

Zawiłości boreliozy

Thomas M. Grier

tłumaczenie: **artur737** & **zgoorek** dla internetowego forum **Borelioza**
The Complexities of Lyme Disease, A Microbiology Tutorial;
w: Lyme Disease Survival Manual 2000

Borelioza jest chorobą wielosystemową, która wydaje się atakować wszystkie rodzaje tkanek i wszystkie organy ludzkiego ciała. Jest to choroba, która u jednych ma przebieg łagodny, a u innych bywa wyniszczająca. Może człowieka okaleczyć, unieruchomić lub zamglić mu umysł. Atakuje mężczyzn, kobiety i dzieci, a nawet ulubionego psiaka, może okazać się wyniszczająca dla koni i bydła [1-5, 7-19]. Można mieć ujemne wyniki testów i być chorym, lub dodatnie i nie mieć żadnych objawów. Jedni mają objawy już w kilka dni po ukąszeniu, podczas gdy u innych mijają lata, zanim choroba ta zostanie zdiagnozowana. U niektórych chorych diagnozuje się błędnie fibromialgię, zespół chronicznego zmęczenia, depresję, stwardnienie rozsiane, ALS¹ czy inne choroby o nieznanym pochodzeniu [zobacz materiały z Międzynarodowej Konferencji n/t Boreliozy z 1996 r.]. Istnieją badania potwierdzające tezę, że zakażenie może przenosić się z matki na nienarodzony płód, a nawet powodować poronienie i przyczyniać się do niektórych przypadków zespołu nagłego zgonu niemowląt – tzw. śmierci łóżeczkowej. [MacDonald-20,52; 45,53].

Dlaczego borelioza jest tak tajemnicza? Dlaczego udaje tak wiele innych chorób? I czemu tak trudno ją wykryć? Przyczyny leżą w mikrobiologii bakterii powodującej boreliozę. W niniejszym artykule przedstawiona została biologia tej bakterii i skutki wyjątkowej mikrobiologii tego organizmu w ludzkich ofiarach.

Borelioza wywołuje bakteria o spiralnym kształcie, znana jako krętek. Choroby wywoływane przez krętki z natury są zazwyczaj nawracające, trudne do wykrycia i świetnie imitują inne schorzenia. Syfilis, gorączka powrotna (dur powrotny) czy leptospiroza stanowią inne przykłady chorób krętkowych. Borelioza, zwana też **chorobą z Lyme**, wywołwana jest przez bakterię *Borrelia burgdorferi*, nazwanej od nazwiska doktora Willy'ego Burgdorfera, który w 1981 wyodrębnił ją z kleszcza jelenia. Niniejszy artykuł stara się wyjaśnić tajemnice tej bakterii i dlaczego powoduje ona takie wiele kontrowersji między pacjentami a środowiskiem medycznym [1].

Budowa bakterii boreliozy

Budowa krętka boreliozy nie przypomina żadnych innych dotychczas zbadanych bakterii. Jest jednym z największych krętków (0,25 x 50 mikronów). Jego długość odpow-

wiada grubości zdrowego włosa ludzkiego. *Borrelia burgdorferi* jest też wyjątkowo ruchliwa, dzięki własnemu napędowi wyjątkowo dobrze porusza się zarówno we krwi jak i w tkankach. Napęd stanowi zespół wewnętrznych sprzężonych ze sobą wici, biegnących przez całą długość bakterii, od końca do końca. Tak jak inne bakterie z rodzaju *Borrelia*, *Borrelia burgdorferi* również ma potrójną ściankę komórkową, która pozwala jej na utrzymanie spiralnego kształtu. Różni się od innych gatunków tym, że ma na powierzchni żelatynową osłonkę z proteoglikanów, która otacza całą bakterię. Ta dodatkowa osłonka nazywana jest też śluzową lub osłonką S.

rys. 1 [45, 46, 59] Wic (Flagella) biegnie wewnątrz przez całość; pęcherzyki zawierające bakteryjne DNA, nowoutworzone – zrzucane – glikoproteinową osłonką śluzową (na rysunku powiększona dla lepszej czytelności) - czułki na zakończeniach

Znaczenie: Dodatkowa warstwa glikoprotein (na **rysunku** pogrubiona dla lepszej czytelności) działa niczym zbroja chroniąca i skrywająca bakterie przed układem odpornościowym. Układ immunologiczny człowieka wykorzystuje białka na powierzchni bakterii jako markerów i wysyła atakujące przeciwciała i tzw. komórki-zabójców do owych markerów, nazywanych białkowymi antygenami powierzchni zewnętrznej (**antygeny OSP**). Ta prawie niewidoczna warstwa rzadko pojawia się w zmytych hodowlach komórkowych, jednak z reguły występuje w wycinkach biopsji tkanek [46].

Bakteria boreliozy różni się od innych także układem DNA. Większość bakterii ma wyraźne chromosomy pływające w cytoplazmie. Kiedy bakteria zaczyna się dzielić, najpierw na środku wytwarza nową ścianę komórkową, a potem rozpoczyna podział: nowe chromosomy powielają się, tworząc nową komórkę. Jednak materiał genetyczny w *Borrelia burgdorferi* rozmieszczony jest zupełnie inaczej: jest ułożony wzdłuż wewnętrznej ściany błony komórkowej. Przypomina więc siatkę podklejoną tuż pod skórą bakterii [46].

To znaczy, że nauka nie ma jeszcze pojęcia, w jaki sposób *Borrelia* zarządza swoim materiałem genetycznym w trakcie podziału.

DNA bakterii jest jednorodnie wklejone wewnątrz błony wewnętrznej niczym nylonowa pończocha.

Inną cechą charakterystyczną *Borrelia* są pęcherzyki².

Bakteria ta powieli specjalne geny i umieszcza je w ścianie komórkowej, następnie ten odcinek ściany ulega eg-

¹ **ALS** – stwardnienie zanikowe boczne (łac. *Sclerosis lateralis amyotrophica*, SLA) – choroba Charcota, choroba neuronu ruchowego (ang. *motor neuron disease*, MND) – choroba degeneracyjna komórek rogów przednich rdzenia kręgowego, jąder nerwów czaszkowych rdzenia przedłużonego oraz neuronów drogi piramidowej. [Wikipedia]

² **pęcherzyki**, w oryginale *blebs* – termin przyjęty przez polskich mikrobiologów. [przyp. tłum.]

zocytozie i zostaje wysłany w głąb ludzkiego organizmu. Nie wiadomo, dlaczego się tak dzieje, ale wiadomo, że pęcherzyki te bardzo drażnią układ odpornościowy.

Dr Claude Garon z Laboratorium Rocky Mountain wykazał istnienie bardzo precyzyjnego mechanizmu, który reguluje proporcje różnych typów pęcherzyków, rozsiewanych przez bakterie [46]. U innych bakterii fakt pojawienia się pęcherzyków często oznacza, że może się ona dzielić swoim materiałem genetycznym z innymi. Nie wiadomo, czy jest tak w rodzaju *Borrelia*. Istnieją badania opisujące ziarnistą formę *Borrelia*, która rozrasta się do dorosłej formy krętka i dalej może się już normalnie rozmnażać przez podział. Formy granulowate są tak małe, że dopiero za pomocą mikrofiltrów można je oddzielić od postaci dorosłych. Badania tej formy przetrwalnikowej nadal trwają. [*Stealth Pathogens* Lida Mattman Ph.D 66, Phillips/Mattman 98, Preac-Mursic]

Podział *Borrelia burgdorferi* jest bardzo powolny. Inne patogeny, takie jak gronkowce czy paciorkowce, do podwojenia się potrzebują zaledwie 20 minut, podczas gdy *Bb* potrzebuje na to aż 12-24 godzin. Ponieważ wiele antybiotyków działa przez uszkodzanie ściany komórkowej, mogą one niszczyć bakterie tylko wtedy, gdy te zaczynają się dzielić i tworzą nową ścianę komórkową. [35, 59-62]

To znaczy, że skoro antybiotyki mogą tylko zabijać bakterie, które się dzielą, to powolny podział chroni bakterie przed antybiotykiem. Większość bakterii udaje się zniszczyć podczas kuracji trwającej 10-14 dni. Chcąc uzyskać ten sam efekt działania antybiotyku na szczególnie wrażliwy moment podziału krętka boreliozy, antybiotyk musi być obecny codziennie na okrągło przez półtora roku!

Gronkowcowe krętki boreliozy

* *Uwaga:* Antybiotyki zabijają bakterie, łącząc się z organellami bogatymi w RNA, czyli rybosomami: zatrzymują tworzenie białek niezbędnych do budowy ściany komórkowej i do metabolizmu komórek. Niektóre nowsze antybiotyki ingerują w syntezę DNA/RNA (np. *Cipro* i inne chinoliny ingerują w gyrazę³ – enzym, który rozplata łańcuch DNA przed podziałem).

Kiedy bakteria znajduje się między podziałami (w stanie uśpienia), żaden antybiotyk na nią nie zadziała. Dopiero gdy antybiotyk zostanie wchłonięty i wejdzie do procesu metabolicznego bakterii, spowoduje zatrzymanie tego procesu i jej zniszczenie.

