

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KALP DAMAR CERRAHİSİ  
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi  
Doç. Dr. Suat CANBAZ

**ELLİ YAŞIN ALTINDA KORONER ARTER “BYPASS”  
GREFT CERRAHİSİ UYGULANAN OLGULARDA  
KLAMİDYA PNÖMONİANIN ATEROSKLEROTİK  
PROÇESTEKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

**(Uzmanlık Tezi)**

**Dr. Selami GÜRKAN**

EDİRNE – 2007

## **TEŞEKKÜR**

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi arttırmamda çok büyük destek ve yardımlarını gördüğüm, bana cerrahi sanatını öğreten değerli hocam Trakya Üniversitesi Rektörü ve Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Enver DURAN'a, tez hocam Doç. Dr. Suat CANBAZ'a ve Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Müşerref Otkun'a, Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Mutasım SÜNGÜN, Doç. Dr. Turan EGE'ye, tüm asistan arkadaşlarıma, hemşirelere, teknisyenlere ve personele teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|                                     |           |
|-------------------------------------|-----------|
| <b>GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>          | <b>1</b>  |
| <b>GENEL BİLGİLER .....</b>         | <b>4</b>  |
| <b>ARTERLERİN GENEL YAPISI.....</b> | <b>4</b>  |
| <b>ATEROSKLEROZ.....</b>            | <b>7</b>  |
| <b>KLAMİDYA PNÖMONİA.....</b>       | <b>15</b> |
| <b>GEREÇ VE YÖNTEMLER .....</b>     | <b>20</b> |
| <b>BULGULAR.....</b>                | <b>26</b> |
| <b>TARTIŞMA.....</b>                | <b>34</b> |
| <b>SONUÇLAR .....</b>               | <b>41</b> |
| <b>ÖZET.....</b>                    | <b>43</b> |
| <b>SUMMARY.....</b>                 | <b>44</b> |
| <b>KAYNAKLAR.....</b>               | <b>46</b> |
| <b>EKLER</b>                        |           |

## SİMGE VE KISALTMALAR

|             |                                       |
|-------------|---------------------------------------|
| <b>AKK</b>  | : Aortik Kros Klemp                   |
| <b>APZ</b>  | : Aktive Edilmiş Pıhtılaşma Zamanı    |
| <b>EC</b>   | : Elementer Cisimcik                  |
| <b>EF</b>   | : Ejeksiyon Fraksiyonu                |
| <b>GEA</b>  | : Gastroepiploik Arter                |
| <b>HDL</b>  | : Yüksek Yoğunluklu Lipoproteinler    |
| <b>Hp</b>   | : Helikobakter pilori                 |
| <b>IIFT</b> | : İndirekt İmmün Floresan Test        |
| <b>ISP</b>  | : Isı Şok Proteini                    |
| <b>İKH</b>  | : İskemik Kalp Hastalığı              |
| <b>İTA</b>  | : İnternal Torasik Arter              |
| <b>KABG</b> | : Koroner “Arter Bypass” Greft        |
| <b>KBY</b>  | : Kronik Böbrek Yetmezliği            |
| <b>KKH</b>  | : Koroner Kalp Hastalığı              |
| <b>KOAH</b> | : Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı |
| <b>Kp</b>   | : Klamidya pnömonia                   |
| <b>KPB</b>  | : Kardiyopulmoner “Bypass”            |
| <b>LDL</b>  | : Düşük Yoğunluklu Lipoproteinler     |
| <b>MI</b>   | : Miyokard İnfarktüsü                 |
| <b>PAH</b>  | : Periferik Arter Hastalığı           |
| <b>PBS</b>  | : Fosfat Buffer Solüsyonu             |
| <b>PZR</b>  | : Polimeraz Zincir Reaksiyonu         |

|             |                            |
|-------------|----------------------------|
| <b>RC</b>   | : Retiküler Cisimcik       |
| <b>SV</b>   | : Safen Ven                |
| <b>USAP</b> | : Unstabil Anjina Pektoris |
| <b>VKİ</b>  | : Vücut Kitle İndeksi      |

## GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıkların tedavisindeki gelişmelere karşın, insanlar hala daha ileri yaşlarda olmakla beraber bu hastalıklar nedeniyle ölmektedir (1). Birleşik Devletler ve birçok ülkede kardiyovasküler hastalıklar tüm etnik gruplardaki erkek ve kadınlarda ölüm nedeni olarak başta gelmekte ve aynı derecede önemli olarak yaşamı kısıtlamaktadır. İkibinyirmi yılında Dünya Sağlık Örgütü'nün hazırladığı yaşamı kısıtlayan önde gelen nedenler listesinde koroner kalp hastalığı (KKH) birinci, inme dördüncü sırayı alacaktır (2). Çalışmalar, tüm dünyadaki kardiyovasküler hastalıklardan ölüm oranının 1999 ve 2020 yılları arasında, %28.9'dan %36.3'e yükseleceğini göstermektedir (3). İkibin yılı itibariyle koroner arter hastalığı öyküsü bulunan 13-14 milyon Amerikalı yetişkinin, yıl sonunda 1.1 milyon akut koroner olaya maruz kalması beklenmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 2004 yılı itibariyle 25 milyondan fazla insan aterosklerozun klinik sonuçlarından en az birine sahiptir ve çok daha fazlasında da ateroskleroz, ciddi kardiyovasküler olayların nedeni olarak gizli kalmaktadır (4).

Türk Kardiyoloji Derneği tarafından yürütülen TEKHARF çalışmasının verilerine göre Türkiye'de 2 milyon kişi koroner arter hastasıdır ve 2010 yılında bu rakamın yaklaşık 3.5 milyona ulaşması beklenmektedir. Türk toplumunda sigara kullanımı, obezite, düşük HDL kolesterol, hipertansiyon ve yüksek trigliserid düzeyleri ateroskleroz gelişiminden sorumludur (5).

Koroner arter "bypass" greft (KABG) operasyonu ülkemizde ve tüm dünyada yaygın olarak uygulanmaktadır. Bu operasyonda amaç koroner damarlarında aterosklerotik darlıkları bulunan hastaların miyokard dolaşımını iyileştirmektir. Bu sayede iskemik miyokard

bölgelerine yeterli kan akımı sağlanarak, bu bölgelerdeki miyokardın kasılmasına katkı sağlanmaktadır. Ayrıca KABG operasyonu geçiren hastanın fonksiyonel kapasitesi artarken, iskemik göğüs ağrıları ortadan kalkacaktır.

Koroner arter “bypass” greft operasyonlarında hastanın çeşitli arter ve venleri greft olarak kullanılır. İnternal torasik arter, radyal arter, gastroepiploik arter (GEA), inferior epigastrik arter (İEA), lateral interkostal arter, torakodorsal arter ve safen venden (SV) biri veya birkaçı otojen greft olarak tercih edilmektedir. Operasyon esnasında hazırlanan bu otojen greftler daha önceden “bypass” yapılması düşünülmüş hedef damar ya da damarlara anastomoz edilir. Greft seçiminde; hastanın yaşı, öyküsü, hastanın koroner arterlerindeki tutulumun yeri ve yaygınlığı, hastadaki greft olarak kullanılabilecek damar durumu göz önünde bulundurulur. Ayrıca operasyonun yapıldığı merkez ve cerrahın görüşü de etkilidir.

Tek başına ateroskleroz batı dünyasındaki ölümlerin yarısından fazlasında rol alır. Koroner ateroskleroz, İskemik Kalp Hastalığına (İKH) yol açabilir ve arteriyel lezyonlara trombüs eklendiğinde, İKH’nın en ağır formu olan miyokard infarktüsü gelişir ki, bu durum tek başına Amerika Birleşik Devletleri’ndeki ölümlerin %20-25’inden sorumludur. Birleşik Devletlerde ve diğer gelişmiş ülkelerde aterosklerozdan daha fazla ölümden sorumlu olan, araştırma yapılmasını uyaran ve en iyi nasıl kontrol edileceğine dair tartışma yaratan başka bir hastalık yoktur (6).

Son iki dekatta koroner arter hastalığına yol açan risk faktörlerini tanımlamada çok büyük gelişmeler kaydedilmiştir. Yapılan geniş epidemiyolojik çalışmalar sonucunda hastalığa yol açan majör risk faktörleri belirlenmiştir. Ancak toplumdaki koroner arter hastalığı prevalansını ve bazı hastalarda gelişen prematür koroner arter hastalığı nedenini açıklamada bu klasik risk faktörleri tek başlarına yeterli olamamaktadırlar. Örneğin akut miyokard infarktüsü veya kararsız anjinalı hastaların yaklaşık yarısı klasik kardiyovasküler risk faktörlerini taşımazlar (7).

Temel tıp araştırmalarından sağlanan ve giderek artan kanıtlar aterosklerozun, basitçe, damar duvarındaki lipid birikimini simgelemekten öte, inflamatuvar bir hastalık olduğunu düşündürmektedir. Klinik veriler ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar kronik infeksiyonların (Klamidya pnömonia, sitomegalovirüs, herpesvirüs ve helikobakter pilori) aterosklerozu tetiklediğini düşündürmektedir (8). Yapılan çalışmalara göre; inflamasyon belirteci olan C-reaktif protein kardiyovasküler olayların güçlü bir belirtecidir (9).

Son alışmalar ise, Klamidya pnömonia (Kp) antikorları ve KKH arasında birliktelik olduğunu göstermektedir. Bir intrasellüler patojen olarak bilinen Klamidya pnömonia, toplum kökenli solunum yolları enfeksiyonlarının sık nedenlerinden birisidir. Genellikle subklinik seyreder ve kendi kendini sınırlayan bir enfeksiyondur. Yapılan alışmalarda KABG operasyonu sonrası oklüde safen ven greftlerindeki Klamidya pnömonia pozitifliği %25-38, greft olarak kullanılan internal torasik arterde de Klamidya pnömonia DNA pozitifliği ise %30 oranında bulunmuştur (10,11).

Bu açıdan bakıldığında genç yaş grubunda KABG operasyonu yapılan hastalarda Klamidya pnömonia DNA'sının varlığının gösterilmesinin, ateroskleroz etyopatogenezinin aydınlatılmasına yardımcı olacağını düşünmekteyiz. Bu amaçla KABG operasyonu yaptığımız hastaların dokularında Klamidya pnömonia DNA'sını ve kanlarında da antikorunu araştırdık.

## **GENEL BİLGİLER**

### **ARTERLERİN GENEL YAPISI**

Dolaşım sisteminin temel görevi, oksijen, besinler ve hormonların dokulara dağıtılması ve artık maddelerin boşaltım organlarına taşınarak organizmanın fonksiyonlarının düzenli olarak yürütülmesini sağlamaktır. Dolaşım sisteminin başlıca ögesi kan damarlarıdır. Kan damarları:

- a) Kalpten kanı dokulara taşıyan arterler,
- b) Dokulardan kalbe getiren venler,
- c) Doku sıvısının taşınmasını sağlayan lenfatik damarlar olarak üç ana yapıya ayrılabilir.

Kan damarları birçok ortak özelliğe sahip olmakla birlikte fizyolojik ihtiyaca göre yapısal değişiklikler gösterebilmektedir. Örneğin pulmoner arterler gibi düşük basınca maruz kalan arterlerin duvarları, karotis gibi sistemik arterlere göre daha incedir.

Arterler kanama gibi akut hemodinamik değişikliklere vazokonstriksiyon yanıtı vermek gibi fonksiyonel niteliklere ve lokal hemodinamik stres ve sistemik değişimlere çap ve tonus gibi değişikliklerle adaptasyon göstererek, yeterli kan akımını sürdürme gibi niteliklere sahiptir (12).

Arterler, çaplarına göre morfolojik olarak geniş arterler, orta boy arterler ve küçük arterler olarak başlıca üç ana gruba ayrılabilir. Geniş arterler, orta boy arterler ve küçük

arterler arasında ayırım yapabilmek için kesin kriterler bulunmamaktadır. Bunun başlıca nedeni ise kan damarlarının devamlılık gösteren bir sistem olmasıdır.

### **Arterlerin Histolojik Yapısı**

Arterler genel olarak üç ana tabakadan oluşmaktadır:

**a) Tunika intima:** Damarın iç yüzeyini döşeyen tek katlı, poligonal endotel hücrelerinin oluşturduğu tabakadır. Endotel hücreleri bazal lamina üzerinde oturmaktadır. Endotel hücre tabakası ile internal elastik lamina arasındaki mesafe çok azdır. Burada çok az miktarda lökosit, düz kas hücresi ve bağ dokusu lifi bulunmaktadır. Bu boşluk, aterosklerotik sürecin başladığı alandır. Endotel tabakasındaki hücrelerin şekilleri ve bu hücrelerin aralarındaki bağlantılar, arteryel duvar hareketleri, gerilim ve aterosklerotik süreçten etkilenmektedir. Normal şartlarda, endotel tabakası antitrombotik özelliktedir. Aynı zamanda vasküler tonus ve lümen çapını vazodilatör veya vazokonstriktör maddeler salgılayarak kontrol eder. Endotel tabakası ayrıca hasara karşı da hızlı yanıt vererek rejenerasyon gösterir. Uzamış hasar, beraberinde sitokinler ve büyüme faktörleri gibi metabolik ajanların salınımı, immünolojik reaksiyonlar ve vazoaktif ajanlara maruz kalma gibi durumları beraberinde getirerek, düz kas hücre proliferasyonu, platelet, lökosit, makrofaj/monosit ve lipid depozisyonunu uyatarak aterosklerotik süreci başlatabilir. Bu olaylar göz önüne alındığında, endotel tabakasının biyolojik önemi daha iyi anlaşılmaktadır.

**b) Tunika media:** Konsantrik tabakalaşma gösteren sarmal diziliimli düz kas hücrelerinden oluşmaktadır. Media tabakası, internal elastik laminadan adventisya tabakasına kadar uzanım gösterir. Media tabakasının başlangıç sınırı olan internal elastik tabakanın başlıca yapıtaşı elastindir. Bu tabaka diffüzyonu sağlayacak biçimde gözenekli bir yapı göstermektedir. Media tabakasındaki ana bileşen olan düz kas hücreleri, Tip III kollajen ile sarılmış benzer gruplar halinde paketlenmiştir. Ayrıca her hücre grubu da elastik lifler ile sarılarak demet oluştururlar. Bu yapı, gerilmeye ve duvar stresine karşı güçlü bir iskelet oluşturur. Aorta ve dalları elastik arterler olarak adlandırılmaktadır. Bunun nedeni daha fazla elastik lif içermeleridir. Kalın ve kıvrımlı Tip I kollajen lifleri geniş elastik lameller arasında örülmüşlerdir. Elastik lifler göreceli olarak daha uzun ve büyüktürler. Bu yapılanma arterlerin, kardiyak siklus esnasında genişleyebilmesine izin verir. Daha küçük kalibrasyonda olan musküler arterler de daha az kollajen ve elastik lif ile düz kas hücresi içermektedir. Bu değişiklik, küçük arterlerin konstriksiyon-dilatasyon yanıtının hızlı olmasını sağlar. Büyük arterlerde media ile adventisya tabakası arasında ince bir eksternal elastik lamina

bulunmaktadır. Kalın ve fibröz adventisya tabakası bulunan arterlerde intakt bir eksternal elastik lamina tabakası bulunmayabilir.

**c) Tunika adventisya:** Yoğun olarak longitudinal dizilimli Tip-I kollajen lifler ve daha az oranda elastik liflerden oluşan bir fibrosellüler tabakadır. Bu tabakada vaza vazorumlardan oluşan bir ağ bulunur. Adventisya tabakasının kalınlığı ve organizasyonu değişkenlik gösterebilir. Örneğin proksimal renal ve mezenterik arterlerde adventisya, media tabakasından daha kalın olabilir. Normal abdominal aortada adventisya tabakasının alınması statik hacim-basınç ilişkisini çok az etkiler. Buna karşılık aterosklerotik süreçte azalmış media tabakasının kalınlığı veya endarterektomi gibi işlemler sonucunda media tabakasının kalınlığının azalmasına yanıt olarak adventisya tabakasının kalınlaştığı görülmüştür. Adventisya tabakası genellikle içinden geçtiği organın etrafını saran bağ dokusu ile kaynaşır (12,13).

#### **Arterlerin Vaza Vazorumlar Yoluyla Beslenmesi**

Büyük arterlerde beslenme diffüzyonla zor olacağından, adventisya ve media tabakalarının besleyici metabolitleri vaza vazorumlar tarafından sağlanır. Vaza vazorumlar besledikleri arterlerin kendisinden direkt olarak, dallarından veya komşu arterlerden köken alabilirler (12,13).

#### **Arterlerin Lenfatik Dolaşımı**

Lenfatik damarlar arterlerde sadece adventisya tabakasında bulunmaktadır. Venlerde ise lenfatik kapillerler media tabakasına kadar penetre olabilirler. Bu dağılım farklılığı, arterler ve venler arasındaki transmural basınç farklılığına bağlıdır. Arterlerin çeperindeki yüksek basınç nedeniyle transmural basınç ta yüksektir. Lenfatik kapillerlerin bu tabakada bulunması arterlerdeki yüksek transmural basınç nedeniyle kollabe olmalarına yol açacağından, arterlerde lenfatik kapillerler sadece adventisya tabakasında bulunmaktadır (12,13).

#### **Arterlerin İnnervasyonu**

Birçok kan damarı, transmitter olarak norepinefrin kullanan myelinsiz sempatik sinir lifleri ile innerve olur. Sempatik sinir uçlarından norepinefrin salınımı vazokonstriksiyon ile sonuçlanmaktadır. Bu afferent sinirler, arterlerin media tabakasına ulaşamadığından, nörotransmitterlerin, medianın düz kas hücrelerine etki etmesi için diffüze olması gerekmektedir. Mediadaki düz kas hücreleri arasındaki “gap junction”lar, gelen uyarıyı diğer

hücrelere ileterek yanıtın verilmesini sağlar. Venlerdeki sinirler hem adventisya hem de mediada sonlanır. Ancak innervasyon yoğunluğu arterlere oranla daha düşüktür.

Arterlerin afferent sinir sonlanmaları, karotid sinüs ve aort kavsindeki baroreseptörlerin yanısıra karotis arter ve aortanın gövdesindeki kemoreseptörlerde de olmaktadır (12,13).

