkcji [31]. Są one produkowane tak przez komórki prokariotyczne, jak i eukariotyczne w odpowiedzi na bodźce zewnętrzne i wewnętrzne, wpływają jako białka opiekuńcze (chaperonowe) m.in. na wiele procesów fizjologicznych, w tym na syntezę i transport białek w komórce [31]. Obecnie białka HSP dzieli się na 6 klas w zależności od masy cząsteczkowej i są to: HSP100 (masa 100–110 kDa), HSP90 (masa 90 kDa), HSP70 (masa 70 kDa), HSP60 (masa 60 kDa), HSP40 (masa 40 kDa) i sHSP (małe białka HSP) (masa 10–30 kDa) [31].

Chlamydie i chlamydofile są powszechnie występującymi wewnątrzkomórkowymi bakteriami, dzielącymi się na biotypy, serotypy i immunotypy odpowiedzialnymi za wywoływanie wielu chorób u ludzi i zwierząt (tab. 1). Charakterystyczną cechą tych bakterii jest unikatowy, występujący tylko u nich cykl życiowy trwający 48–72 godziny, który obejmuje dwie formy morfologiczne: ciałko elementarne – EB (*Elementary Body*) – jako forma zakaźna i ciałko siateczkowate – RB (*Reticulate Body*) jako forma aktywna metabolicznie – niezakaźna [35]. Ich patogenność związana jest między innymi z obecnością na powierzchni komórki antygenów zewnętrznych (powierzchniowych), w tym białek HSP [14].

CHLAMYDIALNE BIAŁKA HSP

Do tej pory wykazano, że wśród chlamydialnych białek szoku termicznego, które mogą być wykorzystywane jako wskaźniki zakażenia i chorób lub są czynnikami wywołującymi odpowiedź immunologiczną, są to trzy spośród 6 klas opisanych białek HSP: HSP10, HSP60 oraz HSP70 [1–6, 8, 9, 12–17, 19–31, 36–41].

Chlamydialne białko HSP10 (cHSP10) ma masę 10 kDa, występuje w błonie zewnętrznej ciałek EB i jest wysoce konserwatywne, a u *Chlamydia(C.) trachomatis* związane jest z chronicznymi i wtórnymi schorzeniami u ludzi wywołanymi przez ten zarazek. cHSP10 jest także homologiem czynnika wczesnej ciąży – EPF (*Early Pregnancy Factor*), który występuje u kobiet ciężarnych, zaś u kobiet po przebytej infekcji *C. trachomatis* stwierdza się go w surowicy krwi wraz z obecnością przeciwciał anty-HSP10 [6]. Wykazano, że stymulacja limfocytów o nieokreślonym fenotypie pobranych z błony śluzowej szyjki macicy od kobiet zainfekowanych *C. trachomatis* przez cHSP10 zwiększa ich proliferację [1]. Także u kobiet z pierwotną infekcją na tle *C. trachomatis*, w wyniku stymulacji cHSP10 tego zarazka, rejestruje się podwyższoną syntezę surowiczych IgG i IgA [1]. Innym

dowodem oddziaływania tych białek jest także podwyższony poziom surowiczych przeciwciał IgA przeciwko cHSP10 *C. trachomatis* u kobiet z bezpłodnością na tle tej bakterii [22]. Rolę obronną białka HSP10 wykazano także *in vitro* w hodowli komórek HEp-2 zakażonych *Chlamydophila (Cp.) pneumoniae* – szczep A03, stwierdzając większy poziom ekspresji cHSP10 po traktowaniu jej IFNγ i po zadziałaniu na nie szokiem termicznym (42ºC) [30]. Nadto wykazano *in vitro*, że rekombinowane białko cHSP10 *Cp. pneumoniae*, może indukować, choć słabiej niż rekombinowane cHSP60, dojrzewanie monocytarnych komórek dendrytycznych – MDDC (*monocyte-derived dendritic cells*) [2].