W przeciwieństwie do antyseptyków, antybiotyki nie zabijają przez kontakt. Jeżeli bakterie zamaskują się w fazie uśpienia, to antybiotyki nie będą na nie działać bez względu na długość leczenia – dopóki bakteria nie będzie metabolicznie aktywna. [*The Forgotten Plague* patrz odwołanie do *Tuberculosis*]

³ **gyraza** – enzym *E. coli* należący do topoisomerasz typu II, katalizuje wprowadzanie ujemnych skrętów w helisie DNA.

Rybosomy tłumaczą mRNA⁴ na białko, czyli geny komórkowe stanowią białka tworzone w rybosomach.

RNA to białka działające taśmowo. Podobnie jak inne krętki, np. krętek blady powodujący kiłę, również krętek boreliozy może latami pozostawać w organizmie w stadium uśpienia. Wiemy o tym, ponieważ pacjenci z zapaleniem zanikowym skóry obwodowych części kończyn (ACA⁵) często mają dodatnie posiewy komórkowe z biopsji i hodowli wycinka skóry. Taka bakteria pozostaje w stanie uśpienia. Nie przetwarza materii, nie absorbuje antybiotyków, więc nie mogą jej one szkodzić. Kiedy warunki się ulegną poprawie, bakterie, które przeżyły, mogą ponownie zasiedlić krwiobiegi i rozpoczynają nawrót choroby. Jest to więc doskonały sposób na przetrwanie w organizmie pacjenta. [59-62, 70]

To znaczy, że jeśli ktoś nie ma objawów od dawna, wcale nie oznacza, że jest wolny od infekcji. Zwykle jest to tylko kwestia czasu, kiedy pojawi się nawrót wywołany przez uśpione bakterie. Podczas gdy infekcje wirusowe wytwarzają wieloletnią odporność i mogą tłumić późniejsze nawroty choroby, to borelioza takiej odporności nie tworzy, często infekując ponownie. Nawrót symptomów może być zauważony jako ponowna infekcja lub rozsiew infekcji z miejsc ukrytych przed ochroną układu immunologicznego. [96]

POLIMORFIZM jest to zdolność bakterii do zmiany tożsamości strukturalnej. Podczas podziału bakteria ma możliwość zmiany struktury ściany komórkowej i antygenów powierzchniowych, utrudniając rozpoznanie przez system odpornościowy. Podobnie jak robi to jej bliski kuzyn, odpowiedzialny za GORĄCZKĘ POWROTĄ.

KRĘTKI. Krętek boreliozy ma cały ciąg antygenów powierzchniowych, z których może wybierać, które chce ujawnić. Dotychczas zidentyfikowano ponad dwadzieścia gatunków bakterii *Borrelia* gorączki powrotnej. Obecnie dostrzega się podobną różnorodność w rodzinie krętków boreliozy. Polimorfizm utrudnia rozpoznanie i identyfikację, tak jakby przestępca zakładał coraz inną maskę za każdym razem, gdy popełni przestępstwo. Jeżeli nawet istnieją 4 główne genotypy krętków boreliozy: *Borrelia burgdorferi*, *afzelli*, *garinii* i *lonstarrii*, trzeba podkreślić, że choćby w obrębie trzech pierwszych istnieją setki szczepów. Są one bardzo polimorficzne, ponieważ mają genetycznie wbudowany mechanizm zmiany antygenów.

To znaczy, że chociaż układ immunologiczny rozpoznaje bakterie i stara się ją zabić, to ona zmienia strój, oszukując system odpornościowy i żyje sobie dalej. Wkrótce bakteria znajduje bezpieczniejsze miejsca w organizmie, ukrywa się jeszcze lepiej i w końcu układ immunologiczny przestaje jej szukać. Innym aspektem polimorfizmu jest fakt, że zmiana komórkowa może okazać się groźna dla innych komórek. Na przykład, kiedy *Borrelię burgdorferi* wprowadzono do krwiobiegu myszy, od razu po-

⁴ **mRNA** – kwas rybonukleinowy informacyjny, kwas rybonukleinowy matrycowy

⁵ **ACA** – *Acrodermatitis Chronica Atrophicans*

wędrowała do mózgu. Jednak bakteria, która potem opuszczała mózg, była lepiej przystosowana do życia w tkankach mózgowych i już nie była niszczone przez przeciwciała krwi. Polimorfizm stanowi bardzo sprytną sztuczkę przetrwania, tłumacząc powody licznych objawów.

Krętki bez ścian komórkowych

Zgrabny spiralny kształt *Borrelia* tworzony jest dzięki obecności ściany komórkowej. Bez ściany określającej kształt bakteria ma tylko cienką elastyczną błonę, która utrzymuje resztę struktury. Kiedy bakteria wyłącza geny tworzące ścianę komórkową, wtedy zmienia kształt ze spirali w kulę. Takie kuliste formy znane są jako formy L lub formy bez ściany komórkowej [CWD]. Stanowią one nowe niebezpieczeństwo w diagnozie i leczeniu.

Wielu lekarzom i mikrobiologom trudno jest uwierzyć, że krętki mogą w rzeczywistości przyjmować pęcherzykowaty kształt kuli, a tak bywa. Część mechanizmu obronnego krętków boreliozy, walczącego z układem immunologicznym ssaków, wykształciła umiejętność wyłączenia grup genów odpowiedzialnych za tworzenie ściany komórkowej. Tak eliminują antygeny związane ze ścianą komórkową.

W jaki sposób mikrobiolog rozpoznaje *Borrelię burgdorferi*, jeżeli nie jest już ona spiralą? Trudno wykazać, że owe kule pływające w ludzkiej krwi w rzeczywistości są krętkami, ponieważ źle rosną w kulturach komórkowych *in vitro*. Dlatego mikrobiolog przygotowuje na szkiełku mikroskopowym kroplę zakażonej krwi i potem dodaje pomarańczowy barwnik wyróżniający kwasy nukleinowe. Zaraz potem przeprowadza typowe barwienie antygenów *Borrelia* z monoklonalnym przeciwciałem połączonym z barwnikiem fluorescencyjnym. Ten barwnik wyróżni tylko bakterie z gatunku *Borrelia*. Nagle to, co wydawało się zupełnie niewidoczne przy zwykłych technikach barwienia, staje się widoczne. Tak można udowodnić, że krętki naprawdę potrafią przeistoczyć się w kule bez ściany komórkowej.

Inną metodą wykrywania *Borrelia* jest użycie przeciwciał specyficznych dla *Borrelia* i oznaczanie ich nieaktywnymi drobkami złota. Potem hoduje się formy L z antyciałami znakowanymi złotem. Pod mikroskopem elektronowym wyraźnie widoczne są przeciwciała przylegające do białek *Borrelia*. Z tego więc wynika, że forma L musiała przedtem być krętkiem.

Najbardziej przekonujący dowód na to, że krętki ze swej klasycznej formy mogą przekształcać się w formę L, a potem ponownie wrócić do formy krętka, uzyskuje się w mikroskopowej hodowli na mokrych pożywkach. Można tam zaobserwować, jak forma L przyjmuje klasyczną formę krętka, widać wręcz krętka wypychanego przez błonę komórkową na zewnątrz formy L. Bakteria ta może przeobrażać się z krętka w formę L i z powrotem nawet bez typowego połowicznego podziału komórki. Połowiczne rozszczepienie zaczyna się, gdy komórka dzieli na pół ścianę komórkową, tworząc identyczną komórkę potomną (klon). Jednak podczas rozmrażania form L nie

zawsze powstają identyczne klony. [Lida Mattman, *Stealth Pathogens*, Detroit 1997 wykład i wideo, Mattman/Phillips 98]

To znaczy, że antybiotyki hamujące rozwój ścian komórkowych, takie jak *rocephin* i *amoxycylina* są nieskuteczne. Oznacza to również, że większość antybiotyków nie poradzi sobie ze zwalczaniem boreliozy, gdy trafi na formy L. Inne antybiotyki, takie jak *doksycyklina* i *clitromycyna*, będące czynnikami hamującymi proteiny, mogą okazać się bardziej skuteczne pod względem działania na ścianę komórkową.

Rysunek: Niepełna forma bakterii *Borrelia burgdorferi* bez ściany komórkowej ani forma L nie mają typowej spiralnej budowy krętka, gdyż brakuje im sztywności jaką daje ściana komórkowa. Bakteria powraca więc do prostszej formy kulistej.

Bakteria jest związana przez znacznie delikatniejszą trzecią warstwę błony barwiącej się półprzezroczystie. Tuż poniżej błony z barwnikiem akrodyniowym (pomarańczowy) znajduje się materiał genetyczny bakterii, z którego w trakcie syntezy komórkowej tworzona jest prosta amorficzna ściana komórkowa, w której bakteria tworzy typowego krętka.

A – Klasyczna forma wyłaniająca się z formy L: do zabarwienia przeciwciałem monoklonalnym użyto antygenów błony komórkowej.

Klasyczna forma ze ścianą komórkową (przeciwciała *B. burgdorferi* znaczone złotem)

W jakiej formie bakteria boreliozy występuje w ciele człowieka? Pionierskie badania nad krętkiem w formie L dokonano na tkankach pacjentów z kiłą trzeciego stopnia. Wycięto zaatakowaną kiłą aortę i przeprowadzono analizę obecności formy L. Jak się okazało, klasyczna forma krętka dominowała głównie w świetle tętnicy i krwi. Natomiast dalej od śródbłonna przez naczynia ku środkowi błony podstawnej napotkano rosnącą ilość form morfogenicznych. Krętek powoli przechodził transformację z formy spiralnej w kulę.