## **ATEROSKLEROZ**

Ateroskleroz arter intimasında plazmadan kaynaklanan aterojenik lipoprotein birikmesine karşı karmaşık bir inflamatuvar fibroproliferatif cevaptır. Ateroskleroz tanısının konulması için hem yumuşama (athere; bulamaç ve yulaf lapası ‘Yunanca’) hem de sertleşmenin (sklerosis; sert ‘Yunanca’) olması gerekir. Yani arteriyoskleroz ile ateroskleroz eşanlamlı değildir.

Arteriyoskleroz, arterlerde kalınlaşma ve esneklik kaybına yol açan üç damar hastalığı için kullanılan terimdir. En önemli tip, santralinde lipidden zengin çekirdek içeren intimal yağlı fibröz plak formasyonu ile karakterli aterosklerozisdir. İkinci morfolojik tipi, musküler arterlerin mediyasında kalsifikasyonla karakterli Mönckeberg’in mediyal kalsifik sklerozisidir. Özellikle 50 yaşın üstündeki kişilerde orta çaplı musküler arterlerde rastlanır. Mediyal kalsifik sklerozda lezyonlar damar lümenini etkilemedikleri için çoğunlukla anatomik ilgi konusu olmuşlardır. Küçük arter ve arteriollerin hastalığı olan arteriyosklerozis ise üçüncü tiptir. En sık hipertansiyon ve diyabetes mellitus ile birlikte görülür. Hyalen ve hiperplastik olmak üzere iki varyantı vardır. Her ikisi de damar duvarı kalınlaşması ve lümen daralması sonucu doku ve organlarda iskemik hasara neden olur (6).

Ateroskleroz, batı dünyasında en sık görülen ölüm nedenidir. Yakın gelecekte Dünya Sağlık Örgütü’ne göre mortalitenin nedenleri listesinde koroner kalp hastalığı (KKH) birinci sırayı alacaktır (2).

Çok sayıda sistemik risk faktörlerinin hastalığa eğilimi artırmasına rağmen, ateroskleroz dolaşımın çeşitli bölgelerini etkileyerek değişik klinik belirtiler ortaya çıkmasına neden olur. Koroner arterlerin ateroskleroza miyokard infarktüsü ve anjina pectorise neden olurken santral sinir sistemini besleyen arterlerin ateroskleroza geçici serebral iskemik ve felçlere neden olmaktadır. Periferik arterlerin ateroskleroza ise kladikasyon intermittant,

gangren ve ekstremitte iskemisine neden olur. Sindirim sistemini besleyen arterlerin etkilenmesi ile de mezenter iskemi gelişebilir (14).

Ateroskleroz genellikle erken çocukluk döneminde başlar, uzun yıllar bulgu vermeden sessiz bir seyir gösterir (6).

Bazı kişiler ateroskleroza diğerlerinden daha yatkındırlar ve aynı durum aynı kişide farklı arter segmentleri için de geçerlidir. Ateroskleroz aorta, iliofemoral, koroner, karotis ve daha az oranda intrakraniyal arterleri içeren büyük ve orta çaplı arterlerde görülen intima hastalığıdır. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde media ve adventisya tabakalarında da değişiklikler olabilir. Bilinmeyen nedenlerle internal mamarian arter gibi bazı arterler ateroskleroza dirençlidir. Epikardiyal koroner arterler ateroskleroza en yatkın damarlar iken intramiyokardiyal arterler ateroskleroza oldukça dirençlidir. Yine koroner arterlerde damarın bir bölümü anormal iken başka bir kısmı normal olabilir. Ateroskleroz damar yatağının içinde fokal olmaya meyillidir. Örneğin koroner dolaşımda aterosklerozun sıklıkla oluştuğu yer proksimal sol ön inen arterdir. Aterosklerotik lezyonlar genellikle arterlerin dallanma bölgelerindedir.

Travmaya vasküler cevap ve ateroskleroz arasındaki benzerlik, Ross ve Glomset (15) tarafından ‘hasara cevap hipotezi’ olarak öne sürülmüştür. Bu hipotez günümüzde yaygın olarak kabul görmüştür. Bu hipoteze göre olayları endotel disfonksiyonu başlatmaktadır. Mekanik, toksik, metabolik, immunolojik olaylar ve infeksiyonlar endotel disfonksiyonuna neden olurlar. Hipertansiyon, hiperkolesterolemi, sigara, diyabetes mellitus, hiperhomosisteinemi ve ileri yaş gibi bilinen risk faktörlerinin hemen hepsi endotel disfonksiyonuna eşlik eder (16). Endotel disfonksiyonu sonucu bu tabakanın antitrombotik, seçici geçirgen ve bariyer olma özelliğinin kaybolmasıyla başlayan inflamatuvar ve proliferatif olaylar dizisi aterosklerotik plak oluşumunu tetikler. Permeabilite değişiklikleri, lökosit adezyonunun artması ve büyüme faktörlerinin salınması endotel disfonksiyonunu gösterir.

Kronik hiperkolesterolemi de endotel hücre membranında kolesterol moleküllerinin sayısını arttırarak endotel hasarına neden olabilir. Endotelial plazma membranındaki kolesterol/fosfolipid oranının yükselmesi ile daha visköz ve daha rijit olan endotelial yüzey, akım değişikliklerinin neden olduğu strese karşı koyamaz. Hiperkolesterolemi; endotel geçirgenliğinde ve transsitozda artma, lipoproteinlerin intimada birikmesi ile endotel aktivasyonu, monosit ve T-lenfosit toplanmasına yol açan VCAM-1’in fokal salınımı ile ilgilidir. İntimadaki monosit kökenli makrofajlar dolaşımdaki LDL’leri oksidatif değişiklikten

sonra      reseptörleri aracılığı ile içeri alırlar ve lipidden zengin köpük hücresine dönüşürler (17). İntimadaki lipid yüklü köpük hücreleri sarı nokta veya yağlı çizgiler şeklinde görülür. Bu yağlı çizgiler makrofaj köpük hücreleri ve T lenfositler gibi inflamatuvar hücrelerden zengindir. T hücre ve makrofaj oranı 1:10 ila 1:50'dir. Bu durum yağlı çizgilerin olgun aterosklerotik plaklara dönüşümünde önemli rol oynamaktadır (18).

Her ne kadar immünglobulinler plaklarda yoğun olarak bulunsa da, B hücreleri insan damar plağında yer almaz. Aterosklerotik arterin adventisiyasındaki inflamatuvar infiltratta plazma hücreleri saptanmasına rağmen, plağın kendisinde rastlanmaz (19).

Yağlı çizgilerin kaderi halen tartışmalıdır. Yakın zamanda yağlı çizgilerin insan fetüslerinde de olduğu, geç gebelik ve erken çocuklukta gerileyebileceği ve çocukluk dönemi sonrası tekrar ilerleyebileceği söylenmiştir (20). Hayatın erken dönemlerinde yağlı çizgiler kadınlarda daha fazladır. Yağlı  izgi evresinden öteye geçilmesi; lipid birikimine ek olarak düz kas hücrelerinin ürettiği bağ dokusu subintimal alanda birikerek oldukça heterojen aterosklerotik lezyonların oluşmasına neden olur. Endotel, aterogenezin erken evrelerinde sağlamdır, fakat sonraları olgun plakların üzerine trombositler yapı ır ve sıyrıklar meydana gelir. Tromb slerden salınan büyüme faktörleri ve mikrotrombüsler düz kas hücrelerinin daha fazla bağ doku matriksi üretmelerine neden olur. Sonrasında gelişen ileri plaklar lümen daralmasına ve semptomlara neden olabilirler.

Aterosklerozun belirleyici lezyonu ateromatöz plaktır. Lipidden zengindir fakat daha sık olarak yağlı-fibröz bir lezyon  eklinindedir. En fazla birkaç santimetre çapa ulaşan plaklar, lipid içeriklerine göre griden sarıya değişen renkte,  evre intimal yüzeyden kabarık intimal lezyonlardır. Plaklar genellikle belirli lokalizasyonlarda bulunurlar. Yaygınlık sırasına göre bu lokalizasyonlar alt abdominal aorta, koroner arterler, popliteal arterler, inen torasik aorta, internal karotid arterler ve Willis poligonudur (6).

### **Aterosklerozu Etkileyen Faktörler**

Ateroskleroz genler ve  evre arasındaki karmaşık etkileşimler sonucu oluşur. Genetik faktörler nadiren tek başına semptomatik ateroskleroza neden olabilir. Ancak  evresel faktörler hastalığın ilerleme hızını (plak oluşması) belirgin şekilde etkileyerek Koroner Arter Hastalığı (KAH) gelişip geli meyeceğini belirler.

Aterosklerozun sebep olduğu klinik olaylar için hiperlipidemi, sigara, hipertansiyon, diyabetes mellitus ve ileri ya ı içeren bağımsız risk faktörleri tanımlanmıştır. Bu risk

faktörlerinden herhangi biri klinik hastalığa yol açabilir fakat prensipte ateroskleroz için tek gerekli ve bağımsız etyolojik ajan LDL kolesteroldür (21).

**a- Lipoproteinler:** Yüksek serum total ve LDL kolesterol ile düşük serum HDL kolesterol KAH için bağımsız majör risk faktörleridir. Yüksek LDL kolesterol seviyeleri primer KAH risk faktörü olarak görülmektedir ve ateroskleroz ile doğru orantılıdır. Düşük HDL kolesterol düzeyleri ise diğer bağımsız risk faktörleri gibi koroner ateroskleroza yüksek LDL düzeyleri söz konusu olduğunda uyarır (22).

En küçük lipoprotein olan HDL damar duvarından kolesterolü uzaklaştırarak koruyucu etki yapmaktadır. Total kolesterol/HDL-kolesterol oranı, kolesterole bağlı riski taramak için yararlıdır. Trigliseridlerin aterosklerozla olan ilişkisi halen tartışma konusudur. Trigliseridden zengin lipoproteinlerin hepsi aterojenik değildir.

Plak içeriği açısından, son çalışmalar erkeklerde ve menapoz sonrası kadınlarda yüksek total kolesterol ve düşük HDL kolesterolün, ve özellikle yüksek total/HDL kolesterol oranının hassas ve tromboz eklenme riski yüksek plak oluşma riskini arttırdığını belirtmektedir (23).

**b- Sigara:** Sigara hem yüksek riskli hem de düşük riskli toplumlarda aterosklerozla ilişkili klinik olaylarda majör ve değiştirilebilen tek risk faktörüdür. Birleşik Devletler’de KAH’na bağlı ölümlerin %30’u sigara içmeye bağlanmaktadır. Sigara, periferik arter hastalığı (PAH) ve abdominal aorta anevrizmasının önde gelen nedenlerinden olduğu gibi, diğer birçok kronik hastalık riskini de arttırmaktadır. Sigara içenlerde miyokard infarktüsü ve kardiyak ölüm riski içmeyenlere göre erkeklerde 2.7, kadınlarda 4.7 kat daha fazla bulunmuştur. Sigara içiciliği mortalitenin en önemli önlenbilir nedenidir (22,24).

Patofizyolojik çalışmalarda sigara içiciliğinin KKH’na neden olma mekanizmaları hakkında pek çok öneri ortaya atılmıştır. Sigara içen kişilerde okside LDL’de dahil olmak üzere oksidasyon ürünleri artmış olarak bulunmuştur (25). Sigara içiciliği HDL’nin kardiyoprotektif etkilerini ortadan kaldırır. Bu etkiler karbonmonoksit ve nikotinin direk etkileri ile birlikte endotel hasarı oluşturur. Bu mekanizmalar yolu ile sigara içenlerde vasküler reaktivite artar (25,26). Kanın oksijen taşıma kapasitesinin azalması miyokardiyal iskemi eşiğini düşürür ve koroner spazm riskini artırır. Sigara içiciliği aynı zamanda artmış fibrinojen seviyeleri ve artmış trombosit agregasyonu ile birlikte.

Sigara kullanımının bırakılması KKH olaylarında düşüşe neden olur. Daha önceden sigara içen birinin sigarayı bırakması halinde göreceli riski sigara içmeyen bir kişinin risk

seviyelerine bir yıl ya da daha az sürede iner (27). Otuzbeş yaşında bir kişinin sigarayı bırakması halinde KKH olaylarının azalması ile birlikte yaşam süresinin 3 ila 5 yıl uzadığı hesaplanmıştır. Miyokard infarktüsü geçiren kişide tekrarlayan olay riski sigara kullanımının bırakılması ile azalır. Sigara içen bir kişi ile karşılaştırıldığında tekrarlayan olay riski %50 oranında azalır (28).

**c- Hipertansiyon:** Sistemik arteriyel hipertansiyon, patogenetik olarak kolesterole bağımlı bir ateroskleroz hızlandırıcısı olmakla birlikte, KAH için bağımsız majör bir risk faktörüdür. Bütün aterosklerotik kardiyovasküler olayların %35'inden hipertansiyon sorumludur.

Hipertansiyonun aterosklerozu doğrudan kan basıncının artmasıyla hızlandırdığı genel olarak kabul edilen görüştür. Sistemik ve bölgesel renin anjiyotensin sistemleriyle üretilen anjiyotensin II gibi eşlik eden hormonal değişikliklerin de rolü olabileceği öne sürülmüştür. Fakat serum Anjiyotensin Konverting Enzim aktivite yüksekliğinin KAH için bir risk faktörü olduğu gösterilememiştir (29).

Hipertansiyonun koroner olaylara neden oluştundaki olası mekanizmalar, bozulmuş endotel fonksiyonu, endotel lipoprotein geçirgenliğinin artışı, artmış oksidatif stres, akut plak rüptürünü tetikleyen hemodinamik stres, artmış miyokardiyal duvar stresi ve artmış miyokardiyal oksijen ihtiyacını içerir. Arteriyel katılığın bir işareti olan geniş nabız basıncı, KKH'nı tahmin eden bir faktör olarak önem kazanmaktadır. Framingham çalışmasının son verilerine göre KAH riskini öngörmeye nabız basıncı sistolik ve diyastolik basınçtan daha üstündür. Yaşla birlikte arterlerin katılaşması, böylece yaşlılarda KAH riskinde önemli bir paya sahip olabilir (30).

Kan basıncı; kilo kaybı, egzersiz, tuz kısıtlaması ve alkol kullanımının azaltılması ile de düşürülebilir, ancak bu önlemlerin hipertansif hastalarda KKH'nı önlemedeki önemi randomize kontrollü çalışmalar ile test edilmemiştir (31).

**d- Diyabet:** Patogenetik olarak kolesterole bağımlı olmakla birlikte istatistiksel olarak bağımsız olan diğer bir majör kardiyovasküler risk faktörü insüline bağımlı olmayan diyabetes mellitustur. KAH oluşumunda insüline bağımlı olmayan diyabetes mellitus ve hiperkolesterolemi güçlü bir şekilde etkileşir (22). İnsüline bağımlı veya insüline bağımlı olmayan diyabetli hastalarda, her üç majör arteriyel bölgede, aterosklerotik hastalık riski yüksektir.

Tip II diyabetli hastalarda artmış kardiyovasküler risk muhtemelen, insülin rezistansı ile birlikte görülen ve diyabetik dislipidemi olarak bilinen anormal lipoprotein profili ile ilişkilidir. Diyabetli hastalarda LDL kolesterol seviyeleri sıklıkla normale yakın seyrederken, LDL parçacıklarının daha küçüldüğü ve yoğunlaştığı ve böylece daha aterojenik olma eğilimi kazandığı saptanmıştır. Diyabetik dislipideminin diğer özellikleri düşük HDL ve artmış trigliseridleri kapsamaktadır (14).

Diyabetin ateroskleroza yol açma mekanizmaları, düşük HDL, yüksek trigliserid/artmış lipoprotein kalıntı partikülleri, artmış LDL, yüksek Lipoprotein A konsantrasyonu, artmış lipoprotein oksidasyonu, LDL glikasyonu, artmış fibrinojen, artmış trombosit agregasyonu, artmış PAI-1, bozulmuş fibrinoliz, yüksek von Willebrand faktör seviyeleri, hiperinsülinemi ve bozulmuş endotel fonksiyonlarını içerir (17). Diyabetin KKH riskini artırdığına dair gözlemsel veriler bulunmasına rağmen, glisemik kontrolün riski azalttığına dair çok az veri mevcuttur. Ulusal Kolesterol Eğitim Programı ve Amerika Diyabet Birliği kılavuzu diyabetik hastaların primer korumasında daha düşük bir LDL hedefi ( $<100\text{mg/dl}$ ) belirlemiştir. Amerika Kalp Birliği diyabetik hastalarda normale yakın açlık kan şekeri seviyeleri ve normalin  $\leq 1\%$ 'inden daha az yüksek seviyelerde HbA1c seviyelerini tedavi hedefi olarak belirlemiştir (32).

Diyabetik olgularda vasküler komplikasyonların gelişiminde hipertansiyon önemli bir risk faktörüdür ve diyabeti olmayanlara göre hipertansiyon iki kat daha sıktır. Hem makrovasküler, hem de mikrovasküler komplikasyonları azaltmada kan basıncı kontrolünün önemi açık olarak gösterilmiştir. Bu olgularda hipertansiyon erken ve sıkı şekilde tedavi edilmelidir (33).

**e- Obezite:** Obezite Amerika Kalp Birliği tarafından koroner kalp hastalığı için majör bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Obezite, prevalansı dünyada giderek artan ve birçok ülkede epidemik boyutlara ulaşan bir sağlık sorunu haline gelmiştir (34).

Obezite, insülin direnci, hiperinsülinemi, tip II diyabet, hipertansiyon, hipertrigliseridemi, düşük HDL kolesterol, düşük yoğun LDL, protrombotik faktörler ve sol ventrikül hipertrofisi ile birliktelik gösterir (31).

Vücut kitle indeksi (VKİ) yağ derecesinin bir ölçümü olarak kullanılır. VKİ,  $\text{kilo(kg)/boy'un karesi (m}^2\text{)}$  olarak hesaplanır.  $\text{VKİ}=25\text{-}29.9$  ise fazla kilolu  $\text{VKİ}\geq 30$  ise obez olarak tanımlanmıştır. Abdominal obezite, obezitenin neden olduğu riskleri artırır ve bel çevresi abdominal yağ miktarı ile pozitif olarak korelasyon gösterir (17). Obezite

toplumumuzda sıklığı giderek artan bir risk faktörüdür. Gerek çocukluk, gerekse erişkin yaşlarda fazla kilo alımının önlenmesi önemli bir hedeftir.