Białko HSP60 (cHSP60) ma masę cząsteczkową 60 kDa, występuje tak jak i HSP10 w błonie zewnętrznej ciałek elementarnych (EB) chlamydii i jest określane jako białko GroEL1 [41]. W przypadku zakażenia komórek linii Hep-2 przez *Cp. pneumoniae* (izolat GiD) stwierdzono, że białko GroEL1 (cHSP60) warunkuje jej patogenność, stymulując translokację czynnika NF-κB aktywującego komórki nabłonkowe [41]. Wykazano *in vitro*, że cHSP60 *Cp. pneumoniae* – szczep J-138 inicjuje wzrost szczurzych komórek mięśni gładkich naczyń, co może dowodzić, że ten mechanizm może zachodzić przy powstawaniu blaszek miażdżycowych w naczyniach u ludzi w trakcie infekcji tą bakterią [16]. Rolę białka HSP60 potwierdzają obserwacje *in vitro*, w których stwierdzono ekspresję cHSP60 *Cp. pneumoniae* – szczep A03, w hodowli komórek HEp-2 po zadziałaniu na nią IFNγ i przy ograniczeniu żelaza, jak i w odpowiedzi na szok termiczny (42ºC) [30]. Analogiczny obraz zarejestrowano *in vivo* u myszy, u których wykazano, że cHSP60 *Cp. pneumoniae* indukuje dojrzewanie komórek dendrytycznych ze szpiku – BMDDC (*Bone Marrow-Derived Dendritic Cells*), poprzez stymulację TLR-2 i TLR-4 [8]. Nadto *in vivo* u tych zwierząt wykazano, że cHSP60 *Cp. pneumoniae* hamuje ekspresję TNF, powodując równocześnie akumulację komórek PMN w jamie otrzewnej i indukuje procesy zapalne poprzez receptory TLR-2 i TLR-4 występujące na tych komórkach [9]. Wykazano także, że białko HSP60 *C. trachomatis* w hodowli trofoblastów zakażonych tym zarazkiem stymuluje także apoptozę, poprzez włączenie kaspazy-3, -8 i -9 [14]. Także u kobiet z zapaleniem narządów miednicy mniejszej – PID (*Pelvic Inflammatory Disease*), wywołanym na tle *C. trachomatis*, stwierdzono podwyższony poziom przeciwciał dla chlamydialnego HSP60 [15, 29]. Wykazano nadto *in vitro*, że rekombinowane białko cHSP60 pobudza do proliferacji limfocyty o nieokreślonym fenotypie pochodzące z krwi obwodowej od kobiet cierpiących na bezpłodność na tle *C. trachomatis* [40]. Natomiast u kobiet z bezpłodnością, zakażonych *C. trachomatis* zaobserwowano podwyższony poziom surowiczych przeciwciał IgA przeciw cHSP60 *C. trachomatis* [24] oraz zwiększoną syntezę IFN-γ, IL-10 i TNFα przez komórki mononuklearne, pochodzące z błony śluzowej szyjki macicy [38]. Analogiczny podwyższony poziom IgG, stwierdzono u kobiet z pierwotną infekcją na tle *C. trachomatis*, tymczasem u kobiet z nawracającym zakażeniem na tle tego zarazka zarejestrowano także podwyższony poziom przeciwciał anty-HSP60 oraz podwyższony poziom IFNγ [1]. Wzrost w surowicy krwi przeciwciał dla tej bakterii oraz wzrost przeciwciał dla cHSP60 tego zarazka potwierdzili Bax i Dörr [4] u kobiet z zaburzeniami ze strony jajowodów w

TABELA 1. Charakterystyka zarazków z rodziny *Chlamydiaceae* [10, 34, 35]