To znaczy, że forma, jaką wybierze bakteria, w dużej mierze zależy od otaczających ją warunków fizycznych. W jednych tkankach woli przybierać formę klasyczną, podczas gdy w innych – formę bez ściany komórkowej. Taki dymorfizm od dawna przyjęto dla infekcji drożdżycowych i grzybiczych (*Candida*). Podobna koncepcja ostatnio przyjmowana jest również dla gatunku *Borrelia* (drożdżaki również mogą przyjmować odrębną formę strzępków, która może się zmienić w formę produkującą zarodniki).

Ruchliwość. W jaki sposób krętek przemieszcza się z krwiobiegu do innych tkanek? Od dawna wiadomo, że krętek może pojawiać się w mózgu, oczach, stawach, skórze, śledzionie, wątrobie, układzie pokarmowym, pęcherzu moczowym i w innych narządach. Ciągłe jednak nie rozumiemy mechanizmu, za pomocą którego może on przenikać przez naczynia włoskowate i błony komórkowe [Abstrakt 644]. W 1996 roku na Międzynarodowej Konferencji na Temat Boreliozy dr Mark Klempner

przedstawił ciekawy referat dający częściowo odpowiedź na to pytanie.

Wielu badaczy zauważyło, że krętek boreliozy atakuje ludzkie komórki jakby od końca. Dr Klempner wykazał, że gdy krętek atakuje komórkę żywiciela, powoduje, iż komórka wydziela enzymy lityczne, które rozłożą komórkę, aby krętek mógł wejść, gdzie chce. Posługuje się naszymi enzymami przeciwko nam, co jest bardzo ekonomiczne – dzięki temu nie musi podróżować z bagażem genów i enzymów. Dr Klempner wykazał również, że krętek może wnikać do takich komórek jak ludzki fibroblast (komórki budujące blizny) i tam się skryć. Patogen w takim miejscu był zabezpieczony przed układem immunologicznym i żył sobie bezproblemowo. Co ważniejsze, kiedy zakażone boreliozą fibroblasty inkubowano z *ceftriaxonem*, aż 2/3 z nich nadal produkowało żywe krętki po dwóch tygodniach, a w dalszych eksperymentach nawet po ponad 30 dniach.

Jeżeli nawet w próbówce nie potrafimy ich zniszczyć przez 4 tygodnie bardzo stężonym *ceftriaxonem*, to jak można się spodziewać, że uda się je zniszczyć w organizmie człowieka? [22, 48, 79, 80]

To znaczy, że infekcja wybiera sobie tkankę, w której znajdzie optymalne miejsce do przetrwania. Kiedy zaś wytworzy już przyczółki wewnątrzkomórkowe, potrafi unikać układu odpornościowego i antybiotyków, trwając z dala od wrogiego otoczenia.

Ciekawe jest też, jak ta bakteria wpływa na nasz układ immunologiczny. Dr David Dorward z Laboratorium Rocky Mountain nakręcił film wideo o tym, jak *Borrelia burgdorferi* zachowuje się otaczana przez **komórki B** (białe krwinki wytwarzające przeciwciała). Krętek najpierw zaczepił o koniec komórki B, wszedł w nią, podzielił się i rozerwał komórkę. Proces powtarzał się przez 3 dni, dopóki krętki zrównoważyły komórki B. Niepokojące było to, że niektóre krętki potrafiły zerwać błonę komórkową komórki B i nosić ja niczym okrycie. [Dorward, Hulinska 1994 LDF Konferencja w Vancouver BC]

To znaczy, że jeżeli krętki mogą atakować limfocyt B to mogą też pewnie wiele innych rzeczy, których nie potrafimy jeszcze zrozumieć. Nie ma wątpliwości, że zdolność niszczenia limfocytów B wytworzyła się ewolucyjnie dla ochrony samej bakterii. A fakt, że potrafi wykorzystać błonę komórek B jako kamuflaż, wskazuje, może być nie wykrywalna przez nasz układ immunologiczny.

Receptory. Okazuje się, że na powierzchni krętka występują specjalne receptory, którymi przyczepia się on do śródbłonna, N-Acetylo-glukazaminy (chrząstki), komórek B, komórek glejowych, neuronów i włókien nerwowych.

Nasz układ immunologiczny funkcjonuje w ten sposób, że najpierw rozpoznaje intruza, a później go atakuje. Niestety, czasami atakuje własne komórki. Określa się to **chorobą autoimmunologiczną**. Jeżeli intruz ma strukturę chemiczną podobną do naszych antygenów, nasze ciało może wytworzyć przeciwciała przeciw własnym tkankom. U osób z boreliozą naukowcy [23, 28, 38-40, 43,

45, 56, 57, 60, 88] wykryli takie auto-przeciwciała przeciwko własnym tkankom takim jak:

- neurony (neuryty)
- kardiolipidy
- mielinowe osłonki neuronów (jak w SM)
- podstawowe białko mieliny (jak w SM)
- neurony mózgowe

Kiedy układ immunologiczny natrafia na obcy organizm, oznacza go na kilka sposobów. Komórka zwana makrofagem wchłania bakterię i przekazuje innym dokładny opis napastnika. Inna zaś komórka może tak oznaczyć intruza, by rozpoznawały ją komórki-zabójcy. Niektóre typy komórek-zabójców komunikują się z innymi, przekazując ważne informacje obronne. Niestety jednak, niekiedy wytwarzają przeciwciała, które nie atakują i w niczym organizmowi nie pomagają. Blokujące przeciwciała doczepia się do napastnika, przykrywa go, nie dochodzi jednak do wiązania komplementów⁶, w efekcie więc chroni ono intruza przed późniejszym rozpoznaniem przez układ odpornościowy. W boreliozie spotyka się wiele blokujących przeciwciał IgG4, podobnie jak to obserwowano w infekcjach pasożytami [Tom Schwann RML 92, Konferencja LDF].

Układ immunologiczny wytwarza atakujące przeciwciała dopiero wtedy, gdy znajdzie antygen – obiekt ataku. Niestety, fotografie bakterii boreliozy robione z mrożonych próbek mikroskopem elektronowym wykazują, że większość antygenów znajduje się w błonie wewnętrznej, nie na zewnątrz [60]. To sprawia, że bakteria jest mało widoczna dla układu odpornościowego i trudniej ją zaatakować. W krętkach *Borrelia* intrygująca jest dobrze udokumentowana umiejętność zmiany kształtu na powierzchni antygenów atakowanych przez układ odpornościowy człowieka. Dlatego często układ immunologiczny spędza kolejne tygodnie na wytwarzanie nowych przeciwciał, podczas gdy w tym samym czasie infekcja trwa nadal, bakteria dzieli się i ukrywa [1, 47, 63, 66].

Wydaje się, że *Borrelia* potrafi zmieniać antygeny powierzchniowe wielokrotnie i szybko. W trakcie jednego badania doktor Andrew Pachner [60, 88] zakaził myszy pojedynczą odmianą *Borrelia burgdorferi*. Po kilku tygodniach z zakażonych myszy wyizolował **dwie różne odmiany** bakterii. Bakterie z krwiobiegu były niszczone przez układ immunologiczny myszy, ale te z mózgu były odporne na surowicę z przeciwciałami. Bakterie wyizolowane z mózgu miały więc na powierzchni inny zespół antygenów. Wydaje się, że tę zmianę spowodował kontakt z układem nerwowym. Ponieważ mózg jest wyizolowany z układu immunologicznego i posiada własne sposoby ochrony immunologicznej, bakteria przekształcała się w inną odmianę. [47, 97]

⁶ Komplement (dopełniacz) jest terminem określającym zespół złożony z 18 i więcej trawialnych substancji białkowych, aktywowany jedynie sygnałami z układu immunologicznego, jak np. komplement wiążący przeciwciała z obcym antygenem. [przyp. tłum.]

To znaczy, że infekcja krwiobiegu może się różnić od infekcji wyizolowanej z mózgu. Jeżeli nawet krwiobieg nadal tworzy aktywną ochronę, to mózg ma niewiele do obrony poza puszczaniem przeciwciał w obieg. Jeżeli więc krążące przeciwciała okazują się nieskuteczne w walce z bakteriami w mózgu, to mózg staje się bezbronny, a infekcja rozwija się swobodnie i bez ograniczeń.

Inną ciekawą sprawę zaobserwowano w środku tej bakterii. Kiedy genetyczne mechanizmy kontrolne są blokowane przez antybiotyk zwany *gyrazą DNA (ciprofloxacyna)*, bakteria nagle zaczyna wytwarzać bakteriofagi – wirusy specjalizujące się w atakowaniu bakterii. W tym przypadku występują dwa różne typy takich wirusów. Oznacza to, że *Borrelia* kiedyś została zaatakowana przez te wirusy i jakoś była w stanie sflunąć ich aktywność, ciągle jednak nosi w sobie wbudowane we własne DNA kopie intruzów. Może kiedyś cenną bronią w walce z boreliozą okaże się aktywacja owych fagów? [JTBD 94]

Co się stanie, kiedy zakażenie dotrze do mózgu?