**f- İnflamasyon/İnfeksiyon:** İnflamasyon, kronik infeksiyon olsun veya olmasın aterosklerozun başlaması ve ilerlemesinde önemli rol oynar. C-reaktif protein, serum amiloid A ve fibrinojen gibi inflamasyonun sistemik belirteçleri asemptomatik erkek ve kadınlarda, kararlı ve kararsız anjina olan hastalarda ve infarktüs sonrası koroner olayları öngörmede güçlü parametreler olarak ortaya çıkmışlardır (35-37). Düşük derece inflamasyonun, duyarlı ama özgün olmayan bu belirteçleri sitokinlerin uyarmasıyla karaciğerde üretilirler. Ancak proinflamatuvar sitokinlerin damar duvarının kendisinden mi kaynaklandığı (makrofajlar?), ateroskleroz yaygınlığı veya yapısını yansıtır yansıtmadığı veya kronik infeksiyon gibi inflamatuvar süreci yansıtan damar dışı durumlardan mı kaynaklandığı belli değildir (38). Vasküler inflamasyonun diğer önemli belirteçleri arasında devam eden ateroskleroza gösteren ICAM-1 gibi çözünür lökosit adezyon molekülleri bulunur (39). Kaynakları ve aracılık ettikleri işlev ne olursa olsun proinflamatuvar sitokinler aterogenezi ve sonuçlarını hızlandırabilirler. Fakat, inflamasyonun değiştirilebilir bir risk faktörü olup olmadığı bilinmemektedir (40).

İnfeksiyonun ateroskleroza yol açması olası olmakla beraber kanıtlanamamıştır. Özellikle seroepidemiyolojik olmak üzere delillerin çoğu Klamidya pnömonia (Kp), Helikobakter pilori (Hp), ve sitomegalovirüs gibi bazı herpes virüslere yöneliktir (36,41).

Aterosklerotik lezyonlardan infeksiyöz ajanların kültürde saptanması imkansız olmamakla birlikte oldukça güçtür. Sadece hasta damar duvarlarında bulunan Kp DNA ve antijenleri immünohistokimyasal yöntemlerle koroner plakların %73'e varan kısmında bulunmuştur (42,43).

Bugün için inflamasyonla ilişkili 20'den fazla hücre adezyon molekülü ve yaklaşık 50 proinflamatuvar sitokin tanımlanmış, bunların önemli bir kısmı insan aterosklerotik plaklarında saptanmıştır (44).

Plaklar, fonksiyonları kısmen interferon-gama yoluyla düz kas hücre çoğalmasını etkilemek olan, T lenfositler içermektedir. Koroner ateroskleroza olan bireylerin önemli bir kısmında plaklarda intraselüler bakteri Kp'nın kolonize olduğu görülür. İmmünofloresan çalışmalarda ateroskleroz olan kişilerin %40 ila 50'sinde pozitif plaklarda gösterildiği üzere plağın doğrudan infekte olma sıklığı oldukça yüksektir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yapılan çalışmalarda klamidya DNA'sı daha az sıklıkta saptanmıştır. Klamidyal ısı şok

proteini TNF- $\alpha$  üretimini uyarır. Antibiyotik tedavisinin plak regresyonundaki rolü tartışmalıdır (43,45).

**g- Fiziksel inaktivite:** Fiziksel inaktivite koroner kalp hastalığı için riski ortalama iki kat arttıran bağımsız bir risk faktörüdür. Haftalık yapılan egzersizle kardiyovasküler ölüm ve tüm nedenlere bağlı ölüm arasında doza bağlı bir ilişki mevcuttur. Fiziksel aktivite insanlarda anjiyografik olarak tanımlanmış koroner aterosklerozun ilerlemesini engeller (46).

**h- Yaş ve cinsiyet:** Koroner kalp hastalığı insidansı ve prevalansı yaş ile artar, böylece yaş en önemli risk faktörü olarak düşünülebilir (17). Aterosklerozun erken lezyonlarının çocukluk çağında ortaya çıkmasına rağmen koroner kalp hastalığından ölüm oranı ile belirlenen klinik olarak aşikar hastalığın görülmesi ileri yaşlarda, her dekada artar. Erkeklerde 45 yaş, kadınlarda 55 yaş üzeri koroner kalp hastalığı için güçlü bir risk faktörüdür (6).

Diğer risk faktörleri eşitse, erkekler ateroskleroza kadınlardan çok daha fazla eğilimlidirler. Kadınlar menapoza kadar, hastalık yapan ileri aterosklerozdan bir miktar korunurlar ki, diyabet veya az görülen hiperlipidemi formları veya ciddi hipertansiyon gibi predispozan durumlar olmadığı sürece premenapozal kadınlarda miyokard infarktüsü nadirdir (6).

**ı- Ailesel predispozisyon:** Otuzbeşin üzerinde vaka kontrollü ve ileriye dönük çalışmada, koroner kalp hastalığı ile ailede birinci derece yakınların erken başlangıçlı koroner kalp hastalığı hikayesi arasında ilişki saptanmıştır. Bu risk genellikle diğer risk faktörlerinin düzeltilmesinden sonra da devam eder. Koroner hastalık için en güçlü aile hikayesi birinci derece yakında erken yaşta koroner kalp hastalığı öyküsü olmasıdır. Erken yaşta koroner kalp hastalığına sahip yakın sayısı arttıkça veya ailede koroner kalp hastalığına yakalanma yaşı azaldıkça, aile öyküsünün tahmin edici değeri artar (17,47).

**j- Homosistein:** Homosistein aminoasidinin, kan düzeylerinin, ateroskleroz için bağımsız bir risk faktörü oluşturduğuna dair gözlemsel bulgular artmaktadır. Epidemiyolojik veriler, homosisteinin endotel için toksik olduğunu gösteren laboratuvar çalışmaları tarafından desteklenmiştir (48,49).

## KLAMİDYA PNÖMONİA

Klamidya'lar ökaryotik hücrelerin zorunlu hücre içi prokaryotik parazitleri olup, metabolizma ve çoğalmaları için gerekli olan enerjiyi sentez edecek enzim sistemlerinden yoksundurlar. Bu nedenle infekte ettikleri konak hücrenin enerji sistemine bağlanırlar. Yani bir anlamda yüksek enerji parazitleri olup, metabolizmaları için canlı hücreye ihtiyaç duyarlar.

### Tarihçe

Klamidya'lara ait ilk bilgilere eski Çin, Sümer ve Mısır kaynaklarında rastlanmaktadır (50). Klamidya'ların hücre kültürlerinde üretilmesinin ardından Wang ve Grayston (51) tarafından mikroiimmün flöresan tekniğinin geliştirilmesi ile klamidya immünolojisi ve hastalıkları hakkında daha detaylı bilgi edinilebilmiştir.

1980'li yılların başında klamidya trahomatisin cinsel yolla bulaşan hastalıklara yol açtığı ve yine genusun diğer bir üyesi olan klamidya psittakinin insanlarda infekte kuşla temas sonrası psittakozise neden olduğu gösterilmiştir.

Taiwan'da 1965 yılında yapılan aşı çalışmalarında ilkökul çocuklarının konjonktivalarında yeni bir tip izole edilmiş ve Tw-183 olarak adlandırılmıştır. Daha sonra Washington Üniversitesinde (1983) farenjitli öğrencilerin boğaz kültürlerinde de yeni bir mikroorganizma izole edilmiş ve AR-39 olarak adlandırılmıştır. Sonraları bu iki yeni tipin identik olduğunun tespit edilmesi üzerine TWAR olarak adlandırılmıştır. Yapılan DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları sonucu 1989 yılında yeni bir tür olduğu kabul edilerek Klamidya pnömonia olarak yeniden isimlendirilmiştir (52-55).

Klamidya genusunun yeni bir üyesi olan Kp, atipik pnömونيye sebep olur ve toplumda kazanılmış pnömonilerin %10-20'sinden sorumludur. Modifiye hücre kültürlerinin kullanılması, Kp antijenlerinin kullanıldığı mikroiimmünofloresan tekniğinin güvenilir bir tanı yöntemi olarak kullanılmaya başlanması, immünohistokimyasal yöntemler ve PZR ile infekte dokuda Kp cisimcik ve genomunun yüksek duyarlılıkta gösterilebilmesi ile Kp'nın alt ve üst solunum yolları ile iritis, akut romatizmal ateş, hepatit ve KKH'ları ile miyokardite bağlı ani ölümlere yol açabildiği gösterilmiştir (56-58).

Aterosklerozun patogenezi ile infeksiyon hastalıkları arasında etyolojik bir ilişkinin olabileceği ilk olarak Sir William Osler (1908) tarafından ileri sürülmüştür (17). Klamidya pnömonianın ateroskleroz ile ilişkisi ise ilk defa Finlandiya'da yapılan bir dizi çalışma sonucu

ileri sürülmüştür. Saikku ve ark. (59), Kp antikor cevabı ile anjiyografik olarak tespit edilen koroner arterlerdeki ateroskleroz arasındaki pozitif ilişkinin varlığını rapor etmişlerdir. Bunu takip eden çok sayıdaki çalışmada Kp ile koroner damarlarda ateroskleroz oluşumu arasında pozitif bir ilişkinin varlığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (7,55)

Aterosklerotik bölgedeki Kp infeksiyonu, özellikle kronik infeksiyonun reaktivasyonu, aterosklerotik plakta yer alan iltihabi bölgedeki T lenfositlerin salgıladığı gama interferon, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu aktive ederek bu hücrelerdeki kalınlaşmaya apoptozise yol açar. Klamidya pnömonia infeksiyonu ile düz kas hücresinin ölümü konağın savunması olarak başlar ve düz kas hücresinin yıkımı ateroskleroz ile sonuçlanır. Sadece bir çalışmada, aortun ateromatöz dokusunda düz kas hücrelerinde Kp gösterilebilmiştir. Klamidya pnömonia ile yüklü makrofajlar subendotelyal bölgede birikir. Oysa düz kas hücreleri daha derin dokulardadır (60).

### **Sınıflandırma**

Klamidya'lar zorunlu hücre içi paraziti olmaları sebebiyle büyük viruslar olarak sınıflandırılmışlardır. Gram negatif bakteriler içerisinde özel bir grup olarak sınıflandırılan *Chlamydiae* familyasının bir genusu ve dört türü bulunmaktadır. Bu türlerden *K. trachomatis*, *K. psittaci* ve *K. pnömonia* insanlarda infeksiyon hastalıklarına yol açabilmekte, *K. pekorum* ise sadece hayvanlarda hastalık oluşturabilmektedir.

### **Morfoloji ve Üreme Siklusu**

Klamidya'ların son derece özelleşmiş bir hayat siklusları olup, bu siklusta; biri hücre dışı, metabolik yönden inaktif, DNA yönünden, infeksiyöz 'elementer cisimcik (EC)', diğeri de klamidya'ların infekte bir hücre içerisindeki çoğalan popülasyonlarını gösteren metabolik yönden aktif, DNA-RNA oranı eşit ve noninfeksiyöz form olan 'retiküler cisimcik (RC)' olmak üzere iki cisimcik bulunmaktadır (61,62).

Klamidya pnömonia infeksiyonu EC'nin duyarlı hücreye bağlanmasıyla başlar. Bağlanmadan sonra EC'ler, hücre duvarından endositoz yoluyla hücre içine penetre olurlar. Endozom içerisinde 6-8 saatlik bir inkübasyon periyodundan sonra EC'lerde reorganizasyon başlar. Bu cisimciklerde RNA miktarının arttığı ve cisimciğin çapının büyüdüğü görülür. Hemen sonra RC'ler oluşarak çoğalma başlar.

## **Antijen Yapısı**

Klamidya pnömonia cisimciklerinin hücre duvarında çok sayıda antijenik determinant bulunmaktadır. Özellikle dış membranda Western-blot yöntemiyle gösterilebilen, dış membran kompleks antijenleri olarak adlandırılan molekül ağırlıkları 120 kDa-24 kDa arasında değişen ve protein yapısında çok sayıda antijenik determinantın varlığı gösterilmiştir. Klamidya pnömonia antijenleri genus spesifik lipopolisakkarit ve glikokaliks antijenler, majör dış membran protein kompleks antijenleri ve ısı şok (stres cevap) protein antijenleri olarak ayrılabilir.

## **İmmünoloji**

Klamidya pnömonia infeksiyonları esnasında hastada hümmoral ve hüccresel tipte immün cevap gelişmektedir. Hümmoral tip immün cevapta lipopolisakkarit ve majör dış membran proteinlere karşı IgM, IgG, IgA türü antikorlar görölmektedir. Lipopolisakkarit ayrıca monositleri aktive ederek TNF ve interlökin-1 (IL-1) gibi çözünür mediatörler olan sitokinlerin salınımına neden olur (63). Lipopolisakkaritler, lipoproteinleri aracılığıyla dolaşımdaki HDL ve LDL ile bağlanarak, onların pıhtılaşmasına ve immün sistem için hedef haline gelmelerine neden olur. Uyarılmış monositlerin salgıladığı TNF, vazodilatasyona ve makrofaj göçüne yol açar, lipoprotein lipaz aktivitesini inhibe ederek kandaki trigliseritlerin artışını sağlar. Bir taraftan HDL, LDL ve total olarak kan yağlarının artışı, diğer taraftan artan yoğun lipopolisakkarit ile ilişkiye girerek damar duvarına çöküşü koroner damarlardaki aterom plaklarının (köpük hücre) oluşumuna neden olur (64).

İmmunglobulin M, IgG, IgA türü antikorlarının tespiti infeksiyonun yeni veya eski olduğunun ayırt edilmesine yardımcı olur. Türe özgü IgM hastalık başladıktan üç hafta sonra, IgG ise altı-sekiz hafta sonra belirginleşir. İmmunfloresan Kp tanısı için IgM, IgG ve IgA titresinde dört kat veya daha fazla artış olması, IgM'nin 1/20 veya daha yüksek titrede pozitif olması veya IgG'nin yüksek titrede pozitif olması (1/512 veya daha fazla) gereklidir. Geçirilmiş Kp infeksiyonu tanısı için IgG'nin 1/32 veya daha büyük, 1/512'den küçük olması gereklidir. Kronik Kp infeksiyonunda IgG titresinin 1/512 veya daha fazla, ayrıca IgA titresinin ise 1/40 veya daha fazla olması gereklidir. İmmunglobulin A titresinin 1/16 veya daha fazla olması ile IgG titresinin 1/128 veya daha fazla olmasının birlikteliği, aktif Kp infeksiyonunun göstergesidir(65).

## Klinik

Klamidya pnömonia infeksiyonları iltihabi tablo ile seyreden hastalıklar olmalarına rağmen konak ile hücre arasında gelişen ilişki dirençli latent veya kronik infeksiyonların ortaya çıkmasına sebep olur (66). Klamidya pnömonia, toplumda kazanılan ve nazokomiyal pnömonilerin %6-20'sinden sorumlu tutulmuştur. Oluşturdukları kliniğin değişken olması sebebiyle atipik pnömoniler arasında gruplandırılır.

Klamidya pnömonia alt ve üst solunum yolları infeksiyonlarına neden olurken değişken klinik tablolarla birliktelik gösterebilir. Klamidya pnömonia solunum yolları infeksiyonları kendi kendini sınırlandırır ve makrolid grubu antibiyotiklere iyi cevap verir. Alveollerde infekte olan monositlerin genel dolaşıma katılması ile hematojen yolla yayılır. Kapillerde damarı terk eden mikroorganizma endotele bağlanarak hasara neden olur. İnternal torasik arter dışında, özellikle koroner ve serebral damarlarda oluşan damar endotel patolojisi ile Kp'nın etyolojik ve histopatolojik ilişkisi çalışmalarla gösterilmiştir (67,68).

Koroner damar hastalığının oluşumu ve Klamidya pnömonia ile ilgili çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. Bunlar;

- 1- İnfekte makrofajdaki mikroorganizma makrofajı terkederek damar endoteline bağlanır.
- 2- Endotelde makrofajlarca tekrar fagosite edilen bazı Kp cisimcikleri makrofajla birlikte damar endotelinin içerisine penetre olur ve çoğalarak iltihabı başlatır. Damar lümenindeki veya aterosklerotik bölgedeki Kp ile uyarılmış makrofajların salgıladıkları sitokinlerin iltihabi cevap ve doku hasarını artırdığı, doku hasarına tamir cevabı olarak da ateroskleroz veya infekte damar endotelinde akut faz protein sentezini stimüle ettiği, buna bağlı olarak da düz kas hücrelerinde proliferasyona bağlı kalınlaşma, fibröz doku oluşumu ve lümende daralmaya sebep olduğu bildirilmektedir. Ayrıca TNF- $\alpha$  lipoprotein lipaz enzim aktivitesini inhibe ettiğinden LDL'de artış yani hiperlipidemi olur (60,67,69).
- 3- Klamidya pnömonia'nın başlangıçta ateroskleroz oluşumu ile hiçbir ilişkisi olmayabilir. Ancak başka herhangi bir sebeple dokuda meydana gelen hasarı tamir amacıyla bölgeye gelen makrofajlardaki Kp cisimcikleri lezyon bölgesine yerleşmiş olabilir. Yani birliktelik bir etyoloji veya tetikleyici ilişkiden ziyade tesadüfi olabilir (70).