GATUNEK	BIOTYP	SEROTYP	IMMUNOTYP	ZMIANY CHOROBOWE
1	2	3	4	5
Chlamydia trachomatis	Trachoma	A, B, Ba, C	Wykazano istnienie 1 immunotypu *	endemiczna trachoma (jaglica) (człowiek
		D, Da, E, F, G, H, I, Ia, J, K		choroby dróg moczowo-płciowych: nierzeżączkowe i porzeżączkowe zapalenie cewki moczowej, zapalenie prostaty, zapalenie najądrzy, niepłodność mężczyzn, zapalenie szyjki macicy, rak szyjki macicy, zapalenie moczowodu; zapalenie narządów miednicy mniejszej (PID), niepłodność kobiet, zapalenie odbytnicy, syndrom Fitz-Hugh-Curtisa, syndrom Reitera; zapalenie spojówek noworodków, zapalenie płuc noworodków, zespół SIDS (człowiek); bezobjawowe zakażenie u bydła**
	LGV	L1, L2, L3, L2a		*lymphogranuloma venereum* (ziarniniak weneryczny) (człowiek)
Chlamydia suis	Brak danych	Brak danych	Brak danych	zapalenie spojówek, płuc, jelit, osierdzia, stawów, ronienia i słabość noworodków (świnie); zapalenie cewki moczowej i najądrzy (dziki)
Chlamydia muridarum	Brak danych	Brak danych	Brak danych	zapalenie płuc i jelit (myszy, chomiki); zapalenie najądrzy (szczury)
Chlamydophila pneumoniae	TWAR	TW-183, AR-37, AR-277, AR-388, AR-427, AR-231, LR-65	Brak danych	schorzenia dolnych i górnych dróg oddechowych: zapalenie oskrzeli i płuc, astma, obturacyjna choroba płuc, sarkoidoza; choroby układu krążenia: choroba wieńcowa, miażdżyca, tętniaki aorty; choroby układu nerwowego: choroba Alzheimera, stwardnienie rozsiane; odczynowe zapalenie stawów; chłoniaki T-komórkowe skóry (ziarniniak grzybiasty, syndrom Sezary'ego), stan przedrzucawkowy (człowiek); zapalenie płuc,mięśnia sercowego i jelit (żółwie); zapalenie i obrzęk wątroby (krokodyle); zmiany wątrobowe, degeneracja i zapalenie nerek, zapalenie mięśnia sercowego i nekroza śledziony (żaby)
	Koala	Brak danych		schorzenia dróg oddechowych, oczu, dróg moczowo-płciowych (koala); zapalenie płuc, anemia (żaby)
	Equine	Brak danych		schorzenia górnych dróg oddechowych, zapalenie spojówek, wątroby i stawów, zwyrodnienie mózgu (konie)
Chlamydophila psittaci	Brak danych	A, B, C, D, E, M56	Wykazano istnienie 1 immunotypu *	zapalenie spojówki i rogówki, schorzenia dróg oddechowych, zaburzenia nerwowe, utrata piór i zmniejszona płodność, zamieranie zarodków (ptaki dzikie i domowe); zapalenie stawów, spojówek, wątroby, zwyrodnienie mózgu (konie); zapalenia oskrzeli i płuc, wsierdzia, mięśnia sercowego, mózgu, opon mózgowych i rdzenia nerwowego, uszkodzenie nerek (człowiek); zapalenie rogówki i spojówki oraz płuc (psy)
		WC		zapalenie jelit (bydło)

TABELA 1. Charakterystyka zarazków z rodziny *Chlamydiaceae* [10, 34, 35] cd.

1	2	3	4	5
Chlamydophila abortus	Brak danych	Brak danych	Wykazano istnienie 2 immunotypów *	ronienia, słabość noworodków (bydło, owce, kozy, konie, świnie); zapalenie błony śluzowej macicy i pochwy (kozy); zapalenie spojówek, płuc, mózgu, stawów, ronienia (psy); obniżona płodność, śmierć płodów, wodogłowie, zapalenie spojówek i płuc (króliki); ronienia i słabość noworodków, zapalenie płuc (człowiek)
Chlamydophila felis	Brak danych	Brak danych	Brak danych	nieżyt nosa, zapalenie spojówek i atypowe zapalenie płuc (koty); zapalenie mięśnia sercowego i kłębuszków nerkowych (człowiek)
Chlamydophila caviae	Brak danych	Brak danych	Brak danych	zapalenie spojówek (świnka morska)
Chlamydophila pecorum	Brak danych	Brak danych	Brak danych	zapalenie spojówek, ślepota, schorzenia dróg oddechowy, bezpłodność (koala); zapalenie spojówek, płuc, stawów, mózgu, ronienia (owce, bydło); zapalenie narządów miednicy mniejszej, bezpłodność, poronienia, zapalenie śluzówki macicy (owce); zapalenie macicy, bezpłodność (bydło); ronienia (świnie);