W przypadku boreliozy wszystkie dotychczasowe zwierzęce modele choroby wykazują, że krętek w ciągu zaledwie kilku dni przedostaje się z miejsca ukąszenia do mózgu. [41, 60, abstrakt 644]

Wiemy już, że bakteria może przebić pojedyncze ściany komórkowe i kapilary, a bariera krew-mózg wydaje się trudniejsza do przekroczenia. Kiedy bakteria boreliozy wkracza do ludzkiego organizmu, ten reaguje wytworzeniem szeregu substancji zwanych immunomodulatorami: cytokininy⁷ i limfokiny⁸. Wiele z nich bierze udział w niszczeniu bariery krwi [np.: Il-6, *Tumor Necrosis Factor-alpha*, Il-1, *Transforming Growth Factor-beta* i inne]. Ponadto to właśnie cytokininy sprawiają, że czujemy się źle i mamy gorączkę. [54, 60, JID 1996: 173, Jan]

Ponieważ mózg nie ma układu immunologicznego, przede wszystkim broni się przed zarażeniem, ograniczając do siebie dostęp. Siateczka naczyń włosowatych otaczająca mózg jest tak szczelna, że nawet białe ciała krwi nie mogą się przez nią przecisnąć. Nie przechodzi tędy również wiele leków, dlatego leczenie chorób mózgu jest szczególnie trudne. W pierwszych dziesięciu dniach od zakażenia boreliozą bariera krew-mózg praktycznie nie istnieje. To nie tylko umożliwia krętkom przeniknięcie do mózgu, ale także mogą tam przejść białe ciała krwi, które mogą wywołać zapalenie mózgu. [41, **porównaj rysunek z LDSM 95**]

**Uwaga:* załamanie się bariery krew-mózg zostało wykazane za pomocą oznakowania radioaktywnym jodem białych ciałek krwi, albumin i innych substancji, o których wiadomo, że nie przekraczają tej bariery. Zbadano płyn mózgowo-rdzeniowy, a później zainfekowano zwierzęta

⁷ **cytokininy** – pochodne puryn, występują również w postaci glikozydów i estrów fosforowych glikozydów, a także jako element struktury przenoszącego kwasu rybonukleinowego; naturalne i syntetyczne regulatory wzrostu.

⁸ **limfokiny** – peptydowe substancje hormonopodobne, wytwarzane przez komórki układu odpornościowego – limfocyty.

krętkiem. Następnie płyn testowano codziennie przez wiele tygodni. Jakie były rezultaty? W grupie kontrolnej jod nie przekroczył bariery, a wśród 100% zainfekowanych zwierząt przekroczenie tej bariery trwało 10 dni. Wyglądało to prawie tak, jakby przez owe 10 dni ktoś wstrzykiwał im jod bezpośrednio do mózgu. [60]

Jeżeli u człowieka następuje zapalenie mózgu, wówczas komórki zwane makrofagami reagują wydzielaniem neurotoksyny: kwasu chinolinowego. Także w chorobie Parkinsona, SM i ALS występuje podwyższony stan tej toksyny. Jest ona także odpowiedzialna za demencję pacjentów z AIDS. Kwas chinolinowy silnie stymuluje neurony, które wielokrotnie się depolaryzują, co później doprowadza do utraty osłonki mielinowej i ich obumierania. Nadmiar tej toksyny u ludzi powoduje kłopoty z pamięcią krótkotrwałą. [27, 29-37, 40-42, 74, 75, 82-84, 87-90]

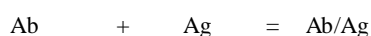
To znaczy, że jeżeli pomyślimy o komórkach mózgowych jak o linii telefonicznej, łatwiej będzie zrozumieć problem kiedy wszystkie linie przychodzące są cały czas zajęte, nie możemy się niczego dowiedzieć, a kiedy wszystkie linie wychodzące są zajęte, to nie możemy niczego wywołać z pamięci. Myślenie staje się nieudolne. Innym powodem niewydolności staje się ograniczenie przepływu krwi przez naczyń w obrębie mózgu. Za pomocą komputerowego skanera tomograficznego emitującego pojedyncze fotony (SPECT), można przedstawić trójwymiarowo przepływ krwi przez mózg. W mózgach pacjentów z przewlekłą boreliozą przepływ ten przypomina ser szwajcarski. Region korowy, odpowiedzialny za myślenie, traci dobre unaczynienie, natomiast region ptyliczny, odpowiedzialny za widzenie, otrzymuje zwiększony przepływ krwi [97]. To może wyjaśniać, dlaczego większość pacjentów z boreliozą skarży się na kłopoty z koncentracją i na nadwrażliwość oczu. [91]

Testy na boreliozę

Jest przecież test na boreliozę, więc **w czym problem?** Istnieje nawet kilka różnych testów, jednak większość z nich opiera się na zdolności organizmu do wytwarzania przeciwciał przeciw atakującym bakteriom. Na tym właśnie polega problem. Istnieje przecież otoczka śluzowa S, osłaniająca bakterie, a antygeny powierzchniowe są niedostępne; mogą pojawiać się blokujące przeciwciała (skierowane przeciwko innym przeciwciałom), bakterie mogą przebywać wewnątrz komórek, mogą tłumić reakcję immunologiczną cytokinami, mogą zmodyfikować swoje antygeny, żeby zmylić układ immunologiczny, bakterie mogą przebrać się w błonę komórkową zniszczonych białych krwinek, mogą ukryć się głęboko w stawach, w ścięgnach, w białych krwinkach, w skórze, w mózgu, wreszcie mogą nawet zrzucić ścianę komórkową i stać się niewidzialne dla układu odpornościowego. Nawet jeśli choć jeden krętek przeżyje leczenie, może być on sprawcą nawrotu choroby. No, i jest jeszcze jeden problem: testy wykrywające przeciwciała wymagają

obecności przeciwciała, które nie jest związane z antygenem. [23, 25, 55, 70]

Przeciwciała powstają, żeby przyczepić się do celu i nie puścić, aż ten ulegnie zniszczeniu. Niczym klucz do zamka, przeciwciało pasuje do odpowiadającego mu antygenowi. Kiedy przeciwciała połączy się już z antygenem, nie można go już wykryć, ponieważ od tej chwili tworzą związek immunologiczny antygen-przeciwciało. Nie ma obecnie dostępnych testów, które mogłyby wykryć taki zespół. Również wzrost ilości antygeny powoduje zmniejszenie się ilości przeciwciał, gdyż antygen je wyłapuje i trwale wiąże. Tak więc osoba z ciężkim zakażeniem, ale wytwarzająca pewną ilość przeciwciał, ma problem, ponieważ nadmiar antygeny sprawia, że przeciwciała są dostępne dla testów tylko jako zespół.



przeciwciało + antygen = zespół przeciwciało-antygen

wolne + wolny = złożony

Wolne przeciwciała aktualnie są wykrywane testami na boreliozę, ale zespoły immunologiczne pozostają poza zakresem testów ELISA czy Western Blot.

To znaczy, że mający najniższe miana przeciwciał lub nawet mający ujemne testy, mogą mieć najwyższe obciążenie bakteriami.

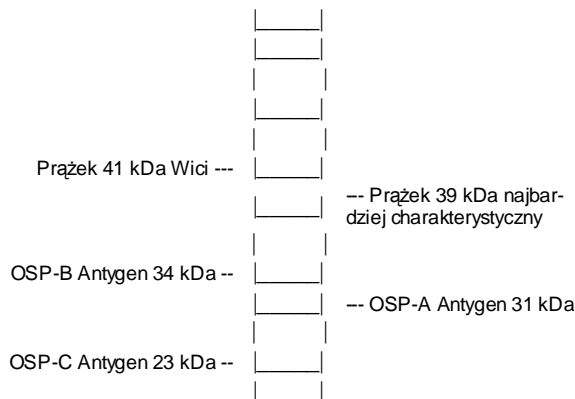
***Uwaga:** Dopiero po 4 tygodniach od ukąszenia kleszcza test daje wynik pozytywny.

Istnieją dwie kategorie testów na boreliozę. Najbardziej popularny, ale i najmniej charakterystyczny jest test **ELISA** (*Enzyme Linked Immune Sera Assay*); drugi to Immuno Blot lub inaczej **Western Blot**. Western Blot w zasadzie sporządza mapę różnych przeciwciał wytwarzanych przez organizm przeciwko krętkowi. Mapa przedstawia przeciwciała według wielkości i wagi (wyrażonej w kilodaltonach – kDa). Np. wynik Western Blot może wskazywać prążki 22, 25, 31, 34, 39 i 41 kDa. Każdy prążek stanowi reakcję przeciwciała na specyficzne białko krętka. Prążek 41 wskazuje na białko **wici** i jest mało charakterystyczny dla boreliozy. Prążek 31 kDa reprezentuje **białko OSP-A**, które jest specyficzne dla *Borrelia*, jak również prążek 34 czy 25, które odpowiadają białkom **OSP-B** i **OSP-C**.