Klamidya pnömonia ile kardiyovasküler hastalıklar arasında çok sayıda araştırmacı tarafından var olduğu iddia edilen etyolojik ilişkinin ispatı için özellikle spesifik kemoterapötiklerin kullanıldığı progressif çalışmalara ihtiyaç vardır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma öncesinde Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı (Ek-1) alındı. Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonunca 806 nolu araştırma projesi olarak desteklenmiştir. Hasta ve hasta yakınlarına gönüllü bilgilendirilmiş olur formu (Ek-2) imzalatıldı. Koroner arter hastalığı olan hastalarda ateroskleroz oluşumu ile Klamidya pnömonia infeksiyonları arasındaki muhtemel ilişkiyi araştırmak üzere planlanan bu çalışmaya Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Kliniğinde elektif izole primer koroner “bypass” operasyonu uygulanan elli yaşın altındaki toplam 51 hasta dahil edildi. Kardiyovasküler şikayetlerle hastaneye yatırılan, koroner anjiyografide koroner damarlarda darlık tespit edilip koroner “bypass” endikasyonu ile opere edilen hastaların atrium, aorta ve sol internal torasik arterlerinden (İTA) 3-5 mm’lik doku örnekleri ile kan örnekleri alınarak incelendi. Aortadan, proksimal anastomozları yapabilmek için punç ile alınan doku parçaları kullanıldı. Sonrasında sol internal torasik arter kullanılan hastalardan arterin hazırlanması esnasında kalan arter parçaları kullanıldı. Atrium dokuları ise kanülasyon amacıyla açılan atrium dokularından alındı. Bu dokuların hepsi rutin ameliyatlar sırasında zaten alınan ve sonra kullanılmayan dokulardı. Asendan aortadaki aterosklerozun derecelendirilmesinde Montgomery ve Wareing gibi sınıflandırmalar kullanılmaktadır. Goto ve arkadaşlarının kullandığı Modifiye Wareing sınıflandırmasına göre asendan aorta üç bölüme ayrılarak aterosklerotik değişiklikler, intimal kalınlaşmaya göre normal, hafif, orta ve şiddetli olarak sınıflandırılmışlardır (71,72). İntimal kalınlaşma intraoperatif olarak inspeksiyon, dijital muayene ve ölçüm ile yapıldı. Asendan aort duvar kalınlığı intraoperatif olarak inspeksiyon ve dijital muayene ile ölçüldü. Hastalar; aortik intima kalınlığı  $\geq 2\text{mm}$  ve  $< 2\text{mm}$  olmak üzere iki gruba ayrıldı. Alınan kan ve doku örnekleri Trakya Üniversitesi Tıp

Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı moleküler genetik laboratuvarında çalışıldı. Alınan bu doku örnekleri parçalandıktan sonra +4 °C’de DNA izolasyonu yapılması amacıyla Tris EDTA solüsyonu içinde saklandı. Hastalardan alınan venöz kandan elde edilen serum örnekleri Klamidya pnömonia IgG, IgA ve IgM antikorlarının tespiti amacıyla IIFT (İndirekt immünlöresan test) yöntemiyle değerlendirildi. Çalışmada kullanılan kitin ticari ismi Klamidya pnömonia IIFT (FK 2192-1005) olup EUROIMMUN firmasından sağlandı. Doku örneklerinin DNA’ları DNA izolasyon kiti (QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN) ile ayrıştırıldı. İzole edilen DNA’lar -20 °C’de saklandı. Klamidya pnömonia DNA’sının olup olmadığı Real Time PZR cihazında (iCyclerIQ, Biorad, USA) C. pneumoniae QLS-2.0 DNA Saptama Kiti (fluorion) ile değerlendirildi.

## **CERRAHİ TEKNİK**

Hastalara operasyon öncesi premedikasyonda 10 mg morfin hidroklorür (Galen, İstanbul, TÜRKİYE) ve 10 mg diazepam (Deva, İstanbul, TÜRKİYE) intramusküler olarak verildi. Daha sonra anestezinin devamı fentanyl citrate (Fentanyl, Abbott, North Chicago, ABD) saatte 0,5 mg ve pancuronium (Pavulon, Organon, İstanbul, TÜRKİYE) saatte 2 mg dozlarında intravenöz yoldan verilerek elde edildi. Sağ internal juguler ven yoluyla pulmoner artere termodilüsyon kateteri yerleştirildi (7.5 F Opticath, Abbott, North Chicago, IL, ABD).

Median sternotomi sonrasında sol internal torasik arter pedikülü ile hazırlandıktan sonra asendan aorta ve sağ atrial kanülasyon yapıldı. Bu aşamada İTA ve atriumdan doku örnekleri alındı. Kardiyopulmoner “bypass”da roller pompa (Stöckert, Münih, ALMANYA), membran oksijenatör (D 708 Simplex Adult Fiber Oxygenator, Dideco, Mirandola, İTALYA) ve normotermi kullanıldı. Antikoagülasyon, 300 ünite/kg dozunda kullanılan heparin (Nevparin Mustafa Nevzat, İstanbul, TÜRKİYE) ile elde edildi. Aktive edilmiş pıhtılaşma zamanı ile antikoagülasyon takip edildi. Antikoagülasyonun devamı, APZ değeri 400 saniyenin üzerinde olacak şekilde gerekli olduğunda ek dozlarda heparin verilerek sağlandı. Kardiyopulmoner “bypass” sırasında perfüzyon hızı dakikada 2.4 L/m<sup>2</sup>/dk ve üzerinde olacak şekilde pulsatil olmayan akımla sağlandı. Kanülasyonlar sonrası önce parsiyel “bypass”a geçildi. Daha sonra asendan aortanın klemplenmesi sonrası hiperkalemik kan kardiyoplejisinin antegrad verilmesiyle kardiyak arrest sağlanarak total “bypass” sağlandı. Yirmi dakikalık aralarla ılık kan kardiyoplejisi verildi. Distal anastomozlar sonrası aortadaki klemp kaldırılarak parsiyel “bypass”a geçildi. Proksimal anastomozlar aortaya yan (side)

klemp konarak yapıldı ve bu aşamada aortadan doku örnekleri alındı. Kardiyopulmoner “bypass”tan çıkılmasını takiben heparinin nötralizasyonu 1:1-1.3 oranında protamin hidroklorür (Protamine ICN, Onko, İstanbul, TÜRKİYE) ile yapıldı. Bu çalışmamızda standart cerrahi tekniklerde hiçbir değişiklik yapılmadı.

## **ÇALIŞMA PROTOKOLÜ**

Elektif primer izole koroner “bypass” cerrahisi uygulanan elli yaşın altındaki toplam 51 gönüllü hasta çalışmaya alındı. Bu hastalar 2 gruba ayrıldı.

Grup 1: Asendan aorta intimal kalınlığı < 2 mm olan olgular (n=23)

Grup 2: Asendan aorta intimal kalınlığı ≥ 2 mm olan olgular (n=28)

Hastaların preoperatif karakteristik verilerine ek olarak 1/100 dilüsyonda Kp IgG, IgA, IgM antikor varlığı, kan lipid profilleri ve CRP tetkikleri kaydedildi.

Operasyon ile ilgili verilerden kardiyopulmoner “bypass” zamanı (dakika), kros klemp zamanı (dakika) ve kullanılan greft kaydedildi. Hastalardan preoperatif dönemde alınan venöz kan örneklerinin serumları ayrıştırıldıktan sonra Klamidya pnömonia IIFT (FK 2192-1005) EUROIMMUN kiti ile Kp IgG, IgA ve IgM antikorları 1/100 dilusyonda bakıldı.

### **Kit İçeriği ;**

- 1- Klamidya pnömonia antijen lamaları: 10x5 kuyulu infekte kültür ile kaplanmış özel lamalar,
- 2- Fluorescein konjuge anti human IgG, IgA ve IgM: 1.5ml x 1 şişe konsantre anti-human antikorları içermektedir. Şişe içindeki antikor, çalışılmadan önce Fosfat Buffer Solüsyonu (PBS) ile (x5) dilüe edildi.
- 3- Kontrol serum (pozitif ve negatif): 0.1 ml’lik 2 şişe.
- 4- PBS (pH:7.2): iki poşet içinde 1’er litrelik distile suyla çözülecek şekilde hazırlanmış poşetler.
- 5- Tween-20: 2x2 ml’lik şişeler içerisinde konsantre olarak sunulan her bir şişe, 1 litreye tamamlandı.
- 6- Kaplama solüsyonu: 3 ml’lik fosfat gliserol buffer (pH:8.4).
- 7- Lamel: 12 adet 62x23 mm’lik lameller.

### Testin Yapılışı

Test uygulanana kadar kit içeriği +4 °C’de, serum örnekleri -20 °C’de bekletildi. Çalışmaya başlamadan önce serum örnekleri ve kit reagentleri oda ısısına getirildi. Çalışmada serum örnekleri;

- 1- IgM, IgG ve IgA 1/100 dilüsyonda PBS ile dilüe edildi.
- 2- Örnek sayısına uygun sayıda antijen taşıyan lamalar tek dilüsyonda çalışılacak şekilde numaralandırıldı, her çalışmada 1 pozitif, 1 negatif kuyu kullanıldı.
- 3- Her hasta için ayrılan kuyulara ayrı ayrı pipet uçları kullanılmak suretiyle 25 µl dilüe serum örneği damlatıldı, negatif ve pozitif kontrol alanlarına da kit içindeki negatif ve pozitif kontrol serumlarından aynı miktarlarda damlatıldı. Örneklerin lam üzerine transferi esnasında hava kabarcıkları oluşmamasına dikkat edildi. Lamlar, içerisinde ıslak pamuk bulunan özel kapalı kaplarda oda ısısında 30 dakika inkübe edildi.
- 4- İnkübasyon süresi sonunda lamlar PBS ile yıkandı ve içinde PBS bulunan küvetlerde 2 dakika bekletildi.
- 5- Yıkamadan çıkarılan lamlardaki örnek kuyularına 20 µl Fluorescein ile konjuge anti human IgG, IgA ve IgM reagentleri damlatıldı, lamlar nemli kutularda 30 dk. inkübasyona bırakıldı. Bundan sonraki bütün işlemler güneş ışığı almayan bir odada gerçekleştirildi.
- 6- İnkübasyon sonunda lamlar PBS ile yıkandı ve PBS içeren küvette 5 dk. bekletildi.
- 7- Zıt boyama için 15 µl PBS’e 1 damla Evans mavisi damlatıldı ve örnekler bu boyalı PBS içinde 5 dk. bekletildi.
- 8- Örnek gözleri üzerine 10’ar µl kaplama solüsyonu (gliserol PBS) damlatıldıktan sonra lamel kapatılarak 10x40 büyütme floresan mikroskobu (OLYMPUS-BX51, JAPONYA) ile değerlendirildi.

IgG, IgA ve IgM 1/100 dilüsyonda serum pozitifliği bulunan örnekler Kp infeksiyonu için pozitif bulgu olarak değerlendirildi.

Hastalardan alınan doku parçaları, parçalandıktan sonra Tris EDTA solüsyonu içerisinde aynı gün DNA izolasyonu yapılmak üzere -4 °C’de saklandı. Doku örneklerinin DNA’ları DNA izolasyon kiti (QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN) ile ayrıştırıldı.

## **DNA İzolasyonu**

- 1- Ufak parçalara ayrılmış yaklaşık 25 mg doku 1.5 ml'lik bir tüpe alındı ve üzerine 180 µl Buffer ATL eklendi.
- 2- Üzerine 20 µl Proteinaz K koyuldu ve doku tamamen parçalanana kadar 56 °C'de ara ara vortekslendi.
- 3- Örneğin üzerine 200 µl Buffer AL eklendi, 15 saniye vortekslendikten sonra 70 °C'de 10 dakika bekletildi.
- 4- Daha sonra 200 µl etanol (% 96-100) eklenip 15 saniye vortekslendi.
- 5- Elde edilen karışım QIAamp Spin kolonuna transfer edildi ve bir dakika 8000 devirde santrifüj edildi.
- 6- Kolona 500 µl Buffer AW1 eklendi ve bir dakika 8000 devirde santrifüj edildi.
- 7- Kolona 500 µl Buffer AW2 eklendi ve üç dakika 14.000 devirde santrifüj edildi.
- 8- İçinde sıvı biriken toplama tüpü atıldı. QIAamp Spin kolonu 1.5 ml'lik temiz bir mikrosantrifüj tüpüne alındı. Kırk µl Buffer AE eklendi ve oda sıcaklığında 8000 devirde 1 dakika santrifüj edildi.

İzole edilen DNA örnekleri çalışılana kadar -20 °C'de saklandı. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) çalışmasından hemen önce derin dondurucudan çıkarılan DNA örnekleri çözöldükten sonra *C. pneumoniae* – QLS 2.0 DNA Saptama Kiti (fluorion, iontek) ile real time PZR cihazında (iCyclerIQ, Biorad, USA) çalışıldı.

## **Kit İçeriği**

- 1- PCR Mix: *E. Coli*'ye klonlanmış 94 kDa'luk rekombinant DNA polimerazın modifiye edilmiş bir formu olan HotStarTaq Dna polimerazı, QuantiTect SYBR PCR tamponu, dNTP karışımı ve SYBR Green ve ROX gibi floresan boyaları içermektedir.
- 2- Deteksiyon Mix 1: forward ve reverse primeri (0.4 µM) içerir.
- 3- Pozitif Kontrol: Klamidya pnömonia DNA'sı içerir.

## **Yöntem**

Klamidya pnömonia genomunun MOMP geninin 79 baz çiftlik bölümü real-time PZR cihazında çoğaltılır (73). PZR ürünü, floresan bir boya olan SYBR-green aracılığıyla

reaksiyon sırasında görüntülenir. Çoğalan DNA'nın hedef bölge olduğu, erime eğrisi analizi yolu ile kesinleştirilir.

Sonuç olarak, bu hasta grubunda majör aterosklerotik risk faktörlerinin yanında Klamidya pnömonia antikorlarının varlığı ve bu hastaların atrium, sol internal torasik arter ve aorta dokularında bu mikroorganizmanın DNA'sının varlığı araştırıldı.

## İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme; Trakya Üniversitesi İstatistik ve Çeviri Bürosu'nda bulunan AXA507C775506FAN3 seri numaralı STATISTICA AXA istatistik programı kullanılarak yapıldı. Ölçülebilen verilerin normal dağılıma uygunlukları tek örnek Kolmogorov Smirnov testi, normal dağılım gösterenler için gruplar arasında fark olup olmadığını kıyaslamada bağımsız gruplarda t testi, normal dağılım göstermeyenlerde ise Mann Whitney U testi, niteliksel veriler için; Pearson's  $\chi^2$  testi, beklenen değer 5'ten küçük olanlarda Fisher's  $\chi^2$  testi kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler olarak normal dağılıma uyanlar için; aritmetik ortalama (standart sapma) ile normal dağılıma uymayanlar için ortanca (min-max) değerleri verildi. Tüm istatistikler için anlamlılık sınırı  $p<0.05$  olarak seçildi.

## BULGULAR

Toplam 51 olgu, asendan aorta duvar kalınlığına göre Grup 1 (intima kalınlığı  $<2$  mm) ve Grup 2 (intima kalınlığı  $\geq 2$  mm) olmak üzere 2 grupta incelendi. Grup 1'deki hastaların %39'u (n=9) ve grup 2'deki hastaların %21'i (n=6) tip 2 diabetes mellitus idi. Grup 1'deki hastaların %52'si (n=12), grup 2'deki hastaların %32'si (n=9) hipertansif idi. Grup 1'deki hastaların %78'i (n=18), grup 2'deki hastaların %82'si (n=23) sigara içicisiydi. Grup 1'deki hastaların ortalama kolesterol düzeyi 191.48 mg/dl iken, grup 2'deki hastaların ortalama 185.36 mg/dl idi. Grup 1'deki hastaların %26'sında (n=6), grup 2'deki hastaların %39'unda (n=11) Unstabil Anjina Pektoris (USAP) hikayesi mevcuttu. Grup 1'deki hastaların %69'unda (n=16), grup 2'deki hastaların %60'ında (n=17) miyokard infarktüsü (MI) öyküsü mevcuttu. Grup 1'deki hastaların %4'ünde (n=1), grup 2'deki hastaların %3'ünde (n=1) Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) öyküsü vardı. Grup 1'deki hastaların %13'ünde (n=3), grup 2'deki hastaların %28'inde (n=8) ailede iskemik kalp hastalığı hikayesi mevcuttu. Grup 1'deki hastaların birinde kronik böbrek yetmezliği, grup 2'deki hastaların birinde ise periferik arter hastalığı mevcuttu. Her iki gruptaki hastalar karşılaştırıldığında, yaş, cinsiyet, diyabetes mellitus, hipertansiyon, sigara kullanımı, total kolesterol düzeyleri, USAP ve MI hikayesi, aile hikayesi, KOAH, kronik böbrek yetmezliği ve periferik arter hastalığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Bu çalışmaya 44 erkek ve 7 kadın; toplam 51 gönüllü hasta dahil edildi. Hastaların ortalama yaşı  $45.55 \pm 4.2$  (35-50), sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu  $\%54.86 \pm 11.6$  (18-72) idi. Tüm gruplar bir arada değerlendirildiğinde ortalama AKK zamanı  $64.06 \pm 22.1$  (30-147)

dakika, KPB zamanı  $115.78 \pm 32.6$  (60-208) dakika, distal anastomoz sayısı  $3.43 \pm 0.8$  (2-5) idi. Operasyonlarda 51 hastanın tümünde sol ITA grefti kullanıldı.