*Objaśnienie – w badaniach zjawisk odpornościowych u królików immunizowanych 3 szczepami *Chlamydia psittaci* (obecnie *Cp. psittaci* i *Cp. abortus*) oraz jednym szczepem *C. trachomatis*, zarejestrowano odmienny obraz odpornościowy, na podstawie którego wyodrębniono 1 immunotyp w obrębie *C. trachomatis* i *Cp. psittaci* oraz 2 immunotypy w obrębie *Cp. abortus*. [32, 33]; ** – wykazano w nasieniu buhajów obecność *C. trachomatis* [11]

wyniku infekcji *C. trachomatis*. Nadto u kobiet z wtórnym zakażeniem *C. trachomatis*, również zarejestrowano wysoki poziom przeciwciał anty-cHSP60 *C. trachomatis*, który korelował dodatkowo z objawami chorobowymi [13]. Kinnunen i wsp. [25] dowiedli u kobiet z chlamydialną bezpłodnością jajowodową, że cHSP60 indukując sekrecję IFNγ oraz IL-10 staje się elementem immunopatogenezy tego stanu chorobowego. Zarejestrowano również u kobiet, które miały problemy z zajściem w ciążę z powodu chlamydialnej infekcji jajowodów, nie tylko podwyższony poziom przeciwciał klasy IgA i IgG, ale także przeciwciał anty-cHSP60 [19]. Również wysoki poziom przeciwciał anty-HSP60 *C. trachomatis*, stwierdzono u kobiet leczących się z powodu bezpłodności, przy czym stosunkowo wysoki odsetek wyników dodatnich był rejestrowany u kobiet poddanych zapłodnieniu *in vitro* [23]. Wykazano, że krzyżowa reakcja chlamydialnego i ludzkiego HSP60, które pojawia się we wczesnej fazie embriogenezy, jest przyczyną destrukcji embrionu i zaburzeń rozrodu u ludzi [15, 23]. *In vitro* stwierdzono w komórkach nabłonkowych błony śluzowej macicy (endometrium) kobiet zakażonych *C. trachomatis* – serowar E, że w przypadku obniżenia poziomu żelaza następuje wzrost ekspresji białka cHSP60 [26]. Sugeruje to, że właśnie białko *C. trachomatis* może być jednym z czynników sprzyjających nowotworom jajników, gdyż akumulacja egzogennego cHSP60 w cytoplazmie komórek zakażonych prowadzi do zahamowania apoptozy, a taka zmiana może prowadzić do powstania komórek nowotworowych [12]. U makaków zakażonych eksperymentalnie *C. trachomatis* – serowar E, stwierdzono odpowiedź komórkową typu późnego – DTH (*Delayed-Type Hypersensitivity*) na chlamydialne białko HSP60 [27]. Podobnie reakcję DTH oraz podwyższony poziom IgG2a w surowicy zarejestrowano u myszy, którym podano szczepionkę DNA zawierającą gen kodujący białko HSP60 (GroEL) *Cp. abortus* – szczep AB7 [20]. Wykazano, że rekombinowane chlamydialne HSP60 *C. trachomatis* oraz ludzkie HSP60, oddziałujące na ludzkie monocyty powoduje intensywną syntezę IL-1β, IL-6 i IL-8, selektyny E, ICAM-1 oraz VCAM-1 [28]. Wyniki te [28] sugerują, że współdziałanie chlamydialnego i ludzkiego HSP60, prowadząc do indukcji cytokin zapalnych, powoduje zaostrzenie się stanu zapalnego w infekcji na tle tych zarazków, co jest m.in. groźne w przypadku miażdżycy naczyń krwionośnych u ludzi w przypadku zakażenia *Cp. pneumoniae*. Ponadto wykazano, że w trakcie zakażenia ludzi tym ostatnim zarazkiem dochodzi do reakcji krzyżowej pomiędzy chlamydialnym białkiem HSP60 a ludzkim HSP60, znajdującym się w złogach płytek miażdżycowych, co najczęściej doprowadza do aktywacji limfocytów T wobec własnych komórek śródbłonka naczyń i co w efekcie prowadzi do jego uszkodzenia, czyli sytuacji ułatwiającej odkładanie się złogów lipidowych [5]. Obserwacja ta wyjaśniła fakt, że u pacjentów z ostrym syndromem wieńcowym [7, 17] stwierdza się obecność oraz podwyższony poziom surowiczych przeciwciał anty-cHSP60 *Cp. pneumoniae*. Również udział tych białek potwierdzono u osób z chorobą niedokrwienną serca oraz u osób cierpiących na astmę, u których stwierdzono podwyższony poziom przeciwciał anty-cHSP60 *Cp. pneumoniae* [18, 21, 22]. Obecnie nie ma wątpliwości co do roli cHSP60 *Cp. pneumoniae* w patogenezie schorzeń serca, jako że u osób