W 1994 roku amerykański Narodowy Instytut Zdrowia (*NIH – National Institutes of Health*) zdecydował, że pomiędzy laboratoriami powinna zapanować zgodność w zakresie testu Western Blot. Z pozoru dobre intencje spowodowały, że sytuacja się pogorszyła. W uzgodnionym standardzie jako podstawę testu zdecydowano się użyć ilości prążków charakterystycznych, wybranych z kilku możliwych, ustalonych wcześniej. Uznano prążki 25, 31 i 34. Część prążków bez powodu została zdyskwalifikowana. W rezultacie test, który był względnie dobry, z dnia na dzień stał się zły a nawet bezużyteczny. Wiele laboratoriów od tej pory przestało w wynikach nawet podawać

szczegóły o znalezionych prążkach. Podawano tylko, że test wyszedł dodatni lub ujemny, unikając w ten sposób dalszych trudności interpretacyjnych. [90]

Schemat Western Blot



Na co więc zdała się działalność NIH?

Poniżej analizuję nowe wytyczne Komitetu NIH, w oparciu o wykład wygłoszony w 1995 r. na Zjeździe Reumatologów w Teksasie oraz jego dokumentację [1995 *Rheumatology Symposia* Abstract #1254 Dr Paul Fawcett i in.]

Badania miały na celu przetestowanie nowopropozowanych zmian w interpretacji wyników Western Blot. Komitet zaproponował ograniczenie ilości prążków raportowanych w diagnozie boreliozy: w klasie **IgG** Western Blot powinien mieć 5 lub więcej następujących prążków: 18, 23, 28, 30, 39, 41, 45, 58, 66 i 93 kDa; natomiast w klasie **IgM** Western Blot powinien mieć dwa lub więcej z prążków: 23, 39, 41.

Wyraźnie rzuca się w oczy brak najważniejszych prążków – 22, 25, 31 i 34 – zawierających OSP-A, OSP-B i OSP-C grupy antygenów, czyli trzy najszerzej akceptowane i rozpoznawane antygeny. Między innymi dlatego kiedyś, kiedy próbowano wytworzyć szczepionkę na tę chorobę, wybrano właśnie je. Obecnie uznano je za mało istotne i nie włączono do kryteriów diagnostycznych. **Dlaczego?**

Z dokumentacji wynika, że według starych kryteriów wszystkich 66 pacjentów pediatrycznych z historią ukąszenia przez kleszcza i oraz objawami rumienia, mieli pozytywny wynik testu Western Blot. Według nowych kryteriów tylko 20 z nich ma obecnie pozytywny wynik testu. Oznacza to, że 46 dzieci z symptomami prawdopodobnie nie otrzyma leczenia. Czyli wskaźnik powodzenia wyniesie tylko 31%.

	Stare kryteria Western Blot	Nowe kryteria Western Blot
66 dzieci z rumieniem	100% pozytywny	31% pozytywny
Liczba wyników fałszywie pozytywnych	0%	0%

W obu sytuacjach poziom fałszywie dodatnie został uznany jako równy zeru.

**Uwaga:* Błędna opinia o Western Blot głosi, że ten test ma równie dużo wyników fałszywie dodatnich co fałszywie ujemnych. Jednak nie jest to prawdą. Wyniki fałszywie dodatnie są bardzo rzadkie.

Wniosek badaczy był następujący: proponowane kryteria interpretacji testu Western Blot są wyjątkowo nieadekwatne, ponieważ wykluczyły aż 69% zakażonych dzieci.

Dokładność testu ELISA na boreliozę

Producenci, wydziały zdrowia i kliniki zgodnie wmawiają nam, że testy ELISA są dobre, jednak w dwóch ślepych próbach sprawdzających dokładność laboratoriów test ten wypadł bardzo niekorzystnie. W dwóch badaniach dr Lorie Bakken wykazała nie tylko niedokładność i niespójność między konkurującymi laboratoriami, ale także pomiędzy trzema identycznymi próbkami wysłanymi do tego samego laboratorium. Innymi słowy, identyczne próbki często dają różne wyniki! W ostatnim badaniu Amerykańskiego Wydziału Patologii było testowanych aż 516 laboratoriów. Liczba wyników fałszywie dodatnich prawie równała się liczbie wyników fałszywie ujemnych. W sumie było 55% wyników błędnych! Wobec tak słabych wyników lepiej już chyba rzucić monetą!

[98 – Bakken LL, Callister SM, Wand PJ, Schell RF. *Inter-laboratory Comparison of Test Results for the Detection of Lyme Disease* by 516 Participants in the Wisconsin State Lab of Hygiene/College of American Pathologists Proficiency Testing Program. J. Clin. Microbiol. 1997; Vol 35, No 3:537-543]. [99]

Wielokrotnie spotyka się pacjentów, którzy są seronegatywni pod względem antyciał boreliozy, a jednak z ich próbek tkankowych można wyhodować żywe krętki. Pomimo to środowisko medyczne polega na tych właśnie testach, wierząc, że są one 100% pewne – zapewne według zasady, nieważne jak kiepskie są testy, i tak będą używane, dopóki lekarze będą z nich korzystał. Właśnie dlatego podczas konferencji LDF w 1996 roku doktor n. med. Samuel Donta poprosił o całkowite usunięcie testów ELISA na boreliozę, a przynajmniej do czasu, aż zostaną one poddane standaryzacji i będzie poprawiona ich rzetelność. W swoich długoterminowych studiach wykazał on, że niektóre testy ELISA były niedokładne w ponad 70%. Nadal jednak wielu lekarzy polega na tych testach, jakby stanowiły one ostatnie słowo diagnostyki i, niestety, zbyt często tak właśnie jest.

Największy problem pacjentów z chroniczną boreliozą polega na tym, że są oni najpierw leczeni antybiotykami,

po czym dowiadują się, że są już zdrowi – nawet gdy mają objawy poważnych nawrotów choroby. W medycynie zaistniał trwały dogmat, że 28 dni dożylnych antybiotyków leczy całkowicie boreliozę. W rzeczywistości sześćdziesięcioletnie badania z Old Nantucket Island wykazały, że ze wszystkich rodzajów leczenia właśnie dożylne w prowadzi do największej liczby nawrotów. Wszystko dlatego, że lekarze zbyt bardzo wierzą w potęgę leków dożylnych i nie przedłużają terapii lekami doustnymi. Kluczem to leczenia przewlekłej boreliozy winna być długość leczenia antybiotykami, a nie forma. Jeżeli leczenie dożylne było kontynuowane przez 6 miesięcy lub więcej antybiotykami doustnymi, to wskaźnik nawrotów spadał do 13%. [Dr Leslie Fein MD, MPH, Magnarelli MD, MPH 96 Konferencja LDF]

W dołączonej bibliografii znajduje się wiele opublikowanych badań, opisano przypadki chorobowe i streszczenia publikacji naukowych, opisujących pacjentów, z których tkanek wyhodowano krętki boreliozy, pomimo wcześniejszego agresywnego leczenia antybiotykami, w tym dożylnymi. W większości przypadków pacjenci ci byli seronegatywni, podczas gdy z ich tkanek hodowano krętki.

Jeżeli więc wielokrotnie znajdujemy krętki u leczonych poprzednio pacjentów, którzy są seronegatywni w innych testach, to powinniśmy przemyśleć nasze dotychczasowe rozumienie tej choroby. Może powinniśmy raczej leczyć objawy, nie wyniki testów. Borelioza jest chorobą jak najbardziej nadającą się do leczenia, chociaż w części przypadków może być nieuleczalna. Nie chciałbym być w skórze lekarza, który nie wyleczy boreliozy, nie wiedząc, że nawroty mogą być znacznie bardziej niebezpieczne od leczenia długiego, aż do ustąpienia objawów [4, 6, 42, 49, 67, 68, 70-96]

Zbyt często, czytając opisy badań klinicznych boreliozy, spotykamy się z określeniem „wyleczony”, a przy bliższym przyjrzeniu się odkrywamy, że badacze utworzyli drobny wynalazek językowy i „wyleczony” definiują jako „seronegatywny”. Niestety, seronegatywny nie jest synonim wyleczonego. Liczne badania hodowli komórkowych z ostatnich lat powinny były zdyskwalifikować już dawno tego typu absurdu, a jednak nawet w 1997 roku badacze nadal publikują wyniki badań, w których rezultat ich interwencji jest określany testem na przeciwciała lub PCR. Może czas w końcu zapytać pacjenta „Jak się pan czuje?”

Żałowałbym więc, że ukąsił cię zakażony kleszcz, rozwija się wysypka, stajesz się chory i masz pozytywny wynik testu, potwierdzający chorobę. Otrzymujesz przez 2-4 tygodnie antybiotyk, zaczynasz czuć się trochę lepiej, ale wkrótce znowu ci się pogarsza. Wracasz do lekarza, a ten zleca ci ponownie test na boreliozę, który tym razem wychodzi ujemnie. **Dlaczego?** Nawet jeżeli wciąż choroba jest aktywna, to antybiotyk oczyści ci krew z bakterii, a układ immunologiczny właśnie we krwi szuka obcych organizmów. Reszta patogenów ukryła się już w tym czasie

w stawach, ścięgnach i mózgu. Tyle, że teraz już nie masz ani antybiotyków, ani nawet przeciwciał, żeby walczyć z chorobą!

Dr n. med. Daniel Musher zbadał, co dzieje się z pacjentami nie do końca wyleczonymi z kiły trzeciego stopnia i porównał ich z pacjentami nigdy nie leczonymi. Wykazał, że ci „niedoleczeni” wchodzili w fazę ośpienia znacznie szybciej. Dlaczego? Ponieważ nie mieli już naturalnej odporności, jako że antybiotyki wyeliminowały z krwi bodziec antygenowy, a infekcja dalej rozwijała się w mózgu! [35, 61, 62, 65, 74, 83]

Wnioski: Borelioza jest niezmiernie skomplikowaną chorobą, która może spowodować długotrwałe chronicz-

ne infekcje. Pacjenci mogą mieć seronegatywne wyniki testów, lecz ciągle mieć w sobie żywe krętki możliwe do wyhodowania z wycinków biopsji, i to nawet po agresywnej terapii antybiotykowej. W naturalnej historii choroby zakażenie wcześniej przekracza barierę krew-mózg. Bakteria, która przeszła przez mózg, może być tak różna antygenowo od występującej w początkowym okresie zakażenia, że wytworzone przez organizm przeciwciała przestają być efektywne. Niepełne, zbyt krótkie, zbyt słabe leczenie pacjenta z boreliozowym zapaleniem mózgu może bardziej skrzywdzić pacjenta niż nieleczenie go w ogóle.

Bibliografia

- 1- Burgdorfer W. *First decade of Lyme Borreliosis*. Infection, July/August 1991;19(4)
- 2- Cimmino MA, Azzolini A, Tobia F, Pesce CM. *Spirochetes in the spleen of a patient with chronic Lyme disease*. American J Clin Pathol 1989;91(1):95-97
- 3- Goellner MH, Agger WA, Burgess JH, Durray PH. *Hepatitis due to recurrent Lyme Disease*. Ann Intern Med 1988;108:707-708
- 4- Schmidli J, Hunzicker T, Moesli P, et al. *Cultivation of Bb from joint fluid three months after treatment of facial palsy due to Lyme Borreliosis*. J Infect Dis 1988;158:905-906
- 5- Chancellor MB, McGinnis DE, Shenot PJ, et al. *Urinary dysfunction in Lyme disease*. Journal of Urology, 1993;149(1):26-30
- 6- Liegner KB, Shapiro JR, Ramsey D, Halperin AJ, Hogrefe W, and Kong L. *Recurrent erythema migrans despite extended antibiotic treatment with minocycline in a patient with persisting Borrelia burgdorferi infection*. J. American Acad Dermatol. 1993;28:312-314
- 7- Ma Y, Sturrock A, Weiss JJ. *Intracellular localization of Borrelia burgdorferi within human endothelial cells*. Infect Immunol 1991;59:671-8
- 8- Bergloff J, Gasser R, Feigl B. *Ophthalmic Manifestations in Lyme Borreliosis*. J Clin Neuro-ophthalmology 1994;14(1):15-20
- 9- Goodman JL, Sonnesyn SW, Holmer S, Kubo S, Johnson RC.: *Seroprevalence of Borrelia burgdorferi in patients with severe heart failure, evaluated for cardiac transplantation at the University of MN*. Abstract # 49, presented at the Fifth International Symposia on Scientific Research on Lyme Borreliosis, Arlington, VA, 1992 *
- 10- Marcus LC, Steere AC, Durray PH, Anderson AE, Mahoney EB. *Fatal Pancarditis in a Patient with Coexistent Lyme Disease and Babesiosis*. Annals of Internal Med 1985;103:374-376
- 11- McAlister HF, Lementowicz PT, Andrews C Fisher JD, Feld M, Furman S. *Lyme Carditis: an important cause of heart block*. Ann Intern Med 1989;110:339-45
- 12- Karma A, Seppala I, Mikkila H, et al. *Diagnosis and Clinical Characteristics of Ocular Lyme Borreliosis*. American J Ophthalmology 1995;119:127-135
- 13- Preac-Music V, Pfister HW, Spiegel H, et al. *First isolation of Borrelia burgdorferi from an iris biopsy*. J Clin Neuro-ophthalmology 1993;13:155-161
- 14- Steere AC, Durray PH, Danny JH et al. *Unilateral Blindness Caused by Infection with the Lyme Disease Spirochete Borrelia burgdorferi*. Annals of Internal Med, 1986;103:382-384
- 15- Suttrop-Schulten MS, Luyendijk L, VanDam AP, et al. *Birdshot chorioretinopathy and Lyme Borreliosis*. Amer J Ophthalmol 1993;115(2):149-53
- 16- Winward KE, Lawson-Smith J, et al. *Ocular Lyme Borreliosis*. American Journal of Ophthalmology 1989;108:651-657
- 17- Winterkorn, Jaqueline. *Lyme Disease: Neurologic and Ophthalmic Manifestations*. Survey of Ophthalmology 1990;35(3):191-203
- 18- DeKoning J, Hoogkamp-Korstanje JAA, van der linde MR, Crjins HJGM. *Demonstration of spirochetes in cardiac biopsies of patients with Lyme disease*. J Infect Dis 1989;160:150-153
- 19- Gasser R, Dusleag J, Beisinger E, et al. *Reversal by ceftriaxone of dilated cardiomyopathy caused by Borrelia burgdorferi infection*. [Letter/Comments] Lancet, August 1, 1992;340(8814):317-18, From Lancet May 9, 1992;339(8802):1174-5
- 20- MacDonald AB, Benach JL, Burgdorfer W. *Stillbirth Following Maternal Lyme Disease*. New York State Journal of Med 1987

- 21- Futrell N, Schultz LR, Milikan C. *Central nervous system disease in patients with systemic lupus erythematosus*. Neurology 1992;42:1649-1657
- 22- Georgilis K, Peacocke M, and Klempner MS. *Fibroblasts protect the Lyme Disease spirochete, Borrelia burgdorferi from ceftriaxone in vitro*. J. Infect Dis 1992;166:440-444
- 23-Hardin JA, Steere AC, Malawista SE. *Immune complexes and the evolution of Lyme Arthritis: Dissemination and localization of abnormal Clq binding activity*. New Eng J Med 1979;301:1358-1363
- 24- Jaulhac B, Chary-Valckenaere I, et al. *Detection of Borrelia burgdorferi by DNA amplification in synovial tissue from samples from patients with Lyme arthritis*. Arthritis and Rheum, May 1996;39(5):736-745
- 25- Coyle PK, Deng Z, Schutzer SE, Belman AL, Benach J, Krupp LB, Luft B. *Detection of Borrelia burgdorferi antigens in cerebrospinal fluid*. Neurology, June 1993;43(6):1093-8
- 27- Fallon, Brian A., Nields JA, Burrascano JJ et al. *The Neuropsychiatric Manifestations of Lyme Borreliosis*. Psychiatric Quarterly 1992;63(1):41-63
- 28- Garcia-Monco JC, Coleman JL. *Antibodies to Myelin Basic Protein in Lyme disease*. J Infect Dis (Letter) September 1988;158(3):667
- 29- Garcia-Monco JC, Fernandez-Villar B, Benach JL. *Adherence of the Lyme Disease Spirochete to the Glial Cells*. J Infect Dis 1989;160(3):497-506
- 30- Garcia-Monco JC, Fernandez-Villar B, Alen JC, Benach JL. *Borrelia burgdorferi in the CNS: experimental and clinical evidence for early invasion*. J Infect Dis 1990;161:1187-1193
- 31- Halperin JJ, Heyes MP. *Neuroactive kynurenines in Lyme borreliosis*. Neurology 1992;42:43-50
- 32- Halperin JJ, Volkman DJ, Wu P. *Central Nervous system abnormalities in Lyme neuroborreliosis*. Neurology 1991;41:1571-1582
- 33- Heyes, MP, Saito K, Major EO et al. *A mechanism of Quinolinic acid formation by the brain in inflammatory neurological disease: attenuation of synthesis from L-tryptophan by 6-chlorotryptophan and 4-chloro-3-hydroxyanthranilate*. Brain 1993;116:1425-1450
- 34- Heyes MP, Saito K, Crowley JS et al. *Quinolinic acid and kynurenine pathway metabolism in inflammatory and non-inflammatory neurological disease*. Brain 1992;115:1249-1273
- 35- Lukehart SA, Marra C. *A comparison of Syphilis and Lyme Disease: Central Nervous System Involvement*. Lyme Disease-Molecular and Immunologic Approaches. Edited by Steve Schutzer MD, Cold Spring Harbor Press 1992
- 36- Liegner Kenneth. *Global Cerebral Atrophy in Lyme Borreliosis*. Abstract 55B Arlington Virginia International Lyme Disease Symposia *
- 37- Schmutzhard E, Pohl P, Stanek G. *Borrelia burgdorferi antibodies in patients with relapsing/remitting form and chronic progressive form of multiple sclerosis*. J Neurol Neurosurg Psych 1988;51:1215-1218
- 38- Sigal LH. *Cross-reactivity between Borrelia burgdorferi flagellin and a human axonal 64,00 molecular weight protein*. J Infect Dis 1993;167:1372-8
- 39- Sigal LH, Stein S, Williams S et al. *Monoclonal antibody to B. burgdorferi (BB) flagellin (fig)Hp724: probe in studies of the immunopathogenesis of Lyme neurologic disease*. Arthritis Rheum 1991;34:S164
- 40- Sigal LH, Tatum AH. *Lyme Disease patient's serum contains IgM antibodies to Borrelia burgdorferi that cross react with neuronal antigens*. Neurology 1988;
- 41- Tuomanen Elaine. *Breaching the Blood Brain Barrier: Development of a therapy for meningitis has revealed how bacteria penetrate the Blood-brain barrier*. Scientific American February 1993 pp 80-85
- 42- Wanek C, Prohovnik I, Kaufman MA. *Rapid progressive frontal type dementia and death with subcortical degeneration associated with Lyme disease*. A case report/abstract/poster presentation. LDF State of the art conference with emphasis on neurological Lyme. April 1994, Stamford, CT*
- 43- Aberer E, Brunner C, Suchanek G, Klade H, Barbour A, Stanek G, Lassmann H. *Molecular mimicry and Lyme Borreliosis a shared antigenic determinant between Borrelia burgdorferi and human tissue*. Ann Neurol 1989;26:732-737
- 44- Dai ZZ, Lackland D, Stein S et al. *Molecular mimicry in Lyme disease: Monoclonal antibody to H9724 to Borrelia burgdorferi flagellin specificity detects chaperonin-HSP60* Bichim Biophys Acta. 1993;1181:97-100 *
- 45- Durray Paul. *Histopathology of Clinical Phases of Human Lyme Disease*. Rheumatic Disease Clinics of North America 1989;15(4):691-709
- 46- Garon CF, Dorward DW, Corwin MD. *Structural features of Borrelia burgdorferi: The Lyme Disease spirochete: Silver staining for nucleic acids*. Scanning Microscopy Supplement 3, 1989;109-115
- 47- Jauris-Heipke S, Liegl G, Preac-Mursic V, et al. *Molecular Analysis of genes encoding outer surface protein C, (osp-C) of Borrelia burgdorferi sensu lato: Relationship to osp-A genotype and evidence of lateral gene exchange of osp-C*. Journal of Clinical Microbiology July, 1995;33(7):1860-1866