Grupların preoperatif ve operatif karakteristik özellikleri Tablo 1’de verilmiştir. Olgular yaş, cinsiyet ve vücut kitle indeksi açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Hastaların preoperatif dönemde ekokardiyografik inceleme ile sol ventrikül EF ölçümleri yapıldı. Her iki grup içindeki hastalar arasında EF değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 1. Grupların preoperatif ve operatif karakteristik özellikleri**

|                                 | <b>GRUP 1</b> | <b>GRUP 2</b> | <b>p</b> |
|---------------------------------|---------------|---------------|----------|
| <b>Yaş (yıl)</b>                | 45.3±4.1      | 45.6±4.3      | >0.05    |
| <b>Erkek/Kadın</b>              | 20/3          | 24/4          | >0.05    |
| <b>VKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b>   | 26.6±4.3      | 26.5±3.8      | >0.05    |
| <b>EF (%)</b>                   | 55.9±10.9     | 54±12.2       | >0.05    |
| <b>Tip II DM</b>                | %39.1 (9)     | %21.4 (6)     | >0.05    |
| <b>HT</b>                       | %52.2 (12)    | %32.1 (9)     | >0.05    |
| <b>Sigara Öyküsü</b>            | %78.3 (18)    | %82.1 (23)    | >0.05    |
| <b>Total Kolesterol (mg/dl)</b> | 191.48±50.4   | 185.36±38.8   | >0.05    |
| <b>USAP</b>                     | %26.1 (6)     | %39.3 (11)    | >0.05    |
| <b>MI</b>                       | %69.6 (16)    | %60.7 (17)    | >0.05    |
| <b>Aile Hikayesi</b>            | %13 (3)       | %28.6 (8)     | >0.05    |
| <b>KOAH</b>                     | %4.3 (1)      | %3.6 (1)      | >0.05    |
| <b>PAH</b>                      | %4.3 (1)      | 0             | >0.05    |
| <b>KBY</b>                      | 0             | % 3.6 (1)     | >0.05    |
| <b>AKK Zamanı (dakika)</b>      | 59.75±12.6    | 59.30±17.9    | >0.05    |
| <b>KPB Zamanı (dakika)</b>      | 114.85±20.9   | 101.35±23.8   | >0.05    |

EF : Ejeksiyon Fraksiyonu, ITA : İnternal Torasik Arter, AKK : Aortik Kros Klemp, KPB : Kardiyopulmoner Bypass, KOAH : Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı, PAH : Periferik Arter Hastalığı, KBY : Kronik Böbrek Yetmezliği, VKİ : Vücut Kitle İndeksi, DM : Diyabetes Mellitus, HT : Hipertansiyon, USAP : Unstabil Anjina Pektoris, MI : Miyokard İnfarktüsü

Tüm olgulardan preoperatif dönemde kan örnekleri alındı. Her bir kan örneğinden Kp IgG, IgA ve IgM antikorları 1/100 dilüsyonda çalışıldı. Klamidya pnömonia IgG, IgA ve IgM antikorlarının 1/100 dilüsyonda pozitiflikleri gruplar arasında değerlendirildiğinde; istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Olgulara ait Kp IgG, IgA ve IgM antikor pozitiflikleri Tablo 2’de verilmiştir. Grup 1’deki hastaların %87’sinde ( $n=20$ ), Grup 2’deki hastaların %85.7’sinde ( $n=24$ ) IgA antikorları pozitif olarak saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Grup 1 ve 2’deki hastaların tümünde IgG antikorları 1/100 dilüsyonda pozitif olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Grup 1 ve 2’deki hastaların tümünde IgM antikorları 1/100 dilüsyonda negatif olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 2. Olgulara ait Kp IgA, IgG ve IgM antikor pozitifliği**

|               | <b>GRUP 1</b> | <b>GRUP 2</b> | <b>p</b> |
|---------------|---------------|---------------|----------|
| <b>Kp IgA</b> | %87 (20)      | %85.7 (24)    | $>0.05$  |
| <b>Kp IgG</b> | %100 (23)     | %100 (28)     | $>0.05$  |
| <b>Kp IgM</b> | 0             | 0             | $>0.05$  |

**Kp :** Klamidya pnömonia

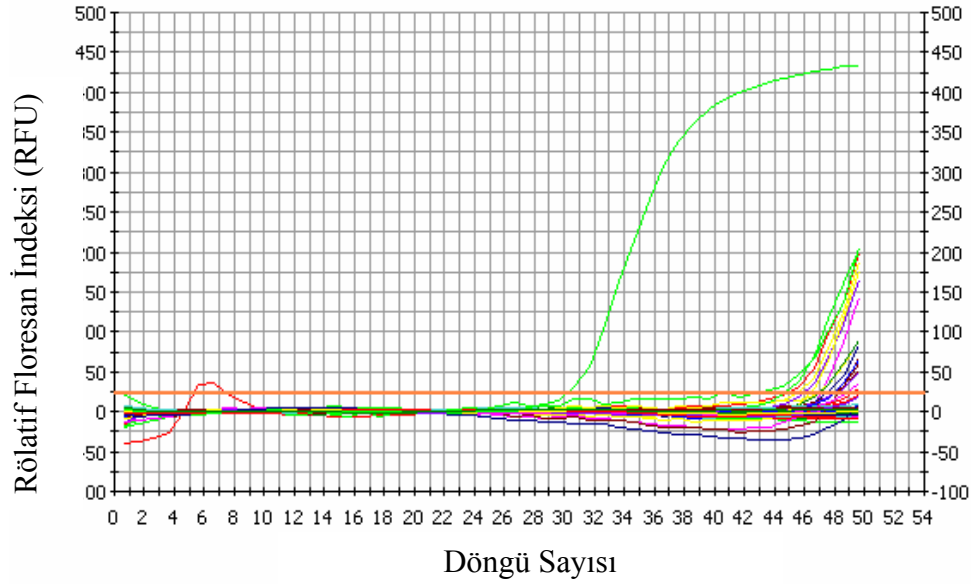
Olguların aorta, sol internal torasik arter ve atrium dokularının PZR cihazı ile Kp DNA’sının pozitiflik oranları Tablo 3’de verilmiştir. Tüm olguların atrium ve sol internal torasik arter dokularında Kp DNA’sına rastlanmazken, olguların 12’sinde aorta dokusunda Kp DNA’sına rastlandı. Grup 1’deki hastaların %8.7’sinde ( $n=2$ ), Grup 2’deki hastaların ise %35.7’sinde ( $n=10$ ) PZR ile Kp DNA’sı pozitif bulunurken, iki grup arasında PZR pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p=0.024$ ).

Yine IgA pozitifliği açısından da karşılaştırıldığında PZR (+) ve PZR (-) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

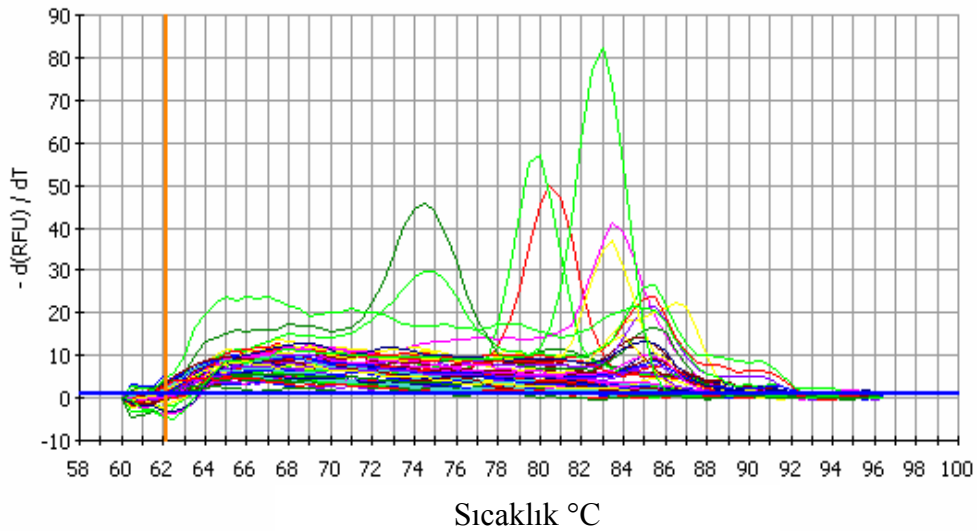
**Tablo 3. Aorta, atrium ve sol internal torasik arter dokularındaki Kp DNA pozitifliği**

|                                   | GRUP 1   | GRUP 2     | p     |
|-----------------------------------|----------|------------|-------|
| <b>Aorta</b>                      | %8.7 (2) | %35.7 (10) | 0.024 |
| <b>Sol İnternal Torasik Arter</b> | 0        | 0          | 0     |
| <b>Atrium</b>                     | 0        | 0          | 0     |

Asendan aortadan alınan doku örneklerine ait PZR siklus grafiği ve erime eğrisi analizi grafikleri sırasıyla Şekil 1 ve Şekil 2’de gösterilmiştir.

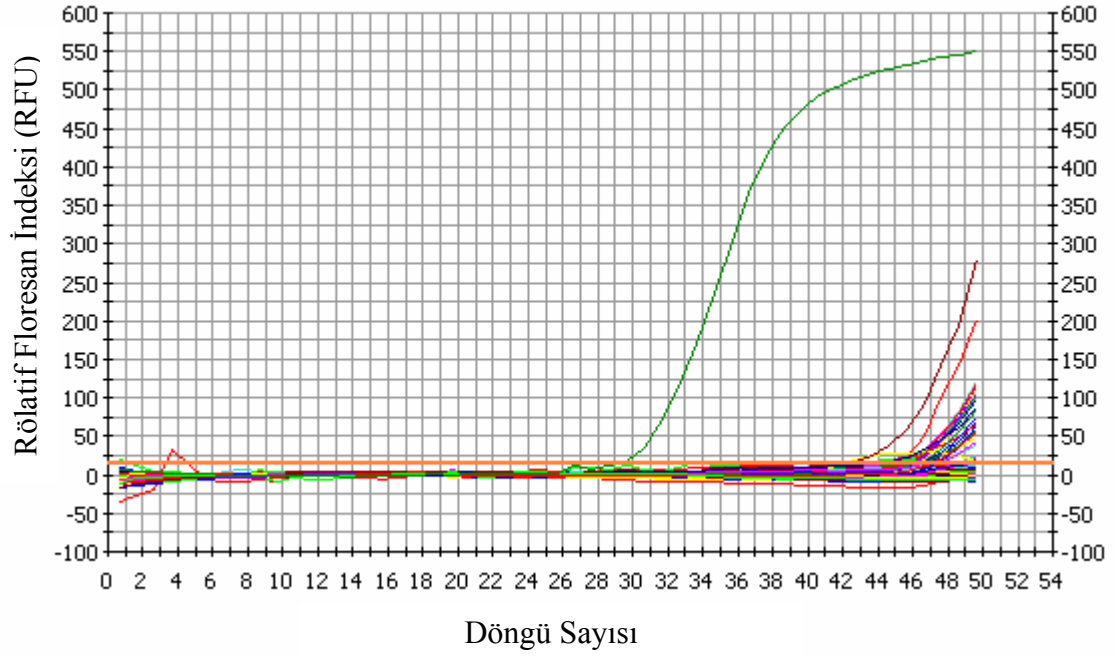


**Şekil 1. Aorta dokularına ait Polimeraz Zincir Reaksiyonu Siklus Grafiği**

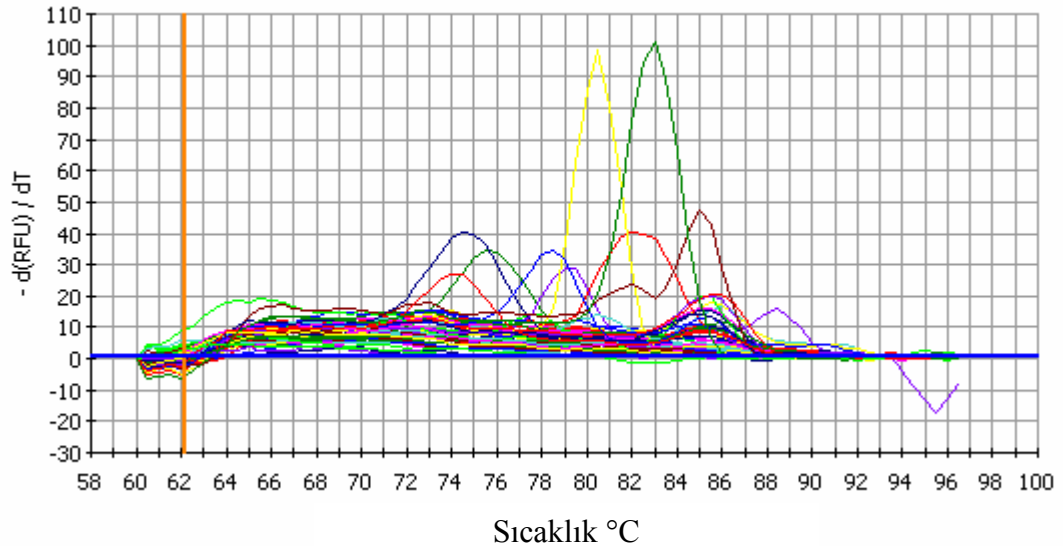


**Şekil 2. Aorta dokularına ait Erime Eğrisi Analiz Grafiği**

Sol internal torasik arterden alınan doku örneklerine ait PZR siklus grafiği ve erime eğrisi analizi grafikleri sırasıyla Şekil 3 ve Şekil 4’de gösterilmiştir.

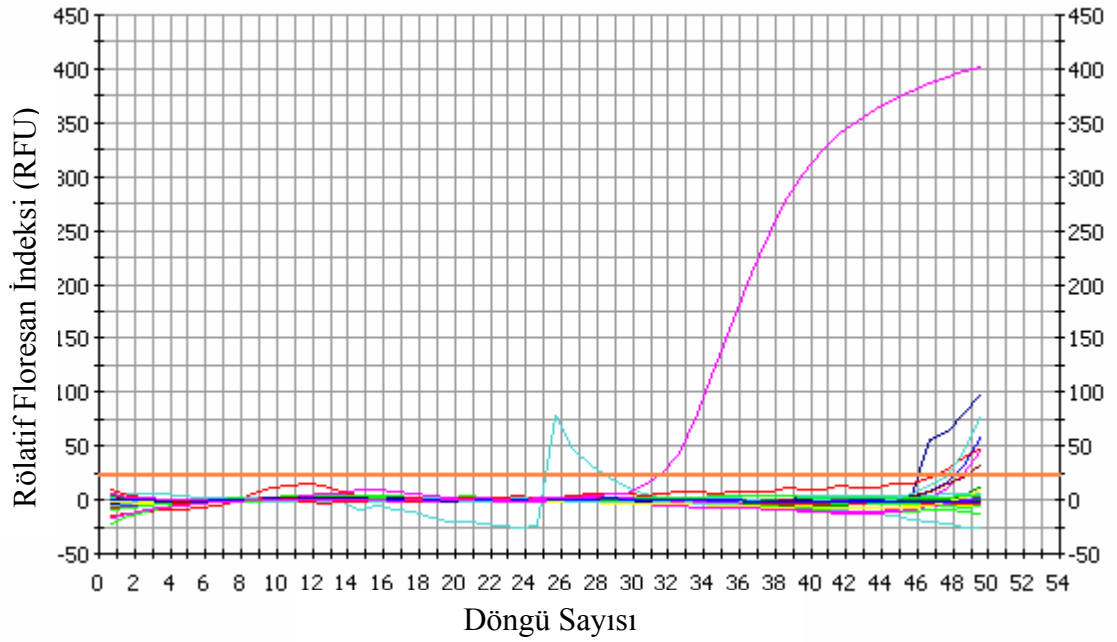


**Şekil 3. Sol İnternal Torasik Arter dokularına ait Polimeraz Zincir Reaksiyonu Siklus Grafiği**

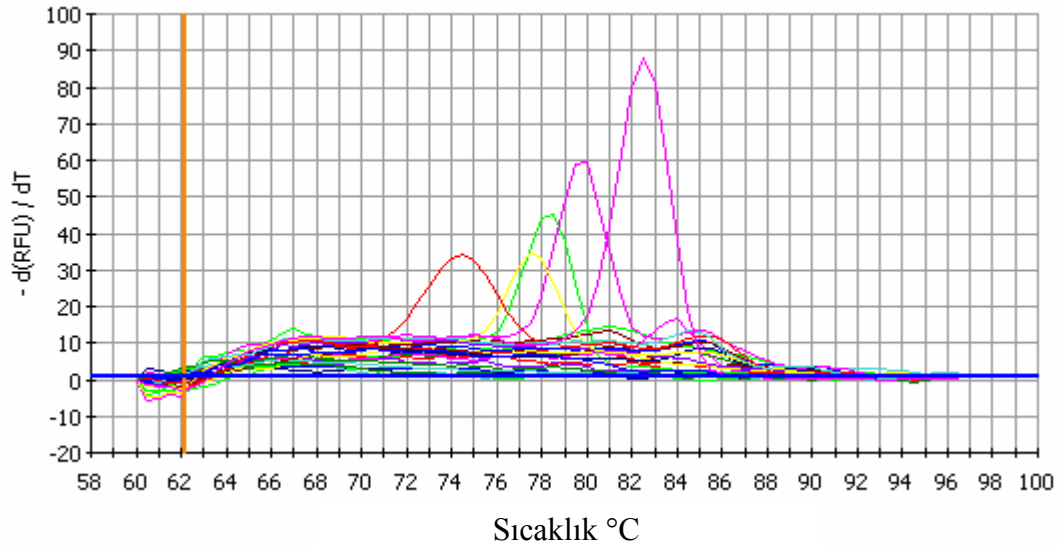


**Şekil 4. Sol İnternal Torasik Arter dokularına ait Erime Eğrisi Analiz Grafiği**

Atriumdan alınan doku örneklerine ait PZR siklus grafiği ve erime eğrisi analizi grafikleri sırasıyla Şekil 5 ve Şekil 6’da gösterilmiştir.