zmarłych na ostry zawał mięśnia sercowego zarejestrowano obecność białka HSP60 *Cp. pneumoniae* w całym „drzewie wieńcowym" [37]. Trzeba też dodać, że badania Steptoe i wsp. [39] z 2007 roku, wprawdzie nie wykazały korelacji pomiędzy chorobami sercowo-naczyniowymi a obecnością przeciwciał przeciwko *Cp. pneumoniae* i ludzkim HSP60, to jednakże autorzy sugerują, że fakt ten może również wskazywać na ochronną rolę ludzkich białek HSP60 w tych infekcjach [39]. Potwierdziły to badania *in vitro*, w których wykazano, że rekombinowane białko cHSP60 *Cp. pneumoniae* wzmaga i indukuje dojrzewanie ludzkich monocytarnych komórek dendrytycznych oraz powoduje polaryzację limfocytów T poprzez ekspresję podjednostek mRNA formujących IL-12 i IL-23 [2]. W innym doświadczeniu [3] wykazano, że rekombinowane białko cHSP60 *Cp. pneumoniae* indukuje *in vitro* proliferację zarówno ludzkich, jak i mysich limfocytów krwi obwodowej, a dodatkowo wzmaga sekrecję IFNγ w ludzkich limfocytach oraz odpowiedź limfocytów mysich typu DTH.

Białko HSP70 jest to białko o masie 75 kDa i podobnie jak HSP10 i HSP60, występuje w błonie zewnętrznej ciałek EB *C. trachomatis*. Wykazano, że rola tego białka u *C. trachomatis*, to głównie utrzymanie integralności błony zewnętrznej ciałek EB, co powoduje utrzymanie specyficznej równowagi pomiędzy tą bakterią a komórką gospodarza, a nadto bierze ono udział w przemianach EB w formę aktywną metabolicznie, czyli w ciałko RB [36]. W zakażeniu szczepem A03 *Cp. pneumoniae* hodowli komórek HEp-2, przy ograniczeniu żelaza i w odpowiedzi na szok termiczny (42^{o}C), zarejestrowano dużą ekspresję cHSP70 po traktowaniu hodowli IFNγ [30].

PODSUMOWANIE

Reasumując należy stwierdzić, że chlamydialne białka szoku termicznego (cHSP10, cHSP60, cHSP70) mogą brać udział w patogenezie chlamydioz i chlamydofiloz m.in. ze względu na indukowanie sekrecji cytokin prozapalnych (IFNγ, TNFα, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-23). Dzieje się tak w przypadku miażdżycy naczyń wywołanej *Cp. pneumoniae*, która poprzez interakcję z ludzkim białkiem HSP60 na makrofagach, stymuluje te komórki do wydzielania cytokin, które prowadzą do uszkodzenia ścian naczyń wieńcowych. Podobny mechanizm przebiega w drogach rodnych kobiet zakażonych *C. trachomatis*, gdzie dochodzi do uszkodzeń jajowodów. W tym przypadku następuje dodatkowo stymulacja cząstek adhezyjnych komórek śródbłonka naczyń czy mięśni gładkich, które ułatwiają agregację tych zarazków. Z drugiej strony trzeba stwierdzić, że rejestrowana obecność przeciwciał anty-cHSP60 może być wykorzystywana w diagnostyce schorzeń chlamydialnych, takich jak: schorzenia sercowo-naczyniowe czy jaglica. Szczególnie przydatne wydaje się być oznaczanie tych przeciwciał w chorobach układu krążenia ze względu na udział *Cp. pneumoniae* w etiologii np. zawału mięśnia sercowego, dusznicy bolesnej czy choroby wieńcowej. Z przytoczonym danych wynika, że niezależnie od ochronnej roli białek szoku termicznego w komórce, obecnie trzeba przyjąć, że biorą one także

aktywny udział w patogenezie chlamydioz i chlamydofiloz, co praktycznie można wykorzystać zarówno w diagnostyce, jak i w profilaktyce.

PIŚMIENNICTWO

[1] AGRAWAL T, VATAS V, SALHAN S, MITTAL A. Mucosal and peripheral immune responses to chlamydial heat shock proteins in women infected with *Chlamydia trachomatis. Clin Exp Immunol* 2007; **148**: 461–468.

[2] AUSIELLO CM, FEDELE G, PALAZZO R, SPENSIERI F, CIERNO A, CASSONE A. 60-kDa heat shock protein of *Chlamydia pneumoniae* promotes a T helper type 1 immune response through IL-12/IL-23 production in monocyte-derived dendritic cells. *Microbes Infect* 2006; **8**: 714–720.

[3] AUSIELLO CM, PALAZZO R, SPENSIERI F, FEDCE G, LANDE R, CIERVO A, FIORONI G, CASSONE A. 60-kDa heat shock protein of *Chlamydia pneumoniae* is a target of T-cell immune response. *J Biol Regul Homeost Agents* 2005; **19**: 136–140.

[4] BAX CJ, DÖRR PJ. *Chlamydia trachomatis* heat shock protein 60 (cHSP60) antibodies in women without and with tubal pathology using a new commercially available assay. *Sex Transm Infect* 2004; **80**: 415–416.

[5] BENAGIANO M, D'ELIOS MM, AMEDEI A, AZZURRI A, VAN DER ZEE R, CIERVO A, ROMBOLA G, POMAGNANI S, CASSONE A, DEL PRETE G. Human 60-kDa heat shock protein is a target autoantigen of T cells derived from atherosclerotic plaques. *J Immunol* 2005; **174**: 6509–6517.

[6] BETSOU F, BORREGO MJ, GUILLAUME N, CATRY MA, ROMAO S, MACHADO-CAETANO JA, SUEUR JM, MENTION J, FAILLE N, ORFILLA J. Cross-reactivity between *Chlamydia trachomatis* heat shock protein 10 and early pregnancy factor. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; **10**: 446–450.

[7] BIASUCCI LM, LIUZZO G, CIERVO A, PETRUCCA A, PIRO M, ANGIOLILLO DJ, CREA F, CASSONE A, MASERI A. Antibody response to chlamydial heat shock protein 60 is strongly associated with acute coronary syndrome. *Circulation* 2003; **107**: 3015–3017.

[8] COSTA CP, KIRSCHING CJ, BUSCH D, DÜRR S, JENNEN L, HEINZMANN U, PREBECK S, WAGNER H, MIETHKE T. Role of chlamydial heat shock protein 60 in the stimulation of innate immune cells by *Chlamydia pneumoniae. Eur J Immunol* 2002; **32**: 2460–2470.

[9] DA COSTA CU, WANTIA N, KIRSCHING CJ, BUSCH DH, RODRIGUEZ N, WAGNER H, MIETHKE T. Heat shock protein 60 from *Chlamydia pneumoniae* elicits an unusual set of inflammatory responses via Toll-like receptor 2 and 4 *in vivo. Eur J Immunol* 2004; **34**: 2874–2884.

[10] DEPTUŁA W, PAWLIKOWSKA M, TRAVNIČEK M. Chlamydofilozy u zwierząt i ludzi. *Medycyna Wet* 2002; **58**: 337–340.

[11] DEPTUŁA W, RUCZKOWSKA J, SZENFELD J, CHOROSZY-KRÓL I, TRAVNIČEK M. Immunologicky status u hovadzieho dobytka prirodzene infikovaneho mikroorganizmami *Chlamydia trachomatis* a *Chlamydia psittaci. Veter Med (Praha)* 1990; **35**: 73–80.

[12] DI FELICE V, DAVID S, CAPPELLO F, FARINA F, ZUMMO G. Is chlamydial heat shock protein 60 a risk factor for oncogenesis? *Cell Mol Life Sci* 2005; **62**: 4–9.

[13] DUTTA R, JHA R, SALHAN S, MITTAL A. *Chlamydia trachomatis*-specific heat shock proteins 60 antibodies can serve as prognostic marker in secondary infertile women. *Infection* 2008; **36**: 374–378.

[14] EQUILS O, LU D, GATTER M, WITKIN SS, BERTOLOTOO C, ARDITI M, MCGREGOR JA, SIMMONS CF, HOBEL CJ. *Chlamydia* heat shock protein 60 induces trophoblast apoptosis through TLR4. *J Immunol* 2006; **177**: 1257–1263.

[15] FREJ-MĄDRZAK M, CHOROSZY-KRÓL I, TERYKS-WOŁYNIEC D. Cytokiny zapalne i prozapalne w przewlekłych i nawracających zakażeniach wywołanych przez *Chlamydia trachomatis. Adv Clin Exp Med* 2005; **14**: 1237–1242.

[16] FUKUOKA K, SAWABE A, SUGIMOTO T, KOGA M, OKUDA H, KITAYAMA T, SHIRAI M, KOMAI K, KOMEMUSHI S, MATSUDA K. Inhibitory actions of several natural products on proliferation of rat vascular smooth muscle cells induced by HSP60 from *Chlamydia pneumoniae* J138. *J Agric Food Chem* 2004; **52**: 6326–6329.

[17] GUECH-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 Disor* 2006; **6**: 17–26.
[18] HAHN DL, PEELING RW. Airflow limitation, and *Chlamydia pneumoniae*-specific shock protein 60. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; **101**: 614–618.
[19] HARTOG DEN JE, LAND JA, STASSEN FRM, KESSELS AGH, BRUGGEMAN CA. Serological markers of persistent *C. trachomatis* infection in women with tubal factor subfertility. *Hum Reprod* 2005; **20**: 986–990.
[20] HECHARD C, GREPINET O, RODOLAKIS A. Molecular cloning of the *Chlamydophila abortus groEL* gene and evaluation of its protective efficacy in a murine model by genetic vaccination. *J Med Microbiol* 2004; **53**: 861–868.
[21] HOYMANS VY, BOSMANS JM, VAN HERCK PL, IEVEN MM, VRINTS CJ. Implications of antibodies to heat-shock proteins in ischemic heart disease. *Int J Cardiol* 2008; **123**: 277–282.
[22] JAFARZADEH A, ESMAEELI-NADIMI A, SHARIATI M. High sensitivity C-reactive protein and immunoglobulin G against *Chlamydia pneumoniae* and chlamydial heat shock protein-60 in ischemic heart disease. *Iran J Immunol* 2008; **5**: 51–56.
[23] JAKUS S, NEUER A, DIETERLE S, BONGIOVANNI AM, WITKIN SS. Antibody to the *Chlamydia trachomatis* 60 kDa heat shock protein in follicular fluid and *in vitro* fertilization outcome. *Am J Reprod Immunol* 2008; **59**: 85–89.
[24] KARINEN L, POUTA A, HARTIKAINEN AL, BLOIGU A, PALDANIUS M, LEINONEN M, SAIKKU P, JÄRVELIN MR. Antibodies to *Chlamydia trachomatis* heat shock proteins Hsp60 and Hsp10 and subfertility in general population at age 31. *Am J Reprod Immunol* 2004; **52**: 291–297.
[25] KINNUNEN A, SURCEL H-M, HALTTUNEN M, TITINEN A, MORRISON RP, MORRISON SG, KOSKELA P, LEHTINEN M, PAAVONEN J. *Chlamydia trachomatis* heat shock protein-60 induced interferon-γ and interleukin-10 production in infertile women. *Clin Exp Immunol* 2003; **131**: 299–303.
[26] LARUE RW, DILL BD, GILES DK, WHITTIMORE JD, RAULSTON JE. Chlamydial HSP60-2 is iron responsive in *Chlamydia trachomatis* serovar E-infected human endometrial epithelial cells *in vitro. Infect Immun* 2007; **75**: 2374–2380.
[27] LICHTENWALNER AB, PATTON DL, VAN VOORHIS WC, COSGROVE SWEENEY YT, KUO C-C. Heat shock protein 60 is the major antigen which stimulates delayed-type hypersensitivity reaction in the macaque model of *Chlamydia trachomatis salpingitis. Infect Immun* 2004; **72**: 1159–1161.
[28] MAGUIRE M, POOLE S, COATES ARM, TORMAY P, WHEELER-JONES C, HENDERSON B. Comparative cell signaling activity of ultrapure recombinant chaperonin 60 proteins from prokaryotes and eukaryotes. *Immunology* 2005; **115**: 231–238.
[29] MASCELLINO MT, CIARDI MR, OLIVA A, CECINATO F, HASSEMER MP, BORGESE L. *Chlamydia trachomatis* detection in a population of asymptomatic and symptomatic women: correlation with the presence of serological markers for this infection. *New Microbiol* 2008; **31**: 249–256.
[30]MUKHOPADHYAY S, MILLER RD, SULLIVAN ED, THEODOROPOULOS C, MATHEWS SA, TIMMS P, SUMMERSGILL JT. Protein expression profiles of *Chlamydia pneumoniae* in models of persistence versus those of heat shock stress response. *Infect Immun* 2006; **74**: 3853–3863.
[31] NIEDŹWIEDZKA P, DEPTUŁA W. Białka szoku termicznego a układ odpornościowy. *Centaur Lubuski* 2003; **56**: 21–22.
[32] PAWLIKOWSKA M, DEPTUŁA W. Natural and adaptive immunity in rabbits immunized with *Chlamydophila* sp. *Pol J Environ Stud* 2005; **14**: 669–674.
[33] PAWLIKOWSKA M, DEPTUŁA W. Dynamika limfocytów T i B oraz ich subpopulacji u królików immunizowanych *Chlamydophila* sp. *Medycyna Wet* 2006; **62**: 701–705.
[34] PAWLIKOWSKA M, DEPTUŁA W. Chlamydie i chlamydofile oraz choroby wywoływane przez nie u ludzi. *Post Hig Med Dośw* 2007; **61**: 708–711.
[35] PAWLIKOWSKA M, DEPTUŁA W. Chlamydie i chlamydofile. Monografia. Uniwersytet Szczeciński, Szczecin 2009.
[36] RAULSTON JE, DAVIS CH, PAUL TR, HOBBS JD, WYRICK PB. Surface accessibility if the 70-kilodalton *Chlamydia trachomatis* heat shock protein reduction of outer membrane protein disulfide bonds. *Infect Immun* 2002; **70**: 535–543.
[37] SPAGNOLI LG, PUCCI S, BONANNO E, CASSONE A, SESTI F, CIERVO A, MAURIELLO A. Persistent *Chlamydia pneumoniae* infection of cardiomyocytes is correlated with fatal myocardial infarction. *Am J Pathol* 2007; **170**: 33–42.

[38] SRIVASTAVA P, JHA R, BAS S, SALHAN S, MITTAL A. In infertile women, cells from *Chlamydia trachomatis* infected site release higher levels if interferon-gamma, interleukin-10 and tumor necrosis factor alpha upon heat shock protein stimulation than fertile women. *Repr Biol Endocrinol* 2008; **6**: 20–29.
[39] STEPTOE A, SHAMAEI-TOUSI A, GYLFE A, BAILEY L, BERGSTRÖM S, COATES AR, HENDERSON B. Protective effect of human heat shock protein 60 suggested by its association with decreased seropositivity to pathogens. *Clin Vaccine Immunol* 2007; **14**: 204–207.
[40] TITINEN A, SURCEL H-M, HALTTUNEN M, BIRKELUND S, BLOIGU A, CHRISTIANSEN G, KOSKELA P, MORRISON SG, MORRISON RP, PAAVONEN J. *Chlamydia trachomatis* and chlamydial heat shock protein 60-specific antibody and cell mediated responses predict tubal factor infertility. *Hum Reprod* 2006; **21**: 1533–1538.
[41] WUPPERMANN FN, MÖLLEKEN K, JULIEN M, JANTOS CA, HEGEMAN JH. *Chlamydia pneumoniae* GroEL1 protein is cell surface associated and required for infection of HEp-2 cells. *J Bacteriol* 2008; **190**: 3757–3767.

Redaktor prowadzący – Barbara Płytycz

Otrzymano: 20.01. 2009 r.
Przyjęto: 21.05. 2009 r.
Małgorzata Pawlikowska, dr. n.biol.,
Wiesław Deptuła, prof. dr hab.
Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Uniwersytet Szczeciński,
ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin
e-mail: kurp13@univ.szczecin.pl