- 48- Klempner MS, Noring R, Epstein MP, McCloud B, Hu R, Limentani SA, Rodgers RA. *Subversion of the host fibrinolytic pathway for invasion by the Lyme disease spirochete, Borrelia burgdorferi*. Abstract # 0002T, Fifth International Research Symposia on Lyme Borreliosis. Arlington, VA, 1992*
- 49- Lawrence C, Lipton RB, Lowy FD, and Coyle PK. *Seronegative Chronic Relapsing Neuroborreliosis*. European Neurology. 1995;35(2):113-117
- 50- Ma Y, Sturrock A, Weis JJ: *Intracellular location of Borrelia burgdorferi within human endothelial cells*. Infec Immun 1991;59:671-678
- 51- Mahmoud AAF. *The challenge of intracellular pathogens* (editorial) New Eng J Med 1992;326:761-762
- 52- MacDonald, Alan B. *Gestational Lyme Borreliosis*. Rheum Dis Clin North America 1989;15(4):657-672
- 53- MacDonald, Alan B, *Gestational Lyme Borreliosis and a Rationale for a Prospective study of Sudden Infant Death Syndrome (SIDS)*. 1989; Rheumatic Disease Clinic of North America 1989;15(4):657-677
- 54- Negussie Y, Remick DG, Deforge DE, Kunkel LE, Griffin GE. *Detection of plasma tumour necrosis factor, interleukin 6, and 8 during the Jarisch-Herxheimer reaction of relapsing fever*. J Exp Med 1992;175:1207-1212
- 55- Schutzer SE, Coyle PK, Belman AL, Golightly MG, Drulle J. *Sequestration of antibody to Borrelia burgdorferi in immune complexes in seronegative Lyme disease*. Lancet 1990;335:312-315
- 56- Sigal LH, Williams S. *Molecular mimicry in Lyme disease: Bb flagellin interferes with human axon protein HSP60, and human antibodies cross react with flagellin H9724 and interferes with neural cell differentiation, and may cause axonopathy*. Abstract # P003T Fifth International Research Symposia on Lyme Borreliosis, Arlington, VA, 1992*
- 57- Weigelt W. et al. *Sequence homology between spirochete flagellin and human myelin basic protein*. [Letter] Immunology Today, July 1992;13(7):279-80
- 58- Young EJ, Weingarten NM, Baughn RE, Duncan WC. *Studies on the pathogenesis of the Jarisch-Herxheimer reaction: development of an animal model, and evidence for a role of a classical endotoxin*. J Infect Dis 1982: 146:606-615
- 59- Felsenfeld Oscar MS M.D., *Borrelia-strains, vectors, Human and Animal Diseases* 1971 Warren Green Inc. 10 South Brentwood Blvd, St. Louis MO 63105 Library of Congress # 72-127355
- 60- Schutzer, Steve M.D. *Lyme Disease: Molecular and Immunologic Approaches*. Series 6 Current Communications in Molecular and Cell Biology, Cold Spring Harbor Press, 329 pages, 1992
- 61- Musher, Daniel M. *Syphilis, Neurosyphilis, and AIDS* J Infect Dis 1991;163:1201-1206
- 62- Musher DM, Hamill RJ, Hamill RJ, Baughn RE. *Effect of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection on the course of Syphilis and on the Response to Treatment*. Annals of Internal Med 1990;113:872-881
- 63- Szczepanski A, Benach JL. *Lyme Borreliosis: Host response to Borrelia burgdorferi*. Microbiol Rev 1991;55:21-34
- 64- Sharief MK, Ciardi M, Thompson EJ. *Blood Brain Barrier Damage in Patients with Bacterial Meningitis Association with Tumor Necrosis Factor-alpha but not Interleukin 1β*. J Infect Dis 1992;166:350-8
- 65- Sigurdardottir B, Bjornsson OM, et al. *Acute Bacterial Meningitis in Adults*. Arch Intern Med 1997; 157:425-430
- 66- Mattman, Lida H Ph.D. *Cell wall Deficient Forms: Stealth Pathogens*. 2nd Edition, CRC Press, ISBN # 0-8493-4405-0, CRC Press Inc., 2000 Corporate Blvd. N.W. Boca Rattan Florida. 33431
- ** Cleveland CP, Dennler PS, Durray PH. *Recurrence of Lyme disease presenting as a chest wall mass: Borrelia burgdorferi was present despite five months of IV ceftriaxone 2g, and three months of oral cefixime 400 mg BID*. Poster presentation LDF International Conference on Lyme Disease research, Stamford, CT, April 1992 *
- 67- Diiringner MN, Halperin JJ, Dattwyler RJ. *Lyme meningoenephalitis: A report of a severe, penicillin resistant Borrelia encephalitis responding to cefotaxime*. Arthritis and Rheum 1987;30:705-708
- 68- Drulle John MD. *Persisting Lyme disease: Chronic infection or immune phenomena?* Lecture Handout 1992 *
- 69- Fried Martin D, Durray P. *Gastrointestinal Disease in Children with Persistent Lyme Disease: Spirochetes isolated from the G.I. tract despite antibiotic therapy*. 1996 LDF Lyme Conference Boston, MA, Abstract*
- 70- Haupl TH, Krause A, Bittig M. *Persistence of Borrelia burgdorferi in chronic Lyme Disease: altered immune regulation or evasion into immunologically privileged sites?* Abstract 149 Fifth International Conference on Lyme Borreliosis, Arlington, VA, 1992 *
- 71- Haupl T, Hahn G, Rittig M, Krause A, Schoerner C, Schonherr U, Kalden JR and Burmester GR: *Persistence of Borrelia burgdorferi in ligamentous tissue from a patient with chronic Lyme Borreliosis*. Arthritis and Rheum 1993;36:1621-1626
- 72- Lavoie Paul E. *Failure of published antibiotic regimens in Lyme borreliosis : Observations on prolonged oral therapy*. Abstract presented at the 1990 Lyme Borreliosis International Conference in Sweden. *
- 73-Lavoie Paul E MD. *Protocol from Rakel's: Explains persistence of infection despite "standard" courses of antibiotics*. Lyme Times-Lyme Disease Resource Center 1992;2(2): 25-27 Reprinted from Conn's Current Therapy 1991
- 74- Lawrence C, Lipton RB, Lowy FD, and Coyle PK. *Seronegative Chronic Relapsing Neuroborreliosis*. European Neurology. 1995;35(2):113-117

- 75- Liegner KB. *Spectrum of antibiotic-responsive meningoencephalomyelitides: A fatal case of CMEM*. Poster presentation 1992 LDF Lyme Conference, Stamford, CT April 1992 *
- 76- Liegner Kenneth B MD. *Chronic persistent infection and chronic persistent denial of chronic persistent infection in Lyme Disease*. A position paper presented at the 6th Annual International Conference on Lyme Disease and other tick-borne illnesses, Atlantic City, NJ, May 5-6, 1993 *
- 77- Liegner, Kenneth B. *Chronic Lyme disease: A costly dilemma*. Abstract # P012M, Fifth International Lyme Borreliosis Research Symposia, Arlington, VA 1992 *
- 78- Liegner KB, Shapiro JR, Ramsey D, Halperin AJ, Hogrefe W, and Kong L. *Recurrent erythema migrans despite extended antibiotic treatment with minocycline in a patient with persisting Borrelia burgdorferi infection*. J. American Acad Dermatol 1993;28:312-314
- 79- Ma Y, Sturrock A, and Weis JJ. *Intracellular localization of Borrelia burgdorferi within human endothelial cells*. Infect Immun 1991;59:671-678
- 80- Mahmoud AAF. *The challenge of intracellular pathogens* (Editorial). New Engl J. Med 1992;326:761-2
- 81- Masters EJ, Lynxwiler P, Rawlings J. *Spirochetemia after continuous high dose oral amoxicillin therapy*. Infect Dis Clin Practice 1994;3:207-208
- 82- Pal GS, Baker JT, Wright DJM. *Penicillin resistant Borrelia encephalitis responding to cefotaxime*. Lancet I (1988) 50-51
- 83- Preac-Mursic V, Wilske B, Schierz G, et al. *Repeated isolation of spirochetes from the cerebrospinal fluid of a patient with meningoradiculitis Bannwarth' Syndrome*. Eur J Clin Microbiol 1984;3:564-565
- 84- Preac-Mursic V, Weber K, Pfister HW, Wilske B, Gross B, Baumann A, and Prokop J. *Survival of Borrelia burgdorferi in antibioticly treated patients with Lyme Borreliosis Infection* 1989;17:335-339
- 85- Schmidli J, Hunzicker T, Moesli P, et al. *Cultivation of Bb from joint fluid three months after treatment of facial palsy due to Lyme Borreliosis*. J Infect Dis 1988;158:905-906
- 86- Stanek G, Klein J, Bittner R, Glogar D. *Isolation of Borrelia burgdorferi from the myocardium of a patient with long-standing cardiomyopathy*. New Engl J Med 1990;322:249-252
- 87- Wokke JHJ, vanGijn J, Eldersom A, Stanek G. *Chronic forms of Borrelia burgdorferi infection of the central nervous system*. Neurology 1987;37:1031-1034
- 88- Abstract # 1154 by Dr. Pamela E. Morrissey et al 1995 *Rheumatology Symposia*, *This study suggests that Bb binds to a variety of tissues, and has a specific affinity to many tissue types. These specific affinities seem to be mediated by sialic acid, and glycosaminoglycans. Further specific enzymes that dissolve these compounds resulted in the inability of the bacteria to remain attached to tissues in vitro.*
- 89- *Neuroborreliosis*: In the journal, *Annals of Neurology* Vol. 38, No 4, 1995 There was a brief article by Dr. Andrew Pachner MD, Elizabeth Delaney BS, and Tim O'Neill DVM, Ph.D. The conclusion of the article was simple and concise: "These data suggest that Lyme neuroborreliosis represents persistent infection with B. burgdorferi." *The study used nonhuman primates as a model for human neuroborreliosis, and used a special PCR technique to detect the presence of Borrelia DNA within specific structures of the brains of five rhesus monkeys. The monkeys were injected with strain N40Br of Borrelia burgdorferi, and later autopsied for analysis. Accuracy of the Western Blot Using the New Suggested Criteria*
- 90- *Western Blot and False Negatives in Children*: 1995 *Rheumatology Symposia* Abstract # 1254 Dr. Paul Fawcett et al. *This abstract showed that under the old criteria, all of 66 pediatric patients with a history of a tick bite and, Bull's Eye rash who were symptomatic, were accepted as positive under the old Western Blot interpretation. Under the newly proposed criteria only 20 were now considered positive. That means 46 children who were all symptomatic, would probably be denied treatment! That's a success rate of only 31%. 66 Children with Bull's Eye rash Old W. Blot Criteria 100% positive New NIH Criteria 31% positive The number of false positives under both criteria was ZERO %*
- * Note: A misconception about Western Blots is that they have as many false positives as false negatives. This is not true. False positives are rare. The conclusion of the researchers was: "the proposed Western Blot Reporting Criteria are grossly inadequate, because it excluded 69% of the infected children."
- 91- Abstract # D612- E.L. Logigian - *SPECT Scans in LD and reversible Cerebral Hypoperfusion in Lyme Encephalopathy*. *SPECT scans in patients with Lyme encephalopathy showed decreased blood flow in the frontal sub-cortical and cortical regions of the brain. After IV Rocephin there was partial improvement, but not total reversal.*
- Abstract #626 - Kenneth Linger, *SPECT Scans in Lyme Patients: SPECT scans revealed significant perfusion problems in Chronic Neurologic Lyme Patients, and may offer clinicians another tool to help assess brain function, and neuropathies.*
- 92- Abstract # D647 - P.K. Coyle et al, *North American Meningitis*. Conclusion: *North American Meningitis does not produce the marked inflammatory and immune changes reported in European cases. Lyme Meningitis can occur despite early oral antibiotics.*
- 93- Abstract # D654 - J. Nowakowski, et al. *Culture-Confirmed Treatment Failures of Cephalexin Therapy for Erythema Migrans*. *Two of six patients biopsied had culture confirmed Borrelia burgdorferi infections despite up to 21 days of cephalexin (500 mg TID) antibiotic treatment.*

94- Abstract # D655 - Nowakowski, et al, *Culture-confirmed infection and reinfection with Borrelia burgdorferi. A patient despite antibiotic therapy had a recurring Erythema Migrans rash on three separate occasions. On each occasion it was biopsied, and revealed the active presence of Borrelia burgdorferi on two separate occasions indicating reinfection had occurred.*

95- Abstract # D657 - J. Cimperman, F. Strle, et al, *Repeated Isolation of Borrelia burgdorferi from the CSF of two patients treated for Lyme neuroborreliosis. Patient 1, was a twenty year old woman who presented with meningitis but was sero-negative for Borrelia burgdorferi. Subsequently six weeks later, Bb was cultured from her CSF and she was treated with IV Rocephin 2 grams a day for 14 days. Three months later the symptoms returned and Bb was once again isolated from the CSF. Patient 2 was a 51 year old female who developed an EM rash after tick bite. Within two months she had severe neurological symptoms, her serology was negative. She was denied treatment until her CSF was culture positive nine months post tick bite. She was treated with 2 grams of Rocephin for 14 days. Two months post antibiotic treatment Bb was once again cultured from her CSF. In both these cases the patients had negative antibodies, but were culture positive, suggesting that the antibody tests are not reliable predictors of neurological Lyme Disease. Also standard treatment regimens are insufficient when infection of the CNS is established, and Bb can survive in the brain despite Intra venous antibiotic treatment.*

96- Abstract # D658 - F. Strle et al. *Reinfection with Borrelia burgdorferi in endemic areas. Conclusion: Even despite high antibody titers as seen in ACA patients, 7% of 2273 patients with previous Lyme disease, became reinfected and present with an EM rash and late symptoms after a recent tick bite.*

97- Pachner AR, Itano A. *Borrelia burgdorferi infection of the brain: Characterization of the organism and response to antibiotics and immune sera in the mouse model.* Neurology 1990;40:1535-1540

98- Bakken LL, Callister SM, Wand PJ, Schell RF. *Interlaboratory Comparison of Test Results for the Detection of Lyme Disease by 516 Participants in the Wisconsin State Lab of Hygiene/College of American Pathologists Proficiency Testing Program.* J Clin Microbiol 1997; Vol 35, No 3:537-543

99- Bakken LL, Case KL, Callister SM et al. *Performance of 45 Laboratories participating in a proficiency testing program for Lyme disease serology.* JAMA 1992;268:891-895

Abstract # 1256 by K.K. McCartney et al : *This study showed that the using the newly proposed Western Blot criteria resulted in 60 % false negative results in children with both E.M. Rash, and Bell's Palsy. A total of 23 patients with both a bull's-eye Rash and Bell's Palsy were tested using the new criteria for Western Blot as proposed by the NIH committee. Only nine of the 23 patients were considered positive with the new criteria. This means six out of every ten Lyme Patients would be a false negative. This means flipping a coin is actually more accurate by a healthy margin of 10%*

Abstract # D601/D618 - Y.Li et al. *Neuroborreliosis associated with Guillian-Barre' Syndrome. - Report of two patients in China who were previously diagnosed with Guillian-Barre' Syndrome who tested positive for Bb. Their symptoms responded to antibiotic treatment. This means they may have been misdiagnosed, or GBS is triggered by a spirochetal infection.*

Abstract: # D644 - P.K. Coyle, *Rapid Dissemination of Bb from the skin to the CNS. Conclusion: Bb can rapidly seed the CNS from the entry site in the skin, even prior to the formation of a rash. Therefore the traditional staging of Lyme disease based on symptoms, as either early or late stage may be a poor indicator of actual dissemination of the spirochete.*

Abstract #D646 - P.K. Coyle, et al, *Multiple Sclerosis vs. Lyme disease a diagnostic dilemma. Forty-seven patients were identified as possible MS patients. Many had brain lesions on their MRIs, consistent with MS 61%. CSF was constant with MS in 46 % of the patients. The final breakdown of the 47 patients was: 21 MS, 15 LD, 7 had findings constant with both LD and MS. Thirteen patients responded to antibiotics but only those who had CSF findings consistent with LD.*