**Şekil 5. Atrium dokularına ait Polimeraz Zincir Reaksiyonu Siklus Grafiği**



**Şekil 6. Atrium dokularına ait Erime Eğrisi Analiz Grafiği**

Aorta dokularında Kp DNA'sı pozitif olarak bulunan olgular PZR (+) grup (n=12), negatif bulunanlar ise PZR (-) grup (n=39) olarak adlandırıldı. İki grubun yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, diyabet, hipertansiyon, sigara içiciliği, total kolesterol düzeyi, USAP, MI ve

pozitif aile hikayesi yönünden karşılaştırılması Tablo 4'te gösterilmiştir. Bu iki grup arasında incelenen bu özellikler yönünden anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). Çalışmaya alınan hastaların tam listesi ve özellikleri Tablo 5'te gösterilmiştir

**Tablo 4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (+) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (-) olguların karşılaştırılması**

|                                 | <b>PZR (+)</b> | <b>PZR (-)</b> | <b>p</b> |
|---------------------------------|----------------|----------------|----------|
| <b>Yaş (yıl)</b>                | 45.67±3.8      | 45.51±4.3      | >0.05    |
| <b>Erkek/Kadın</b>              | 9/3            | 35/4           | >0.05    |
| <b>VKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b>   | 26.07±4.1      | 26.7±4         | >0.05    |
| <b>Tip II DM</b>                | % 33.3 (4)     | % 28.2 (11)    | >0.05    |
| <b>HT</b>                       | % 50 (6)       | % 38.5 (15)    | >0.05    |
| <b>Sigara</b>                   | % 75 (9)       | % 82.1 (32)    | >0.05    |
| <b>Total Kolesterol (mg/dl)</b> | 203.58±51.2    | 183.36±41.2    | >0.05    |
| <b>USAP</b>                     | % 41.7 (5)     | % 30.8 (12)    | >0.05    |
| <b>MI</b>                       | % 58.3 (7)     | % 66.7 (26)    | >0.05    |
| <b>Aile Hikayesi</b>            | % 33.3 (4)     | % 17.9 (7)     | >0.05    |

**VKİ** : Vücut Kitle İndeksi, **DM** : Diyabetes Mellitus, **HT** : Hipertansiyon, **USAP** : Unstabil Anjina Pektoris, **MI** : Miyokard İnfarktüsü

**Tablo 5. Çalışmaya alınan olgulara ait veriler**

| Ad-Soyad | Yaş | Cinsiyet | Grup | PZR |
|----------|-----|----------|------|-----|
| N.K      | 43  | E        | 2    | +   |
| C.A      | 38  | E        | 2    | -   |
| N.Y      | 44  | E        | 1    | -   |
| C.K.Ç    | 44  | E        | 2    | -   |
| N.A      | 51  | E        | 2    | -   |
| İ.B      | 51  | E        | 1    | -   |
| M.K      | 44  | E        | 2    | -   |
| N.T      | 49  | E        | 1    | -   |
| T.T      | 48  | E        | 1    | -   |
| H.M      | 51  | E        | 1    | -   |
| M.G      | 38  | E        | 2    | -   |
| M.Y      | 43  | E        | 2    | -   |
| A.Y      | 45  | E        | 2    | -   |
| H.Ç      | 49  | E        | 2    | -   |
| H.F.A    | 49  | E        | 1    | -   |
| H.M      | 47  | E        | 1    | -   |
| E.S      | 37  | K        | 2    | +   |
| M.K      | 51  | K        | 1    | -   |
| H.A      | 45  | K        | 2    | +   |
| A.C.A    | 49  | E        | 2    | +   |
| N.K      | 47  | E        | 1    | +   |
| S.A      | 49  | E        | 2    | -   |
| İ.A      | 45  | E        | 1    | -   |
| C.S      | 48  | E        | 2    | -   |
| Ş.Y      | 49  | E        | 2    | +   |
| C.G      | 48  | E        | 2    | -   |
| M.B      | 44  | E        | 1    | -   |
| A.K      | 43  | K        | 1    | -   |
| M.G      | 47  | E        | 2    | -   |
| S.İ      | 47  | K        | 2    | -   |
| Y.G      | 45  | E        | 1    | -   |
| Z.G      | 51  | K        | 2    | +   |
| S.Ö      | 48  | E        | 2    | +   |
| G.T      | 46  | E        | 1    | -   |
| M.A      | 41  | E        | 1    | -   |
| R.K      | 48  | E        | 1    | -   |
| E.D      | 46  | E        | 2    | +   |
| T.G      | 47  | E        | 2    | -   |
| C.A      | 51  | E        | 1    | +   |
| G.M      | 41  | E        | 2    | +   |
| A.D      | 36  | E        | 2    | -   |
| İ.S      | 51  | E        | 2    | +   |
| A.Ş      | 36  | E        | 1    | -   |
| Ş.P      | 49  | E        | 2    | -   |
| A.C      | 44  | E        | 1    | -   |
| E.G      | 51  | E        | 2    | -   |
| M.G      | 46  | E        | 1    | -   |
| B.S      | 46  | E        | 1    | -   |
| B.G      | 42  | E        | 1    | -   |
| D.G      | 51  | E        | 2    | -   |
| H.T      | 35  | K        | 1    | -   |

**PZR** : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

## TARTIŞMA

Aterosklerozun patogeneğinde infeksiyonun etyolojik rol oynayabileceği fikri ilk olarak Sir William Osler (1908) tarafından ileri sürülmüştü. Ancak, başlarda çok fazla ilgi görmeyen bu iddia, 1960'lı yıllarda koroner damar hastalığı tespit edilen kediler, tavuklar ve bazı insanlarda Herpes grubu virusların yüksek insidanda infeksiyonlar oluşturduğunun gösterilmesiyle yeniden önem kazanmaya başlamıştır (74,75). Finlandiya'da (1988) yayınlanan ve akut miyokard infarktı olan hastaların %68'iyle herhangi bir miyokard patolojisi bulunmayan kontrol grubu kişilerin %3'ünde Kp'nın lipopolisakkaritlerine karşı spesifik antikor cevabının gösterildiği vaka kontrol çalışmalarının sonuçları, kronik infeksiyonlarla koroner hastalıkların patolojisi ve progresyonu arasındaki muhtemel etyolojik ilişki teorisine yeni bir boyut kazandırmıştır (76). Aynı yıllarda Helsinki Kalp Araştırmaları grubu tarafından Güney Afrika'da postmortem olarak elde edilen ateromatöz koroner arter doku örneklerinde Kp cisimciklerinin gösterilmesi, Kp ile damarlardaki ateroskleroz oluşumu ve akut miyokard infarktlar arasındaki ilişkiyi destekleyici bulunmuştur. Daha sonra yapılan çok sayıdaki çalışmayla Kp infeksiyonu ile koroner arter patolojisi arasındaki ilişki farklı tanı yöntemleri kullanılarak araştırılmış ve bu ilişkiyi ispatlayan önemli bulgular elde edilerek Kp'nin tek başına aterosklerotik lezyonları başlatabileceğine dair spekülasyonlar yapılmıştır (77). Helsinki Kalp Araştırmaları grubu, hasta serumunda Kp'ya karşı spesifik IgA titresi ve dolaşımda Kp'nın lipopolisakkaritlerini içeren cisimciklerin varlığını, o hastada 6 aylık bir periyot içinde ortaya çıkabilecek kardiyak patoloji için %95 oranında belirleyici bir kriter olarak kabul etmişlerdir (59).

Wimmer ve ark. (78) sistemik infarkt görülen 39 hasta ile iskemik ataklı 19 hastaya ait serum örneklerini, 52 asemptomatik kontrol grubu serum örnekleriyle Kp'ya karşı oluşan IgA, IgG ve Kp'nın lipopolisakkaritlerini içeren immün komplekslerin prevalansı yönünden kıyaslamışlar, iskemik grupta IgA prevalansı %46.6 bulunurken, kontrol grubunda bu oran %23.1 olarak bulunmuştur. Buna karşılık iskemik gruba ait serum örneklerinde immün kompleks prevalansının %24.1 olmasına rağmen, kontrol grubunda bu oranın %7.7'de kaldığı bildirilmiştir. Sonuç olarak Kp'nın kardiyak patoloji ile ilişkili olabileceğini, dolaşımdaki spesifik IgA ve immün komplekslerin varlığının koroner patoloji için risk faktörü olarak kabul edilen yaş, hipertansiyon, hiperlipidemi, obezite, sigara ve diyabetten bağımsız tek başına belirleyici risk faktörü olduğunu vurgulamışlardır.

Pieniazek ve ark. (79) koroner anjiyografi ile tespit ettikleri KAH'ı olan 71 hasta ile koroner damarlarında patoloji bulunmayan 81 hastayı karşılaştırmışlar. Hastalarda IgG ve IgA Kp antikorlarının yanı sıra, İnterlökin-8, fibrinojen gibi sitokinlerle birlikte C-reaktif protein ve kolesterol düzeyleri incelenmiştir. Hasta grubunda IgG ve IgA düzeylerini %60.5 ve %61.8 bulurken kontrol grubunda bu oranlar %26 ve %29.5 olarak bildirilmektedir. İnterlökin-8, fibrinojen ve kolesterol düzeylerini hasta grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulurken, C-reaktif protein düzeylerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Sonuç olarak Kp infeksiyonunun KAH ve ateroskleroz riskini arttırdığını bildirmişlerdir. Yine Halvorsen ve ark. (80) yaptığı çalışmada MI geçiren genç hastalarda IgA ve IgG seroprevalansını kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır.

Ancak, Kp'nın toplum kökenli pnömonilerin %10-16'sından sorumlu bir alt solunum yolu patojeni olması ve 20'li yaşlardan sonra insanların yaklaşık %50'sinin bu mikroorganizma ile temas etmiş olabilmeleri, Kp'ya karşı oluşan immün cevabın pnömonili hasta grubunda da ortaya çıkabileceğini düşündürmüştür. Bundan dolayı Kp ile koroner patoloji arasındaki ilişkiyi sadece serolojik çalışmalarla kuran hipotezler üzerine yapılan çalışmalar şüpheyi karşılanmıştır (58,81,82).

Bu nedenle son yıllardaki çalışmaların çoğunda serolojik testlerin yanı sıra aterosklerotik lezyondaki kolonize olmuş Kp cisimciklerinin hücre kültüründe izolasyonu, histokimyasal boyama yöntemleri veya Kp'nın genomuna ait spesifik sekansların in vitro şartlarda amplifiye edilerek gösterildiği PZR testleri birlikte kullanılmıştır. Güney Afrika'da kalp hastalığı dışı nedenle ölen ancak koroner damarlarında ateroskleroz tespit edilen 36 vakanın postmortem ateromatöz doku incelemelerinde örneklerin %56'sında histokimyasal boyama yöntemi ile Kp antijenleri tespit edilmiş. Yine bu örneklerin tamamı Kp'nın 16S

rRNA genine ait spesifik diziyi hedef alan primerlerin kullanıldığı PZR yöntemi ile de pozitif bulunmuştur (81). Bu yayından sonra histokimyasal boyama ve PZR yönteminin kullanıldığı çok sayıdaki çalışmada koroner yakınması olan hastalardan alınan aterektomi veya postmortem biyopsi örneklerinde doku makrofajlarında, monositlerde ve ateromatöz lezyon görülen koroner damar dışındaki femoral, iliak arter gibi damarlara ait doku örneklerinde Kp'nın varlığı gösterilmiştir (69).

Farsak ve ark. (83) Kp ve Helikobakter pilori DNA'larının varlığını, KABG, karotis endarterektomi ve abdominal aorta cerrahisi yaptıkları 85 hastanın arterlerinden aldıkları doku örneklerini PZR ile inceleyerek araştırmışlardır. Sağlıklı asendan aortadan aldıkları 39 doku örneğini 49 endarterektomi spesmeni ile karşılaştırmışlar; hasta grubunda Kp DNA pozitifliğini %26, Helikobakter pilori pozitifliğini %17 oranında bulurken, kontrol grubundaki örneklerin hiçbirinde bu mikroorganizmalara rastlanmamıştır. Aterosklerotik plaklarda bu mikroorganizmaların DNA'larına rastlanırken sağlam dokularda rastlanmamış olması ateroskleroz gelişiminde rolleri olabileceğini düşündürmüştür.

Robinson ve ark. (84) KABG operasyonu yaptıkları 21 hastadan aldıkları aorta, internal torasik arter ve safen ven doku örneklerinde PZR ile Kp DNA'sını araştırmışlardır. Altı aterosklerotik aortanın 4'ünde ve 11 aterosklerotik internal torasik arterin 6'sında Kp DNA'sına rastlanırken safen ven örneklerinde ve aterosklerotik olmayan örneklerde rastlanmamıştır. Bu çalışmadaki bulgular, bizim çalışmamızdaki bulgular ile benzerdir. Bizim çalışmamızda da aorta, internal torasik arter ve sağ atriumdan alınan doku örneklerinde Kp DNA'sı araştırıldı. Benzer olarak 51 hastadan aldığımız aorta örneklerinden 12'sinde Kp DNA'sı saptanırken, farklı olarak internal torasik arter ve atrium doku örneklerinin hiçbirinde Kp DNA'sına rastlamadık.

Kuo ve ark. (60) ateromatöz lezyonlarda Kp antijenlerini histokimyasal yöntemlerle araştırdıkları bir çalışmada 17 fibröz plağın 6'sında Kp'nın varlığını göstererek ateroskleroz ile arasında bir ilişkinin olduğunu ancak, daha fazla sayıda örneğin değerlendirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Bu grubun daha sonra yaptığı çok merkezli PDAY çalışmasında 15-34 yaş grubundaki hastalardan alınan postmortem biyopsi örnekleri kullanılmış, 49 kişiden alınan LAD doku örneklerinin 7'sinde ateromatöz plak, 11'inde intimal kalınlaşma bulurken 31 örnekte patolojiye rastlanmamıştır. Yapılan histokimyasal incelemede 8 hastada Kp pozitif bulunurken bunların 7'sinin (%86) ateromatöz plak grubundan olduğu görülmüştür. Yine 3 örnekte de PZR ile Kp pozitif bulurken normal görünümlü 31 örneğin hiçbirinde Kp'yi görmediklerini bildirmişlerdir. Onbeş-otuzdört yaşları arasındaki hastalara ait örnekleri

değerlendirdikleri bu çalışma sonunda Kp'nın sadece yaşlılarda değil, genç yetişkinlerde görülen koroner patolojiden de sorumlu olabileceğini vurgulamışlardır (7).

Davidson ve ark. (85) aynı amaçla yaptıkları bir çalışmada, %97'si kardiyovasküler olmayan nedenlerle ölen, yaş ortalaması 34.1 olan 60 kişiden postmortem alınan koroner arter dokusu ve bu kişilerden ölmeden önce alınan kan örnekleri çalışılmış. Dokulardan histokimyasal boyama ve PZR yöntemi ile Kp DNA'sı araştırılırken serum örneklerinden de IgA, IgG ve IgM antikorlarına bakılmış. Örneklerin %25'inde köpük yüklü makrofajlar koroner fibrolipid aterom plaklarında tespit edilirken %11'inde erken yağlı çizgilenmeler tespit edilmiştir. Örneklerin %23'ünde PZR ile Kp DNA'sı pozitif bulunmuş. IgG, IgA ve IgM antikorları sırasıyla 1/16 dilüsyonda %84, %57 ve %5 oranında saptanırken bu oranlar 1/128 dilüsyonda %63, %13 ve %0 olarak değişmiştir. Bu sonuçlarla Kp kronik infeksiyonu ile erken ateroskleroz gelişimi ve koroner arter hastalığı arasında ilişki olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda ise Kp IgG, IgA ve IgM antikorları, zaten dokularda PZR ile DNA araştırılacağı için sadece 1/100 dilüsyonda çalışıldı.

Grayston ve ark. (55) endarterektomi ile elde edilmiş 5 taze doku örneğinin 3'ünde PZR ile Kp kolonizasyonunu göstermişler ve Kp ile aterosklerotik lezyonlar arasında pozitif ilişkinin varlığını bildirmişlerdir. Buna karşılık aterosklerotik lezyonu olmayan 6 koroner damar örneğinden hazırladıkları 13 preparatta Kp'nın görülmediğini belirterek Kp ve ateroskleroz arasındaki ilişkiyi desteklemişlerdir.

Campbell ve ark. (81) koroner damarlardaki primer stenoz ve restenoz gelişimi ile Kp infeksiyonlarının ilişkisini tespit amacıyla planladıkları çalışmada aterektomi ile elde ettikleri doku örneklerini histokimyasal boyama ve PZR yöntemleri ile değerlendirmişlerdir. Primer stenozlu hasta örneklerinin %43'ünde, restenozlu hasta örneklerinin %67'sinde PZR yöntemi ile Kp'ya ait hedef dizileri tespit ederken, bu oran histokimyasal boyamada ise sırasıyla %32 ve %45 olarak bulunmuştur. Tüm hastaların %72'sinin seropozitif olduğu bu çalışmada Kp'nın restenoz için önemli bir risk faktörü olduğu vurgulanmıştır.

Yine aynı amaçla Bartels ve ark. (10) redo KABG operasyonu yapılan hastalarda yaptığı bir çalışmada, 38 oklüde safen ven greftini 20 nativ safen ven grefti ile Kp ve sitomegalovirüs pozitifliği açısından PZR yöntemi ile karşılaştırmışlar. Oklüde safen ven greftlerinde Kp DNA'sının pozitifliği %25 oranında rastlanırken, nativ greftlerde bu oran %5 olarak bulunmuş. Her iki grupta sitomegalovirüs DNA'sına rastlanmamıştır. Benzer sonuçlar Wong ve ark. (11) yaptığı çalışmada da gösterilmiştir.

Ateroskleroz oluşumu ve Kp arasındaki pozitif ilişkinin ima edildiği çalışmaların tümünde Kp infeksiyonunun yaş, ırk, sigara, hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabet ve alkol kullanımı gibi koroner damar hastalıklarının risk faktörlerinden bağımsız olarak patolojide rol oynadığı ileri sürülmüştür (78,86). Bizim yaptığımız bu çalışmada da 51 hastanın oluşturduğu bu iki grup hastayı yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, diyabet, hipertansiyon, sigara kullanımı, total kolesterol düzeyi, USAP, MI, ve pozitif aile hikayesi bağımsız risk faktörleri yönünden karşılaştırdığımızda iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

Bu öngörülerini desteklemek amacıyla Xu ve ark. (87) yaptıkları çalışmada, insanların aterosklerotik lezyonlarında Kp'ya ait olup yüksek insidanda varlığı tespit edilen ısı şok proteini 60'ı (ISP60) normokolesterolemisi olan tavşanlarda immünizasyon amacıyla kullanmışlar. İmmünize edilen tavşanlarda 4. haftadan itibaren koroner damarlarda aterosklerotik değişimlerin başladığını belirten bu grup, Kp'ya bağlı ateroskleroz gelişiminde, kronik infeksiyonlarda açığa çıkan ve otoimmüniteye yol açan Isı Şok Protein'inin etkili olabileceğini öne sürerek Kp infeksiyonunun kolesterolden bağımsız olarak ateroskleroz gelişimi için risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir. Daha sonraki yıllarda bu amaçla yapılan çalışmalarda, kronik Kp infeksiyonlarında bulunan artmış anti-ISP60 IgG ve IgA antikorlarının KAH için bir risk faktörü olabileceğini belirtmişlerdir (88-90).

Klamidya pnömonia infeksiyonu ve koroner patoloji arasındaki ilişkiyi spekülatif bulan çalışmalar da yayınlanmıştır. Weiss ve ark. (70) yaptıkları çalışmada, KAH ve Kp arasındaki ilişkiyi tespit için perkütan aterektomi yapılan 38 hastaya ait aterom plak örneğini kültür ve PZR yöntemleri ile değerlendirmişlerdir. Örneklerin tümü kültür ile negatif iken, bir örnekte Kp'nın 16S rRNA geni yönünden PZR ile pozitif bulunmuştur. Bu grupta yer alan hastalardaki IgG titrelerinin, kontrol grubunda yer alan kişilerden daha düşük olduğunu göstermişler ve sonuçta Kp ve ateroskleroz arasında bir ilişki olamayacağını belirtmişlerdir. Ericson ve ark. (91) Kp infeksiyonu ve insan koroner aterosklerozunun şiddeti arasındaki ilişkiyi göstermek üzere yaptıkları postmortem çalışmada, Kp intrasellüler infeksiyonunun bazı olgularda ateroskleroz şiddeti ile ilgili olabileceği hipotezini desteklemişler fakat, şiddetli ve ılımlı ateroskleroz gruplarında serum antikor titrelerinde bir farklılık bulamamışlar. Yine Ong ve ark. (69) İngiltere'de yaptıkları ve opere edilen 32 hastanın aorta, femoral arter, iliak arter ve iliak venlerinden alınan aterosklerotik lezyonlu dokuları MOMP geni yönünden PZR yöntemiyle değerlendirdikleri çalışmada, hastaların %44'ünde Kp'nın varlığını göstermişlerdir. Kp'nın aterosklerotik lezyonlarda bulunduğunu ancak bu kolonizasyonun iltihabi değişiklikleri başlatarak ateroskleroz oluşumuna yol açtığını söylemenin mümkün

olmadığını ileri sürerek hayvan deneyleri ile ve geniş spektrumlu antimikrobiyallerin kullanıldığı progresif çalışmaların gerektiğini bildirmişlerdir.

