

Chlamydia pneumoniae a infarkt myokardu? (Sérologická vyšetření)

Zeman K.¹, Pospíšil L.², Medková Z.³, Diblíková I.², Votava M.⁴

¹I. interní kardiologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno, přednosta prof. MUDr. J. Toman, CSc.

²Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, ředitel prof. MUDr. K. Hruška, CSc.

³Laboratoře Bio plus s.r.o., Brno, ředitel doc. MUDr. R. Buček, CSc.

⁴Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny, Brno, přednosta doc. MUDr. M. Votava, CSc.

Souhrn

Bylo vyšetřeno 156 sér nemocných s infarktem myokardu (AMI) a 67 sér od osob kontrolních. Séra byla vyšetřena na přítomnost protilátek proti chlamydiím. Byly použity tyto reakce: vazba komplementu s rodovým chlamydiovým antigenem (*C. psittaci*, výrobce Bioveta, a. s., Ivanovice na Hané), reakce ELISA v imunoglobulinových třídách séra IgG a IgA za použití antigenu MOMP (výrobce Vircell, Španělsko) a LPS (výrobce MEDAC, Hamburg, SRN) z *Chlamydia pneumoniae* (*C. p.*) a konečně nepřímá imunofluorescenční reakce s antigenem MOMP (výrobce MRL Diagnostics, USA) *C. p.*

Reakcí vazby komplementu bylo vyšetřeno 148 sér (zbyvajících 8 bylo nezpůsobilých pro hemolýzu nebo lipémii). Z nich reagovalo v titru 1 : 4 - 1 : 16 celkem 28 (18,9 %). V kontrolní skupině (n = 67) reagovala v titru 1 : 4 celkem tři séra. Rozdíl charakterizovaný $\chi^2 = 7,795$ při 0,01). Další vysoce signifikantní rozdíl byl zjištěn za použití reakce rELISA anti LPS *C. p.* v imunoglobulinové třídě IgA [pacienti n = 155 pozitivní 89krát (57 %), kontrola n = 62, pozitivní 22 (35 %) $\rightarrow \chi^2 = 8,528$ vysoce významný; $\alpha = 1\%$].

Z výsledků vyplývá:

1. Chlamydia pneumoniae může hrát při vzniku aterosklerózy resp. AMI důležitou roli.
2. Pro praktickou sérologickou diagnostiku *C. pneumoniae* a její účasti v ateroskleróze lze doporučit reakci rELISA anti-LPS.
3. Reakce vazby komplementu je pro screeningové vyšetření chlamydióz použitelná i dnes.

Klíčová slova: Chlamydia pneumoniae - Infarkt myokardu - Sérologická reakce

Summary: Zeman K., Pospíšil L., Medková Z., Diblíková I., Votava M.: Chlamydia Pneumoniae and Myocardial Infarction? (Serological Examination)

At disposal for tests were 156 blood sera collected from patients with acute myocardial infarction (AMI samples) and 67 blood sera collected from control persons. The sera were tested by the following reactions: complement fixation test (CFT) with genus-specific antigen (*C. psittaci*, Bioveta, Ivanovice na Hané), ELISA in the immunoglobulin classes IgG and IgA using the MOMP (Vircell, Spain) and LPS (MEDAC, Hamburg, BRD) *Chlamydia pneumoniae* (*C. p.*) antigens, and indirect immunofluorescence test with MOMP *C. p.* antigen (MRL Diagnostics, USA). Eight AMI samples were not tested by CFT owing to haemolysis or lipaemia. CFT titres ranging from 1 : 4 to 1 : 16 were found in 28 of the 148 AMI samples (18.9 %) and 3 of the 67 control samples (4.5 %). The between-group difference was highly significant ($\chi^2 = 7.795$ at 0.01). Positive by rELISA anti LPS *C. p.* were 89 of the 155 AMI samples (57 %) and 22 of the 62 control samples (35 %). Also this difference was highly significant ($\chi^2 = 8.528$; $\alpha = 1\%$).

The following conclusions can be drawn from the results:

1. Chlamydia pneumoniae can play an important role in the aetiology of atherosclerosis leading to AMI.
2. rELISA anti-LPS can be recommended for routine serological diagnostics of *C. pneumoniae* and studies of its role in the aetiology of atherosclerosis.
3. The complement fixation test is still suitable for the screening of human chlamydiosis.

Key words: Chlamydia pneumoniae - Myocardial infarction - Serological tests

Vnitř. Lék., 47, 2001, No. 12, p. 852 - 855

V roce 1988 skupina finských lékařů upozornila v několika článcích na nový typ rizikového faktoru - a to mikrobiální infekce a imunologické mechanismy - v patogenezi onemocnění věnčitých sr-

Předneseno na IX. výročním sjezdu české kardiologické společnosti v Brně ve dnech 13. - 16. 5. 2001

dečních tepen (12). Podle jejich názorů jsou sice vysoké hladiny cholesterolu, hypertenze, kouření a diabetes významnými rizikovými faktory, není však možné jimi beze zbytku vysvětlit všechny epidemiologické a klinické souvislosti tohoto onemocnění. Vycházeli při tom z prací jiných autorů, kteří jako jedni z prvních poukázali na imunologické a mikrobiální faktory v patogenezi aterosklerózy (3, 6, 8, 14, 16).

Finská skupina (12, 13) se zaměřila na vztah nového chlamydiálního druhu - *Chlamydia pneumoniae* - k chronickému onemocnění koronárních cév a infarktu myokardu. Zjistili, že takto postižení nemocní pravděpodobně trpí chronickou chlamydiální infekcí a dále, že chlamydiální lipopolysacharid (LPS) patrně hraje v patogenezi akutního infarktu myokardu úlohu, protože mnozí z nemocných mají silně pozitivní sérologickou reakci na LPS.

Od té doby se literatura o této problematice velmi rozrostla a mikrobiální spektrum přicházející kromě *C. pneumoniae* v úvahu se rozšířilo o další agens, předně o *Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni*, herpes virus a cytomegalovirus (1, 2, 7, 11, 14, 15, 18). Zjištění, že *Chlamydia pneumoniae* (původní název TWAR agens) (3, 9) je jedna z nejčastějších příčin lidských respiračních infekcí, včetně epidemií pneumonií, poprvé zaznělo v roce 1986 na 6. mezinárodním sympoziu o chlamydiích (3, 5, 9, 17). Poznatky o tomto mikrobu, jeho laboratorní diagnostice a epidemiologii, o klinické charakteristice onemocnění a terapii v následujících letech rapidně narůstaly do stovek nebo i tisíců dalších prací (4).

Cílem předkládané práce je zhodnocení významu průkazu sérových protilátek proti *Chlamydia pneumoniae* u pacientů s aterosklerózou věnčitých tepen, resp. s prokázaným akutním infarktem myokardu a na základě analýz získaných výsledků usoudit na možný podíl chlamydií v patogenezi tohoto onemocnění a jeho komplikací. Dalším cílem bylo posouzení vhodnosti použitých séroreakcí k danému účelu.

Materiál a metodiky

Séra

V průběhu roku 2000 byla shromažďována séra od 156 nemocných s prokázaným infarktem myokardu a od 67 osob bez tohoto postižení (kontrolní skupina). Ve skupině pacientů bylo 126 mužů a 30 žen, v kontrolní skupině byli muži zastoupeni 32x a ženy 30x. Průměrný věk osob byl 60,8, resp. 58,5 roků. Pacienti byli hospitalizováni na KJ s diagnózou jistého akutního srdečního infarktu prokázaného anamnesticky, laboratorně, elektrokardiograficky a koronarograficky. Kontrolní séra byla získána od pacientů vyšetřovaných pro odběr krve pro autotransfuzi před ortopedickou operací. Při anamnestickém, fyzikálním a EKG vyšetření nebylo u kontrolního souboru zjištěno onemocnění tepenného systému nebo stav po prodělané koronární příhodě.

Použité sérologické metody

Séra byla vyšetřena reakcí vazby komplementu se skupinovým (rodovým) antigenem (*C. psittaci*, výrobce Bioveta, a. s., Ivanovice na Hané), ELISA reakcí v imunoglobulinových třídách IgG a IgA za použití antigenu MOMP (protein zevní membrány) (výrobce Vircell, Španělsko) a LPS (lipopolysacharidový antigen jednoznačně specifický pro *C. p.*) (výrobce MEDAC, Hamburg, SRN) a nepřímé reakce imunofluorescenční NIF za použití antigenu MOMP (výrobce MRL Diagnostics, USA). Séra byla vyšetřována anonymně.

Statistické zhodnocení

Statistické zhodnocení výsledků získaných ve skupině nemocných a v kontrolní skupině (signifikance rozdílů) bylo prováděno chí-kvadrát testem (χ^2).

Výsledky

Výsledky stanovení komplementfixačních protilátek proti skupinovému chlamydiovému antigenu v sérech 148 z původně 156 nemocných (8 sér pro tuto reakci bylo nezpůsobilých z různých příčin jako např. hemolýza, lipémie apod.) a 67 osob kontrolních jsou tyto:

Z patientských sér reagovalo v titru 1 : 4 - 1 : 16 celkem 28 (18,9 %), v kontrolní skupině (n = 67) reagovala v titru pouze 1 : 4 tři séra. Rozdíl charakterizovaný χ -kvadrát testem je vysoce významný ($\chi^2 = 7,795$, $p = 0,01$).

Výsledky reakcí ELISA s antigeny MOMP a LPS a nepřímé imunofluorescenční reakce s použitím antigenu MOMP shrnují tabulky 1, 2, 3.

Tabulka 1

Test	Ig	Pacienti s AIM (156)	Kontroly (62)	Chí kv/význ.
ELISA	Ig A +	87 (56 %)	31 (50 %)	0,595 / -
	Ig A -	69 (44 %)	31 (50 %)	
anti MOMP	Ig G +	146 (94 %)	53 (85 %)	3,664 / -
	Ig G -	10 (6 %)	15 %	

- nevýznamné

Tabulka 2

Test	Ig	Pacienti s AIM (156)	Kontroly (62)	Chí kv/význ.
MIF	Ig A +	44 (28 %)	12 (19 %)	1,820 / -
	Ig A -	112 (72 %)	50 (81 %)	
anti MOMP	Ig G +	125 (80 %)	54 (87 %)	
	Ig G -	31 (20 %)	8 (13 %)	

- nevýznamné

Tabulka 3

Test	Ig	Pacienti s AMI (156)	Kontroly (62)	Chí kv./význ.
ELISA	Ig A +	89 (57 %)	22 (35 %)	8,528 / ++
	Ig A -	66 (42 %)	40 (65 %)	
anti LPS	Ig G +	89 (57 %)	27 (43 %)	3,425 / -
	Ig G -	66 (42 %)	35 (57 %)	

- nevýznamné

++ vysoce významné ($p = 0,01$)

Vysoce významný rozdíl v imunoglobulinové třídě IgA ($\chi^2 = 8,528$, $\alpha = 1 \%$).

Diskuse

Statisticky významné rozdíly byly zjištěny ve výsledcích reakce vazby komplementu ve skupině sér od pacientů s AMI a ve skupině kontrolní. Významnost byla $\chi^2 = 7,795$, $p = 0,01$. Tato reakce mající dříve v diagnostice postavení téměř monopolní, s rozvojem reakcí enzymatických a fluorescenčních, ustoupila do pozadí a je používána zřídka nebo výjimečně a to pro svou relativně malou citlivost a specificitu. Nicméně se domníváme, že některé její přednosti, především jednoduchost a nenákladnost, jí zaručují i dnes místo v diagnostice chlamydiózy, zejména pro screeningové účely. Svou úlohu splnila i v této studii.

Jak z analýzy výsledků dále vyplývá, nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly ve skupině nemocných proti skupině kontrolní při použití reakcí enzymatických a fluorescenčních, v nichž bylo použito antigenu MOMP.

Vysoce významný je naproti tomu rozdíl za použití reakce rELISA anti LPS ve třídě IgA a na hranici významnosti ve třídě IgG. Přítomnost protilátek ve třídě IgA proti lipopolysacharidovému antigenu nasvědčuje se značnou pravděpodobností o aktuální infekci chlamydiální ve skupině nemocných s AMI a nepřímo prokazuje spoluúčast tohoto mikroba v patogenezi aterosklerózy, což je v souladu s názorem finských autorů. Protilátky imu-

noglobulinové třídy IgA séra proti C.p. jsou charakteristickým markerem aktuální infekce. Protilátky třídy IgG jsou známkou dřívější infekce a jejich persistence může být i celoživotní. Ovšem i na jejich základě lze usoudit na akutní infekci v případě jejich signifikantního vzestupu (tj. nejméně čtyřnásobného) ve stanovené době (14 - 21 dnů) (19).

Pro praktické potřeby diferenciální diagnostiky u případů nemocných s AMI se ze sérologických reakcí nelze jeví aplikace reakce ELISA anti LPS (případně jiná reakce prokazující protilátky anti LPS). Vazba komplementu s rodovým antigenem jako reakce méně citlivá a specifická je přesto stále vhodná pro screeningové účely. Získané výsledky sérologického vyšetřování nemocných s AMI naznačují, že v každém případě by měla být věnována možné infekce při vzniku aterosklerózy cév větší pozornost. Chlamydiové infekce byly proto právem zařazeny epidemiologickou komisí Evropské unie v Bruselu (COM 2000) mezi infekce, jimž je nutno věnovat prioritní pozornost.

Závěr

1. Protilátky proti chlamydiím v imunoglobulinových třídách IgA a IgG v souboru nemocných s akutním infarktem myokardu i ve skupině kontrolní jsou velmi často přítomny. Signifikantně častější byly zjištěny ve skupině nemocných protilátky komplementu fixační ve třídě IgG a protilátky prokazatelné reakci ELISA anti LPS ve třídě IgA.
2. Pro průkaz infekce *Chlamydia pneumoniae* lze považovat nevhodnější reakci ELISA anti LPS.
3. Vazba komplementu v diagnostice infekce *Chlamydia pneumoniae* je užitečná jako reakce screeningová.
4. Chronická infekce *Chlamydia pneumoniae* se může spolu s doposud známými rizikovými faktory, především kouřením, poruchou metabolismu tuků, cukru a hypertenzí, podílet na vzniku nebo akceleraci aterosklerózy.

Literatura

1. Aromaa, A., Knekt, P., Reunanen, A. et al.: *Helicobacter pylori* and the risk of myocardial infarction. *Gut* 1996; 39: 91.
2. Danesh, J.: Coronary heart disease, *Helicobacter pylori*, dental disease, *Chlamydia pneumoniae* and cytomegalovirus: Metaanalyses of prospective studies. *A.H.Y.* 1999; 138: 434 - 437.
3. Grayston, J. T.: *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR In: Bowie W. R., Caldwell, H. D., Jones, R. P. et al. (Eds.) *Chlamydial infections*, Proc. 7th Int. Symp. on Human Chlamydial Infections. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1990; 389 - 401.
4. Gupta, S., Leatham, E. W., Carrington, D. et al.: Elevated *Chlamydia pneumoniae* antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. *Circulation* 1997; 96: 404 - 407.
5. Kuo, C. C., Chen, H. H., Wang, S. P. et al.: Characterisation of TWAR strains, a new group of *Chlamydia psittaci* In: Oriol, J. D. et al. (Eds.) Cambridge University Press, Cambridge, 1986; 321 - 324.
6. Lopez-Virella, M. F., Virella, G.: Immunological and microbiological factors in the pathogenesis of atherosclerosis. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1985; 37: 377 - 386.
7. Mendall, M. A., Gaggin, P. M., Malineaux, N. et al.: Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *Br. Heart. J.* 1997; 71: 437 - 439.
8. Miettinen, H., Lehto, S., Saikku, P. et al.: Association of *Chlamydia pneumoniae* and acute coronary heart disease events in non-insulin dependent diabetic and non-diabetic subjects. *Eur. Heart. J.* 1996; 17: 682 - 688.
9. Mordhorst, C. H., Wang, S. P., Grayston, J. T.: Epidemic „ornithosis“ and TWAR infection, Denmark 1976 - 85

- In: Oriel, J. D. et al. (Eds.) Chlamydial infection. Cambridge University Press, Cambridge, 1986; 325 - 328.
10. Progress report on the network for the epidemiological surveillance and control of communicable diseases in the community. COM 2000, 471 final, Brussels 07. 09. 2000.
 11. Ridker, P. M., Hennekens, C. H., Stampfer, M. J. et al.: Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus and the risk of future myocardial infarction and stroke. *Circulation* 1998; 98: 2796 - 2799.
 12. Saikku, P. K., Leinonen, M., Mattila, M. S. et al.: Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet*, 1988; 983 - 985.
 13. Saikku, P., Leinonen, M., Teukanen, L. et al.: Chronic Chlamydia pneumoniae infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann. Intern. Med.* 1992; 116: 273 - 278.
 14. Smith, G. W., McArthur, C. J., Simpson, J. J.: Circulating immune complexes in myocardial infarction. *J. Clin. Lab. Immunol.* 1983; 12: 197 - 199.
 15. Strandberg, T. E., Tilvis, R. S., Vuoristo, M. et al.: Helicobacter pylori infection and cardiovascular diseases in elderly population. *B. M. J.* 1997; 14: 1317 - 1318.
 16. Theofilopoulos, A. N., Dixon, F. J.: Immune complexes and human disease. *Amer. J. Pathol.* 1980; 100: 531 - 591.
 17. Wang, S. P., Grayston, J. T.: Microimmunofluorescence serological studies with the TWAR organism In: Oriel, J. D. et al.: Chlamydial Infections. Cambridge University Press, Cambridge, 1986; 329 - 332.
 18. Whincup, P. H., Mendall, M. A., Perry, I. J. et al.: Prospective relations between Helicobacter pylori infection, coronary heart disease and stroke in middle-aged man. *Heart.* 1996; 75: 568 - 572.
 19. Zeman, K., Pospíšil, L.: Obžalovaná je Chlamydia pneumonia. *Kardiologická revue* 2000; 4: 6 - 9.

Došlo do redakce: 26. 6. 2001
Přijato: 3. 8. 2001

Prof. MUDr. Karel Zeman, DrSc.
I. interní kardiologická klinika FN u sv. Anny
Pekařská 53
656 91 Brno

Supplementum Česko-slovenské dermatologie Fotodiagnostika a fototerapie

Krátké kompendium, které má umožnit orientaci (na jednom místě a v českém jazyce) v nejobvykleji se vyskytujících patologických nálezech souvisejících se zvýšenou citlivostí vůči slunci nebo umělým zářičům. Zodpovídá základní praktické otázky na téma diagnostiky a léčby primárních a sekundárních fotodermatóz a fotosenzitivních stavů vůbec.

Fotodiagnostika (L. Malina). Fotodiagnostika nádorů (F. Vosmík). Fototerapie dermatóz (L. Malina). Fotochemoterapie jako léčba nebo prevence kožních chorob (M. Jirásková). Fotodynamická terapie (PDT) (M. Jirásková).

Vyšlo v roce 2001. 44 stran A4. Pro předplatitele časopisu je supplementum zdarma.

Ostatní zájemci si jej mohou objednat za cenu běžného čísla, tj. 80,-Kč (92,-Sk) na adrese:

Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2,
fax 02-2426 6226, e-mail nts@iol.cz.

Vnitřní lékařství Hematoonkologické supplementum

Hematoonkologie je jednou z nejbouřlivěji se rozvíjejících oblastí medicíny. Redakce časopisu předkládá supplementum, které je celé věnované této tematické oblasti. Celkem osm rozsáhlejších článků bylo zařazeno tak, jak je autoři spontánně zaslali, nejde tedy o práce vyžádané ani o úplný výčet našich špičkových hematologických pracovišť nebo autorů. Tím spíše supplementum názorně ilustruje vývoj hematologické onkologie u nás.

Vyšlo v roce 2001. 64 stran A4. Pro předplatitele časopisu je supplementum zdarma.

Ostatní zájemci si jej mohou objednat za cenu běžného čísla, tj. 63,-Kč (72,-Sk) na adrese:

Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2,
fax 02-2426 6226, e-mail nts@iol.cz.