Biz bu çalışmada USAP veya MI nedeniyle anjiyografi yapıp koroner damar hastalığı tespit edilen ve “bypass” kararı alınan 50 yaşın altındaki hastaları inceledik. Operasyon esnasında hastaların aorta, sol internal torasik arter ve atriumlarından alınan doku örneklerinde PZR ile Kp DNA’sının varlığını araştırdık. Yine bu çalışmada tüm hastalardan alınan kan örnekleri ile Kp’ya spesifik IgG, IgA ve IgM türü antikor cevapları IIFT yöntemiyle değerlendirildi. Bu yöntem infeksiyonların serolojik tanısında kullanılan düşük titrasyonlardaki kros reaksiyonlar sebebiyle spesifitesi tartışılmasına rağmen, halihazırda kullanılan en güvenilir noninvaziv yöntem olma özelliğine sahiptir. Bizim çalışmamızda da Kp IgG, IgA ve IgM antikor varlığı 1/100 titrasyonda çalışıldı. Daha yüksek titrasyonlarda çalışılmamasının sebebi, zaten bu hastaların hepsinde PZR ile DNA tespitinin yapılacak olmasıydı. Bu çalışmada ilginç olarak 51 hastanın tümünde IgG antikorları pozitif bulunurken, IgM hastaların tümünde negatifti. IgA ise hastaların %86.3’ünde pozitif olarak bulunurken iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. IgA ise Grup 1 ve Grup 2’de sırasıyla %87 ve %85.7 oranlarında saptanırken, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

PZR tekniği, tanısında güçlük çekilen, özellikle viruslar başta olmak üzere çok sayıdaki mikroorganizmanın direkt tanısında yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip bir yöntem olarak kullanılan, mikroorganizmanın genom veya plazmidinde yer alan spesifik nükleik asit dizilerinin in vitro şartlarda amplifiye edilerek gösterilmesi esasına dayanan basit ve hızlı bir tanı yöntemidir.

Kp ile oluşan infeksiyonlarda da önceleri mikroorganizmanın hücre kültüründe izole edildiği tanı yöntemleri gold standart olarak kabul edilmiştir. Ancak mikroorganizmanın in vitro şartlarda duyarlılığı, transport esnasında canlılığını kısa sürede yitirmesi, derin dokuya invazyonu gibi sebeplerle bu yöntemin sensitivitesi düşük (%60-65) bulunmuştur. Buna karşılık, Kp genomuna ait Pst 1, MOMP ve 16S rRNA geninin spesifik bölgelerini hedef alan PZR yöntemi ile örneklerdeki 100 pg nükleik asiti amplifiye etmek mümkün hale gelmiştir. Testin spesifitesinin de %100 olduğu gösterilmiştir (70,92).

Biz de çalışmamızda aldığımız doku örneklerinde Kp varlığını tespit etmek amacı ile Klamidya pnömonia genomunun MOMP geninin 79 baz çiftlik bölümünü hedef alan bölgeyi real-time PZR ile inceledik. PZR yöntemi ile değerlendirdiğimiz 51 hastanın atrium ve sol internal torasik arterlerinden alınan doku örneklerinin hiçbirinde Kp DNA’sına rastlanmadı.

Buna karşılık asendan aortadan alınan doku örneklerinin 12'sinde (%23.5) hedef dizi ile uyumlu nükleik asitlerin varlığını tespit ettik. Bunların 2'si grup 1'de iken, 10'u grup 2'ye aitti. Aort duvar kalınlığı artmış olanlarda, olmayanlara göre Kp DNA'sının varlığı istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Asendan aorta doku örneklerindeki bu Kp DNA'sının pozitifliği benzer bir çalışma olan Farsak ve ark. (83)'nın %50'lik oranından düşük bulunmuştur. Yine Robinson ve ark. (84) yaptığı çalışmada da asendan aorta ve internal torasik arter doku örneklerinden yaptıkları çalışmadaki pozitiflik oranı bizim çalışmamızdan yüksek bulunmuştur. Blasi ve ark. (93) yaptıkları çalışmada aortik anevrizmalı hastalarda Kp DNA'sını %51 oranında pozitif bulmuşlardır. Oranlar arasındaki farklılıklar PZR protokolünün uygulanması, örneğin seçimi, transportu, kullanılan yöntem ile çapraz reaksiyonlar gibi yöntemle bağlı sebepler ve diğer lokal risk faktörlerine bağlı olarak da değişebilir.

Bizim çalışmamızda, PZR pozitif bulunan grup, PZR negatif bulunan 39 hastayla karşılaştırıldığında, iki grup arasında yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, diyabet, hipertansiyon, sigara kullanımı, total kolesterol düzeyi, USAP, MI, ve pozitif aile hikayesi gibi bağımsız risk faktörleri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Aort duvar kalınlığı artmış olanlarda, olmayanlara göre Kp DNA pozitiflik oranını anlamlı olacak şekilde artmış bulduk. PZR pozitif bulunan grupla, negatif bulunan grup arasında IgA antikor pozitifliği açısından anlamlı fark saptamadık.

Sinisalo ve ark. (94) 4 aylık doksisisiklin tedavisinin Kp serolojik markırları ve koroner risk faktörlerine etkisini araştırmışlar fakat doksisisiklin monoterapisinin tek başına Kp kronik infeksiyonunu eradike etmede yeterli olmadığını düşünmüşlerdir. Muhlestein ve ark. (95)'nin yaptığı ACADEMIC çalışmasında KAH'da 3 aylık azitromisin ve plasebo tedavisini karşılaştırmışlar fakat, iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yine 4000 hastayı içeren ACES çalışmasında KAH olan hastalara azitromisin verilmiştir (96). WIZARD çalışmasında ise 3500 seropozitif koroner arter hastasında haftalık azitromisin ve plasebo tedavisi karşılaştırılmıştır (97). Azitromisinin kullanıldığı 1400 hastalık AZACS çalışması ve yine 4200 hastayı kapsayan PROVE-IT çalışmaları da hala devam etmektedir. Bu klinik çalışmalardan elde edilen veriler Kp ve ateroskleroz ilişkisine yönelik olarak genişletilmelidir. Bununla birlikte optimal antibiyotik rejiminin, dozunun, tedavi periyodu ve takibinin yapılabilmesi için patolojik mekanizmalar iyi şekilde açıklanmalıdır.

## SONUÇLAR

Klamidya pnömonia kronik infeksiyonu ve ateroskleroz arasındaki muhtemel ilişkiyi göstermek amacıyla planlanan bu çalışmada, kliniğimizde opere edilen elli yaşın altındaki 51 hastanın aorta, sol internal torasik arter ve atrium dokularında Kp DNA'sı araştırıldı. Tüm bu hastalarda yine Kp'ya karşı oluşan antikor pozitifliğine bakıldı. Hastalar aorta duvar kalınlıklarına göre iki gruba ayrıldı. Araştırmada 44 (% 86.3) erkek ve 7 (% 13.7) kadın olmak üzere toplam 51 gönüllü hasta çalışmaya alındı.

1. Grup 1 (aorta<2 mm) ve Grup 2'deki (aorta≥2 mm) hastalar yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, diyabet, hipertansiyon, sigara kullanımı, total kolesterol düzeyi, USAP, MI, ve pozitif aile hikayesi bağımsız risk faktörleri açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
2. IIFT yöntemi ile tüm hastalardan alınan serum örneklerinde Kp'ya karşı oluşan IgA, IgG ve IgM antikor düzeylerine 1/100 titrede bakıldığında, IgM tüm hastalarda negatif bulunurken IgG ise hastaların tümünde pozitif bulundu. IgA pozitifliğine ise %86.3 oranında rastlanırken, Grup 1 ve Grup 2 arasında IgA pozitifliği bakımından anlamlı farklılık saptanmadı. Yine PZR (+) bulunan hastalarla negatif bulunanlar karşılaştırıldığında, iki grup arasında IgA pozitifliği bakımından anlamlı farklılık saptanmadı.
3. Hastalardan alınan asendan aorta, sol internal torasik arter ve atriyum dokularında Kp varlığını tespit etmek amacı ile Klamidya pnömonia genomunun MOMP geninin 79 baz çiftlik bölümünü hedef alan bölgeyi real-time PZR ile incelediğimizde, atriyum ve sol internal torasik arter örneklerinin tümünde PZR (-) olarak bulundu.

4. Çalışmaya alınan 51 hastanın asendan aorta örneklerinin 12'sinde (% 23.5), PZR ile Kp DNA'sına uygun nükleik asit dizilerine rastlandı. Grup 1'deki hastalardan sadece 2'sinde (% 8.7) PZR (+) iken, grup 2'deki hastaların 10'unda (% 35.7) PZR pozitif olarak bulundu.
5. PZR (+) grup ile PZR (-) grup arasında IgA, IgG ve IgM antikorlarının pozitifliği açısından fark saptanmadı.
6. PZR (+) grup ile PZR (-) grup; yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi, diyabet, hipertansiyon, sigara kullanımı, total kolesterol düzeyi, USAP, MI, ve pozitif aile hikayesi gibi bağımsız risk faktörleri açısından karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken, Kp DNA'sına rastlanan hastaların çoğunda aorta duvar kalınlığı  $\geq 2$  mm idi.
7. Genç hastalara ait atriyum ve sol internal torasik arter örneklerinde Kp DNA'sına rastlanmazken, asendan aorta gibi ateroskleroza yatkın bölgede % 23.5 gibi yüksek oranda rastlanmıştır.
8. Bu hastaların çoğunda intimal kalınlık artmış olarak bulunmuşken, antikor düzeyleri ile DNA pozitifliği arasında ilişki saptanmamıştır.
9. Çalışmamızda Kp ile ateroskleroz oluşumu arasındaki muhtemel bir ilişki düşünülmüşse de, Kp'nın damarlardaki kolonizasyonu ve geçirilmiş Kp infeksiyonlarının damarlarda aterosklerotik lezyonlar için tetikleyici mi yoksa süperinfeksiyon şeklinde mi dahil oldukları sorusu açıklık kazanmamıştır. Bu nedenle, Kp ve ateroskleroz ilişkisine yönelik olarak daha geniş vaka-kontrol grupları ile çalışmalar yapılmalıdır.

## ÖZET

İskemik kalp hastalığının nedeni olan ateroskleroz gelişiminin nedenleri hala tartışmalıdır. Hiperlipidemi, hipertansiyon, erkek cinsiyet, obezite, sigara ve diyabet gibi klasik risk faktörleri geniş ölçüde tartışılmıştır. Ancak toplumdaki koroner arter hastalığı prevalansını açıklamada bu klasik risk faktörleri tek başlarına yeterli olamamaktadır. Klinik veriler ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar kronik infeksiyonların da ateroskleroza tetiklediğini düşündürmektedir.

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi kliniğinde elektif şartlarda primer koroner “bypass” operasyonu yapılan 50 yaşın altındaki toplam 51 hasta rızaları alınarak çalışmaya dahil edildiler. Asendan aorta duvar kalınlığına göre iki gruba ayrılan hastaların, intraoperatif dönemde alınan atriyum, sol internal torasik arter ve asendan aorta dokularında Klamidya pnömonia DNA’sı olup olmadığı incelendi.

Hastaların tümünün atriyum ve sol internal torasik arter dokularında Klamidya pnömonia DNA’sına rastlanmadı. Oniki hastada aorta dokularında Klamidya pnömonia DNA’sına rastlandı. Aorta duvar kalınlığı artmış olan grupta Klamidya pnömonia DNA’sı ince olan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde fazla görüldü. Her iki grup arasında aterosklerozun bağımsız risk faktörleri açısından anlamlı fark saptanmadı.

Sonuç olarak, KAH tanısı konup koroner “bypass” operasyonu yapılan genç hastalara ait asendan aorta gibi ateroskleroza yatkın bir bölgede % 23.5 gibi yüksek oranda Klamidya pnömonia’ya rastlanmıştır. Çalışmamızda Klamidya pnömonia ile ateroskleroz oluşumu arasındaki muhtemel ilişki ve bunun aterosklerotik lezyonlar için tetikleyici mi yoksa süperinfeksiyon şeklinde mi olduğu gösterilememiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kardiyopulmoner “bypass”, Klamdiya pnömonia, ateroskleroz, koroner arter “bypass”.

# **ROLE OF CHLAMYDIA PNEUMONIA IN ATHEROSCLEROTIC PROCESS OF PATIENTS WITH CORONARY ARTERY BYPASS GRAFT SURGERY UNDER FIFTY YEARS OLD**

## **SUMMARY**

Usual reasons of atherosclerosis which cause ischemic heart disease are still controversial. Risk factors such as hiperlipidemia, hipertension, male gender, obesity, diabetes mellitus and smoking are widely studied. These usual risk factors do not able to fully explain the prevalence of coronary artery disease. Clinical data and animal models suggest that common chronic infections may also contribute to the pathogenesis of atherosclerosis.

Fifty-one patients under fifty years old, operated for isolated coronary bypass operation at Trakya University Cardiovascular Surgery Unit with informed consent were included in the study. Chlamydia pneumoniae DNA was studied from the atrial, left internal thoracic artery and ascending aortic tissues of patients which were seperated into two groups due to intimal thickness of ascending aorta.

Chlamydia pneumoniae DNA was not detected atrial and left internal thoracic artery tissues of all patients. Chlamydia pneumoniae DNA was detected in ascending aortic tissues of twelve patients. Chlamydia pneumoniae DNA existence was statistically significant high in the group that aortic intimal thickness increased when compared to other group. Independent risk factors of atherosclerosis were not statistically significant when compared between two groups.

As a result, Chlamydia pneumoniae DNA was detected in 23.5 % of ascending aorta of the young patients underwent coronary arter bypass graft surgery. In our study, it can not be an answered question that relationship between atherosclerosis formation and Chlamydia pneumoniae chronic infection is a trigger for atherosclerotic lesions or superinfection.

**Keywords:** Cardiopulmonary bypass, Chlamydia pneumoniae, atherosclerosis, coronary bypass.

## KAYNAKLAR

1. Fuster V. Epidemic of cardiovascular disease and stroke: The three main challenges. *Circulation* 1999;99:1132-7.
2. Murray CJ, Lopez AD. Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1269-76.
3. Hennekens CH. Increasing burden of cardiovascular disease. Current knowledge and future directions for research on risk factors. *Circulation* 1998;97:1095-102.
4. Pocock SJ, Shaper AG, Phillips AN. HDL-cholesterol, triglycerides and total cholesterol in ischaemic heart disease. *Br Med J* 1989;298:998-1002.
5. Abalı G, Oto A. Ateroskleroz epidemiyoloji ve patogenezi. Duran E (Editör). Kalp ve damar cerrahisi. Birinci baskı. İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004: p.1337-42.
6. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Çeviri: Edalı N). Kan Damarı Hastalıkları. Çevikbaş U (Editör). Temel Patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2. Baskı 1995:283-9.
7. Kuo C, Grayston JT, Campbell LA, Goo YA, Wissler RW, Benditt EP. Chlamydia pneumoniae (TWAR) in coronary arteries of young adults (15-34 years old). *PNAS* 1995;92: 6911-4.
8. Sandeep G, Camm AJ. Chlamydia Pneumoniae and coronary heart disease. *BMJ* 1997;314:1778-9.
9. Spence JD, Norris J. Infection, Inflammation, and Atherosclerosis. *Stroke* 2003;34:333-4.
10. Bartels C, Maass M, Bein G, Malisius R, Brill N, Bechtel M, et al. Detection of Chlamydia pneumoniae but not Cytomegalovirus in occluded saphenous vein coronary artery bypass grafts. *Circulation* 1999;99:879-82.

11. Wong YK, Thomas M, Tsang V, Gallagher PJ, Ward ME. The prevalence of Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic and nonatherosclerotic blood vessels of patients attending for redo and first time coronary artery bypass graft surgery. J Am Coll Cardiol 1999;33:152-6.
12. Zarins CK, Glagov S. Artery Wall Pathology in Atherosclerosis. In: Rutherford RB (Ed). Vascular Surgery. Fifth Edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2000:p.204-22.
13. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO (Çeviri: R Sayın, A Canbilen, M Aktan). Dolaşım Sistemi. Temel Histoloji. İstanbul: Barış Kitabevi; 1993:254-72.
14. Libby P. The pathogenesis of atherosclerosis. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL(Eds). Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th Edition. New York: McGraw-Hill Companies; 2001:p1377-87.
15. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis. N Engl J Med 1976;295:420-5.
16. Biegelsen ES, Loscazo J. Endothelial function and atherosclerosis. Coron Artery Dis 1999;10:241-56.
17. Falk E, Fuster V (Çeviri: Güneş Y). Hurst's The Heart 10. Baskısının Türkçe çevirisi. İstanbul: And Danışmanlık Eğitim Yayıncılık ve Organizasyon Ltd Şti; 1. Baskı 2002;p.1065-109.
18. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001;21:1876-90.
19. Dansky HM, Charlton SA, Harper MM, Smith JD. T and B lymphocytes play a minor role in atherosclerotic plaque formation in the apolipoprotein E-deficient mouse. Proc Natl Acad Sci USA. 1997;94:4642-6.
20. Napoli C, Witztum JL, De Nigris F, Palumbo G, D'Armiento FP, Palinski W. Intracranial arteries of human fetuses are more resistant to hypercholesterolemia induced fatty streak formation than extracranial arteries. Circulation 1999;99:2003-10.
21. Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. Circulation 1999;100:1481-92.
22. Grundy SM, Wilhelmsen L, Rose G, Campbell RW, Asman G. Coronary heart disease in high risk populations: Lessons from Finland. Eur Heart J 1990;11:462-71.
23. Burke AP, Farb A, Malcolm GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R. Effect of risk factors on the mechanisms of acute thrombosis and sudden coronary death in women. Circulation 1998;97:2110-6.

24. Ockene IS, Miller NH. Cigarette smoking, cardiovascular disease, and stroke: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. American Heart Association Task Force on Risk Reduction. *Circulation* 1997;96:3243-7.
25. Frei B, Forte TM, Ames BN, Cross CE. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma: Protective effects of ascorbic acid. *Biochem J* 1991;277:133-8.
26. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, et al. Cigarette smoking is associated with dose related and potentially reversible improvement of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993;88:2149-55.
27. Gordon T, Kannel WB, Mc Gee D, Dawber TR. Death and coronary attacks in men after giving up cigarette smoking: A report from the Framingham study. *Lancet* 1974;2:1345-8.
28. Tsevat J, Weinstein MC, Williams LW, Tosteson AN, Golman L. Expected gains in life expectancy from various coronary heart disease risk factor modifications. *Circulation* 1991;83:1194-201.
29. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:484-92.
30. Franklin SS, Khan SA, Wong ND, Larson MG, Levy D. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease? The Framingham Heart Study. *Circulation* 1999;100:354-60.
31. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. Joint National Committee on prevention, evaluation and treatment of high blood pressure. The seventh report of the joint national committee on prevention detection, evaluation and treatment of high blood pressure (JNC 7 Report). National Institutes of Health; National Heart, Lung and Blood Institute. *JAMA* 2003;289:2560-72.
32. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BW, et al. Diabetes and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1999;100:1134-46.
33. UK Prospective Study Group: Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type II diabetes. UKPDS 38. *Br Med J* 1998;317:703-13.
34. Eckel RH, Krauss RM. American Heart Association call to action: Obesity as a major risk factor. *Circulation* 1998;97:2099-100.
35. Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 1998;98:731-3.

36. Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease. Is there a link? *Lancet* 1997;350:430-6.
37. Langrand WK, Visser CA, Hermens WT, Niessen HW, Verheugt FW, Wolbink GJ, et al. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor: More than an epiphenomenon? *Circulation* 1999;100:96-102.
38. Ikonomidis I, Lekakis J, Revela I, Andreotti F, Nihayannopoulos P. Increased circulating C-reactive protein and macrophage-colony stimulating factor are complementary predictors of long-term outcome in patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2005;26:1618-24.
39. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998;351:88-92.
40. Libby P, Ridker PM. Novel inflammatory markers of coronary risk: Theory versus practice (editorial). *Circulation* 1999;100:1148-50.
41. Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation* 1997;96:4095-103.
42. Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF, Radicke E, Thomson MJ, Karagounis LA, et al. Increased incidence of chlamydia species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:1555-61.
43. Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial heat shock protein localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor- $\alpha$  and matrix metalloproteinase expression. *Circulation* 1998;98:300-7.
44. Tipping PG, Hancock WW. Production of tumor necrosis factor and interleukin-1 by macrophages from human atheromatous plaques. *Am J Pathol* 1993;142:1721-8.
45. Thomas M, Wong Y, Thomas D, Ajaz M, Tsang V, Gallagher PJ, et al. Relation between direct detection of chlamydia pneumoniae DNA in human coronary arteries at postmortem examination and histological severity (Stary grading) of associated atherosclerotic plaque. *Circulation* 1999;9:2733-6.
46. Fletcher GF, Balady G, Blair SN, Blumenthal J, Caspersen C, Chaitman B. Statement on exercise: Benefits and recommendations for physical activity. *Circulation* 1996;94:857-62.
47. Rissanen A, Nikkila EA. Coronary artery disease and risk factors in families of young men with angina pectoris and in controls. *Br Heart J* 1977;39:875-83.
48. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049-57.

49. Siri PW, Verhoef P, Kok FJ. Vitamins B6, B12 and folate: association with plasma total homocysteine and risk of coronary atherosclerosis. *J Am Coll Nutr* 1998;17:435-41.
50. Lilford RJ, Dalton ME. The wide range of chlamydial infection. *Br Med J* 1987;295:156-7.
51. Wang SP, Kuo CC, Grayston JT. Formalinized *C. trachomatis* organisms as antigens in the microimmunofluorescence test. *J Clin Microbiol* 1979;10:259-61.
52. Belland RJ, Oullette SP, Gieffers J, Byrne GI. *Cellular Microbiology* 2004;6:117-24.
53. Kuo CC, Jackson LA, Campbell LA, Grayston JT. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). *Clin Microbiol Rev* 1995;8:451-61.
54. Cles LD, Stamm WE. Use of HL cells for improved isolation and passage of *C. pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1990;28:938-40.
55. Grayston JT, Kuo CC, Coulsan AS. *Pneumoniae* (TWAR) in atherosclerosis of the carotid artery. *Circulation* 1995;92:3397-400.
56. Cook PJ, Davies P, Tunnicliffe W, Ayres JG, Honeybourne D, Wise R. *Chlamydia pneumoniae* and asthma. *Thorax* 1998;53:254-9.
57. Gaydos CA, Roblin PM, Hammerschlag MR, Hyman CL, Eiden JJ, Schachter J, et al. Diagnostic utility of PCR-enzyme immunoassay, culture, and serology for detection of *Chlamydia pneumoniae* in symptomatic and asymptomatic patients. *J Clin Microbiol* 1994;32:903-5.
58. Hahn DL. *Chlamydia pneumoniae* in asthma. *Eur Respir J* 2005;25:392-4.
59. Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L. Chronic *pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki heart study. *Ann Intern Med* 1992; 116:273-8.
60. Kuo CC, Gown AM, Benditt EP, Grayston JT. Detection of *chlamydia pneumoniae* in aortic lesions of atherosclerosis by immunocytochemical stain. *Arterioscler Thromb* 1993;13:1501-4.
61. Akan E. TWAR. *Tıbbi Mikrobiyoloji*. 2. Baskı. İzmir: Saray Medikal Yayıncılık San ve Tic Ltd Şti; 1993: p.651-4.
62. Chi EY, Kuo CC, Grayston JT. Unique ultrastructure in the elementary body of sp. Strain TWAR. *J Bacteriol* 1987;169:3757-63.
63. O'Connor S, Taylor C, Campbell LA, Epstein S, Libby P. Potential infectious etiologies of atherosclerosis: A multifactorial perspective. *Synopses* 2001;7:780-8.
64. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Nothfield TC. C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ* 1996;312:1061-5.

65. Aydınlı A, Durmaz G, Us T, Akgün Y, Ünalır A. Aterosklerotik kalp hastalarında Chlamydia Pneumoniae'nın serolojik tanısında enzim immunoassay (EIA)'ın kullanımı. *İnfeksiyon Dergisi* 2003;17:409-14.
66. Laitinen K, Laurila AL, Leinonen M, Saikku P. Reactivation of C. pneumoniae infection in mice by cortisone treatment. *Infect and Immun* 1996;64:1488-90.
67. Gupta S, Leatham EW. The relation between C. pneumoniae and atherosclerosis. *Heart* 1997;77:7-8.
68. Waters D, Craven TE, Lesperance J. Prognostic significance of progression of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1993;87:1067-75.
69. Ong G, Thomas BJ, Mansfield AO, Davidson BR, Robinson DT. Detection and widespread distribution of C. pneumoniae in the vascular system and its possible implications. *J Clin Pathol* 1996;49:102-6.
70. Weiss SM, Roblin PM, Gaydos CA, Cummings P, Patton DL, Schulhoff N, et al. Failure to detect Chlamydia pneumoniae in coronary atheromas of patients undergoing atherectomy. *J Infect Dis* 1996;173:957-62.
71. Matsuyama K, Goto T, Baba T, Shibata Y, Otsuka Y, Sakata R, et al. Echocardiographic and pathological evaluation of atherosclerosis in the ascending aorta during coronary artery bypass grafting. *Anesth Analg* 2000;90:1262-8.
72. Wareing TH, Davila-Roman VG, Barzilai B, Murphy SF, Kouchoukos NT. Management of the severely atherosclerotic ascending aorta during cardiac operations. A strategy for detection and treatment. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;103:453-62.
73. Tondella MLC, Talkington DF, Holloway BP, Dowell SF, Cowley K, Gabarro MS, et al. Development and evaluation of Real-Time PCR based fluorescence assays for detection of Chlamydia pneumoniae. *J Clin Microbiol* 2002;40:575-83.
74. Adam E, Melnick JL, Probstfield JL, Petrie BL, Burek J. High levels of cytomegalovirus antibody in patients requiring vascular surgery for atherosclerosis. *Lancet* 1987;2:563-7.
75. Melnick JL, Adam E, De Bakey ME. Possible role of cytomegalovirus in atherogenesis. *JAMA* 1990;263:2204-7.
76. Saikku P, Mattila K, Nieminen MS. Serological evidence of an association of a novel chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988;2:983-6.
77. Moazed TC, Kuo CC, Patton DL, Grayton JT, Campbell LA. Experimental rabbit models of chlamydia pneumoniae infection. *Am J Pathol* 1996;148:667-76.
78. Wimmer ML, Sandmann-Strupp R, Saikku P, Haberl RL. Association of chlamydial infection with cerebrovascular disease. *Stroke* 2000;31:2519-21.

79. Pieniazek P, Karczewska E, Stepień E, Tracz W, Konturek SJ. Incidence of *Chlamydia pneumoniae* infection in patients with coronary artery disease subjected to angioplasty or bypass surgery. *Med Sci Monit* 2001;7(5):995-1001.
80. Halvorsen DS, Borvik T, Njolstad I, Gutteberg TJ, Vorland LH, Hansen JB. *Chlamydia pneumoniae* IgA and IgG antibodies in young survivors of myocardial infarction. A comparison of antibody detection by microimmunofluorescence test and an enzyme immunoassay. *J Intern Med* 2002;251:142-7.
81. Campbell LA, O'Brien ER, Cappuccino AL, Kuo CC, Wang SP, Stewart D, et al. Detection of *Chlamydia pneumoniae* TWAR in human coronary atherectomy tissues. *J Infect Dis* 1995;172:585-8.
82. Kuo CC, Shor A, Campbell LA, Fukushima H, Patton DL, Grayston JT. Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic lesions of coronary arteries. *J Infect Dis* 1993;167:841-9.
83. Farsak B, Yıldırım A, Akyön Y, Pınar A, Öç M, Böke E, et al. Detection of *Chlamydia pneumoniae* and *Helicobacter pylori* DNA in human atherosclerotic plaques by PCR. *J Clin Microbiol* 2000;38:4408-11.
84. Robinson DT, Thomas BJ, Goldin R, Stanbridge R. *Chlamydia pneumoniae* in infrequently examined blood vessels. *J Clin Pathol* 2002;55:218-20.
85. Davidson M, Kuo CC, Middaugh JP, Campbell LA, Wang SP, Newman WP, et al. Confirmed previous infection with *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) and its presence in early coronary atherosclerosis. *Circulation* 1998;98:628-33.
86. Linnanmäki E, Leinonen M, Mattila K. *Chlamydia Pneumoniae* specific circulating immune complexes in patients with chronic coronary heart disease. *Circulation* 1993;87:1130-4.
87. Xu Q, Schett G, Perschinka H, Mayr M, Egger G, Oberhollenzer F, et al. Serum soluble heat shock protein 60 is elevated in subjects with atherosclerosis in a general population. *Circulation* 2000;102:14-20.
88. Biasucci LM, Liuzzo G, Ciervo A, Petrucca A, Piro M, Angiolillo DJ, et al. Antibody response to *Chlamydial* heat shock protein 60 is strongly associated with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;107:3015-7.
89. Ciervo A, Visca P, Petrucca A, Biasucci LM, Maseri A, Cassone A. Antibodies to 60-kilodalton heat shock protein and outer membrane protein 2 of *Chlamydia pneumoniae* in patients with coronary heart disease. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9:66-74.
90. Huittinen T, Leinonen M, Tenkanen L, Virkkunen H, Manttari M, Pitkanen T, et al. Autoimmunity to human heat shock protein 60, *Chlamydia pneumoniae* infection and inflammation in predicting coronary risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:431-7.
91. Ericson K, Saldeen TGP, Lindquist O, Pahlson C, Jawahar L. Relationship of *Chlamydia pneumoniae* infection to severity of human coronary atherosclerosis. *Circulation* 2000;101:2568-71.

92. Gaydos CA, Quinn TC, Eiden JJ. Identification of *Chlamydia pneumoniae* by DNA amplification of the 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol* 1992;30:796-800.
93. Blasi F, Denti F, Erba M, Cosentini R, Raccanelli R, Rinaldi A, et al. Detection of *Chlamydia pneumoniae* but not *Helicobacter pylori* in atherosclerotic plaques of aortic aneurysms. *J Clin Microbiol* 1996;34:2766-9.
94. Sinisalo J, Mattila K, Nieminen MS, Valtonen V, Syrjala M, Sundberg S, et al. The effect of prolonged doxycycline therapy on *Chlamydia pneumoniae* serological markers, coronary heart disease risk factors and forearm basal nitric oxide production. *J Antimicrob Chemother* 1998;41:85-92.
95. Muhlestein JB, Anderson JL, Carlquist JF, Salunkhe K, Horne BD, Pearson RR, et al. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease: primary clinical results of the ACADEMIC study. *Circulation* 2000;102:1755-60.
96. Jackson LA. Description and status of the azithromycin and coronary events study (ACES). *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 3:579-81.
97. Dunne MW. Rationale and design of a secondary prevention trial of antibiotic use in patients after myocardial infarction: the WIZARD (weekly intervention with zithromax [azithromycin] for atherosclerosis and its related disorders) trial. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 3:572-8.

## **EKLER**

## EK-1



I.C.  
- TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı: 02  
25.01.2007  
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 25.01.2007 tarihinde "Koronar bypass cerrahisi uygulanan 50 yaş altı olgularda Chlamydia pnömonianın aterosklerotik süreçteki rolü" adlı TUTFEK 2007/14 protokol no.lu Dr. Selami GÜRKAN'ın tez çalışmasını incelemek üzere toplandı. Yrd. Doç. Dr. Ümit Nusret BAŞARAN izinli olması nedeniyle katılamadı ve çalışmanın incelenmesine geçildi. Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalında yapılacağı, Doç. Dr. Suat CANBAZ'ın yürütücüsü olduğu araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Helsinki Deklerasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve araştırma bütçesinin Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (TÜBAP) tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılabileceğine mevcudun oybirliği ile karar verildi.

| Ünvanı/Adı/Soyadı<br>EK Üyeliği                       | Uzmanlık Dalı         | Kurumu                                    | Cinsiyeti | İlişki<br>(*)                                                       | Katılım<br>(**)                                                     | İmza   |
|-------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|--------|
| Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ<br>Başkan                    | Farmakoloji           | T.Ü.T.F.<br>Farmakoloji<br>A.D.           | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |        |
| Yrd. Doç. Dr. Ümit N.<br>BAŞARAN<br>Başkan Yardımcısı | Çocuk<br>Cerrahisi    | T.Ü.T.F.<br>Çocuk<br>Cerrahisi A.D.       | E         | <input type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H            | <input type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H            | izinli |
| Prof. Dr. Betül Biner<br>ORHANER<br>Üye               | Çocuk Sağ.<br>Ve Hst. | T.Ü.T.F.<br>Çocuk Sağlığı<br>ve Hst. A.D. | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |        |
| Doç. Dr. Dilek MEMİŞ<br>Üye                           | Anesteziyoloji        | T.Ü.T.F.<br>Anesteziyoloji<br>A.D.        | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |        |
| Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN<br>Üye                      | Endokrinoloji         | T.Ü.T.F.<br>İç Hst. A.D.                  | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |        |
| Doç. Dr. Gürkan ALTUN<br>Üye                          | Adli Tıp              | T.Ü.T.F.<br>Adli Tıp A.D.                 | E         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |        |
| Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ<br>Üye                      | Biyokimya             | T.Ü.T.F.<br>Biyokimya A.D.                | E         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |        |
| Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA<br>Üye                        | Patoloji              | T.Ü.T.F.<br>Patoloji A.D.                 | E         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |        |
| Ecz. Emine SAKMAN<br>Üye                              | Eczacı                | T.Ü.T.F.<br>Başhekimliği                  | K         | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |        |
| Avukat Mustafa POLAT<br>Üye                           | Ceza Hukuku           | T.Ü.<br>Rektörlüğü                        | E         | <input type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H            | <input type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H            |        |

\* Araştırma ile İlişki  
\*\* Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA  
Dekan

Posta Adresi:  
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı  
Güllapoğlu Yerleşkesi  
22030-EDİRNE

Tel : (0284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0284) 235 76 52

## EK-2

### BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Bu katıldığınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı Koroner “Bypass” Cerrahisi uygulanan 50 yaş altı olgularda chlamydia pnömonianın aterosklerotik süreçteki rolüdür. Bu araştırma ile ilgili olarak hastanın uyması gereken herhangi bir sorumluluk veya kullanması gereken ilaç bulunmamaktadır. Koroner bypass cerrahisi sırasında bacak toplardamarı (Safen Ven), sol veya sağ koldan alınan atardamar (Radial Arter) yada meme atardamarı greft olarak (Mammarian Arter) kullanılabilir, yine bu ameliyat esnasında aortadan parçalar alınmaktadır. Bu çalışmada size yapılan ameliyat sırasında kullanılmayan, damarın hazırlanması sırasında artmış olan ve zaten atılacak olan parçalar kullanılacaktır. Bu parçalar başka bir laboratuarda incelenecektir. Yine bu araştırma için sizden ameliyat öncesinde bir kez yaklaşık olarak 3-4 cc kan alınacaktır ve bu kanda dolapta saklandıktan sonra laboratuarda çalışılacaktır. Bu yapılan işlemler sizin ameliyatınızın türünü, özelliğini ve süresini kesinlikle etkilemeyecektir. Bu işlemler ameliyat sonrası döneminizde kesinlikle etkilemeyecektir ve iyileşme sürecinize herhangi bir olumsuz etkisi olmayacaktır. Bu araştırmanın sizin için herhangi bir şekilde risk yada zararı söz konusu değildir.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0 284 2357641 dahili hat 2410 no.lu telefondan Dr.Selami GÜRKAN’a başvurabilirsiniz.

Bu çalışmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır; ayrıca, bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

Bu çalışmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlanırsa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

#### **Çalışmaya Katılma Onayı:**

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

#### **Gönüllünün,**

Adı-Soyadı:  
Adresi:  
Tel.-Faks:  
Tarih ve İmza:

#### **Velayet veya vesayet altında bulunanlar için veli veya vasinin,**

Adı-Soyadı:  
Adresi:  
Tel.-Faks:  
Tarih ve İmza:

#### **Açıklamaları yapan araştırmacının,**

Adı-Soyadı:  
Görevi:  
Adresi:  
Tel.-Faks:  
Tarih ve İmza:

#### **Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,**

Adı-Soyadı:  
Görevi:  
Adresi:  
Tel.-Faks:  
Tarih ve İmza: