

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ATEROSKLEROZ GELİŞİMİNDE CYTOMEGALOVİRUS
(CMV)'NİN ROLÜ VE CYTOMEGALOVİRUS GEN 5 (CİG
5)/VİPERİN EKSPRESYONUNUN SAPTANMASI**

DENİZ GÖZDE ÇELİK

**DANIŞMAN
PROF. DR. BEKİR KOCAZEYBEK**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Programında Deniz Gözde Çelik tarafından hazırlanan "Ateroskleroz Gelişiminde Cytomegalovirus (CMV)'nin Rolü ve Cytomegalovirus Gen 5 (Cig 5)/Viperin Ekspresyonunun Saptanması" başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

06 / 04 / 2012

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

1.Prof. Dr. Nuri KİRAZ İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

2.Prof.Dr.Bekir KOCAZEYBEK (Danışman)İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

3.Prof. Dr. Müzeyyen MAMAL TORUN İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

4.Prof. Dr. Gökhan İPEK İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

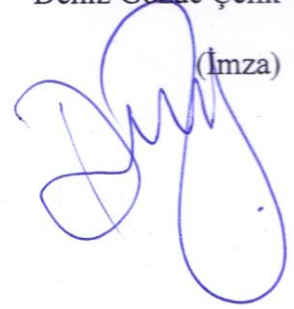
5.Prof. Dr. Y. Ali ÖNER İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Deniz Gözde Çelik

(İmza)



Sevgili aileme ve saygıdeğer tez hocama ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Eğitim ve öğretimim süresince benden yardım ve desteğini esirgemeyen, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Nuri KİRAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Eđitimim süresince bilgi ve desteği ile hep yanımda olan, derin bilgi ve tecrübeleri ile yaptığım tüm çalışmalarında bana katkıda bulunan, fikirleri ile ilk aşamasından itibaren tezime yön veren, akademik desteği dışında insani özellikleri, manevi desteği, sabrı ve hoşgörüsü ile de kendimi geliştirmemde üzerimde çok büyük emeği olan saygıdeğer danışmanım Prof. Dr. Bekir KOCAZEYBEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Eđitimin süresince yetişmemde emekleri geçen değerli hocalarımız Prof Dr. Yaşar BAĐDATLI, Sayın Prof. Dr. Müzeyyen Mamal TORUN, Prof. Dr. Mustafa SAMASTI, Prof.Dr. Arif KAYGUSUZ, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ, Prof.Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI, Prof. Dr. Gökhan AYGÜN, Doç. Dr. Kenan MİDİLLİ, Yard.Doç.Dr. Erdal POLAT'a ve özellikle akademik ve manevi katkılarıyla bana destek veren Doç.Dr. Hrisi BAHAR ve Doç.Dr. Suat Sarıbaş'a, laboratuvar çalışmalarında akademik bilgileri ve destekleri için Doç.Dr. Mustafa ASLAN, Doç.Dr Sevgi ERGİN ve PhD. Pelin YÜKSEL'e, Burç Moleküler Tanı Merkezi'nden Yard. Doç. Dr Vedat KÖKSAL'a ve Dr. İbrahim BARIŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamızın klinik örneklerinin toplanmasında yardımlarını esirgemeyen İ.Ü CTF Kalp Damar Cerrahisi ABD'dan Prof. Dr. Gökhan İPEK ve Dr. Safa GÖDE'ye, Dr.Siyami Ersek Kalp Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden Prof. Dr. İbrahim YEKELER ve Uzm. Dr. Ahmet BALCI'ya, İ.Ü. İTF Kalp Damar Cerrahisi ABD'dan Prof.Dr. Emin TİRELİ ve Zuhal TORLAK'a, İ.Ü Haseki Kardiyoloji Enstitüsü'nden Prof.Dr. Selim ERENTÜRK'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans hayatım boyunca bana hep yardımcı olmuş, çalışmalarım sırasında bana hem akademik destek hemde gülyüzleri ile manevi destek olmuş arkadaşlarım Msc. Serhat SİREKBASAN, Msc Asiye KARAKULLUKÇU, Nida KÜÇÜK, Barış BİR ve Msc. Sena İZMİRLİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca destekleri, sonsuz sabırları ve sevgilerini hayatım boyunca benden esirgemeyen aileme anlayışları için minnetlerimi sunarım.

Biyolog Deniz Gözde ÇELİK

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 16541

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLOLAR LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Cytomegalovirus</i> (CMV)	3
2.1.1. Sınıflandırma.....	3
2.1.2. Tarihçe	5
2.1.3. Virusun Morfolojisi ve Yapısı	6
2.1.4. Fiziksel ve kimyasal özellikler.....	6
2.1.5. Epidemiyoloji.....	7
2.1.5.1. Epidemiyolojik açıdan CMV enfeksiyonları	7
Konjenital Enfeksiyon.....	7
Perinatal Enfeksiyon	8
Transfüzyon ve Organ Alıcılarındaki Enfeksiyonlar	8
İmmun Baskılanmış Konakta Enfeksiyonlar	9
2.1.6. PATOGENEZ VE PATOLOJİ	9
2.1.7. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR	10
2.1.7.1. Konjenital CMV enfeksiyonu	10
2.1.7.2. Perinatal CMV enfeksiyonu	11
2.1.7.3. Postnatal enfeksiyonlar	11
2.1.7.4. İmmun yetmezliğin olduğu konakta CMV enfeksiyonu	12
2.1.7.5. Diğer Hastalıklarla CMV Enfeksiyonu İlişkisi	12
2.1.8. TANI	12
2.1.8.1. Histopatolojik Tanı.....	13
2.1.8.2. Hücre Kültürleri	14

2.1.8.3. Antijenemi testi (pp65 Testi)	14
2.1.8.4. Serolojik Yöntemler	15
EIA (Enzyme Immun Assay)	16
İmmun Flouresan Antikor (İFA)	16
CMV-IgM Antikorunu Saptama (Immun Capture)	17
CMV IgG Avidite Testi	18
Pasif Lateks Aglütinasyon Testi	18
Diğer Serolojik Testler	18
Moleküler yöntemler	19
CMV Tanısında Diğer Direkt Saptama Yöntemleri	21
2.1.9. TEDAVİ	21
2.1.10. KORUNMA	22
2.1.10.1. Aşılar	22
2.1.10.2. Antiviral ajanlar	23
2.1.10.3. CMV hiperimmunglobülin ve hiperimmün serum (CMV HIG-H1S)	23
2.2. ATEROSKLEROZ	23
2.2.1.1. TANIM	23
2.2.2. PATOLOJİK ANATOMİ	23
2.2.3. EPİDEMİYOLOJİ	24
2.2.4. PATOGENEZ	25
2.2.5. ATEROSKLEROZ OLUŞTURAN RİSK FAKTÖRLERİ	28
2.2.6. ATEROSKLEROZ-ENFEKSİYON İLİŞKİSİ	29
2.2.6.1. TARİHÇE	29
2.2.6.2. ÇEŞİTLİ MİKROORGANİZMALARLA ATEROSKLEROZ İLİŞKİSİ	31
2.2.7. KLİNİK BELİRTİ BULGULAR İLE TANI	34
2.2.8. LABORATUVAR BULGULARI	35
2.2.8.1. Radyolojik Bulgular	35
2.2.8.2. Biyokimyasal Bulgular	35
2.2.9. ATEROSKLEROZUN ÖNLENMESİ VE TEDAVİ	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Çalışma Alanı	37
3.2. Çalışma Grupları ve Prosedürü	37
3.2.1. Hasta Grubu	37

3.2.2. Hasta Kontrol Grubu	38
3.2.3. Sağlıklı Kontrol Grubu.....	38
3.3. Kanların ve Dokuların Toplanması ve Test Yöntemleri.....	40
3.3.1. Çalışmanın Düzenlenmesi.....	40
3.3.2. Kullanılan Yöntemler.....	41
3.3.2.1. ELISA ile <i>Cytomegalovirus</i> -IgG.....	41
3.3.2.2. <i>Cytomegalovirus</i> (CMV)-DNA.....	43
3.3.2.3. CMV Inducible Gen 5 /Viperin ekspresyonunun Saptanması	47
3.3.2.4. İstatistiksel Yöntemler	50
4. BULGULAR.....	51
4.1. Olguların Demografik Verilerinin Değerlendirilmesi.....	51
4.2. Çalışma Grupları Olgularının Sonuçlarının Değerlendirilmesi	52
4.3. Nested PZR Sonuçları.....	62
4.4. <i>Cytomegalovirus</i> Gen5 (cig5)/Viperin Ekstraksiyonunun Sonuçları.....	63
4.4.1. Gerçek Zamanlı PZR (Real-Time PCR) Sonuçları.....	63
5. TARTIŞMA	65
KAYNAKLAR	70
ETİK KURUL KARARI	80
ÖZGEÇMİŞ	81

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1. İnsanda enfeksiyon yapan herpes viruslar

Tablo 2-2. Ateroskleroz-enfeksiyon ilişkisi

Tablo 3-1: Çalışma Grupları ve alındıkları merkezlere göre dağılımı

Tablo 3-2.Çalışmada kullanılan primer setleri

Tablo 3-3. PZR için gerekli reaktif karışımı

Tablo 3-4. Real-Time PCR’da kullanılan primerler

Tablo 4-1: Çalışma gruplarının demografik verileri

Tablo 4-2. Hasta Grubu olgularının Demografik Verileri, ELIZA, PCR ve cığ5
Sonuçları

Tablo 4-3. Hasta Kontrol Grubu Olgularının Demografik Verileri, ELIZA, PCR ve cığ5
Sonuçları

Tablo 4-4. Sağlıklı kontrol grubu olgularının demografik verileri, ELISA sonuçları

Tablo 4-5. Çalışma gruplarının CMV-IgG pozitifliği yönünden karşılaştırılması

Tablo 4-6. Çalışma gruplarının cinsiyete göre CMV-IgG pozitifliği yönünden
karşılaştırılması

Tablo 4-7. Çalışma gruplarının yaş gruplarına göre CMV-IgG pozitifliği bakımından
karşılaştırılması

Tablo 4-8. Çalışma gruplarının sigara içme alışkanlığı yönünden CMV-IgG
seropozitifliğinin dağılımı

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1. Gen ekspresyonu aşamaları

Şekil 4-1. Pozitif olguların PZR ürünleri

Şekil 4-2. cDNA örneklerinden Cig5 (viperin) ve GAPDH primerleri ile yapılan RT-PCR analizi sonucu.

Şekil 4-3. RT-PCR sonucu elde edilen örneklerin agaroz (%2'lik) gel elektroforez yöntemiyle incelenmesi.

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

HCMV: *İnsan Cytomegalovirusu (Human Cytomegalovirus)*

DNA: Deoksiribonükleik asit

RNA: Ribonükleik asit

DNaz: Deoksiribonükleaz

RNaz: Ribonükleaz

PZR: Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)

dNTP: Deoksiribonükleotid trifosfat

ELISA: Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay

IgM: İmmunoglobulin M

IgG: İmmunoglobulin G

O.D: Optik dansite

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit

ÖZET

İnsan Cytomegalovirusu (HCMV), özellikle immunsuprese konaklarda hastalık oluşturan bir insan patojeni olup, primer enfeksiyon sonrası konakta persistan olarak kalmaktadır. Çalışmalar arter duvarından HCMV'nin reaktivasyonunun aterosklerogenezde etkili olabileceğini öne sürmektedir. Çalışmamızda aterosklerotik damar hastalığı (ADH) tanısı almış olgularda CMV-IgG seropozitifliği, HCMV-DNA varlığı ve HCMV enfeksiyonu ile konak hücrede eksprese olduğu öne sürülen *Cytomegalovirus* Inducible gen 5 [cig5(viperin)] ekspresyonunun saptanması amaçlanmıştır.

50 ADH tanısı almış olgu Hasta Grubu (HG), 48 non-aterosklerotik, post-stenotik anevrizmalı olgu Hasta Kontrol Grubu (HKG), 48 kalp-damar şikayeti olmayan olgu Sağlıklı Kontrol Grubu (SKG) olarak çalışmaya alındı. Bu olgulardan alınan serum örneklerinden ELISA yöntemi ile CMV-IgG antikorunun varlığı araştırıldı. HG ile HKG olgularından alınan doku örneklerinden ise Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PZR) yöntemi ile CMV-DNA varlığı araştırılarak, pozitif örneklerden cig5 gen ekspresyonu varlığı araştırılmıştır.

ELISA yöntemi ile Hasta grubu olgularının 49 (%98)'u, HKG olgularının 44 (%92)'ü, SKG olgularının ise 41 (%85)'i CMV-IgG pozitif bulunmuştur. Gruplar arasında IgG antikoru yönünden anlamlı fark sadece HG ile SKG arasında belirlenebilmiştir($p<0.05$). Çalışma grupları arasında yaş, cinsiyet, sigara içme alışkanlıkları temelinde CMV-IgG dağılımı bakımından anlamlı bir fark belirlenememiştir($p>0.05$). CMV-DNA pozitif 2 (%4) bulunan olgulardan hiçbirinde cig5 geni varlığı saptanamamıştır.

Sonuç olarak; CMV'nin damar duvarında primer olarak ateroskleroza tetikleyici mi olduğu yoksa affiniteye bağlı, rastlantısal olarak mı burada bulunduğu netlik kazanmamıştır. Sonuçlarımız CMV ile ateroskleroz arasında anlamlı bir ilişki göstermese de özellikle cig5 pozitif bir kontrol örneğinin varlığında bu genin aterosklerotik dokularda ekspresyonunun araştırılmasının CMV-ateroskleroz ilişkisinde önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

Çelik DG. (2012). Ateroskleroz Gelişiminde *Cytomegalovirus* (CMV)'nin Rolü ve *Cytomegalovirus* Gen 5 (cig 5)/Viperin Ekspresyonunun Saptanması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Anahtar Kelimeler: Ateroskleroz, CMV, *Cytomegalovirus*, cig5, viperin

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 16541

ABSTRACT

Human Cytomegalovirus (HCMV) is an human pathogen, causes diseases in immune-suppressed hosts, remains persistently after primary infection. Studies suggested that reactivation of HCMV could be effective in atherogenesis. In this study, we aimed to evaluate HCMV-IgG seropositivity, presence of HCMV-DNA and expression of *Cytomegalovirus* inducible gene 5 [cig5(viperin)] , that was claimed to be expressed by host cells by CMV infection, in patients with diagnoses of atherosclerotic heart disease (AHD).

50 cases with ADH, 48 with non-atherosclerotic, post-stenotic aneurysm and 48 without any cardiac-vascular findings were included in this study as Patient Group (PG), Patient Control Group (PCG) and Healty Control Group (HCG), respectively. CMV-IgG seropositivity was investigated in the sera of these cases by ELISA method. CMV–DNA was investigated by Polimerase Chain Reaction (PCR) method in tissue specimens of PG and PCG cases and presence of cig5 gene expression was evaluated from positive cases.

49 (98%) cases of PG, 44 (92%) of PCG and 41 (85%) of HCG were detected as CMV-IgG positive by ELISA method. Statistically significant difference for IgG antibody between groups was detected only between PG and PCG ($p<0.05$). No significant difference was detected for the distribution of CMV antibody in terms of age, gender, smoking habits between groups ($p>0.05$). No cig5 expression was detected in CMV-DNA positive 2 (4%) patients.

As conclusion, it is not become clear whether CMV triggers atherosclerosis primary in vascular wall or found in this site incidentally because of affinity. Although our results don't show significant relationship between CMV and atherosclerosis, we suggest that to evaluate the expression of this gene, especially with a cig5 positive control in atherosclerotic tissues may be important to understand the CMV-atherosclerosis relation.

Celik DG (2012).The Role of *Cytomegalovirus* (CMV) in development of Atherosclerosis and The Detection of Cytomegalovirus Gen 5 (cig5)/viperin expression. İstanbul University, Institute of Health Science, Medical Microbiology Department. İstanbul.

Key Words: Atherosclerosis, CMV, *Cytomegalovirus*, cig5, viperin

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 16541

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Herpesviridae ailesinin, betaherpesviridae alt ailesinde bulunan ve insan herpesvirus genomlarının en büyüğüne sahip *İnsan Cytomegalovirus* (HCMV) sadece insan hücrelerinde replike olabilmekte ve fibroblast, epitelyal hücreler, makrofajlar ve diğer hücrelerde permisif özellik göstermektedir(1).

Tüm dünyada yaygın olan ve her yaşta insan tutabilen CMV enfeksiyonları genellikle asemptomatik bir seyir izlenmesine karşın, özellikle yeni doğanlar ve immun yetmezlikli konaklarda önemli bir patojenlik göstermektedir. Virus hayatın erken yıllarında kazanılmakta, vertikal ve horizontal olarak bulaşabilmekte, diğer bireylerde temel olarak doğumsal, oral ve cinsel temas, kan transfüzyonu ve doku-organ transplantasyonları gibi yollarla geçebilmektedir(2).

CMV, yoğun litik enfeksiyonlar oluşturmak yerine kolayca persistan ve latent enfeksiyonlar oluşturmakta, özellikle lenfositler ve lökositlerde olmak üzere enfekte hücreler içerisinde tüm vücuda yayılabilmektedir. Virus, konağın kortikosteroid kullanımı ve HIV'le enfeksiyon durumu gibi konak immunitésinin baskılanması hallerinde yada transfüze ya da transplante hücrelere allojenik uyarımla reaktif olmaktadır. CMV enfeksiyonlarının gerilemesinde ve kontrolünde hücresel immun yanıtın rolü büyük olup, virus immun yanıtıdan kaçmak için lenfositlerin ve lökositlerin fonksiyonunu değiştirebilmektedir. Bunu özellikle MHC-II ve MHC-I moleküllerinin CD4 ve CD8 T lenfositlerinin yüzeyinde ekspresyonunu önleyerek, antijen sunumlarını engelleme yoluyla gerçekleştirmektedirler(3).

CMV enfeksiyonları, doğumdan önce (konjenital), doğum sırasında (perinatal) ve hayatın ileri yıllarında (postnatal) enfeksiyonlar olarak görülmektedir. Konjenital hastalıkların en sık saptanan etkeni CMV olup, fetal enfeksiyonları inaparan olabildiği gibi ağır ve dissemine seyretmektedirler. Gebeliğin son trimestrisinde doğum kanalında salgılanabilen virus, bebek doğum kanalından geçerken perinatal enfeksiyonlara neden olmaktadır. Postnatal CMV enfeksiyonları ise konağın ileri yaşlarda kanser hastalığı, AIDS gibi klinik tablolara sahip olması ve solid organ transplantasyon gibi bir işleme maruz kalması halinde sıklıkla görülmektedir(3).

Kardiyolojide son yıllarda yaygın olarak görülmeye başlanan ve çok ciddi mortalite ve morbidite nedeni olan akut koroner sendromlar fizyopatolojik olarak her zaman aterosklerotik plak zemininde gelişmektedir(4). Ateroskleroz patogenezinde multipl etyolojik ve patogenetik risk faktörlerinin rolü olduğu ileri sürülse de aterosklerotik zeminli olguların ancak yarısında bu risk faktörlerinin görülmesi, ateroskerozu tetikleyen veya başlatan bir enfeksiyon ajanı olabilir mi sorusunu gündeme getirmektedir. Bununla ilişkili başta *Chlamydomphila pneumoniae*, *Helicobacter pylori* gibi bakterilerle, viruslarla ilgili olarak da en sık *Cytomegalovirus* üzerinde durulmaktadır. CMV-ateroskleroz ilişkisinde ise son yıllarda ileri sürülen en güncel diğer bir husus ise patogenez mekanizmasında CMV tarafından indüklenen gen-5 ekspresyonunun rolüdür(5).

Biz bu çalışmamızda; aterosklerotik zeminli çeşitli damar hastalığı olan olgulardan alınan serum örneklerinde CMV-IgG seropozitifliği ve aterosklerotik doku örneklerinde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile CMV-DNA'sını ve takiben DNA pozitif olgularda CMV-inducible gen 5 (cig5) gen ekspresyonunu saptayarak aterosklerozun etiyopatogenezinde CMV'nin ve onunla ilişkili cig5 gen ekspresyonu rolünün irdelenmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Cytomegalovirus* (CMV)

2.1.1. Sınıflandırma

CMV, çift iplikli DNA içeren büyük, zarflı virusları içeren *Herpesviridae* ailesinin bir üyesidir. İnsan herpes virusu olan sekiz virus tanımlanmış olup, hayvanlar alemini enfekte eden 100'e yakın herpes virus varolduğu bilinmektedir(Tablo 2-1) (6,7).

Herpes viruslar çok farklı tipte hücreleri enfekte etme yeteneğine sahiptirler, bu özellikleri ile herpes virus ailesi 3 alt aile içinde sınıflandırılmaktadır.

Alfaherpesviruslar; nörotrop viruslar olup epitel hücresi ve fibroblastlarda rahat ürerler. Replikasyon döngüleri kısa süreli olup, hücre kültürlerinde belirgin sitopatik etki oluşturmakta ve sıklıkla duyu gangliyonlarında latent enfeksiyon oluşturabilmektedir. *İnsan Herpes simpleks* tip 1,2(HSV-1,2), *Varizella-zoster virus* (VZV) ve maymunlarda görülen *Herpes B virus* bu grupta yer almaktadır.

Betaherpesviruslar; tükürük bezinin inklüzyon virusları olup, enfekte ettikleri hücreyi büyütmedirler, bu olaya sitomegali adı verilmektedir. Konak spektrumları çok dardır ve daha uzun replikasyon döngüleri olmasının yanı sıra alfaherpesviruslara kıyasla daha az sitopatik etki göstermekte, sıklıkla salgı bezlerinde, lenforetiküler hücrelerde ve böbrekte latent kalmaktadırlar. *Cytomegalovirus*(CMV), *Human Herpes virus 6* (HHV-6), *Human Herpes virus 7* (HHV-7) bu grupta yer almaktadır.

Gammaherpesviruslar; lenfotropik viruslar olup dar konak spektrumları (lenfoblastoid hücreler) vardır ve bu hücrelerde latent kalırlar. *Epstein Barr virus* (EBV) ve *Human Herpes Virus 8* (HHV-8) bu gruptandır(3,6-9).

Tablo 2-1. İnsanda enfeksiyon yapan herpes viruslar

Adı	Alt ailesi (konak seçiciliğine göre)
<i>Herpes simplex tip 1 (HHV-1)</i>	Alfa herpes virus
<i>Herpes simplex tip 2 (HHV-2)</i>	Alfa herpes virus
<i>Varicella Zoster virusu (HHV-3)</i>	Alfa herpes virus
<i>Epstein Barr virusu (HHV-4)</i>	Gamma herpes virus
<i>Cytomegalovirus (HHV-5)</i>	Beta herpes virus
<i>Human Herpes virus 6 (HHV-6)</i>	Beta herpes virus
<i>Human Herpes virus 7 (HHV-7)</i>	Beta herpes virus

Herpes viruslar konak hücrenin çekirdeğinde replike olmakta, replikasyon sırasında kendi DNA polimerazlarını kullanmaktadırlar. Bu viruslar kendi proteinlerini sentezlemek üzere konağın protein sentez aygıtlarına el koymaktadırlar(7). Viral genom transkripsiyonu ve viral protein sentezi denetimli bir şekilde aşağıdaki üç fazda gerçekleşir:

1. **Çok erken proteinler(α)**, gen transkripsiyonunun regülasyonu ve hücrenin ele geçirilmesi için önemli proteinler içermektedir.
2. **Erken proteinler(β)**, pek çok transkripsiyon faktörü ve DNA polimerazın da içinde olduğu enzimleri içermektedirler.
3. **Geç proteinler (γ)**, esas olarak yapısal proteinleri içermekte, bu proteinler viral genom replikasyonu başladıktan sonra oluşturulmaktadırlar(3).

Herpes virusları diğer bir çok virüs ailesinden farklı kılan önemli özellikleri bulunmaktadır:

- **Latentlik ve reaktivasyon:** Primer enfeksiyondan sonra virus, klinik örneklerde saptanamamakta ama değişik dokularda (HSV ve VZV sinir dokusunda, EBV ve CMV lenfoid dokuda) aylarca, yıllarca latent kalmaktadır, bu nedenle reaktive olduklarında enfeksiyöz virus yeniden izole edilebilmektedir.
- **Hücre tranformasyonu:** Her ne kadar herpes virusların çoğu in vitro koşullarda böyle bir özellik gösterse de, sadece lenfotropik virusların (EBV, HHV-8) klinik olarak lenfoproliferative malignitelerle ilişkileri gösterilmiştir(7-9,11-13).

Herpes viruslar dış ortamda uzun süre canlı kalamamaktadırlar, bu nedenle bulaştırılabilmesi için enfekte kişinin virus içeren vücut sıvılarının direkt olarak duyarlı kişiye inoküle edilmeleri gerekmektedir(14).

2.1.2. Tarihçe

CMV, tüm yenidoğanların %0.5 ile %2,5 'inde ve cinsel yolla bulaşan hastalıklar kliniğine başvuran kadınların yaklaşık %40'ında bulunan yaygın bir insan patojeni olması, doğumsal defektlerin en sık karşılaşılan viral nedeni olması gibi sebeplerle önem kazanan bir virus olarak bilinmektedir(3).

- ✓ 1881'de ilk olarak Ribbert bir ölü doğum otopsisinde böbrekte protozoon benzeri hücreler tarif etmiştir.
- ✓ 1982'de 25 bebekte sitomegalik inklüzyon hastalığı tanımlanmıştır.
- ✓ 1956'da önce farede ve daha sonra insanda virus izole edilmiştir.
- ✓ 1982'de 25 bebekte sitomegalik inklüzyon hastalığı tanımlanmıştır.

Başlangıçta sadece konjenital enfeksiyonlarla ilişkili olduğu düşünülen CMV'nin ilerleyen yıllarda organ transplantasyonu ve immunsupresif uygulamalarından sonra gelişen ciddi enfeksiyonlara da sebep olduğu görülmüştür. AIDS'li olgularda da

çeşitli komplikasyonlara sebep olmaktadır. Ayrıca son yıllarda endotel hücrelerini enfekte ederek artrit ve hemorajilere yol açabileceği ve ayrıca aterosklerozda rol oynayabileceği ileri sürülmektedir(15).

2.1.3. Virusun Morfolojisi ve Yapısı

CMV; 120-200 nm çapında insan herpesviruslarının en büyüğüdür. Çift zincirli DNA içeren çekirdeği 162 kapsomerden oluşmuş, ikozahedral yapıda bir kapsitle sarılmıştır. Kapsid majör ve minör olmak üzere iki ana yapı proteini içermektedir. Kapsidi 180 nm çapında bir zarf çevrelemekte, bu kompleks yapıdaki zarf en az 6 glikoprotein içermektedir(8,14,16).

Tegüment kısmı matriks proteinlerini içermektedir, bu matriks proteinlerinin görevi tam olarak bilinmemekte olup, alt matriks proteini olarak bilinen pp 65 (ppUL83), protein kinazların yaptığı fosforilasyonun temel hedefidir. Fosfoprotein UL32 (p150), ppUL44 (p52), ppUL80a (p38) ve ppUL57 (p130) immunojeniktir ve serolojik tanıda katkıda bulunmaktadır(15).

Virüs, yaklaşık 240 kb'lık DNA içermektedir. Viral DNA 25-35 yapısal protein ve yapısal olmayan proteinleri kodlamaktadır. DNA'nın Guanine+Cytosine (G+C) içeriği %58' dir(15). Diğer herpesviruslardan daha fazla sayıda ters dizilimli (inverted), uzun tekrarlayan diziler içermektedir ve 208 ORF'si vardır(1).

2.1.4. Fiziksel ve kimyasal özellikler

CMV labil bir virüs olup, CMV 56°C de 30 dakika, düşük pH (pH<5), ve %20' lik eter solüsyonu gibi lipid çözücülerinde 2 saatte, UV ışığında 5 dakikada, dondurma ve eritme işlemleri gibi birçok fiziksel ve kimyasal etkenlerle inaktive olabilmektedir (8,14,16). Sıvı azot içerisinde güvenle saklanabilmekte, enfekte hücreler sıvı azotta %20 dimetilsülfoksit (DMSO) ile desteklenmiş Eagle'ın minimal essential medium'unda (MEM) saklanabilmekte, %10' luk sodyum hipoklorit CMV'nin enfektivitesini belirgin bir şekilde azaltmaktadır(8,14,16).

2.1.5. Epidemiyoloji

İnsan, CMV'nin bilinen tek enfeksiyon kaynağıdır. CMV bütün dünyada yaşla birlikte artan bir seyirde görülmektedir. *İnsan Cytomegalovirus* (HCMV) enfeksiyonu endemik olup kötü sosyoekonomik koşullarda enfeksiyon oranı yüksek olarak görülmektedir. Bu durumda sadece hijyen koşulları değil, toplum içi yakın temasta yüksek risk faktörü olarak gündeme gelmektedir(1,2).

Farklı toplumlarda enfeksiyon prevalansı değişkendir. Avrupa, Avustralya, Kuzey Amerika ülkelerinde düşük, Afrika, Güneydoğu Asya ülkelerinde oldukça yüksekken kimi ülkelerde erişkinlerde yüksek oranda seyrederken kimi ülkelerde %90-100 oranında çocuklukta kazanılmaktadır. Bu durumda virusun cinsel ilişki ve kan transfüzyonu yolu ile geçmesi önem kazanmaktadır. Çok eşlilik, ilk cinsel ilişki yaşı ve korunma yöntemlerinin kullanılmaması gibi faktörler HCMV seroprevalansını etkilemektedir(2). Ülkemizde ise yapılan çalışmalarla HCMV seropozitifliği yüksek oranda saptanmıştır(17,18).

Bilinen bulaşma yolları plasenta yolu, cinsel ilişki, kan transfüzyonu, solid organ ve kemik iliği transplantasyonu ve virüsü çıkaran kişi ile yakın ilişkili olarak sıralanabilir. CMV; idrar, anne sütü, gözyaşı, dışkı, vajinal ve servikal sekresyonlar, kan ve semen gibi pek çok vücut sıvısı ile salınması CMV'nin toplumda yaygın olarak görülmesine neden olmakta, Bu yolla CMV salınımı sürekli veya tekrarlayan şekillerde görülmektedir. Ayrıca enfeksiyon sonrası virusun uzun süre etrafa saçılması, primer enfeksiyon sonrasında aylarca hatta yıllarca ekstrete edilebilmesi yayılımını kolaylaştırmaktadır. Tükürük salgısı ile doğrudan veya kullanılan gereçlerle bulaştığı henüz kesinlik kazanmamıştır(2,14,18).

2.1.5.1. Epidemiyolojik açıdan CMV enfeksiyonları

Konjenital Enfeksiyon

CMV konjenital hastalıklar arasında en sık rastlanan viral etkidir. ABD'de yenidoğanların büyük bir kısmı (%0.5-%2.5) oranında görülmekte, bebeklerin büyük bir

kısmı hayatlarının ilk aylarında enfekte olmaktadır. İntrauterin enfeksiyonlarda önemli bir risk faktörü annenin primer veya rekürren enfeksiyonudur. Annenin gebeliği sırasında geçirdiği primer enfeksiyon %35-50 oranında fetusun enfeksiyonu ile sonuçlanmakta, Rekürren enfeksiyonda ise bu oran daha düşük olmaktadır(%0.2-2). Primer enfeksiyon geçiren annelerin çoğunun bebeklerinde klinik bulgular oluşmaktadır. Bu belirtiler hepatosplenomegali, trombositopeni, peteşiler, mikrosefali, koryoretinit ve hepatit gibi klinik bulgular olarak ortaya çıkmaktadır. Son trimestride oluşan enfeksiyonlar ise bebekte daha az harabiyet meydana getirmekte, virusun karaciğer ve kan yapıcı hücrelerdeki harabiyeti daha sınırlıdır fakat nörolojik harabiyeti kalıcı olmakta ve yaşamının ileri dönemlerinde ortaya çıkmaktadır. HCMV ile konjenital olarak enfekte olmuş bebeklerde oluşan klinik tabloda bağımsız olarak kronik olarak devam etmekte, aynı şekilde doğum sırasında veya neonatal dönemde enfekte olan bebeklerde de yıllarca virus salgılarda bulunur ki bu da enfeksiyonun yayılmasında önem taşımaktadır(1,3).

Perinatal Enfeksiyon

Kadınlarda doğum zamanında servikste bulunan CMV'nin gebelik sırasında reaktif olmaya başlamaya eğilimi ile yenidoğana bulaşmasıdır. Bebek 3-4 haftalık olduktan sonra virusu saçmaya başlamaktadır. Yenidoğana anne sütü veya kolostrumdan da bulaş olabilmektedir. Yenidoğana başka bir CMV bulaş yolu ise kan transfüzyonudur. CMV'yi transfüze edilen kandan alan premature bebeklerde pnömoni ve hepatitle sonuçlanan klinik tablolar görülebilmektedir(3).

Transfüzyon ve Organ Alıcılarındaki Enfeksiyonlar

HCMV enfeksiyonu transplantasyon sonrası dönemde en sık sorun olan enfeksiyondur. Kişinin immunsupresyon derecesi ile ilişkili olarak hastalık belirtileri ortaya çıkmaktadır. Seropozitif kişilerden organ alan seronegatif olgularda primer enfeksiyon oluşmakta ve klinik tablo daha ağır seyretmektedir. Seropozitif alıcılarda immunsupresyon ile reaktivasyonlar ve re-enfeksiyonlar görülmekte, bunlarda klinik

tablo daha hafif seyretmektedir. Ayrıca CMV'nin kan yoluyla geçişi çoğunlukla asemptomatik enfeksiyonla sonuçlanmakta, eğer semptomlar varsa tipik olarak mononükleozun semptomlarına benzemektedir(19).

İmmün Baskılanmış Konakta Enfeksiyonlar

HIV ile enfekte kişilerde sadece fırsatçı bir enfeksiyon etkeni olarak değil, HIV enfeksiyonunun doğal gidişatını bozarak AIDS'e geçişi hızlandırmaktadır. Özellikle CD4+ hücre sayısının azalması HCMV enfeksiyonu riskini arttırmakta ve bu hastalarda HCMV her sistemi tutabilmekte, en sık gastrointestinal sistem, akciğer ve merkezi sinir sistemini(MSS) enfekte edebilmektedir, hatta MSS tutulumu AIDS hastalarına özgül olduğu bilinmektedir(1).

2.1.6. PATOGENEZ VE PATOLOJİ

CMV mükemmel bir parazit olup, yoğun litik enfeksiyonlar yerine kolayca persistan ve latent enfeksiyonlar oluşturmaktadır. CMV enfeksiyonunun patogenezinin temelini konak immün yanıtı oluşturmaktadır. CMV, bazı hücrelerde proteinlerin yapılarını etkileyerek, konakta hücre çoğalması gibi bazı fonksiyonları bozmaktadır. Ayrıca fetal CMV enfeksiyonunda görülen merkezi sinir sistemi (MSS) anomalilerinde olduğu gibi bazı faktörlerin salınımını etkileyerek komşu hücrelerin fonksiyonlarını da engelleyebilmektedir(1).

Konjenital CMV enfeksiyonu annenin primer enfeksiyonu esnasında veya enfeksiyonun reaktivasyonu sonucu oluşmakta, bununla beraber yenidoğan hastalığı özellikle primer enfeksiyonla ilgili olmaktadır. Konjenital enfeksiyonun ağırlığını etkileyen faktörler bilinmemekte olup, presipitan antikorların oluşumundaki kapasite yetersizliği ve T hücre cevabındaki yetersizlik ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Çocukluk ve ergen yaştaki ilk enfeksiyon genellikle T lenfosit yanıtı ile olmaktadır. Bu da *Epstein-Barr virusu* ile oluşan mononükleoz sendromuna benzer bir tablo oluşmasına neden olmaktadır. Periferik kanda T lenfositlerinin aktivasyonu ile oluşan atipik lenfositler görülmektedir(14,20).

Transplental geçen antikorlar virusun tutunmasını ve hücelere girişini önleyerek enfeksiyonu engelleyebilirler. Hücrel sitotoksitenin elemanı olan antikorlar ise yeni virus salınımı olmadan hücre lizisini uyarmaktadırlar. Birçok çalışma da ise CMV ile litik olmayan enfeksiyonda virusun immunsupresif etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu virusun MHC-I ağır zincirinin homologu olan pUL28 proteininin sentezlenip hafif zincire (beta-2 mikroglobulin) bağlanması ile olmaktadır ki bu sebeple CMV enfekte hücreler MHC-I 'i eksprese edememektedirler. Buna ek olarak bu pUL28 proteini, beta-2 mikroglobulin, sekestre ederek MHC-I molekülünün olgunlaşmasını engellemekte böylece enfekte hücreler sitotoksik T lenfositleri (CTL) tarafından tanınmamaktadır. Bu olaylar konakta immun baskılanmaya neden olduğu gibi latent enfeksiyonlara da zemin oluşturmaktadır(1,20).

2.1.7. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR

Genç ve erişkinlerde hastalığın kuluçka süresi 4-8 hafta olup, klinik tabloları konjenital CMV enfeksiyonu, erişkinlerde CMV enfeksiyonu ve immün yetmezlikli konakta CMV enfeksiyonu olarak ele alınabilir(21,22,23).

2.1.7.1. Konjenital CMV enfeksiyonu

Fetal enfeksiyonlarda hiçbir belirti olmayabildiği gibi ağır klinik bulgular da görülebilmektedir. Gebeliğinde CMV enfeksiyonuna yakalanan annelerin enfekte fetüslerinin %5'inde sitomegalik inklüzyon hastalığı görülmektedir. Sarılık, karaciğer ve dalak büyümesi, peteşi, mikrosefali görülebilmektedir. İntrauterin gelişme geriliği ve prematüre doğum %30-50 arasındadır. Beyin kanamaları, konvülzyonlar, mental ve motor gerilik ile pnömoni ve siyanoz gibi patolojik belirtiler daha az ortaya çıkmaktadır. Bazı çocuklarda klinik olarak aynen konjenital toksoplazmozda olduğu gibi korioretinitler olabilmektedir. Prognoz hastalığın ağır seyrettiği çocuklarda iyi değildir ve mortalite oranı %20-30 arasında görülmektedir. Daha az olarak da ileri yaşlarda duyu kaybı ve kişilik bozuklukları olabilir. Konjenital CMV enfeksiyonlarının çoğu doğumda klinik olarak hiçbir belirti vermeyebilirler. Bunların %5-25'inde, daha sonraki yıllarda psikomotor, işitsel, görsel ve dental anomaliler görülebilir(14,21,22).

2.1.7.2. Perinatal CMV enfeksiyonu

Birçok kadının gebelik öncesi dönemde CMV ile enfekte olduklarında gebeliklerinin son trimestrinde servikslerinde bu virusları salgıladıkları bilinmektedir. Bu durumlarda, çocuk; doğum kanalından geçerken ya da anne sütünden ve diğer sekresyonlardan, kanında transplasental olarak geçmiş antikolar bulunmasına rağmen enfekte olabilmektedirler. Bu çocuklar yaşamlarının ilk 8-12 haftasında idrarlarında virusu salgıladıklarıdır. Hatta bir kısmı yıllarca virusu salgılamakta fakat klinik olarak hiçbir belirti göstermemektedirler. Ayrıca seronegatif bebeklere kan transfüzyonları ile de CMV bulaşı olabilmektedir(14).

2.1.7.3. Postnatal enfeksiyonlar

Doğum sonrasında elde edilen enfeksiyon genellikle asemptomatik olarak seyreder. Erişkinlerde belirli bir enfeksiyon nadiren görülmektedir. Hastalık genellikle konak immun sistemini bozan hemolitik anemi, lenfoma, lösemi gibi hastalıklar durumunda veya kemik iliği transplantasyonu ya da böbrek nakli yapılan kişilerde yaygın olarak gelişmektedir(21).

CMV enfeksiyonunun bir kısmı enfeksiyöz mononükleoz' a benzer bir görünümde olabilir, bu tabloya “*Cytomegalovirus* mononükleoz” ya da “Heterofil Negatif Mononükleoz Sendromu” adı verilmektedir. Bu hastalık bazen kendiliğinden, bazen de kan transfüzyonlarından sonra oluşmaktadır, her yaşta görülebildiği gibi seksüel aktivitesi olan gençlerde daha çok görülmektedir(14).

Klinik bulgular, uzamış yüksek ateş, üşüme titreme, aşırı yorgunluk ve halsizlik ile kendini göstermektedir. Nadiren eksüdatif farenjit ve servikal lenfadenopati görülebilmektedir. Ampisilin alan hastalarda kızamıkçık benzeri döküntüler de olabilmekte, az da olsa interstisyel veya segmental pnömoni, miyokardit, plörit, artrit veya ensefalit de görülebilmektedir. Enfekte kişilerde total lökosit sayısı düşük, normal ve çok yüksek de olabilmekte, belirgin bir sarılık olmasa da serum transaminazları ve alkalen fosfataz da genellikle orta derecede yükselmektedir. Heterofil antikolar yoktur. Ayrıca cryoglobulin, Romatoid Faktör (RF), soğuk aglütininler ve antinükleer antikolar da görülebilir(14).

Çoğu hasta 2-6 haftada sekelsiz olarak iyileşse de virusun salınımı idrar, genital salgılar ve tükürük ile aylar ve yıllarca devam etmektedir. Hastalık erişkinlerde ender görülmekle birlikte, malign hastalıkları olan, immunsupresif tedavi gören veya bazı kronik hastalıkları olan kişilerde sekonder olarak karşımıza çıkabilmektedir. Bu durumlarda pnömoni, hepatit ve hastalığın yayılması sık olarak görülmektedir. Bu hastalarda virus kaynağı önceden varolan latent enfeksiyon olmakta, aynı hastalık tablosu organ transplantasyonlarından sonra da görülmektedir(8,14,16).

AIDS hastalarında da CMV en önemli patojenlerden birisi olarak bilinmekte, her zaman ve genellikle de retinit ve dissémine hastalıkla ölüme neden olmaktadır(14).

2.1.7.4. İmmun yetmezliğin olduğu konakta CMV enfeksiyonu

Klinik olarak genellikle uzamış ateş, halsizlik, iştahsızlık, yorgunluk, gece terlemeleri, artralji veya adale ağrıları ile başlamaktadır. Hastalığın ileri döneminde karaciğer fonksiyon testlerinde anormallikler, lökopeni, trombositopeni ve atipik lenfositler görülebilmektedir. Takipne, hipoksi ve nonproduktif öksürüğün görülmesi akciğerlerin de tutulduğunu göstermektedir. Bağışıklık yetmezliği olan hastalarda gastrointestinal sistemde de CMV enfeksiyonları görülebilmekte, özofagus, mide, ince ve kalın bağırsak ülserlerine, kanamalara neden olabilmektedir. Ülseratif kolit hastalarında eksaserbasyonlar olurken, hepatit gelişir ve hatta taşsız kolesistit oluştuğu bildirilmiştir. Bu hastalarda meningoensefalit ve poliradikulopati görülebilmekte, bunlarda sağaltıma erken başlanırsa iyileşme mümkün olabilmektedir. Ağır seyreden olgularda bakteri, mantar ve protoozonlar da olaya karışabilmektedir(14,23-27).

2.1.7.5. Diğer Hastalıklarla CMV Enfeksiyonu İlişkisi

Yapılan çeşitli çalışmalarla Herpesvirusların rutin klinik tablolarının yanı sıra Multipl Skleroz (MS), Kaposi Sarkoma gibi başka hastalıklara da sebep olabildikleri gösterilmiştir(28,29). CMV'nin ise kaposi sarkoma, ateroskleroz, anevrizma, koroner arter hastalığı gibi hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir(28-32).

2.1.8. TANI

CMV enfeksiyonlarında klinik tanı çok yol gösterici değildir. Uygun klinik örneklerden virus izolasyonu veya birer hafta ara ile alınan serumlarda antikor titre

artışı gösterilmesi ile tanı daha net konmaktadır. CMV enfeksiyonu düşünülen kişilerde öykü, fiziki muayene ve laboratuvar tanısı birlikte değerlendirilerek tanı konmalıdır. Klinik örneklerde karakteristik inklüzyon içeren hücrelerin başta idrar olmak üzere tükürük, süt ve diğer vücut salgıları, biyopsi ve nekropsi örneklerde saptanması anlamlı olmaktadır(14).

CMV enfeksiyonlarının ve hastalıklarının tanısında kullanılan testler molekuler testler ve molekuler olmayan testler olarak iki grupta incelenebilir(33-35).

1. Moleküler olmayan testler

- ✓ Histopatoloji
- ✓ Hücre kültürleri
- ✓ pp65 antijenemi testi
- ✓ Seroloji

2. Moleküler testler

- ✓ Nükleik asit amplifikasyon temelli testler
- ✓ Kalitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)
- ✓ Kantitatif PZR
 - Gerçek zamanlı PZR
 - Cobas Amplicor CMV Monitor
- ✓ Nuclisens pp67 (NASBA)
- ✓ Nükleik asit hibridizasyon testleri
 - Hibrid yakalama DNA testi

2.1.8.1. Histopatolojik Tanı

Bir organa lokalize CMV hastalıklarının tanımlanmasında Wright-Giemsa, Hematoksilen-Eosin(HE), Papanicolau (PAP) boyamaları yararlı olabilmektedir. Biyopsi materyallerinde bazofilik intranükleer inklüzyonlar içeren tipik büyük hücreler (sitomegalik hücreler) ve bazen de eozinofilik sitoplazmik inklüzyonlar görülebilmektedir. Nükleer inklüzyonlar, nükleer membrana doğru uzanan tipik açık

renkli bir hare ile çevrilmiş, çevresi kromatinle sınırlandırılmış bir yapıda olup, “baykuş gözünü” denilen yapıyı oluşturmaktadırlar. Histopatolojik inceleme, hızlı ve basit bir yöntemdir fakat yinede ve serolojik doğrulama gerektirmektedir çünkü, CMV morfolojik değişiklikler olmadan da dokuları enfekte edebilir ve tipik sitomegalik hücrelerin görülmemesi CMV enfeksiyon olmadığı anlamı taşımamaktadır. Histopatolojik yöntemlerin duyarlılığı, histokimyasal boyama ve in situ hibridizasyon ile arttırılabilmektedir(16).

2.1.8.2. Hücre Kültürleri

CMV tanısında hücre kültürü ‘altın standart’ olarak kabul edilmektedir. CMV; MRC-5 ve insan embriyosu akciğer hücrelerinde üremekte fakat bu yöntemle sitopatolojik etki çok yavaş oluşmaktadır (21 gün). Tanının böyle uzun sürmesi, donanımlı laboratuvar ve eğitilmiş laboratuvar teknisyeni gerektirmesi gibi sebeplerle rutin klinik tanıda kullanımları kısıtlı olmaktadır(33,34).

2.1.8.3. Antijenemi testi (pp65 Testi)

CMV antijenemi testleri Kemik İliği Transplantasyonu (KİT) ve solid organ alıcılarında ve HIV’ le enfekte bireylerde viremi saptanmasında geniş ölçüde yarar sağlamaktadır. Antijenemi testi, CMV enfeksiyonunun erken tanısı için duyarlı ve hızlı bir yöntem olup, ciddi CMV hastalığı riski taşıyan hastaların rutin izlenmesinde yarar sağlayabilmektedir. Bu test immunokimyasal yöntemlerle periferik kan lökosit nükleuslarındaki pp65 proteinini immunflouresan yöntemle saptama esasına dayanmakta böylece CMV, semptomlar başlamadan önce saptanarak, viral yük saptanması ile birlikte asemptomatik enfeksiyondan CMV hastalığına doğru gidişin tahmininde yararlı olabilmektedir. Antijenemi testi, antiviral tedavinin etkinliğini değerlendirmede, tedavinin başlanmasında ve MSS enfeksiyonu gelişen AIDS hastalarında beyin omurilik sıvısı (BOS)’ndaki lökositlerde CMV araştırılmasında kullanılmaktadır(8,16).

Antijenemi testinde immunflouresan yöntemle aranan pp65 antijeninin varlığı aktif replikasyon olduğunu göstermektedir. Bu yöntem hem aynı gün sonuç vermekte

hemde özgüllük ve duyarlılık bakımında oldukça yüksek bir yöntem olarak bilinmektedir. En önemli dezavantajı örneklerin alındıktan en fazla dört saat içerisinde çalışılmasının gerekmesidir çünkü örneklerin çoğu 24 saatten daha fazla pozitif kalsa da kantitatif antijen miktarında düşme gözlenmiştir. Ayrıca lökopenik olgularda yeterli sonuç verememesidir(36). Bu nedenle genellikle 4-7 ml kan alınması önerilmekte iken ciddi nötropeni olan (örneğin mutlak nötropeni sayımı 200/mm³) hastalarda en azından 10 ml kan alınması uygun olabilmektedir.

Kantitatif testlerde örnek muhafazası için lökosit stabilize edici maddeler kullanılmıştır. Sedimentasyonu takiben kalan eritrositler amonyum klorid ile lizise uğrattılır. Granülositler hemositometre veya otomatik hücre sayan cihazlarda sayılır ve bilinen hücrelerin sayımı (5×10^4 ile 5×10^6 arasında, genellikle 2×10^3) mikroskop lamına yerleştirilir. Hücreler formaldehit veya paraformaldehit ile tespit edilir ve sonra noniyonik deterjan Nonidet P-40 ile permeabilize edilir ve sonra pp65'e karşı direkt monoklonal antikor ile boyanır(7,16). Bu işlemleri ya peroksidaz işaretli sekonder antikor ve kromojen ya da fluoresein izotiyosiyonat işaretli konjugatın hücrelerde inkübasyonu takip eder. Hazırlanan preparatlar (slide) X200 veya X400 büyütme ile değerlendirilir. Pozitif sonuçlar enfekte hücrelerin nükleuslarında ya homojen sarı-yeşil floresan ya da koyu kahve-kırmızı kahverenginde görülür. Kantitatif sonuçlar total lökosit sayısı başına düşen antijen pozitif hücre sayısı olarak ifade edilir. Semptomatik hastalar için mutlak olmayan antijen değerleri veya saptama değerleri kantitatif sonuçların yorumlamasında kullanılmaktadır ve hastalara göre farklılık göstermektedir. Bu yüzden antijenemi testi hastaların takibinde önemlidir(8,16,37,38).

2.1.8.4. Serolojik Yöntemler

CMV infeksiyonlarının serolojik tanısı için mevcut testlerden seçilen yöntem laboratuvarın bireysel ihtiyacına göre değişir. Organ alıcı ve vericilerinde, ciddi CMV hastalık riski taşıyan immun supresif hastaların durumu gözden geçirilerek primer CMV enfeksiyon tanısı için gereken test seçilebilmektedir(16).

EIA (Enzyme Immun Assay)

Serolojik tanıda esas olarak ELISA temelli spesifik CMV-IgG ve CMV-IgM antikorları araştırılmaktadır. Yıllarca EIA CMV antikorlarını saptamada büyük ölçüde diğer klasik yöntemlerin yerini almıştır. EIA'nın büyük avantajı hızlı, duyarlı ve özgül olması ve çok sayıda örnek, nispeten düşük maliyetle ve günlük çalışılabilmesidir. EIA, hastanın bağışıklık durumunu ve antikor titresindeki anlamlı artışları saptamak için oldukça faydalıdır. CMV-IgG saptayan ticari kitler vardır. Kitlerin kullanımı kolaydır ve üretici firmalar tarafından detaylı bir şekilde açıklanmıştır. Robot teknolojisinin gelişimi hem otomatik hem de yarı otomatik ticari EIA cihazlarının ortaya çıkışına neden olmuştur(16). Dezavantajı kompleks viral lizatların kullanılması dolayısıyla diğer herpesviruslarla çapraz reaksiyon oluşturabilmesidir. Immunkompetan konakta primer CMV enfeksiyonu sırasında, CMV-IgM ve ardından CMV-IgG oluşarak serokonversiyon gelişmekteyken reaktivasyon gibi sekonder CMV enfeksiyonu sırasında da CMV-IgG miktarında önemli oranda artış saptanmaktadır.

Immunkompetan konaktan farklı olarak immün yetmezlikli olgulardaki akut CMV enfeksiyonlarının tanısında; primer enfeksiyon sırasında bazen saptanamaması, bazı durumlarda ise primer enfeksiyondan uzun bir süre sonra bile pozitif kalması nedenleri ile CMV-IgM tayininin değeri yoktur, testin duyarlılığı düşüktür(39,40).

İmmun Flouresan Antikor (İFA)

İFA, CMV antikorlarını saptamak için yaygın olarak kullanılan bir methodtur. İndirekt İFA da, serum sulandırılmaları virüsle enfekte edilmiş hücrelerle inkübe edilir ve spesifik antijen-antikor kompleksi fluorezan izotiyosiyanat ile konjüge anti-human antikor kullanarak tespit edilerek yapılır. İndirekt İFA'ya benzeyen bir yöntem olan Antikompleman İFA da ise farklı olarak serum önce ısıtılarak endojen kompleman aktivasyonu ortadan kaldırılır, sonra virüsle enfekte hücelere ekilerek inkübe edilir. Daha sonra kompleman eklenir bu antijen-antikor kompleksine bağlanarak fluorezan işaretli anti kompleman antikor ilave edilir ve kompleman C3'e bağlanır. Hazırlanan preparatlar fluorezan mikroskopta değerlendirilir. İFA, CMV antikorlarını kalitatif ve kantitatif olarak tespit etmesi, pahalı olmayan bir test olması, duyarlı, kolay ve hızlı olması yönünden avantajlıdır. Dezavantajları ise preparatın değerlendirilmesi için bir fluorezan mikroskobu ve karanlık odaya; testin değerlendirilmesi ve sonuçların yorumlanması için fazla deneyimli bir çalışana ihtiyaç olmasıdır(16).

CMV-IgM Antikorunu Saptama (Immun Capture)

CMV-IgM antikorlarını saptarken dikkat edilmesi gereken yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlardır. RF, IgG'e karşı oluşan genellikle IgM sınıfında bir immunglobülin olup romatolojik, vaskülitik ve viral hastalıklarda bulunmaktadır. IgM, RF spesifik CMV-IgG'lerle bir kompleks oluşturmakta, CMV-IgG, CMV Ag'lerini bağlamakta ve nonviral IgM'ler onunla taşındığından IgM saptarken yanlış pozitiflik söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle CMV-IgM antikorlarını araştırırken RF ortadan kaldırılmalıdır. Eğer çok miktarda spesifik IgG antikoruna varsa, CMV'e karşı oluşmuş IgM antikorları yarışmalı olarak tümüyle bağlayacağından yanlış negatiflik söz konusu olabilmektedir. Test yapılmadan önce IgM ve IgG fraksiyonlarının ayrılması, hem yanlış pozitif hem de yanlış negatiflik görülme sıklığını azaltabilmektedir(16). Bu durumun önlenmesi için bazı basit ve hızlı yöntemler bulunmaktadır. Bunlar, jel filtrasyon, afinite kromatografisi, solid faz selektif IgM absorpsiyon testleri ve anti-insan IgG hiperimmuglobülin, stafilokok protein A veya grup G streptokoklardan elde edilen protein G kullanarak IgG nin ortadan kaldırılmasıdır. Son dönemlerde yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlardan sakınmak için alternatif bir yaklaşım da revers capture solid-faz IgM testleridir(16). Bu metotta serumdaki IgM antikorları yakalamak için anti-human IgM antikorları ile kaplı solid faz kullanılmakta; sonra IgG antikorları ve immün kompleksler yıkama ile uzaklaştırılmakta, daha sonra bağlı IgM antikorları CMV antijenlerine maruz kalır ve enzimle konjuge edilmiş ikinci antikorlar ve substrat ilave edilmektedir. Antijen kaynağı olarak rekombinan kökenli CMV proteinlerinin kullanılması ve gelişimi de IgM performansını büyük ölçüde arttırmaktadır(16).

Spesifik IgM antikorları son dönem geçirilmiş olan veya aktif enfeksiyonun saptanmasında yararlı olmasına rağmen, sonuçlar dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır. IgM antikorları plasentayı geçemediği için enfekte yenidoğandaki tek bir pozitif sonuç tanı koydurucudur. Ancak yenidoğanda IgM üretimi gecikebilir veya olmayabilir. Yenidoğan dışında hem primer enfeksiyonda hem de reaktivasyonda IgM antikorları olabileceğinden ya da primer enfeksiyondan sonraki dönemde IgM antikorları uzun süre serumda bulunabileceğinden dolayı CMV-IgM antikorlarının araştırılması önerilmemektedir. Test sonuçlarının yorumlanmasında karışıklık olabilmekte; özellikle gebe kadınlar ve immünkompromize kişilerde yeni veya aktif enfeksiyon olduğu önceden söylenememektedir. Yenidoğandakine benzer şekilde immünkompromize kişilerde de IgM antikor üretiminde gecikme olabilir veya anlamlı antikor miktarına

ulaşılamayabilmektedir. Ayrıca enfeksiyöz mononükleozlu hastalarda heterotipik IgM yanıtı görülebilmekte ve yanlış CMV-IgM pozitifliklerine neden olmaktadır(16).

CMV IgG Avidite Testi

CMV tanısında diğer birçok enfeksiyonunun tanısında olduğu gibi hastanın serolojik profili önem taşır. Bazı durumlarda virusa özgül IgM ve IgG birlikte pozitif olarak saptanabilmekte, bu halde enfeksiyonun primer veya sekonder ayrımının yapılması gerekmektedir. Virusa özgül IgM antikorları bazı re-enfeksiyonlarda, reaktivasyonlarda, klinik veya subklinik geçirilen akut enfeksiyonlardan sonra serokonversiyonun uzaması gibi durumlarda pozitif olarak saptanabilmektedir. Bu gibi hallerde primer veya sekonder enfeksiyon ayrımı için Avidite testleri kullanılmaktadır. Primer enfeksiyonlarda virusa özgü IgG aviditesi düşük iken sekonder enfeksiyonlarda yüksek olarak görülmektedir. Bu ayrımın yapılması özellikle gebelik dönemindeki kadınlarda ve immun baskılanmış hastalarda önem kazanmaktadır(15).

Pasif Lateks Aglütinasyon Testi

Basit, hızlı ve ucuz bir testtir. Viral antijenle kaplı lateks partikülleri test edilecek serum ile süspansiyon edilip kısa süre inkübe edildikten sonra CMV spesifik antikor varlığı yönünden değerlendirilir. Antikor varlığında çıplak gözle kümeleşme ve aglütinasyon görülür. Oldukça duyarlı ve özgül bir yöntem olup, hasta ve kan donörlerinin immun durumlarını belirlemek veya çift serum örneğinde anlamlı antikor cevabını araştırmak için kullanılabilir. Test 10-15 dakikada tamamlanması ve ucuz olması bakımından avantajlı, aglütinasyonu ayırt etmede zorluk oluşu ve subjektif oluşu yönünden dezavantajlıdır(16).

Diğer Serolojik Testler

Kompleman fiksasyon (CF), İndirekt Hemaglutinasyon Antikor (IHA) ve Nötralizasyon testi (NT) gibi yöntemler, CMV antikorlarını ölçmek için kullanılan diğer serolojik testlerdir. Bu testlerin bazıları duyarsız ve zayıf standardize edilen testler olup, laboratuvarında yoğunluğa ve zaman kaybına neden olmaktadır ve günümüzde sınırlı sayıda laboratuvarında kullanılmaktadır(16).

Moleküler yöntemler

PCR, CMV-DNA ve mRNA'nın saptamasında kullanılan önemli bir yöntem olup laboratuvarların kendi reaktifleri ve protokolleri ile "in house" olarak yapılabildiği gibi bazı ticari kalitatif PCR kitleri de geliştirilmiştir. Aktif CMV enfeksiyonunun tanısı için PZR duyarlılık ve özgüllüğü değerlendirilmekte, virusun latent özelliğinden dolayı seropozitif bireylerde aktif enfeksiyon olmasa dahi PZR pozitif sonuç verebilmektedir. Bu kalitatif yerine kantitatif PZR testleri kullanılarak önlenebilmektedir. Çoğaltma işlemi "immediate- early" Ag 1, glikoprotein B ve H, EcoRI D fragmanı, HmdlUX fragmanı, pp65, pp67 ve major kapsid protein fragmanlarını kodlayan bölgeleri çoğaltan çeşitli primer çiftleri ile gerçekleştirilmektedir. Organ transplantasyonu yapılan hastalardan, AIDS'li hastalardan ve konjenital enfeksiyonu olan yeni doğanlardan alınan çeşitli klinik örneklerde, ayrıca immunsupresif hastaların surveyansını sürdürmek ve antiviral ilaçların tedavi edici etkilerini değerlendirmede örneklerde PZR ile CMV-DNA saptanmıştır

CMV tanısında PZR ile tanıda hedeflenen; aktif hastalık ile asemptomatik hastalık veya latent enfeksiyon arasında ayırımı doğru yapabilmektir. CMV viremisi, CMV hastalığının en iyi göstergesi olup, periferik kan lökositlerinde, plazma ve serumda PZR ile CMV-DNA'sı kalitatif olarak saptanabilmektedir. Ancak PZR son derece duyarlıdır ve semptomatik hastalığın önceden doğru tahmininde ve immunkompromize hastalarda antiviral tedavinin başarısının izlemesinde sınırlı bir değeri vardır. CMV-DNA kanda hastalık belirtileri olmadan ve semptomatik hastanın başarılı tedavisini takiben haftalarca pozitif kalabilmektedir(8,16,41-44).

Günümüzde kalitatif PZR ile saptanan anlamlı klinik sonuçlar net değildir, ama bu yöntem belli durumlarda yararlı gözükmemektedir. Bunlar, CMV enfeksiyonlarının daha az yaygın formlarında, örneğin ensefalitli veya poliradikülomyelitli hastaların BOS' unda, konjenital CMV enfeksiyonlarında yeni doğanda idrarda, dokuda, amniyon sıvısında ve fetal serumda CMV araştırılmasında faydalıdır. Ayrıca CMV retiniti olan hastalarda ve ciddi enfeksiyon riski yüksek olan hastalarda antiviral tedavinin erken

başlatılabilmesi için de yararlıdır. Kanda kalitatif PZR ile alınan negatif bir sonuç yüksek negatif prediktif değere sahiptir(8,16,26,42-46).

Antijenemi testine benzer şekilde CMV-DNA düzeyi, CMV hastalığının tahmininde ve tanısında gereklidir. Sonuç olarak kanda CMV-DNA seviyesini gösteren çok sayıda kantitatif ve semikantitatif birçok yöntem geliştirilmiştir ve günümüzde ticari yöntemler mevcuttur. Bunlar hibridizasyon, konvansiyonel (klasik) PZR, RT-PZR, branched-chain DNA teknolojisi ve Real-Time PZR gibi hedef ve sinyal amplifikasyon metotlarıdır. Bu moleküler yöntemler ile saptanan kantitatif sonuçlar antijenemi testi sonuçları ile kıyaslanabilir ve CMV enfeksiyonlarının tanısında kültüre göre daha duyarlıdır ve klinik semptomlar başlamadan önce kanda CMV-DNA'ı saptayabilmektedir. Aktif CMV hastalığı olan AIDS'li hastalar ve organ alıcılarında CMV-DNA düzeyinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir ve CMV-DNA kopya sayısında hızlı artış ile semptomlar ve tedavi sırasındaki ilaç başarısızlığı arasında bir ilişki vardır. AIDS'li hastalarda periferik kan lökositlerindeki CMV-DNA düzeyi saptanarak semptomatik CMV retiniti gelişme riski belirlenebilir. CMV hastalığı olan immüno-kompromize hastalarda plazma veya lökositlerde CMV-DNA düzeyi, hastalık olmayanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Ancak CMV-DNA'ı lökositlerde plazmadan daha çok miktardadır; bu yüzden plazmadaki CMV düzeyini saptamak CMV hastalığının progresyonunu ve tedavinin etkinliğini değerlendirmede daha az doğruluktur. Antijenemi testinde olduğu gibi semptomatik hastalık için mutlak CMV-DNA seviyesi belirlenmemiştir. Halen belli bir zamanda toplanan seri haldeki kan örneklerinde bulunan DNA düzeylerindeki nispi değişiklikleri izlemek daha önem taşımaktadır. Kantitatif PZR metodları ile çeşitli dokulardaki CMV-DNA miktarı saptanabilse de klinik bulgularla ilişkisini değerlendirmek için daha çok çalışmaya gereksinim vardır. Konjenital CMV enfeksiyonunun prognozu, enfekte yenidoğanın idrarındaki CMV miktarı ile direkt ilişkili olduğu gösterilmiştir. AIDS'li hastalarda BOS' taki CMV miktarı tayini, HIV ve diğer fırsatçı patojenlerden ziyade CMV'nin merkezi sinir sisteminde oluşturduğu hastalıkları saptamaya yaramaktadır. Kullanılan kantitatif testlere alternatif olarak RT-PCR testleri, yalnız aktif enfeksiyon sırasında eksprese edilen spesifik CMV mRNA transkriptlerini kalitatif çoğaltmak için kullanılmaktadır. Kan lökositleri ve BOS' da CMV'nin "en erken" ve "geç" pp67 mRNA ekspresyonunun izlenmesinde kullanılan ticari amplifikasyon kitleri ile alınan

sonuçların tanısal değeri vardır. CMV mRNA'yı saptamada kullanılan yöntemler diğerlerinden genellikle daha az duyarlıdır ama CMV hastalığının tanısında yüksek özgüllüğe sahiptir. Genelde CMV-DNA saptanması ve sayımında kullanılan moleküler testler gereç ve yöntemden dolayı birbirlerinden farklıdır; bu nedenle hem kalitatif hemde kantitatif yöntemler için kesin bir standardizasyona ihtiyaç vardır. Çoğu yöntem teknolojiye bağımlı, pahalı, zaman alıcı ve iyi bir deneyim gerektirir. Sonuç olarak bu testlerin klinik yararı onların doğruluğuna, verimliliğine, kullanım kolaylığına, maliyetine ve prediktif değerine bağlı olacaktır. Bununla birlikte moleküler yöntemler CMV hastalığının tahmininde, izlenmesinde, tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde, viral direnç ve ilaç başarısızlığını tanımlamada kullanılmaktadır(8,16,47-,54).

CMV Tanısında Diğer Direkt Saptama Yöntemleri

Dokular, Bronkoalveolar Lavaj (BAL), servikal sekresyonlar, kan lökositleri ve idrar örneklerinden direkt olarak CMV saptanmasında eksfoliyatif sitoloji, moleküler dot blot ve in situ hibridizasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin duyarlılıkları azdır ve çoğu klinik laboratuvarında kullanılmamaktadır. EIA ve Dot Immunperoxidaz yöntemleri de klinik örneklerden direkt CMV saptamada kullanılmaktadır(8,16).

2.1.9. TEDAVİ

CMV enfeksiyonlarının tedavisinde önceleri alfa interferon, transfer faktör, asiklovir, vidarabin ve hiperimmunglobulinlerle çalışmalar yapılmış ancak başarılı sonuçlar alınamamıştır. Şimdilerde CMV enfeksiyonlarının tedavisinde lisans alan gansiklovir ve cidofovir gibi antiviral ajanlar ile foscarnet kullanılmaktadır. Bu üç antiviral ajanda CMV-DNA'sının sentezini viral DNA polimerazı inhibe ederek etkili olurlar. Ölümcül seyreden ve özellikle kemik iliği transplantasyonu alıcılarında sık görülen CMV pnömonisinin sağaltımında ve yine bu grup alıcıların diğer CMV hastalıklarında başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Son çalışmalarda CMV pnömonisinin sağaltımında gansiklovirin insan immun serumu (HIS) ile kullanımında başarılı sonuçlar bildirilmiştir(14).

HIV' de görülen retinit ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarında gansiklovir tedavisi ile sonuçlar başarılıdır. Retinit sağaltımında rutin olarak kullanılmaktadır.

Ancak relapslar görüldüğü için idame dozda sağaltıma devam edilmelidir. İlacın parenteral formu kullanılmalıdır. Kullanım kolaylığı nedeniyle oral formları geliştirilmeye çalışılmaktadır, dozaj genellikle 5mg/kg intravenöz (İV) 12 saat ara ile ve 14-21 gün süre iledir. İlacın granülositopeni, trombositopeni, erkekte sterilite, deri döküntüleri ve bazı MSS belirtileri görülebilir. Foscamet (foscamet, trisodyum fosforoformat) ise herpes virüslerinde viral DNA polimerazı, HIV-1'de ise revers transkriptaz yapımını inhibe etmek suretiyle etkili olmaktadır. Bu ürün günümüzde özellikle AIDS' lilerde görülen CMV retinitinin ve gansiklovire dirençli CMV enfeksiyonlarının bir alternatifi olarak önerilmektedir. Bu tür olgularda foscamet damar içi yolundan 3 hafta süre ile günde 3 kez 60 mg/kg ve daha sonra 90mg/kg/gün olarak verilmektedir(14,55-57).

2.1.10. KORUNMA

CMV açısından seronegatif olan alıcının korunması özellikle yenidoğanlarda ve transplantasyonda önemlidir. Genel olarak çevre hijyeni ve hastanede ellerin sık sık yıkanması gibi önlemler gereklidir. Kan ve kan ürünlerinin CMV yönünden değerlendirilmesine toplumda seroprevalans yüksek olduğu için sadece çok özel durumlarda dikkat edilebilmektedir. Transplantasyonlarda vericilerden alınan organların seronegatiflerden seçilmesi de mümkün olamamaktadır(14).

CMV hastalığı açısından risk grubu olan hastaların profilaksisinde ve “preemptive” tedavisinde değişik ajanlar denenmektedir(14).

2.1.10.1. Aşılar

Onkojen potansiyeli konusunda kuşkular bulunmaktadır. Yaygın ve güvenilir aşılar için daha büyük gruplarla yapılacak araştırmalara gereksinim vardır(3). Humoral ve hücrel immun yanıtı uyaran atenüe Towne aşısı olmasına karşın, koruyuculuğu yoktur. Deneme aşamasında olan, subünit glukoprotein B ve H, pp65 matrix protein, Canarypox rekombinant ve DNA plazmid aşı çalışmaları da vardır.

2.1.10.2. Antiviral ajanlar

Bir çalışmada kemik-iliği transplantasyonunda, 1500mg/m²/gün dozunda verilen asiklovirin CMV enfeksiyonu ve hastalık insidansını düşürdüğü gözlenmiştir. Diğer antivirallerle yapılan çalışmalar başarılı olmamıştır(14).

2.1.10.3. CMV hiperimmunglobülin ve hiperimmün serum (CMV HIG-H1S)

Özellikle transplantasyonda risk grubunu oluşturan, vericinin seropozitif, alıcının seronegatif olduğu grupta antitimosit globulin (OKT3) kullanılan alıcıların korunmasında çalışmalar yapılmış, sonuçlar olumlu bulunmuştur. Bu grupta gelişen CMV enfeksiyonu engellenmemekte iken asıl sorunu oluşturan CMV hastalığı insidansı düşmektedir(14).

Birçok merkezde risk grubunu oluşturan alıcılara H1S proflaksisi rutine sokulmuştur. Dozaj konusu henüz tartışmalı olup, kullanılan preparata göre değişmektedir. Önerilen kullanım zamanı, transplantasyonlardan sonra 60 gün, haftada 1 defa ve 60 günden sonra 2-3 haftada 1 defadır(14).

2.2. ATEROSKLEROZ

2.2.1.1. TANIM

Ateroskleroz (Atherosclerosis); aterom(ateroma) ve sklerotik dokulardan oluşan, kendine özgü etyolojik ve patogenez faktörleri bulunan bir damar patolojisidir. Arter duvarlarının kalınlaşması ve sertleşmesi ile seyreden, fokal lezyonlar şeklinde görülen ve hassas plak olarak adlandırılan ateroskleroz, aortadan epikardiyal koroner arterlere kadar değişen büyüklükte sistemik arterleri etkilemektedir. İnsanlığın uygarlık düzeyine paralel olarak giderek yaygınlaşan ve daha genç popülasyonu tehdit eden aterosklerotik kalp hastalıklarının her zaman bulgu vermemesi ve genellikle akut koroner sendrom oluşumu ile mortalite ve morbidite oranları ileri derecede yüksektir(58-60).

2.2.2. PATOLOJİK ANATOMİ

Aterosklerozda, histopatolojik olarak, birbirini takip eden dönemlerde, aynı karakterli lezyonlar meydana gelmekte, kronolojik sıra ile lezyonun ilk görülen şekli

mukoid kalınlaşma olup mikroskopik olarak endotel ve subendotelyal tabakanın ödemi dikkati çekmektedir. Histokimyasal incelemede asid mukopolisakkaritlerin birikmesinin vasküler permeabilitenin lokal olarak artması ile ortaya çıktığı kabul edilmektedir.

Sürecin daha sonraki döneminde bu bölgeye lipidler oturmakta ve intimada sarımtrak veya sarı-grimtrak yüzeysel lekeler şeklinde görülebilen bu lezyonlar ‘yağlı iz’ olarak tanımlanmaktadır. Bu iki tip lezyon reverzibl olup gerileyebilmekte veya tamamen kaybolabilmektedir.

Patolojik olay devam ederse subendotelyal dokuda lipid infiltrasyonu olmakta ve hücre reaksiyonunun damarda oluşmasına neden olmaktadır. Lezyonda fibröz doku artmasıyla ‘fibröz plak’ meydana gelmektedir. Daha sonra, lezyon ortasındaki yağlı doku yumuşayarak ‘aterom plağı’ ortaya çıkmaktadır. Lipid hem intraselüler (köpük hücreleri), hem ekstraselüler olarak birikmekte, bu lezyona kalsiyumun oturması, ülserasyon, kanama ve trombusun eklenmesi durumunda ‘komplikasyonlu lezyon’ olarak kabul edilen patoloji ortaya çıkmaktadır(60).

2.2.3. EPİDEMİYOLOJİ

Ateroskleroza bağlı hastalıkların sıklık derecesi ülkelere göre değişiklik gösterir. Sosyoekonomik bakımdan gelişmiş ülkelerde aterosklerotik hastalıkların daha sık olduğu ve daha erken yaşta başladığı, gelişmemiş ülkelerde ise bu tip hastalıkların daha seyrek ortaya çıktığı görülür. Bu durumun bireyin ırkına bağlı olmadığı, değişik ülkelerde çevre şartlarının değişmesinden etkilendiği bilinmektedir. Gelişmiş ülkelerde beslenme standartlarının yüksek olması, şehirleşme ve kalabalıklaşma dolayısı ile stres ve ruh gerilimleri bu farkı doğurmaktadır.

Beslenme şekli aterogenezde çok önemlidir. Yüksek kalorili ve şişmanlamaya yol açan bir beslenme aterosklerotik hastalıkları sıklaştırmakta ve daha erken yaşlarda görülmesine neden olmaktadır. Alınan besinlerdeki yağ oranının yüksek olması ve özellikle doymuş yağ asidlerince zengin yağlarla beslenilmesi aterogenezi kolaylaştırmaktadır. Bu gibi hallerde kan kolesterolünün, beta ve pre-beta lipoproteinlerinin yükseldiği görülmekte hatta içilen suyun yumuşak veya sert olmasının veya fazla sakaroz alınmasında etkisi olabileceği tartışma konusu olmaktadır.

Bir çevre etkeni olarak stresin ve bunların doğurduğu ruh gerilimlerinin de aterosklerotik hastalıkları sıklaştırdığı ve daha erkene aldığı bir gerçektir. Sanayi toplumlarında kalabalıklaşmanın artması ve sürtüşmelerin çoğalması etkisi altında olan

kimselerde ve ağır sorumluluk gerektiren yönetici görev yerlerinde çalışanlarda aterosklerotik hastalıklar, özellikle iskemik kalp hastalıkları sık görülmektedir. Stres faktörleri karşısında organizmanın cevap verışı kişiden kişiye göre değişir. Bu farklar kalıtsal olarak belirlenmiştir. Bir diğer çevre etkeni olarak fiziksel yaşam davranışının önemi üzerinde durulmaktadır. Mesleği ve huyu nedeni ile sürekli sedanter yaşam içinde olanlarda hareketli ve sportif olanlara nazaran daha çok aterosklerotik hastalıklar görülmektedir(60).

2.2.4. PATOGENEZ

Ateroskleroz multipl etyolojik ve patogenetik faktörlerin bir arada rol oynaması ile ortaya çıkan bir hastalıktır.

Patogeneizde üç grup faktör söz konusudur:

- a) kan biyokimyası ile ilgili humoral faktörler
- b) arter duvarı ile ilgili doku histolojisi ve metabolizması faktörleri
- c) hemodinamik kuvvetler ile ilgili faktörler

Bu faktörlerden bir kısmı endojen faktörlerdir ve kalıtıma bağlıdır. Diğer bir kısmı ise çevre ile ilgili ekzojen faktörlerdir ve bütün bu faktörler birbirini etkileyip potansiyalize ederek sonuçta ateroskleroza oluşturmaktadırlar.

Yapılan incelemeler aterom plaklarındaki lipid ve lipoproteinlerin kandan geldiğini göstermiştir. Kandaki lipidler ve kolesterol suda çözünmeyen maddelerdir ve bunlar globuline bağlı olarak lipoproteinler şeklinde kanda dolaşmaktadırlar. Normal ve bütünlüğünü koruyan arter endotelinden daha büyük agregatlar arter duvarına geçemez. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemeler endotel hücrelerinin intima yüzeyinde aralıksız sıralandığını ve bazı yerlerde endotel hücreleri arasında köprüler şeklinde bağlantıların bulunduğunu göstermişlerdir. Hemodinamik faktörlere bağlı çeşitli kuvvetler ve kateşolaminler, histamin, serotonin ve bradikininler gibi bazı maddeler bu köprülerin gevşemesine ve endotel yüzeyinde porların açılmasına neden olmaktadır. İşte başlangıç lezyonların meydana gelebilmesi için bu şekilde endotelin bir hasara uğraması ve bütünlüğünü yitirmesi gerekmektedir(60). Günümüzde de kabul edilen bu 'endotel hasarına cevap' hipotezine göre damar duvarında gelişen olaylar dizisi sıra ile şu şekildedir:

- 1- Damar endotelinin belirli bölgelerinde oluşan kronik hasar sonucunda permeabilite ve lökosit adezyonunda artış olmaktadır
- 2- Başta yüksek kolesterol içeriği ile LDL ve VLDL olmak üzere lipoproteinler damar duvarı içerisine girmeye başlar. Giren lipoproteinler oksidasyon ile modifiye edilmektedir.
- 3- Kan monositleri ve diğer lökositler endotele adezyon gösterip damar duvarı intima tabakasına girerler. Burada makrofaj ve köpük hücrelerine (foam cell) dönüşürler.
- 4- Trombositler endotel hücrelerine ve diğer lökositlere adezyon gösterirler.
- 5- Aktive olmuş trombositler, makrofajlar ve endotel hücrelerinden salınan faktörlerle damar duvarı media tabakasında bulunan düz kas hücreleri intima tabakasına doğru migrasyon gösterirler.
- 6- İntima tabakasında proliferen olan düz kas hücreleri ve oluşan hücrelerarası matriks, bölgede kollajen ve proteoglikanların birikimine neden olur.
- 7- Makrofaj ve düz kas hücreleri içinde ve hücrelerarası matrikste yoğun lipid birikimi gözlenir. Damar lümenini daraltan plak oluşumu tamamlanır(61).

Bu sürecin açıklanmasındaki ikinci görüş ise aterogenezin lipid metabolizması ile ilgili olduğudur. Kolesterol ve yağ yedirilen çeşitli hayvan türlerinde aterom plakların meydana gelmesi, kan ve doku lipidlerinin artması; fazla yağlı ve kolesterollü gıda ile beslenen, kan kolesterol ve lipidleri yüksek olan kimselerde aterosklerozun daha yaygın, daha şiddetli ve daha erken ortaya çıkması; esansiyel hiperlipoproteinemiler, diabetes mellitus, hipotiroidi, nefrotik sendromlar vb. gibi hiperkolesterolemi meydana getiren hastalıklarda erken ateroskleroz görülmesi, aterom plaklarda kolesterol ve plazma lipidlerinin bulunması bu teoriyi ortaya çıkarmıştır. Lipidler kanda solubl lipoproteinler halinde bulunmaktadırlar. Kandaki bu lipoproteinler elektroforez ve ultrasantrifügasyonda gösterdikleri özelliklere göre sınıflara ayrılırlar. Şilomikronlar 98% lipid, 2% protein taşırlar. Lipid kısmı daha ziyade trigliseridlerdir. Postprandiyal olarak kanda çoğalırlar. Seruma gözle görülebilir laktesans verirler. Çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL) elektroforezde pre-beta lipoproteinleri meydana getirirler. Lipid yarılarında kolesterol, fosfolipid ve trigliseridler olup bu grupta da trigliserid seviyesi yüksektir. Düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) elektroforetik olarak beta-

lipoproteinlerdir ve bunlarda kolesterol miktarı en yüksektir. Yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) elektroforezde alfa-lipoprotein mobilitesi gösterirler. Bunlar protein ve fosfolipidden zengin agregatlardır.

Esansiyel hiperlipoproteinemilerin IIa, IIb, III ve IV'cü gruplarında ateroskleroz daha sık görülmektedir. Kan kolesterol seviyesi özellikle bu gruplarda yüksektir ve hemen daima 300% mg'in üstündedir. Irsi olan bu hastalıklarda genotip homozigot olduğu takdirde kan kolesterolü 700% mg'in üstünde çıkmakta ve bu gibi kimseler 15 yaşından evvel enfarktüstün ölebilmektedirler. Esansiyel hiperlipoproteinemilerin bu gruplarında özellikle pre-beta ve beta-lipoproteinler yükselmiştir. Çeşitli araştırmalar ateroskleroz plaklarında biriken lipoproteinlerin de pre-beta ve beta-lipoproteinler olduğunu göstermiştir. Bütün bunlar göstermektedir ki aterosklerozda en belli başlı rolü kolesterol ve beta ve pre-beta lipoproteinler oynamaktadır. Fakat, bu humoral faktörler yalnız başına aterosklerozun bütün özelliklerini izaha yeterli değildir. Bunlar kendi başlarına yeterli olsalardı aterosklerotik lezyonların bütün arterlerde difüz bir dağılım göstermesi beklenirdi. Oysa bu lezyonlar lokal ve fokal karakter göstermektedirler. Olayın bu yönünü açıklamada damar duvarı ile ilgili ve hemodinamik faktörler rol oynamaktadırlar.

Arter duvarında lokal olarak asid mukopolisakkaritlerin (AMPS) artışı aterosklerozda önemli bir faktör olarak kabul edilmiştir. Lokal etki yapan her türlü fizik ve kimyasal travmalar (ısı, ışınlar, tansiyona bağlı lokal gerilimler, kateşolaminler ve diğer vazoaaktif maddeler) bağdokusu reaksiyonu meydana getirmekte ve AMPS artmasına yol açmaktadırlar. AMPS'in ise pre-beta ve beta lipoproteinler ile kalsiyum bağlama özelliği vardır ve çoğaldığı yerlerde bunları bağlayarak ateroskleroz plaklarına yol açmaktadırlar.

Son senelerin araştırmaları medya düz adele hücrelerinin aterosklerozdaki önemine dikkatleri çekmiştir. Bu hücrelerin intimaya geçebildikleri, karakter değiştirerek kollagen ve elastik bağ dokusu elemanlarını meydana getirebildikleri, köpük hücreleri haline gelerek lipid depo edebildikleri ve AMPS sentezi yapabildikleri gösterilmiştir.

Hemodinamik faktörler ateroskleroz plaklarının yer seçiminde en önemli rolü oynamaktadır. Kan basıncı artmasının aterosklerozu kolaylaştırdığı klinik ve eksperimental araştırmalarla çoktan beri gösterilmiştir. Arterlerin gidişleri boyunca etrafını çevreleyen dokular değişik derecelerde desteklik görevi yaparlar. Buna göre kan basıncı arter duvarını her noktada aynı derecede etkileyemez. Bu etkinin fazla olduğu

yerlerde filtrasyon daha çok olacaktır. Arterlerin daralma yerlerinde de yine filtrasyon basıncı yüksektir. Düzgün bir arter içinde kan laminer bir akım gösterir. Buna karşın dallanma noktalarında ve kavis yaptığı yerlerde kan akımı girdaplar meydana getirir. Bu yerlerde intima ve endotelin bütünlüğü bozulmaktadır. İşte bu gibi hemodinamik faktörler ateroskleroz plaklarının yer seçiminde etken olmaktadır.

Kalıtım ateroskleroza başlıca etken olarak gözükmektedir. Ateroskleroza bağlı hastalıklar aile içinde toplanma eğilimi gösterir ve kuşaklar boyunca aynı tip aterosklerotik hastalık yer alır. Bazı ailelerde serebral arterioskleroz, bazılarında koroner sklerozu, diğer bazılarında ise periferik arterlerin sklerozu görülür. Demek ki, kalıtım belli arter yataklarının seçiminde de rol oynamaktadır. Aterosklerotik hastalıkların ortaya çıkma yaşı da ailevi kalıtsal bir eğilim gösterir. Bu eğilimde multipl genetik faktörler söz konusudur. Bunların kalıtsal olarak belli yönde toplanmış olması o aile bireyinde hangi yaşlarda hangi damar yatağında ateroskleroza bağlı bir hastalığın ortaya çıkabileceğini saptayacaktır(60).

2.2.5. ATEROSKLEROZ OLUŞTURAN RİSK FAKTÖRLERİ

Risk faktörleri erken yaşlarda (60 yaşından evvel) ateroskleroza bağlı organ hastalıklarına sebep olan çevresel ve biyolojik etkenlerdir. Bu faktörler şu şekilde sıralanabilir:

- 1- Kalori, kolesterol ve doymuş yağ asitlerinden zengin beslenme: şişmanlık, sigara içme ve sedanter yaşam alışkanlığı bu gruba girer.
- 2- Endojen olan fakat ekzojen girişimlerle düzeltilebilen faktörler: hiperkolesterolemi, hiperlipoproteinemi, hipertansiyon, hiperglisemi, hiperürisemi ve istirahatte hızlı kalp ritmi bunlar arasındadır.
- 3- Organ hastalıkları ile ilgili faktörler: Hipertiroidizm, hiperkortisizm, diabetes mellitus, nefrotik sendrom vb hastalıklar bu kategoridendir.
- 4- Çevresel etkenlerle düzeltilmesi mümkün olmayan risk faktörleri: Yaşlanma ve cinsiyet bu gruptandır.

Hiperkolesterolemi, kolesterol-kalori-doymuş yağ asitlerince zengin beslenme, hipertansiyon ve sigara içme major risk faktörleri olarak kabul edilmekte ve bunlar birbirinden ve diğer risk faktörlerinden bağımsız olarak aterosklerotik hastalıkları arttırmaktadırlar. Aterosklerotik hastalık riskini en çok etkileyen ve en sık rastlanan

risk faktörleri olarak değerlendirilen bu faktörlerin ekzojen girişimlerle önlenmeleri mümkündür(60).

Genetik faktörler lipoprotein düzeylerini etkileyerek aterosklerozun oluşumunda önemli rol oynamaktadırlar(62). Lipoproteinlerin plazma düzeyleri ve metabolik hızları, yüzeylelerinde bulunan apolipoproteinler tarafından kontrol edilmektedir. Apolipoproteinlerdeki genetik değişimlerin, koroner arter hastalığının gelişiminde bireylerarası farklılıkları belirleyen en önemli faktörlerden biri olduğu araştırmacılar tarafından gösterilmiştir(63,64). Ailede erken koroner arter hastalığının pozitif olması(babada veya diğer birinci derece erkek akrabada 55 yaşın altında veya annede veya birinci derece kadın akrabada 65 yaşın altında aterosklerotik kalp hastalığı olması) gelecek nesillerde koroner arter hastalığı riskini 1.3-1.6 kat artmaktadır. Ateroskleroz oluşumunda risk olarak cinsiyet ve yaş birlikte paralellik göstermektedir. Kadınlarda, Menapozdan sonra 10 yıl boyunca ateroskleroz gelişme riski erkeklerle aynı olduğu belirtilmektedir(64).

Diyabetes mellitus, aterosklerotik kalp hastalığı gelişme riskini arttırmakta ve vasküler komplikasyonlarda aterogenez hızlanmaktadır(65). Obesite'de major aterosklerotik risk faktörlerinden olup abdominal obezite, obezitenin artırdığı riskleri arttırmakta ve bel çevresi abdominal yağ miktarı ile korelasyon göstermektedir. Düzenli fiziksel aktiviteninde insulin duyarlılığını ve fibrinolizi arttırdığı, trigliseridleri ve kan basıncını azalttığı ve ateroskleroz riskini azalttığı görülmüştür(66).

Risk faktörleri arasında güncel olarak araştırılan diğer bir etkende enfeksiyon ajanlarıdır. İlk kez Huchard tarafından 1891'de ortaya atılan bu faktör, yıllarca çeşitli araştırmacılar tarafından araştırılmış, *C.pneumoniae*, *Herpesviruslar*, *H.pylori* gibi çeşitli etkenler ile ateroskleroz arasındaki ilişki ile ilgili çalışmalar yapılmıştır(64-69).

2.2.6. ATEROSKLEROZ-ENFEKSİYON İLİŞKİSİ

2.2.6.1. TARİHÇE

Enfeksiyon etkenleri ile hastalıklar arasında ilişki her zaman araştırılmış ve yakın zamanda peptik ülser ile *Helicobacter pylori* arasında, kaposi sarkomu ile *Human herpesvirus-8* arasında ilişkiler tanımlanmıştır. Ateroskleroz ile enfeksiyon ajanları arasındaki ilişkinin araştırılması ise 1800'lü yıllara dayanmaktadır(Tablo 2-2).

Tablo 2-2. Ateroskleroz-enfeksiyon ilişkisi

Virchow	(1856) Lipid hipotezi
Huchard	(1891) Çocukluk çağı enfeksiyonları aterosklerozun potansiyel nedenidir.
Weisel	(1906) Tifo, kızıl,kızamık ile ateroskleroz ilişkisi
Klotz	(1906) Tifo ve streptokoklar ile ateroskleroz ilişkisi
Osler	(1900) Akut enfeksiyonlar sonucu ateroskleroz
Patterson	(1940) MDV ve ateroskleroz
Burch	(1970) Coxsakie B4 virus ve ateroskleroz
Fabricant	(1980) Aterosklerozdan korunmada MDV aşısı
Ross	(1980) (1970) Coxsakie B4 virus ve ateroskleroz
Fabricant	(1980) Aterosklerozdan korunmada MDV aşısı
Ross	(1980) Yaralanmaya yanıt hipotezi
Melnick	(1983) Aterosklerotik damarda Herpes simplex virus'un gösterilmesi
Hajjar	(1986) MDV'li hayvanlarda değişmiş kolesterol mekanizması
Saikku	(1988) Ateroskleroz ile <i>Chlamydothyla</i> arasındaki ilişki (serolojik)
Kuo	(1993) Aterosklerotik plakta <i>Chlamydothyla</i> 'nın gösterilmesi

Huchard (1891), tek başına çocukluk çağı enfeksiyonlarının aterosklerozun nedeni olabileceğini, ayrıca Weisel ve Klotz (1906) ile birlikte ateroskleroz ile tifo, kızıl ve sepsis arasında ilişki olabileceğini tanımlamış, 1900'lü yıllarda Osler ateroskleroz ile akut enfeksiyon arasında olası ilişkiden bahsetmiştir. 1940 yılında ise Patterson ve Cottral ateroskleroz ile Marek hastalığı virusu (MDV) arasında ilişki olduğunu iddia etmiştir. Fabricant ve arkadaşları(70) kolesterolden zengin diyet alan tavuklarda arteriyel lezyonlar olmadığını, fakat MDV ile enfekte tavuklarda lenfositoz ve ateroskleroz geliştiğini göstermişlerdir. Enfekte kas hücrelerinde enfekte olmayan hücrelere göre yüksek düzeyde lipid olduğu ve virusun aterosklerozu hızlandırdığı veya aktive ettiği öne sürülmüştür. Hajjar ve ark(68) viral enfeksiyonların damar duvarında metabolik değişikliklere neden olabileceğini belirtmiştir.

Cytomegalovirus ve *Herpes simplex virus*'un da ateroskleroz ile ilişkili olabileceği araştırılmış ve bu viruslar aterosklerotik damarlarda histopatolojik olarak

(immunohistokimyasal, DNA hibridizasyon ve polimeraz zincir reaksiyonu) gösterilmiştir(69, 71, 72).

Chlamydomphila pneumoniae sıklıkla alt ve üst solunum yolu enfeksiyonuna neden olan intraselüler bir patojendir. *Chlamydomphila* ile ateroskleroz ve koroner kalp hastalığı (KKH) arasında neden sonuç ilişkisi olduğu gösterilmiştir(73). Seroepidemiyolojik çalışmalar göstermektedir ki KKH'li olguların çoğunda kronik enfeksiyonun göstergesi olan anti-*C. pneumoniae* antikorları bulunmaktadır. Ayrıca *C. pneumoniae* koroner aterom plaklarında immunohistokimyasal, elektron mikroskobu ve moleküler biyoloji teknikleri ile gösterilmiştir(74, 75). *C. pneumoniae* koroner arterler dışında karotid arter aterosklerotik plaklarında da gösterilmiştir(76).

2.2.6.2. ÇEŞİTLİ MİKROORGANİZMALARLA ATEROSKLEROZ İLİŞKİSİ

Ateroskleroz patogenezinde suçlanan enfeksiyon etkenleri genellikle persistan enfeksiyonlara neden olan hücre içi patojenleridir. Aterogenezin bazı aşamalarında bu patojenlerin etkileri olduğu ileri sürülmüş ve bu etkilerin bazıları kanıtlanmıştır.

- 1- Aterosklerozu başlatan endotel hasarını oluşturma: Bakteriyal endotoksinler ve TNF- α 'nın endotel hücrelerinde nitrik oksit üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir(77). Sağlıklı kişilerde endotoksin ile çok kısa bir temasta bile uzun süreli endotel disfonksiyonu görülmektedir. Başta Herpesviruslar olmak üzere virusların endotel hücrelerini enfekte edebildiği gösterilmiş ve bunun sonucunda yine endotel disfonksiyonu geliştiği bulunmuştur(78).
- 2- Makrofaj ve sitokinler üzerinden etki: Patogenezin de anlaşılabilir olduğu gibi ateroskleroz, birçok immunolojik mekanizmanın rol aldığı kronik enflamatuar bir yanıttır. Bu enflamatuar yanıtta en önemli hücre grubu monosit/makrofajlardır. Enfeksiyon etkenlerinin ateroskleroz oluşumundaki rollerini araştıran bazı çalışmalarda aterom plağında yer alan makrofajların enfekte olduğu immunohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir. Dolayısı ile makrofaj aktivasyonunun enfeksiyona bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Ancak monositlerin daha önceden enfekte olabilecekleri ve enfeksiyon etkenlerini aterom plağına taşıyabilecekleri de bir olasılıktır(79).

- 3- Lipid metabolizmasına etki: TNF- α ve IL-1 lipoprotein lipaz üretimini inhibe ederler. Bu nedenle kronik enfeksiyonlarda hiperlipidemi görülür. Ayrıca endotoksin ve muramil dipeptid (MDP) gibi bakteri ürünleri makrofajlarda kolesterol ester sentezini arttırmaları. Bunun sonucunda da endotel hasarı görülür(80).
- 4- Trombogeneze üzerine etki: Trombogenezin ateroskleroz oluşumu ile yakın ilişkisi bulunmaktadır. Bu mekanizmada en önemli rolü fibrinojen oynamaktadır(81). Fibrinojen yüksekliği ile kardiyovasküler patolojiler arasında belirgin korelasyon gösterilmiştir(82). Enfeksiyonlar plazma fibrinojen, faktör VIII, β -tromboglobulin, tromboksan ve anti-kardiyolipin antikor düzeylerini arttırarak, kan viskozitesini yükseltirler, trombogeneze eğilim yaratırlar(83-86). Enfeksiyonlar bununla birlikte trombosit agregasyonunu arttırarak ve antitrombin III düzeylerini azaltarak da trombogeneze eğilimini arttırmaları(87).

Günümüze kadar birçok enfeksiyon etkeni ile ateroskleroz gelişimi arasında ilişki bulunduğu ileri sürülmüşse de sadece az sayıda etken için güvenilir kanıtlar elde edilebilmiştir. Bunlardan başlıcaları; *Chlamydomphila pneumoniae*, *Helicobacter pylori* gibi bakteriler ve *Herpesviridae* ailesi, özellikle *Cytomegalovirus*'tur.

Chlamydomphila pneumoniae :

C. pneumoniae, aterosklerozla ilişkisi en çok araştırılan mikroorganizmalardır. Yapılan birçok seroepidemiolojik çalışmada aterosklerozlu kişilerde *C. pneumoniae* seropozitifliğinin önemli derecede yüksek olduğu gözlemlenmiştir(80). Ateroskleroz plaklarında PCR, İmmunohistokimyasal yöntemler ve elektron mikroskopisi ile *C. pneumoniae* varlığı gösterilmiştir(88, 89). Bu bulgular ışığında *C. pneumoniae* ile ateroskleroz patogenezi arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için çeşitli araştırmalar planlanmış ve yürütülmektedir. Günümüzde elde edilen sonuçlar şöyle özetlenebilir:

- 1- Hayvan modellerinde *C. pneumoniae* enfeksiyonu ile ateroskleroz oluşturulabilmiştir(90,91).
- 2- İn vitro koşullarda *C. pneumoniae*'nin insan düz kas hücrelerini, damar endotel hücrelerini ve makrofajları enfekte edebildiği gösterilmiştir(92).

- 3- Klamidyal lipopolisakkaritin (cLPS) köpük hücre oluşumunu arttırdığı gözlenmiştir(93).
- 4- cLPS'nin endotel hücreleri ve makrofajlarda proinflamatuvar transkripsiyon faktörü NF-kB'yi aktive ettiği gösterilmiştir(94).
- 5- Klamidyal 'heat shock protein 60 (cHSP60)'ın LDL oksidasyonunu arttırdığı gözlenmiştir(94).
- 6- cHSP60'ın makrofajları ve endotel hücrelerini aktive ettiği gösterilmiştir(94).
- 7- Hayvan modellerinde endotel hücrelerinin *C. Pneumoniae* ile enfekte edilmesinden sonra 'Platelet-Derived Growth Faktör -B' (PDGF-B)'nin transkripsiyonel aktivasyonunda artış olduğu gözlemlenmiştir(95). FDGF-B'nin damar düz kas hücrelerini hipertrofiye uğratma fonksiyonu vardır.
- 8- Anti-klamidyal etkili makrolid antibiyotiklerin aterosklerozlu hastalarda endotel fonksiyonunu ve klinik tabloyu düzelttiği gösterilmiştir(96,97).

Burada özetlenen bulgularla ateroskleroz patogenezinde özellikle *C. pneumoniae*'nin rolü olduğu düşünülmektedir. Fakat neden sonuç ilişkisi olduğunun kesinleşmesi için hala yeterli verinin bulunmadığı ve daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç olduğu da belirtilmektedir(61,92).

Helicobacter pylori:

H.pylori, peptik ülserle aterosklerotik hastalıkların epidemiyolojik benzerlikleri nedeni ile şüphelenilen bir etkidir(98). *H.pylori* seropozitifliği ile ateroskleroz arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir(79). Otopsi ve hastalardan çıkarılan aterosklerotik damarlarda *H.pylori* varlığı PZR ile gösterilmiştir(89,99). Kültür ile izolasyonu yapılmamıştır. Farelerde yapılan deneylerde Hp enfeksiyonu ile ateroskleroz oluşturulamamıştır(100).

Türkiye'den Kocazeybek ve arkadaşlarının 2011 yılında, 50 hastadan yaptıkları çalışmada 10 aterosklerotik dokunun birinde *H.pylori* DNA'sını saptamışlar ve bu sonuçla *H.pylori* ateroskleroz ilişkisini net olarak ileri sürülemeyeceğini, geniş sayıda olgu ile yeni çalışma yapılmasının gerekliliğini vurgulamışlardır(101).

CMV ve diğ er herpesviruslar

Herpesviruslar reaktivasyonlara giden latent enfeksiyon etkenleri olduklarından ateroskleroz gelişimi ile ilişkili olabilecekleri düşünölmüş, özellikle CMV ve *Herpes simplex virus* (HSV) ile ilgili araştırmalar arasında bu ilişkiyi destekler bulgular elde edilmiştir. Toplumlarda genel olarak CMV seropozitifliği, ateroskleroz gibi yaşla artar niteliktedir. Bu nedenle CMV ile ateroskleroz arasındaki ilişkiyi seroepidemiyolojik çalışmalarla ortaya çıkarmak zordur.

Herpes simplex de ateroskleroz ile ilişkisi iddia edilen viruslardandır. Birkaç çalışmada virusun in situ hibridizasyonla ve elektron mikroskopta ateroskleroz plaklarında bulunduğu gösterilmiştir(78, 102). *Herpes simplex* ile enfekte hücrelerde büyük miktarda kolesterol esterlerinin biriktiğı gözlenmiştir(103).

HHV-8, AIDS gelişmiş olgularda Kaposi sarkomu ile ateroskleroz gelişimi beraber gözlendiğı için son zamanlarda suçlanan etkenler arasına girmiştir(103).

2.2.7. KLİNİK BELİRTİ BULGULAR İLE TANI

Aterosklerozun kendine özel bir klinik tablosu olmayıp, ilerlemiş aterosklerozun oluşturduğu organ hastalıkları vardır. Komplikeasyonlu ateroskleroz lezyonu bulunduğu arteri çok daraltmakta ve hatta tıkanmaktadır. Bu durumda arterin beslediğı organda iskemi veya enfarktüs meydana gelmektedir ve organa göre patoloji beyinde, kalpte, böbrekte vb.da ortaya çıkabilmektedir(60).

Ağrı en erken bulgu olup, hastalık ilerledikçe yürüme mesafesi kısalmaktadır. Aorta-iliak tıkanıklıklarında uyluk ve kalçada femoral ve popliteal arter tıkanıklıklarında ise ayak ve baldırda şiddetli, zonklayıcı devamlı istirahat ağrıları ortaya çıkmaktadır. Özellikle geceleri gelen bu ağrılarla hasta uyuyamamakta, oturup ayağını ovalamakta veya sarkıtarak ağrısını azaltmaya çalışmaktadır. Aslında bu ovalamalar ve sıkımlar zaten yeterli olmayan kollateral dolaşım üzerine zararlı etki yapmakta, onların da harabiyetine ve tıkanmalarına yol açmaktadır.

Arada gelen bıçak saplanır gibi keskin, gelip geçici ve şiddetli ağrılar ise iskemik nevrit ağrıları olup, krizler arasında hafif bir yanma hissi de olabilir. Bu tip ağrılar diyabetik hastalarda daha sıktır.

Bu ağrılar dışında iskemik nevrit nedeniyle hafif parestezi ve anestezi oluşabilmekte, ayrıca soğuğa duyarlılık, ayağın ısınmaması, çabuk üşüme, ekstremitelerde distrofik değişikliklerde görülebilmektedir.

Ayrıca yavaş ilerleyen ateroskleroz plakları ve trombuslarla terminal aorta, aort bifurkasyonu ve ana iliak arterlerinin birlikte tıkanması halinde ortaya çıkan ‘Leriche Sendromu’da aterosklerozlu olgularda görülebilmektedir. Hastanın belinde, kalçalarında ve alt ekstremitelerinde ağrıdan ve libido azalması, genital hipofonksiyondan yakınmalar oluşabilmekte, ayrıca dekübitise meyil artmaktadır(104).

2.2.8. LABORATUVAR BULGULARI

Teşhis için kullanılan testler aterosklerozun organ tutulumlarını belirlemeye yönelik olmaktadır. Bunlar Doppler ile ayak bileği kol basınç indeksi, damarların Doppler ultrasonografi incelemesi, Bilgisayarlı tomografik anjiyografi, manyetik rezonans anjiyografi, anjiyografi ve kalp için stres testleridir(105).

2.2.8.1. Radyolojik Bulgular

Aort ve iliak arterler gibi büyük damarlarda direk grafilerle kalsifikasyon görülebilmektedir. Ayrıca anjiyografi, arterin durumunun ve tıkanma yerinin saptanması ve cerrahi girişimin planlanması yönünden en büyük yol gösterici yöntem olmaktadır.

CT scanning ile de büyük damarlardaki trombotik tıkanmalar, anevrizmatik genişlemeler tanımlanabilmekte, elongasyon ve tortuosite gibi durumlar ayırt edilebilmektedir.

Doppler ile ultrasonik akım hızı ölçülmesi ve ayrıca ultrasonik arteriyografi tıkalı arter hastalıklarının tanısında yararlı olmaktadır(104).

2.2.8.2. Biyokimyasal Bulgular

Kan plazma lipid, kolesterol, trigliserid ve ürik asit seviyelerinin tayini ve diyabetin araştırılması, bunların sonuçlarına göre diyet ve tedavinin düzenlenmesi hastalığın ilerlemesinin yavaşlatılması açısından yararlı olmaktadır(104).

2.2.9. ATEROSKLEROZUN ÖNLENMESİ VE TEDAVİ

Aterosklerozun tedavisinden amaç, hastalığın ilerlemesinin engellenmesi ve geriletilmesidir. Bu amaçla ateroskleroz gelişiminde rol alan risk faktörlerinin engellenmesi yada tedavisi yapılmalıdır. Örneğin kan basıncının düşürülmesi, gıdalarla alınan yağ ve kolesterolün azlatılması, kilo kaybı, sigarasız bir yaşam, şeker hastalığı var ise kan şekerinin kontrol altına alınması sağlanmalı ve ayrıca daha aktif ve hareketli bir yaşam teşvik edilmelidir(104).

Kişinin ailesinde belirli damar yataklarında aterosklerozu olan kimseler var ise, kan kolesterolü, lipoproteinleri ve ürik asidi yüksekse, şişman ve bol yağlı yemek yiyen bir kişiye, sigara alışkanlığı var ise bu kişinin erken yaşta aterosklerotik organ hastalığına uğraması özellikle iskemik kalp hastalığına yakalanma şansı 400% daha fazla olmaktadır. Bu bakımdan bir veya birkaç major risk faktörü gösteren kimseler erken yaştan itibaren primer preventif yöntemlerle tedavi altına alınmalıdır.

Önce diyet ayarlanmalı, besin miktarı azaltılarak kişi ideal kiloya kadar zayıflatılmalı, kolesterolce zengin besinlerle beslenmesi önlenmelidir. Sedanter yaşam alışkanlığından vazgeçirilmeli ve hergün egzersiz yapması önerilmelidir. Böylece kardiyovasküler sistemin efora dayanıklılığı yükselecek ve kollateral dolaşımın çoğalması kolaylaşacaktır.

Ayrıca hastalarda aterosklerozu tetikleyecek diabetes mellitus, hipertansiyon, nefrotik sendrom gibi hastalıklar mevcut ise bunların tedavisi yapılmalıdır(60).

Hiperkolesterolemi ve hiperlipoproteinemiye karşı ve trombositlerin aterosklerotik lezyonlar üzerine adezyon ve agregasyonunu ve böylece trombus oluşumunu önlemek için ilaçlara başvurulabilir. Kullanılan başlıca ilaçlar yağ ve kolesterol düşürücü olan kolestiramin, kolestipol, gemfibrozil, statin türevi ilaçlardır. Ayrıca kanı sulandıran ilaçlar aspirin, clopidogrel ve ticlopidin'dir(60, 104).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Alanı

Nisan 2010-Ocak 2011 tarihleri arasında kesitsel olarak planlanan çalışma, olgu-kontrol çalışması olarak yürütülmüştür. Çalışma bu tarihler arasında İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahi Anabilim Dalı, İ.Ü İstanbul Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Dr.Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve İ.Ü Haseki Kardiyoloji Enstitüsü' ne başvuran, klinik bulgu ve radyodiagnostik verilerle ateroskleroza bağlı damar hastalığı tanısı almış hastalar ile yapıldı. Araştırmanın laboratuvar çalışmaları, İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Seroloji/ELISA ve Moleküler Biyoloji laboratuvarlarında yapıldı. Araştırmanın CMV inducible gen 5 (cig5) ile ilgili çalışmaları araştırmacı (DGÇ) ve danışmanın (BK) bulunduğu grup tarafından Burç Moleküler Tanı Merkezi' nde yapıldı.

3.2. Çalışma Grupları ve Prosedürü

Çalışmaya Hasta Grubu (HG), Hasta Kontrol Grubu (HKG), Sağlıklı Kontrol Grubu (SKG) olmak üzere üç farklı grup alındı.

3.2.1. Hasta Grubu

Belirtilen hastanelere başvuran, klinik bulgu ve radyodiagnostik yöntemler ile ateroskleroza bağlı damar hastalığı (ADH) tanısı ile opere edilmiş toplam 50 olgu Hasta Grubu (HG) olarak çalışmaya alındı. 50 hastanın 19'u (%38) İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahi Anabilim Dalı, 3'ü (%6) İ.Ü İstanbul Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, 27'si (%54) Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1'i (%2) İ.Ü Haseki Kardiyoloji Enstitüsü'ne başvuran hastalardan oluşmaktaydı. Ayrıca bu hastalardan alınan örneklerin 22'si (% 44) karotid arter, 21'i (% 42) abdominal aort, 6'sı (%12) asendan aort, 1'i (%2) femoral arterden oluşmaktaydı. Çalışmaya alınan olguların dağılım ve merkezleri Tablo 3-1'de görülmektedir. Hastaların yaşı, cinsiyeti, sigara içme alışkanlıklarının olup olmadığı, ailede kalp damar rahatsızlığı öyküsü, total kolesterol, trigliserid, HDL, LDL değerleri gibi bilgiler hazırlanan anket formuna alındı (anket form). Çalışma grubuna alınan olguların tümü cerrahi operasyonu gerçekleştiren veya

endovasküler girişim uygulanan hastalar idi. Bu hastalardan İ.Ü Tıbbi Etik Kurul yönergesi kurallarına uygun olarak, operasyon sırasında alınan doku örnekleri ve rutin tetkikler için alınan kan örneklerinden 10ml 'lik bir kısmı alınarak çalışma yapıldı.

3.2.2. Hasta Kontrol Grubu

Belirtilen tarihler arasında Dr. Siyami Ersek Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran 48 non-aterosklerotik, post stenotik anevrizmalı olgular Hasta Kontrol Grubu (HKG) olarak alınmıştır. Hastaların yaşı, cinsiyeti, sigara içme alışkanlıkları, hipertansiyon, diyabet, ailede kalp damar hastalığı öyküsü olup olmadığı, HDL, LDL düzeyleri ile ilgili bilgiler hazırlanan anket formuna alındı (anket form). Bu olgular yaş, cinsiyet ve sigara içme alışkanlığı özelliği çalışma grubu (ADH) olguları ile benzerlik gösteren 48 kişi seçilerek alındı. Hasta Kontrol Grubu olarak alınan olguların tümü cerrahi operasyonu gerçekleşen hastalar idi.

3.2.3. Sağlıklı Kontrol Grubu

İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Radyodiagnostik Anabilin Dalı'na herhangi bir şikayetle başvuran kişilerden, Sağlıklı Kontrol Grubu (SKG) oluşturmak amacı ile kalp-damar şikayeti olmayan, yaş, cinsiyet ve sigara içme alışkanlığı özelliği çalışma grubu (ADH) olguları ile benzerlik gösteren 48 kişi seçilerek oluşturuldu. Bu hastaların bilgileri anket formuna alındı.

Anket Form

Hasta protokol no :

Dosya no:

Hasta adı:

Cinsiyet:

Yaş:

Dokunun alındığı yer :

Eğitim durumu:

Mesleği:

Ekonomik durumu:

Telefon no:

Sigara içme alışkanlığı var mı?:

Var:

Yok:

Bırakmış:

Hipertansiyon:

Diyabet:

Ailede kalp rahatsızlığı:

Hiperlipidemi:

Total kolesterol:

Trigliserit:

HDL:

LDL:

Tablo 3-1: Çalışma Grupları ve alındıkları merkezlere göre dağılımı

Olguların Alındığı Merkez	Hasta Grubu n= 50								Hasta Kontrol Grubu n=50		Sağlıklı Kontrol Grubu n=50	
	AA		AsAA		Carotid		Femoral					
	n	%	n	%	n	%	n	%				
A	7	14	0	0	11	22	1	2	0	0	0	0
B	0	0	0	0	3	6	0	0	0	0	0	0
C	14	28	6	12	7	14	0	0	48	100	0	0
D	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0
E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	48	100
Toplam	21	42	6	12	22	44	1	2	48	100	48	100

A: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi ABD

B: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi ABD

C: Dr. Siyami Ersek Göğüs ve Kalp Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi

D: İstanbul Üniversitesi Haseki Kardiyoloji Enstitüsü

E: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Radyodiagnostik Anabilim Dalı

3.3. Kanların ve Dokuların Toplanması ve Test Yöntemleri

3.3.1. Çalışmanın Düzenlenmesi

Çalışmaya üç gruptan rutin tetkikler için alınan venöz kanların 10ml'lik kısmı alındı. Alınan kan örnekleri 3000 devirde 5 dakika süre ile santrifüj edilip, ayrılan serumlar laboratuvar çalışmalarına kadar -80°C de saklandı. Üç gruba ait serumlardan ELISA yöntemi ile CMV spesifik IgG antikorları araştırıldı.

Hasta grubu ve hasta kontrol grubu olgularından operasyon sonunda alınan aterosklerotik doku örnekleri DNaz, RNaz içermeyen su bulunan steril kaplara alınarak çalışma yapılana kadar -80°C 'de muhafaza edildi. Alınan bu aterosklerotik doku örneklerinde ise Nested Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile CMV-DNA varlığı ve takiben CMV-DNA pozitif saptanan olgularda *Cytomegalovirus* gen 5 (cig5)/viperin ekspresyonu araştırıldı.

Çalışmamız, İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik kurulunca 8749 nolu, 08.03.2011 tarihli yazı ile onaylanmıştır.

3.3.2. Kullanılan Yöntemler

3.3.2.1. ELISA ile *Cytomegalovirus*-IgG

Testin Prensibi

Hasta serumları ticari *Cytomegalovirus* ELISA IgG (*Vircell*, Granada, Spain) kitleri kullanılarak Triturus cihazı (Spain) çalışıldı. Testin çalışma prensibi, *Cytomegalovirus* ATCC VR-538 suşuna ait antijenle kaplı polistren yüzeyler ile test edilen serum içindeki antikorların reaksiyonuna dayanmaktadır. Bağlanmayan immunoglobulinler yıkama ile uzaklaşır. İkinci aşamada anti-humanglobulin burada bulunan antijen-antikor kompleksine bağlanmaktadır ve substrat ilave edilip inkübe edilmesi sonrasında renk değişimi gözlenmektedir.

Test Kitinin İçeriği

1. **Mikroplaklar** : 96 Sitomegalovirus antijeni kaplı kuyucuklar içerir
2. **Diluent** : Protein stabilizatörleri ve Proclin içeren, 25 ml'lik serum dilüe edici solusyondur
3. **Pozitif Kontrol** : 200 U/ml anti-sitomegalovirus IgG
4. **Cut-off Kontrol** : 10 U/ml anti-sitomegalovirus IgG
5. **Negatif Kontrol** : Negatif kontrol serum
6. **Konjugat** : Peroksidazla işaretli 15 ml anti-human IgG
7. **TMB Substrat Solusyonu** : Tetrametilbenzidin(TMB) içeren 15 ml substrat solusyonu
8. **Durdurma Solusyonu** : 0.5 M sülfirik asit
9. **Yıkama Tamponu** : Tween 20 ve Proclin içeren 20 ml 20x konsantrasyonunda fosfat tamponu

10. **Yarıkantitatif Örnek Kontrolü** : anti-*Cytomegalovirus* IgG içeren 500 µl yarıkantitatif örnek kontrolü

Ayıraç ve Serum Örneklerinin Hazırlanması

✓ **Yıkama Tamponunun Hazırlanması**

Yıkama tamponu önceden hazırlandı. 50 ml 20x konsantrasyonundaki yıkama solusyonu 1 litre olacak şekilde distile su ile karıştırıldı. Solusyon dilue edilmeden önce 37 °C'ye getirilmeli, bir kere dilue edildikten sonra ise 2-8 °C'de saklandı.

✓ **Serum Örneklerinin Hazırlanması**

Venöz kan örneklerinden elde edilen serumlar, -80 °C 'den alınarak oda ısısında çözüldü.

Testin Yapılışı

1. Plaklar çıkarılmadan tüm solusyonlar oda sıcaklığına getirildi.
2. Tüm solusyonlar çalkalandı.
3. Plak üzerindeki dört kuyucuk ikisi cut-off serumu, biri negatif biri pozitif kontrol için olmak üzere ayrıldı.
4. 100µl serum diluenti tüm kuyucuklara eklendi. Üzerine 5µl serum örnekleri, ayrılan kuyucuklara ise 5'er µl pozitif kontrol, negatif kontrol ve cut-off kontrol eklendi. Bu aşamadan sonra plate çalkalanarak, örnekler iyice homojen hale getirildi.
5. Daha sonra 37 °C'de 45 dakika inkübe edildi
6. İnkübasyon bittiğinde kuyucuklardaki tüm sıvı boşaltıldı ve beş kez 0.3ml'lik solusyon ile yıkama işlemine tabi tutuldu.
7. Tüm kuyucuklara 100µl IgG konjugatı eklendi
8. 37 °C'de 30 dakika bekletildi

9. Kuyucuklara 6.maddede belirtilen şekilde yıkama işlemi tekrar uygulandı.
10. Tüm kuyucuklara 100 µl'lik substrat solusyonu eklendi
11. Oda sıcaklığında 20 dakika güneş ışığı almayacak şekilde inkübe edildi.
12. 50 µl 'lik sonlandırma solusyonu tüm kuyucuklara eklendi
13. Kuyucuklardaki renk değişimi ELX800 (Italy) cihazı ile 450nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Sonuçların Değerlendirilmesi

Pozitif, Negatif ve Cut-off kontrolleri test ve kitin çalışmasını değerlendirmek amacı ile uygulandı. Optik Dansite (O.D) değerleri aşağıdaki değerler ile kıyaslanarak değerlendirildi.

İNDEKS	DEĞERLENDİRME
< 9	Negatif
9-11	Ara Değer
>11	Pozitif

3.3.2.2. Cytomegalovirus (CMV)-DNA

Aterosklerotik doku örneklerinden 25-50 mg'lık miktarlar kuru buz üzerinde, steril bistüri ile küçük parçalara ayrıldı ve CMV-DNA izolasyonu amacıyla ticari bir doku ekstraksiyon kiti (High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanıldı.

- **DNA izolasyonu**

1. 25-50mg arasında olan doku örneklerine: 200µl Tissue Lysis Buffer ve 40µl Proteinaz K eklendi. Karışımlar tüm gece boyunca 60°C 'de inkübe edildi.
2. Ertesi gün 200µl Binding Buffer eklenerek vortekslendi. Karışım 70°C'de 10 dakika inkübe edildi.
3. Üzerine 100µl isopropanol ilave edilerek iyice karıştırıldı.
4. Örneklerin sıvı kısımları, koleksiyon tüplerinin üzerine konulan Spin kolonlara steril filtreli uçlar ile otomatik pipet yardımıyla aktarıldı. 1 dakika süresince 8.000 x g'de santrifüj edildi.
5. Santrifüj sonrası spin kolon temiz bir koleksiyon tüpe aktarıldı. 500µl Inhibitor Removal Buffer ilave edildi. 1 dakika süre ile 8.000 x g'de santrifüj edildi.
6. Spin kolonlar temiz koleksiyon tüplerine alındı 500µl Wash Buffer ilave edildi. 1 dakika süre ile 8.000 x g'de santrifüj edildi.
7. Spin Kolonlar temiz koleksiyon tüplerine aktarıldı. 500µl Wash Buffer ilave edildi. 1dk süre ile 8.000 x g'de santrifüj edildi.
8. Spin kolonlar boş olarak 10 saniye süre ile maksimum hızda (13 000 x g) tekrar santrifüj edildi. Koleksiyon tüpleri atıldı.
9. DNA'yı toplamak amacıyla spin kolonlar temiz, steril 1.5ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı. Önceden 70 °C'de ısıtılmış 200µl Elution Buffer, spin kolonlara ilave edildi. 1 dakika süre ile 8.000 x g'de santrifüj edildi.
10. Ekstraksiyon örnekleri PZR işlemi yapılmıncaya kadar -80°C'de saklandı.

- **Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)**

Ekstraksiyonu yapılan doku örneklerinde CMV-DNA'yı araştırmak amacıyla CMV-intermediate-early gen bölgesinden seçilen primerler kullanılarak daha önceden Freymund ve ark(106) tarafından tarif edilen şekilde Nested PZR yöntemi uygulandı(Tablo 3-2). PZR'ın 1. aşamasında MG1 ve MG2 primerleri kullanıldı. Bu amaçla 1 µl forward primer (50 pmol/µl), 1µl revers primer (50 pmol/µl), 5 µl 10 x reaction buffer, 3 µl 25 mM MgCl₂, 1 µl dNTP, (200 mM herbiri için deoksiniükleozid trifosfat) (Fermentase®, Lithuania), 0,25 µl *Taq* DNA polymerase (Fermentase®, Lithuania) ve 28,75 µl DNaz-RNaz içermeyen su içeren miks hazırlandı(Tablo 3-3). 10

μ l ekstraksiyon ürünü 40 μ l mikse eklendi. Amplifikasyon thermal cycler (MJ Research, Inc., MA, USA)'da aşağıda belirtilen şartlarda yapıldı: Başlangıçta 2 dakika 95°C'de denatüre edildikten sonra; 94°C'de 1 dakika, 55°C'de 1 dakika, 72°C'de 1,5 dakika olacak şekilde 45 siklus uygulandı. Final uzatma 8 dakika 72°C'de uygulandı. Amplifikasyonun ikinci aşamasında ise, ilk aşama ürününden 2 μ l alınarak yukardaki ile aynı miktarlara sahip olan ve IE1, IE2 primerlerinin kullanıldığı nested PZR mikisine ilave edildi. İkinci aşamadaki siklus koşulları şu şekilde yapıldı: başlangıç denaturasyonu 94°C'de 1 dakika, daha sonra 94°C'de 1 dakika, 58°C'de 1 dakika ve 72°C'de 1 dakika olarak 45 siklus uygulandı. Final uzatma 72°C'de 8 dakika olarak yapıldı. Amplifikasyon, PTC-200 Thermal Cycler'da gerçekleştirildi (MJ Research, Inc, MA, USA). Amplifikasyon ürünleri 10 μ l/ml etidium bromür ilave edilmiş, %1.5 agaroz jelde yürütülerek UV-ışığı altında transilüminatörde (Mighty Bright, Hoefer Scientific Instruments, San Francisco) görüntülendi. İnhibitör varlığını araştırmak üzere tüm örnekler beta-globulin primerleri kullanılarak ayrı ayrı çalışıldı(Tablo 3-3).

- **Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Tamponlar**

- ✓ **Elektroforez Tamponu- 10X TBE-(Jel ve tanklar için tampon)**

Tris base.....108 g
 Borik Asit..... 55 g
 EDTA 0.5 M, pH 8.0.....40 ml
 1 litreye DEPC ile tamamlandı.

- ✓ **Etidyum bromür (EB)**

10mg/ml olarak hazırlandı. Distile suda manyetik karıştırıcı ile uzun sürede çözünmesi sağlandı. +4⁰C'de ışıktan uzak muhafaza edildi.

- ✓ **Yükleme Tamponu (Loading Buffer)**

Bromfenol mavisi
 Griserol
 Hazırlanan tampon +4⁰C'de saklandı.

- **Jelin hazırlanması ve PZR ürünlerinin görüntülenmesi**

Elektroforez tamponu 10 kat sulandırıldı ve içerisine %1,5 oranında agaroz karıştırılıp tampon eritildi. 40-50 °C'ye soğutulduktan sonra içine 1 µl etidium bromür ilave edildi. Jelin yüksekliği 6,5 mm olacak şekilde gerekli hacimler ayarlandı. Taraklar yerleştirildikten sonra jel döküldü. Jel donduktan sonra taraklar çıkarılıp tampon ilave edildi ve örnekler jele yüklendi.

Çoğaltılan PZR ürünleri yatay agaroz jel elektroforezi ile incelendi. Ürünler moleküler ağırlık belirteci (DNA 10bp ladder, Promega, A.B.D) ve laboratuvarımızda daha önceden herbir virus için dizi analizi yapılarak pozitif olarak belirlenen örneklerle beraber jele yüklendikten sonra 100-150V' da 20 dakika yürütülmüştür (Minnie the Gel Cicle HE33, Hoefer Scientific Instruments, San Francisco). Araştırılan her bir virusa özgü büyüklükteki bantlar kontrollerle karşılaştırılarak UV transilluminatörde (Model Tuv 20 Owl Scientific, A.B.D) değerlendirilerek pozitif örneklerin fotoğrafları çekildi (Kodak 1D 3.5).

Tablo 3-2.Çalışmada kullanılan primer setleri

Primer adı	Sekans (5'-3')	Ürün Boyutu (bp*)
MG1	First round forward	289
MG2	First round reverse	
IE1	Second round forward	162
IE2	Second round reverse	
Beta-globin	Sense	251
	Anti-sense	

*bp: base pair (baz çifti)

Tablo 3-3. PZR için gerekli reaktif karışımı

PCR karışımı	Miktar	Son konsantrasyon
DNaz- RNaz içermeyen su	28,75 µl	-
10X Reaksiyon Buffer	5 µl	1X
MgCl ₂ (25 mM)	3 µl	1,5 mM
dATP	1 µl	200 mM
dCTP		200 mM
dGTP		200 mM
dTTP		200 mM
Primer forward	1 µl	0,25 µM
Primer reverse	1 µl	0,25 µM
Taq DNA polimeraz	0,25 µl	0,625 U
Toplam	40 µl	
Hedef DNA	10 µl	
Toplam reaksiyon hacmi	50 µl	

3.3.2.3. CMV Inducible Gen 5 /Viperin ekspresyonunun Saptanması

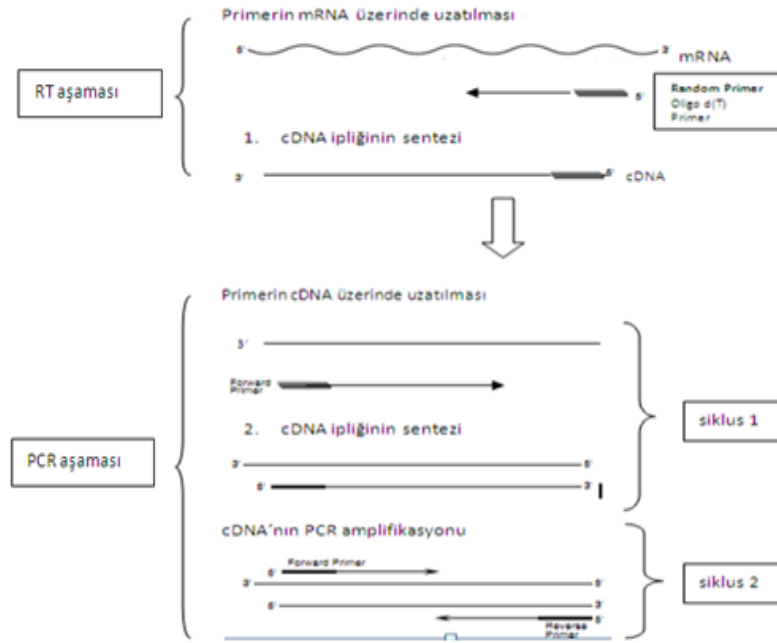
RNA İzolasyonu

Doku örneklerinden 25-50 µg'lık miktarlar steril bisturi ile kuru buz üzerinde küçük parçalara ayrıldı ve RNA izolasyonu amacı ile ticari bir RNA kiti (SV Total RNA Isolation System, Promega, Madison,WI, USA) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışıldı.

1. Örnekler Lysis Buffer eklenerek karıştırıldı.
2. Ardından 350 µl RNA dilution buffer (RDA) eklenerek 3-4 kez karıştırıldı.
3. 70°C'de 3 dakika tutuldu.
4. 13.000xg 'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra lizat temiz koleksiyon tüpüne alındı.
5. Lizata 200 µl %95 etanol eklenerek iyice karıştırıldı.
6. Karışım spine aktarıldı ve 13.000xg'de 1 dakika çevrildi. Spin temiz bir koleksiyon tüpüne aktarıldı.

7. 600 µl önceden etanol ilave edilmiş olan yıkama solusyonu RNA(RWA) eklendi, 1 dakika 13.000 xg'de çevrildi ve spin kolonlar temiz koleksiyon tüplerine aktarıldı.
8. 600 µl RNA (RWA) yıkama solusyonu eklendi, 1 dakika 13000 xg'de çevrildi, spin kolonlar temiz koleksiyon tüpüne alındı.
9. Tekrar 250 µl RNA (RWA) eklendi. 13.000 xg'de 2 dakika çevrildi. Spin kolonlar temiz, steril, 1.5 ml'lik tüpe aktarıldı.
10. Üzerine önceden 70⁰C'de ısıtılmış 100 µl Nükleaz free su eklendi. 1 dakika 13.000xg'de çevrildi ve elde edilen RNA ekstraksiyonları çalışılincaya kadar -70 ⁰C ' de saklandı.

Pozitif örneklerde gen ekspresyonu RNA ekstraksiyon örnekleri cDNA'ya çevrildikten sonra Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi ile araştırıldı(Şekil 3-1).



Şekil 3-1. Gen ekspresyonu aşamaları

- **cDNA Sentezi**

İzole edilen RNA örnekleri ticari Revert Aid First Strand cDNA sentez kiti (Fermentas, Katalog No: K1622) kullanılarak cDNA'ya dönüştürüldü. Her bir reaksiyon için 1 µg RNA ve 1µl random hekzamer primeri kullanıldı. İlk olarak RNA'nın yapısında bulunabilecek olan katlanmaların açılması için 65 °C'de 10dk. inkübe edilen örneklere daha sonra 4 µl 5X reaksiyon tamponu, 2 µl 10mM dNTP karışımı, 1 µl RNaz inhibitör enzimi ve 1 µl revers transkriptaz enzimi eklendi. Örnekler 25 °C'de 5 dk. 42 °C'de 1 saat, 70 °C'de 5dk. inkübe edildi.

- **Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)**

Nükleik asit amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak artış gösteren floresans sinyalin ölçülmesiyle kısa sürede, kantitatif olarak sonuç alınan PZR yöntemidir. Yalnızca çift zincirli DNA'ya bağlandığında floresans veren SYBR Green I adlı boya kullanılarak, amplifikasyona bağlı DNA artışı ve ortaya çıkan floresans ölçülmektedir. Primerin bağlanmasını takiben gerçekleştirilen uzama aşamasında hedef DNA'nın çift sarmal hale gelmesiyle DNA'ya bağlanan SYBR Green miktarı artmakta ve buna bağlı olarak yayılan floresans miktarında artış gözlenmektedir. Gerçek zamanlı RT-PZR analizi Light Cyler 480 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) cihazı ve SYBR

Green miksi (Roche Diagnostics) kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaçla kullanılan Cig5 (viperin) ve GAPDH genlerine özgün primer kullanıldı (Tablo 3-4) (107). GAPDH (Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz) geni internal kontrol olarak kullanıldı. Reaksiyon miksi 10 µl SYBR Green miksi, 6 µl distile su, 2 µl primer (10 pmol herbiri) ve 2 µl cDNA içermektedir. Hazırlanan miks aşağıdaki PZR programında çalıştırıldı: 95 °C de 7 dk ilk denaturasyon, 40 siklus 95 °C 10 sn, 60 °C 10sn, 72 °C 10 sn, ve cihazda bulunan melting curve programı ile sonlandırıldı.

Tablo 3-4. Real-Time PCR’da kullanılan primerler

Primer Adı	Sekans
GAPDH-f	Tgcaccaccaactgcttagc
GAPDH-r	Ggcatggactgttggtcatgag
Cig5-1f	tcaaaagct gaggaggtggt
Cig5-1r	Gttccgcatgtcctcttcc
Cig5-2F	Tcaaaagctgaggaggtggt
Cig5-2R	Tccacaattctcaccctcaa

3.3.2.4. İstatistiksel Yöntemler

Çalışmada elde edilen veriler SPSS 16.0 istatistik programında değerlendirildi. Verilerin değerlendirilmesinde Ki-kare yöntemi kullanıldı. $p < 0.05$ anlamlı değer olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Olguların Demografik Verilerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamız 22 karotid arter, 21 abdominal aort, 6 asendan aort ve 1 femoral arterden oluşan toplam 50 Hasta Grubu (HG), 48 Hasta Kontrol Grubu (HKG) ve 48 Sağlıklı Kontrol Grubu (SKG) olmak üzere toplam 146 olgu ile yapılmıştır. Çalışma gruplarının hasta sayıları, yaş ortalamaları, cinsiyet ve sigara içme özellikleri Tablo 4-1'de görülmektedir.

Hasta grubu ile hasta kontrol grubu ve sağlıklı kontrol grubu olguları yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı ve Sigara içme alışkanlığı yönünden birbirine benzemektedir ($p>0.05$).

Tablo 4-1: Çalışma gruplarının demografik verileri

Çalışma Grupları	N	Yaş Ortalaması(1) (minimum-maksimum)	Cinsiyet (2)				Sigara (3)			
			Kadın		Erkek		İçen		İçmeyen veya bırakmış	
			n	%	n	%	n	%	n	%
Hasta Grubu (HG)	50	59.6(41-75)	10	20	40	80	15	28	35	72
Hasta Kontrol Grubu (HKG)	48	58.7(41-75)	10	20.8	38	79.2	19	39.5	29	60.5
Sağlıklı Kontrol Grubu (SKG)	48	60.2(43-70)	13	27	35	73	18	37.5	30	62.5

1. HG X HKG $p>0.05$
HG X SKG $p>0.05$
2. HG X HKG $p>0.05$
HG X SKG $p>0.05$
3. HG X HKG $p>0.05$
HG X SKG $p>0.05$

4.2. Çalışma Grupları Olgularının Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Çalışma gruplarının ELISA ve PZR sonuçları ile bu olguların yaş, cinsiyet, dokuların anatomik bölgeleri ve sigara içme alışkanlıkları Tablo 4-2, 4-3, 4-4'de gösterilmiştir.

Tablo 4-2. Hasta Grubu olgularının Demografik Verileri, ELIZA, PCR ve cig5 Sonuçları

HASTA NO	AD-SOYAD	YAŞ	CİNSİYET	ANATOMİK BÖLGE	SİGARA ALIŞKANLIĞI	CMV-IgG Sonucu	CMV-DNA	cig5/viperin Sonuçları
1	H.Ç	60	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
2	M.D	68	Erkek	Karotid	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
3	A.T	56	Erkek	Abdominal Aort	Var	Pozitif	POZİTİF	Negatif
4	K.Y	68	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
5	M.G	71	Kadın	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
6	K.Ç	68	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
7	H.Y	58	Kadın	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
8	C.A	65	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
9	İ.U	55	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
10	F.Y	61	Kadın	Carotid	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
11	Y.G	57	Erkek	Abdominal Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
12	F.İ	51	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
13	A.K	55	Erkek	Karotid	Bırakmış	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
14	S.K	55	Erkek	Karotid	Bırakmış	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
15	F.F	59	Kadın	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
16	M.Ş	57	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
17	N.Ş	55	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
18	Z.Z	49	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
19	O.E	60	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
20	H.M	55	Kadın	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
21	T.Ç	52	Erkek	Karotid	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
22	M.B	57	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
23	M.L	50	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
24	AY.K	68	Erkek	Karotid	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
25	M.D	67	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
26	M.G	74	Kadın	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
27	N.T	62	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
28	S.Y	58	Kadın	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
29	VN.K	50	Erkek	Femoral	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
30	Ö.Ş	62	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
31	M.A	51	Erkek	Abdominal Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
32	E.K	59	Erkek	Karotid	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı

HASTA NO	AD-SOYAD	YAŞ	CİNSİYET	ANATOMİK BÖLGE	SİGARA ALIŞKANLIĞI	CMV-IgG Sonucu	CMV-DNA	cig5/viperin Sonuçları
33	M.Ş	41	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
34	R.Y	57	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
35	A.A	59	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
36	T.A	73	Erkek	Karotid	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
37	R.Ö	50	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
38	M.A	57	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Negatif	Negatif	Yapılmadı
39	H.B	67	Erkek	Karotid	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
40	H.Y	65	Erkek	Karotid	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
41	Ş.Ö	75	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
42	Ş.D	60	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
43	N.E	73	Kadın	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
44	M.Ç	58	Erkek	Abdominal Aort	Bırakmış	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
45	M.İ	61	Kadın	Abdominal Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
46	Y.Ö	64	Erkek	Abdominal Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
47	S.A	56	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
48	Y.G	62	Kadın	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
49	SA.Ö	54	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	POZİTİF	Negatif
50	HS.H	55	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı

Tablo 4-3. Hasta Kontrol Grubu Olgularının Demografik Verileri, ELIZA, PCR ve cig5 Sonuçları

HASTA NO	AD-SOYAD	YAŞ	CİNSİYET	ANATOMİK BÖLGE	SİGARA ALIŞKANLIĞI	CMV-IgG Sonucu	CMV-DNA	cig5/viperin Sonuçları
1	S.A	54	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
2	K.K	54	Erkek	Asendan Aort	Yok	Negatif	Negatif	Yapılmadı
3	H.Y	63	Kadın	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
4	L.G	47	Kadın	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
5	S.Y	67	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
6	K.K	41	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
7	E.Ü	41	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
8	R.Ö	75	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
9	R.T	67	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
10	M.B	53	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Negatif	Negatif	Yapılmadı
11	M.Ş	47	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
12	A.Ş	66	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
13	R.G	62	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
14	Ş.M	75	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
15	R.Y	47	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
16	T.G	62	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
17	H.K	58	Erkek	Abdominal Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
18	S.A	59	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
19	M.T	51	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
20	A.B	44	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
21	A.Y	58	Erkek	Abdominal Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
22	R.E	75	Kadın	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
23	A.D	59	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
24	Ü.S	58	Erkek	Asendan Aort	Bırakmış	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
25	N.T	62	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
26	N.D	69	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı

HASTA NO	AD-SOYAD	YAŞ	CİNSİYET	ANATOMİK BÖLGE	SİGARA ALIŞKANLIĞI	CMV-IgG Sonucu	CMV-DNA	cig5/viperin Sonuçları
27	HC.Ç	66	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
28	E.Ş	51	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
29	M.A	50	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
30	M.D	58	Kadın	Asendan Aort	Yok	Negatif	Negatif	Yapılmadı
31	H.E	54	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
32	A.O	59	Kadın	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
33	R.T	51	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
34	S.G	66	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
35	Ş.Y	57	Kadın	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
36	H.E	49	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
37	Ş.A	70	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
38	A.A	61	Erkek	Asendan Aort	Var	Negatif	Negatif	Yapılmadı
39	Ş.G	54	Kadın	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
40	A.Ç	56	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
41	FS.B	68	Kadın	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
42	M.D	72	Kadın	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
43	E.Y	68	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
44	M.A	55	Kadın	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
45	H.Ş	61	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
46	Z.Ü	59	Erkek	Asendan Aort	Yok	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
47	S.Ö	53	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı
48	B.E	67	Erkek	Asendan Aort	Var	Pozitif	Negatif	Yapılmadı

Tablo 4-4. Sağlıklı kontrol grubu olgularının demografik verileri, ELISA sonuçları

HASTA NO	AD-SOYAD	YAŞ	CİNSİYET	SİGARA ALIŞKANLIĞI	CMV-IgG Sonucu
1	G.Ö	53	Kadın	yok	Pozitif
2	C.D	69	Erkek	var	Pozitif
3	D.D	68	Erkek	bırakmış	Pozitif
4	N.E	67	Erkek	yok	Pozitif
5	M.O	47	Erkek	var	Pozitif
6	Ö.M	70	Erkek	var	Pozitif
7	N.A	45	Kadın	yok	Pozitif
8	M.Y	69	Kadın	var	Pozitif
9	MS.K	59	Erkek	bırakmış	Pozitif
10	C.K	67	Erkek	bırakmış	Pozitif
11	A.Ç	68	Erkek	yok	Pozitif
12	R.B	62	Erkek	bırakmış	Pozitif
13	A.K	59	Erkek	bırakmış	Pozitif
14	Y.T	65	Erkek	yok	Pozitif
15	Ş.C	59	Erkek	bırakmış	Pozitif
16	M.K	62	Erkek	bırakmış	Pozitif
17	A.K	74	Erkek	yok	Negatif
18	R.B	47	Erkek	yok	Pozitif
19	R.A	64	Erkek	bırakmış	Pozitif
20	İ.Ç	53	Erkek	bırakmış	Pozitif
21	R.A	45	Erkek	yok	Pozitif
22	M.Y	70	Erkek	yok	Pozitif
23	E.B	65	Erkek	bırakmış	Pozitif
24	P.A	70	Kadın	bırakmış	Negatif
25	M.D	57	Kadın	yok	Pozitif
26	T.A	56	Kadın	var	Pozitif
27	S.Ü	70	Kadın	yok	Negatif

HASTA NO	AD-SOYAD	YAŞ	CİNSİYET	SİGARA ALIŞKANLIĞI	CMV-IgG Sonucu
28	H.K	45	Erkek	var	Pozitif
29	N.T	54	Erkek	var	Pozitif
30	C.G	62	Erkek	var	Pozitif
31	F.Ö	56	Kadın	var	Pozitif
32	M.K	60	Erkek	yok	Pozitif
33	E.K	66	Erkek	var	Pozitif
34	A.G	69	Erkek	var	Pozitif
35	M.Y	43	Erkek	var	Pozitif
36	Y.D	65	Erkek	var	Pozitif
37	H.Z	55	Erkek	var	Negatif
38	S.G	62	Erkek	yok	Pozitif
39	İN.C	53	Erkek	bırakmış	Pozitif
40	İ.Ü	58	Erkek	bırakmış	Negatif
41	N.K	56	Kadın	yok	Pozitif
42	N.E	60	Kadın	var	Pozitif
43	N.K	54	Kadın	yok	Pozitif
44	A.T	64	Erkek	var	Negatif
45	L.K	62	Kadın	yok	Pozitif
46	Y.U	59	Kadın	bırakmış	Pozitif
47	M.D	70	Erkek	var	Negatif
48	E.Y	56	Erkek	var	Pozitif

Çalışma gruplarının CMV-IgG yönünden pozitifliklerinin dağılımı incelendiğinde; Hasta grubu olgularının 49 (%98)'u, HKG olgularının 44 (%92)'ü , SKG olgularının ise 41 (%85)'i pozitif bulunmuştur. Hasta grubu kendi içinde incelendiğinde AA'dan alınan olguların 20 (%40)'si, AsA'dan alınan olguların 6(%12)'sı, Karotid arterden alınan olguların 22 (%44)'ü, femoral arterden alınan olguların ise 1 (%100)'i CMV-IgG pozitif olarak bulunmuştur. Hasta grubu ile diğer gruplar CMV-IgG antikor bakımından karşılaştırıldığında sadece Hasta Grubu ile Sağlıklı Kontrol Grubu arasında anlamlı bir fark saptanmıştır(p<0.05), (Tablo 4-5).

Tablo 4-5. Çalışma gruplarının CMV-IgG pozitifliği yönünden karşılaştırılması

Hasta Grubu (n:50)											Hasta Kontrol Grubu (n:50)		Sağlıklı Kontrol Grubu (n:50)	
CMV-IgG sonuçları	AA*		AsA**		Carotid		Femoral		Toplam		N	%	n	%
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	%				
IgG(+)	20	40	6	12	22	44	1	2	49	98	44	92	41	85
IgG(-)	1	2	0	0	0	0	0	0	1	2	4	8	7	15

1. HG x HKG p>0.05

2. HG x SKG %95 OR: 8,366 (0,988-70,818), X²: 5,712 p<0.05

*Abdominal Aort

**Asendan Aort

Çalışma grupları cinsiyete göre CMV-IgG pozitifliğinin dağılımı bakımından incelendiğinde; HG olgularının 40(%80)'i erkek olup bunlardan 39 (%97.5) 'unun CMV-IgG pozitif olduğu, 10 kadın olgunun ise tamamının CMV-IgG pozitif olduğu görülmüştür. HKG olgularının 38(%79)'i erkek olup bunların 35 (%92)'i CMV-IgG pozitif iken 10 (%21) kadın olgunun 9 (%90)'u CMV-IgG pozitif saptanmıştır. SKG olgularının ise 35 (%73)'i erkek olup bunlardan 30 (%86)'u, 13 (%27) kadın olgunun ise 11 (%85)'i CMV-IgG yönünden pozitif olarak saptanmıştır. Çalışma grupları cinsiyete göre CMV-IgG pozitifliğinin dağılımı yönünden karşılaştırıldığında; aralarında istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmadı(p>0.05),(Tablo 4-6).

Tablo 4-6. Çalışma gruplarının cinsiyete göre CMV-IgG pozitifliği yönünden karşılaştırılması

Cinsiyet	Hasta Grubu			Hasta Kontrol Grubu			Sağlıklı Kontrol Grubu		
	IgG (+)	IgG (-)	Toplam	IgG (+)	IgG (-)	Toplam	IgG (+)	IgG(-)	Toplam
	n %	n %	n %	n %	n %	n %	n %	n %	n %
Erkek	39 97,5	1 2,5	40 80	35 73	3 6	38 79	30 62	5 10	35 73
Kadın	10 100	0 0	10 20	9 19	1 2	10 21	11 23	2 4	13 27
Toplam	49 98	1 2	50 100	44 92	4 8	48 100	41 85	7 14	48 100

Erkek: HG x HKG $p>0.05$

HG x SKG $p>0.05$

Kadın: HG x HKG $p>0.05$

HG x SKG $p>0.05$

CMV-IgG sonuçları yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; 41-52 yaş aralığında HG'da bulunan 8 (%16) olgunun, HKG ve SKG'lerinde bulunan sırasıyla 11 (%23) ve 8 (%17) olgunun tamamı CMV-IgG pozitif saptanmıştır. Olguların en büyük çoğunluğunu oluşturan 53-64 yaş grubunda HG'ndaki 29 (%58) olgunun 28 (%97)'i, HKG'ndaki 23 (%48) olgunun 19 (%83)'ü , SKG'ndaki 26 (%54) olgunun ise 23 (%88)'ü IgG pozitifdir. 65-76 yaş grup aralığında ise HG'nda bulunan 13 (%26) olgu ile ve HKG'ndaki 14 olgunun tamamı CMV-IgG pozitif iken SKG'ndaki 14 (%29) olgunun 10 (%72)'ü pozitif bulunmuştur. CMV-IgG pozitifliği bakımından yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır($p>0.05$) (Tablo 4-7).

Tablo 4-7. Çalışma gruplarının yaş gruplarına göre CMV-IgG pozitifliği bakımından karşılaştırılması

Yaş Grupları	Hasta Grubu			Hasta Kontrol Grubu			Sağlıklı Kontrol Grubu											
	IgG(+)		IgG(-)	Toplam		IgG(+)		IgG(-)	Toplam									
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%								
41-52	8	16	0	0	8	16	11	23	0	0	11	23	8	17	0	0	8	17
53-64	28	56	1	2	29	58	19	40	4	8	23	48	23	48	3	6	26	54
65-76	13	26	0	0	13	26	14	29	0	0	14	29	10	21	4	8	14	29

1. HG x HKG p>0.05
HG x SKG p>0.05
2. HG x HKG p>0.05
HG x SKG p>0.05
3. HG x HKG p>0.05
HG x SKG p>0.05

Çalışmaya alınan gruplardaki CMV-IgG pozitifliğinin sigara içme alışkanlığına göre dağılımı irdelendiğinde, HG' daki sigara kullanan 15 (%30) olgunun tamamı CMV-IgG pozitif iken sigara kullanmayan veya bırakmış 35 (%70) olgunun 34 (% 97)'ü IgG pozitif bulunmuştur. HKG'ndaki sigara kullanımı olan 19 (%39.6) hastadan 18 (%94.7)'i, sigara kullanımı olmayan veya bırakmış 29 (%60.4) olgunun 26 (%89.6)'sı CMV-IgG pozitif saptanmıştır. SKG'ndaki 18 (%37.5) sigara kullanan olgunun ise 15 (%83.3)'i, kullanmayan veya bırakmış 30 (%62.5) olgunun ise 26 (%86.7)'sı CMV-IgG pozitif bulunmuştur. Çalışma grupları arasında sigara içme temelinde CMV-IgG pozitifliğinin dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir(p>0.05).

Tablo 4.8. Çalışma gruplarının sigara içme alışkanlığı yönünden CMV-IgG seropozitifliğinin dağılımı

Sigara Alışkanlığı	Hasta Grubu			Hasta Kontrol Grubu			Sağlıklı Kontrol Grubu											
	IgG(+)		IgG(-)	Toplam		IgG(+)		IgG(-)	Toplam									
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%								
Var	15	30	0	0	15	30	18	37.5	1	2.1	19	39.6	15	31.2	3	6.3	18	37.5
Yok /Bırakmış	34	68	1	2	35	70	26	54.2	3	6.2	29	60.4	26	54.2	4	8.3	30	62.5
Toplam	49	98	1	2	50	100	44	91.7	4	8.3	48	100	41	85.4	7	14.6	48	100

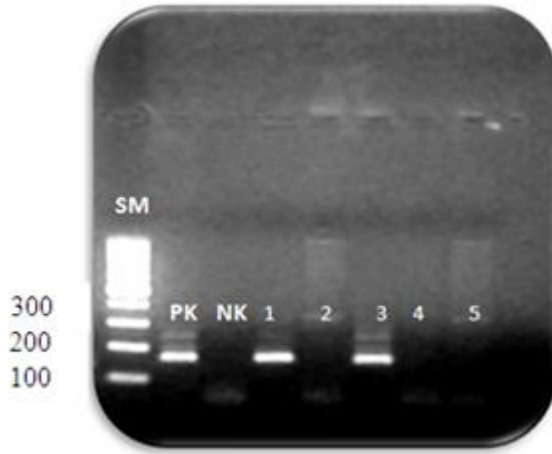
Sigara içen: HG x HKG p>0.05
HG x SKG p>0.05

Sigara içmeyen: HG x HKG p>0.05
HG x SKG p>0.05

4.3. Nested PZR Sonuçları

Nested PZR uygulanan HG ve HKG'na ait 98 örnekten Hasta Grubu'na ait iki örnek (3 ve 49 nolu hastalara ait örnekler) CMV-DNA açısından pozitif bulundu. 162bp'lık PZR ürünleri elde edildi. CMV-DNA pozitif hasta örnekleri jel elektroforezinde pozitif ve negatif kontroller ile eşzamanlı yürütüldü. Jel UV transilluminatördeki fotoğrafı gösterilmiştir.

CMV-DNA ve CMV-IgG sonuçları pozitif saptanan Asendan Aort Anevrizması tanısı almış olan 3 no'lu olgu (E.T) 56 yaşında erkek olup sigara içme alışkanlığı bulunmamakta idi. Hastanın öyküsüne bakıldığında herhangi hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemiye rastlanmazken, ailesinde kalp rahatsızlığı öyküsü bulunmaktaydı. Diğer CMV-DNA ve CMV-IgG pozitif saptanan Abdominal Aort Anevrizma tanılı 49 no'lu olgu (SA.Ö) ise 54 yaşında erkek olup sigara içme alışkanlığı bulunmamaktaydı. Hastada diyabet, ailede kalp rahatsızlığı öyküsü bulunmazken hipertansiyon ve hiperlipidemi mevcuttu.



Şekil 4-1. Pozitif olguların PZR ürünleri

*SM: Size marker, PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol

1- 3 nolu pozitif hasta örneği (E.T)

4- 7 nolu negatif hasta örneği (H.Y)

2- 4 nolu negatif hasta örneği (K.Y)

5- 17 nolu negatif hasta kontrol grubu örneği (H.K)

3- 49 nolu pozitif hasta örneği (SA.Ö)

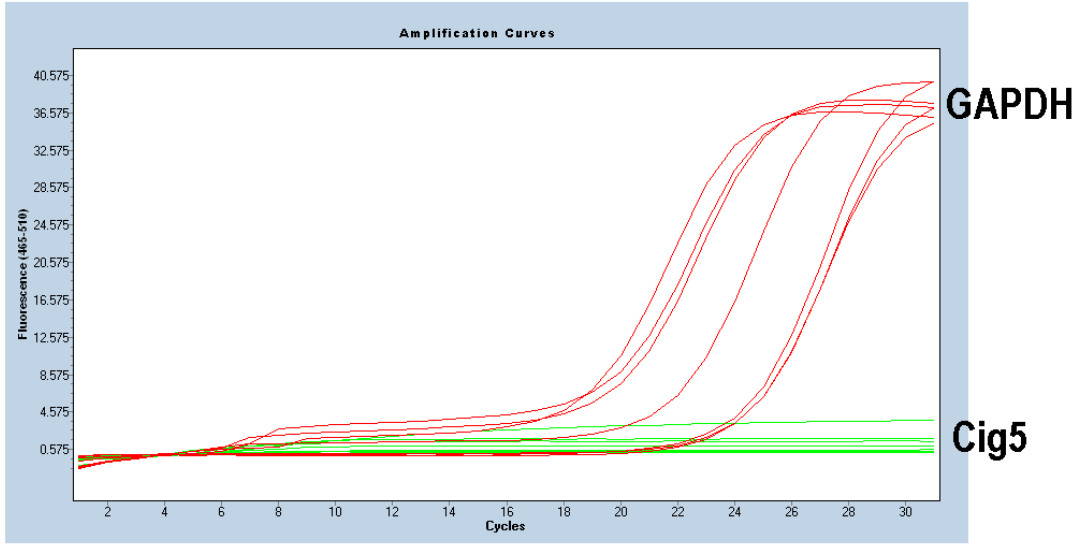
4.4. *Cytomegalovirus* Gen5 (cig5)/Viperin Ekstraksiyonunun Sonuçları

4.4.1. Gerçek Zamanlı PZR (Real-Time PCR) Sonuçları

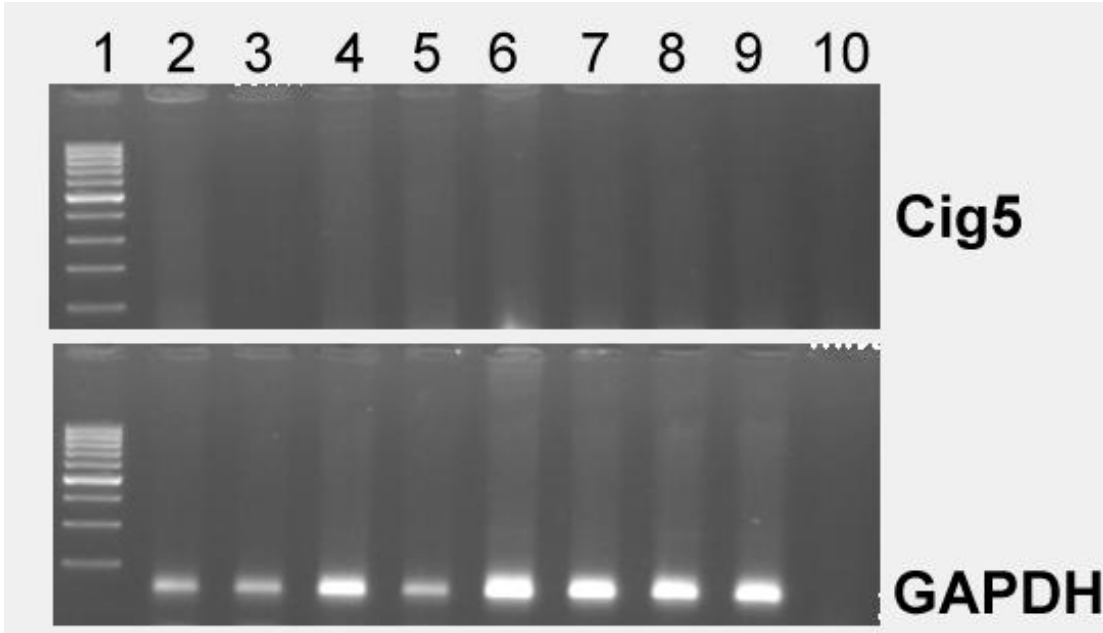
Negatif kontrol olarak CMV-DNA çalışması ile negatif olarak saptanan iki hasta grubuna ait olgu ile iki hasta kontrol grubuna ait olgu [4 nolu hasta örneği, 7 nolu hasta örneği , 17 nolu hasta örneği (k17) ve 39 nolu hasta örneği (k39)] ve CMV pozitif (3 ve 49 nolu hasta örnekleri) olgulardan izole edilen RNA örnekleri cDNA'ya çevrildikten sonra RT-PCR analizi ile kalitesi test edildi (şekil 4-2). cDNA'ya çevrilen tüm örneklerden GAPDH primerleri ile başarılı bir amplifikasyon elde edildi. cig5 primerleri ile yapılan tekrarlar sonucunda hiçbir örnekte amplifikasyon gözlenmedi (şekil 4-2). Bu tekrarlar;

- (1) farklı primer bağlanma sıcaklıklarının (55-62 °C) denenmesi,
- (2) farklı miktarda cDNA miktarının kullanılması,
- (3) cig5 genine özgü iki farklı primer dizisinin sipariş edilip kullanılmasını içermektedir.

Tüm örnekler GAPDH primeri ile amplifiye olmuştur. Örnekler cig5 primeri ile ürün vermemiştir. Agaroz gel elektroforez yöntemi ile RT-PCR sonucu elde edilen ürünlerin beklenen ürün olup olmadığı araştırıldı(şekil 4-2). Bu çalışmalar sonucunda amplifikasyon gözlenmemesi test edilen CMV pozitif iki vakada (3 ve 49 nolu hasta örnekleri) Cig5 geni saptanmadı(Şekil 4-3).



Şekil 4-2. cDNA örneklerinden Cig5 (viperin) ve GAPDH primerleri ile yapılan RT-PCR analizi sonucu.



Şekil 4-3. RT-PCR sonucu elde edilen örneklerin agaroz (%2'lik) gel elektroforez yöntemiyle incelenmesi.

Kuyular sırayla; 1- size marker (100 bp

ladder, Fermentas)

2- örnek 4;

3- örnek 19;

4- örnek k17

5- örnek k39

6- örnek 3-1

7- örnek 3-2;

8- örnek 49-1

9- örnek 49-2

10- negatif miks kontrol (su).

5. TARTIŞMA

Ateroskleroz; miyokard enfarktüs, kronik koroner arter hastalığı ve iskemik inme gibi komplikasyonlara sebep olan, damarların kronik enflamatuvar hastalığı olarak tanımlanan ve ölümlere yol açan bir patolojidir(108). Aterosklerozun potansiyel patolojik mekanizması hala tam olarak açıklanamamakta, özellikle Hipertansiyon, hiperkolesterolemi, sigara kullanımı, hiperlipidemi, diyabet, genetik faktörler gibi bilinen belli başlı risk faktörlerinin önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Bunların yanısıra *C.pneumoniae*, *H.pylori*, bazı Herpesviruslar gibi enfeksiyon ajanlarının damar dokusunda enflamatuvar yanıtı tetikleyici etki yaparak aterosklerotik patolojinin gelişmesinde etkili olabileceğini ileri süren çalışmaların sayısında son yıllarda artış gözlenmiştir(109,110,111).

Aterosklerozla ilişkili en çok üstünde çalışılan viruslardan olan İnsan CMV (HCMV) özellikle immunsuprese konaklarda hastalık oluşturan önemli bir insan patojeni olup, oldukça kompleks bir virus olarak primer enfeksiyon sonrası konakta persistan olarak kalmaktadır. Yapılan çalışmalar arter duvarının HCMV için latent bir enfeksiyon alanı olabileceğini ve virusun bu alandaki reaktivasyonunun ateroskleroz gelişiminde etkili olabileceğini öne sürse de henüz bu virusun aterosklerozu primer olarak mı başlattığı yoksa affiniteye bağlı olarak var olan lezyona mı tutunuyor olduğu bir netlik kazanamamıştır(110,111). Aterosklerotik gelişimin ilk olarak endotel hücrelerinin hasarı veya disfonksiyonu ile geliştiği, daha sonra vasküler duvarın permabilitesinin artması ile makrofaj, monosit ve trombositlerin endotele adhezyonun arttığı ve bununla birlikte düz kas hücrelerinin migrasyonu, proliferasyonu, ekstraselüler matriks proteinlerinin salınımı gibi olaylar ile intimal incelmeye meydana gelmesi ile aterosklerotik sürecin başladığı ileri sürülmektedir. Bu sürecin başlamasında anahtar adım ise immun yanıt mekanizmaları ve ürünlerinin etkinliği olup, özellikle monosit ve T lenfositlerin intimada toplanarak kümeleşmesidir. Lökositlerin migrasyonu damar duvarında monosit ve T lenfositlerin artışı sağlayan kemoatraktant sitokin ve kemokinlerin regülasyonu sonucu olmakta, epitel hücreler enfekte olduktan sonra sitokinlerin artması, lökositlerin epitele bağlanmasına sebep olmaktadır. Monositlerin latent HCMV'nin arter duvarına transfer olmasını sağladığı düşünülmekte ve böylece virusun aktive ettiği immunolojik ve enflamatuvar reaksiyonun intimanın hasarını arttırdığı ve yeni intimanın formasyonuna neden olduğu ileri sürülmektedir(112-114).

20. yüzyılın başlarında William Osler ilk defa aterosklerotik olgularda mikroorganizmaların bir risk faktörü olabileceğini belirttiğinden beri, çeşitli mikroorganizmalar üzerinde moleküler,

immunohistokimyasal, serolojik, hayvan modeli temelli çalışmalar yapılmıştır (110,113). Ateroskleroz gelişimi ile ilişkisi üzerinde yıllardır durulan HCMV ile ilgili çok sayıda immunolojik ve moleküler çalışmalar mevcuttur. Chiu ve ark(115), 1997'de 76 karotid arter stenozlu olguda yaptıkları çalışmada 50 (%65.8) hastada seropozitiflik bulmuş, fakat kontrol olgularında da CMV antikorunu benzer titrede saptayarak, anlamlı bir farkın olmadığını bildirmişlerdir. 2003 yılında Chen ve ark(116) yaptıkları çalışmada 75 aterosklerotik damar hastalığı olan olgunun 66 (%88)'sında, 22 kontrol olgusunun 17 (%77.3)'sinde CMV-IgG pozitifliği saptamışlar ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını bildirmişlerdir. Watt ve ark(110), 2001 yılında yaptıkları çalışmada 16 hastada %50 oranında, Müller ve ark(117) 2005 yılında 109 internal karotid arter stenozlu hastadan oluşan çalışmada %72.5 oranında CMV-IgG seropozitifliği saptamışlardır. Gredmark-Russ ve ark(118) ise 2009 yılında 22 aterosklerotik temelli abdominal aort anevrizmalı olgudan 10'unun serumundan 9 (%90)'unda CMV-IgG pozitifliği tespit etmişlerdir. Ülkemizde farklı çalışma gruplarıyla yapılan araştırmalarda CMV seroprevalansının yüksek oranları göz önüne alınırsa, bizim çalışmamızda da beklendiği gibi 50 olguluk hasta grubunun 49 (%98)'u CMV-IgG pozitif saptanmıştır. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında hasta grubu ile hasta kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmezken ($p>0.05$), sağlıklı kontrol grubu ile hasta grubu arasında CMV-IgG seropozitifliği oranı yönünden anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). Her ne kadar bizim sonuçlarımız HG ve SKG arasında seropozitiflik yönünden anlamlı bir fark olduğunu gösterse de; CMV seropozitifliğinin toplumda yüksek oranda saptandığı, HG yada HKGlarını benzer oranda enfekte ettiği belirtilmiştir.

Çalışmamızda CMV-IgG pozitifliğinin cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde çalışma grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Yaptığımız literatür araştırmasında CMV-IgG seropozitifliği ile cinsiyet arasında sınırlı sayıda yayına ulaşılabilmektedir. Mayr ve ark(119)'nın 2000 yılında karotid ve femoral aterosklerozlu olgularda yaptıkları çalışmada erkeklere göre kadınlarda istatistiki olarak ileri derecede yüksek oranda CMV seropozitifliğinin olduğunu saptamışlardır ($p<0.001$). Zhu ve ark(120) ise ateroskleroz temelli koroner arter hastalığı olan olgularda CMV-IgG seropozitifliğinin erkeklerde kadınlara göre ileri derecede anlamlı olarak yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir ($p<0.001$). Görüldüğü üzere cinsiyet ile ilgili az sayıda yapılan çalışmalarda CMV-IgG seropozitifliğinin dağılımı çalışmalara göre farklılık göstermektedir.

Çalışmamızda CMV-IgG seropozitifliğinin yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde; yaş grupları arasında CMV-IgG pozitifliğinin dağılımı bakımından istatistiki olarak anlamlı bir fark

bulunamamıştır ($p>0.05$). Bizim sonuçlarımızdan farklı olarak Mayr ve ark(119) ve yine benzer olarak Zhu ve ark(120), CMV-IgG seropozitiflik oranının ileri yaş ile birlikte arttığını saptamışlardır ($p<0.001$).

Literatür taramasında aterosklerotik zeminli damar hastalığı olup, sigara içen ve içmeyen gruplarda CMV-IgG seropozitifliğinin, hasta kontrol grubu olarak post-stenotik olgular ile sağlıklı kontrol grubu olgularının karşılaştırmasına dayalı ayrıntılı bir araştırma içeren bir yayın dışında veri bulunamamıştır. 2000 yılında Mayr ve ark(119) yaptıkları tek çalışmada, sigara içme ile birlikte CMV seropozitiflik kombinasyonu ateroskleroz gelişiminde anlamlı bir rolünün olmadığını belirtmişlerdir. Buna karşın; 2007 yılında Betjes ve ark(121) Hollanda’da yaptıkları çalışmada aterosklerotik zeminli renal arter hastalığı olan 408 kişi ile yaptıkları çalışmada, sigara içme ve CMV seropozitifliğinin aterosklerotik zeminli hastalık oluşumundaki rolleri multivaryant regresyon analizi ile ayrı ayrı değerlendirilmiş, sigara içmenin Odds ratio’nun (OR) 2.2, CMV seropozitifliğinin OR’sinin 2.7 olduğunu bildirmişlerdir. Görüldüğü üzere ateroskleroz gelişiminde sigara içme ve CMV seropozitifliği birlikteliğinin rolüne ilişkin prospektif yeni, geniş serili çalışmalara gereksinim olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda Hasta Grubuna ait aterosklerotik doku örneklerinden 2 (%4)’sinde CMV-DNA pozitifliği bulunmuş, Hasta Kontrol Grubunda ise CMV-DNA saptanamamıştır. Bizim çalışmamıza benzer olarak Watt ve ark(110), 16 aterosklerotik zeminli karotid arter dokusu, Müller ve ark(117) 53 karotid plakta yaptıkları çalışmada hiçbir doku örneğinde CMV-DNA saptayamamışlardır. Yine Ibrahim ve ark(122) 2005 yılında yaptıkları çalışmada, 46 koroner 2 karotid arterden aldıkları aterosklerotik doku örneklerinde %10 CMV-DNA pozitifliği saptamışlar, buna karşın non-aterosklerotik doku örneklerinde ise CMV-DNA bulamadıklarını ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Ülkemizden Kılıç ve ark(123) 2006’da yaptıkları bir çalışmada koroner, karotid ve abdominal arterlerden alınan aterosklerotik doku örneklerinin %37.9’unda, non-aterosklerotik doku örneklerinin %32.7’sinde CMV-DNA pozitifliği bulmuş, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını belirtmişlerdir.

Bizim ve belirtilen diğer uluslararası ve ulusal anlamlı bulunmayan verilerin aksine, Chiu ve ark(115), çalışmalarında 76 karotid arterden aldıkları aterosklerotik hasta doku örneğinin 27 (%35.5)’sinde CMV DNA’yı pozitif bulurken, 20 olguluk kontrol grubunda CMV-DNA bulamamışlardır. Chen ve ark(116) 75 aterosklerotik doku örneği ile yaptıkları ve CMV’nin çok erken (ÇE) ve geç(G) gen bölgelerini hedefleyen çalışmalarında, ÇE gen bölgesinden %13.3, geç gen bölgesinden %58.7 oranında pozitiflik saptarlarken, kontrol grubu olgularında ise sırasıyla %0

ve %4.5 oranında pozitiflik saptamışlar, çalışma ve kontrol grubu olguları arasında anlamlı bir farkın olduğunu bildirmişlerdir. Yine benzer şekilde Wenli ve ark(124) 2001'deki çalışmalarında, 30 aterosklerotik karotid arter dokusunun 26 (%86.7)'sında CMV DNA saptarken, aterosklerotik olmayan kontrol olgularında 30 dokudan 2 (%6.7)'sinde pozitiflik bularak oldukça anlamlı bir fark saptamışlardır. Yi ve ark(125) ise 2008'deki çalışmalarında 35 karotid arter dokusunun 21 (%60)'inde CMV-DNA'yı saptayarak kontrol grubuna göre oldukça anlamlı bir pozitifliğin olduğunu belirtmişlerdir ($p < 0.05$).

Aterosklerotik doku örneklerinde CMV-DNA varlığına ilişkin, her ne kadar bazı uluslararası çalışmalarda CMV-DNA saptanamamış olsa da, yine bizim çalışmamızda sadece iki olguda CMV-DNA bulunabilmişse de pek çok uluslararası çalışmada aterosklerotik doku örneklerinde CMV-DNA varlığının istatistiksel olarak yüksek oranlarda bulunması; CMV'nin ateroskleroz gelişiminde sekonder olarak dokuya affinitesinden ziyade primer ajan olarak ateroskleroz etyopatogenezinde rolü olabileceğine ilişkin iddiaları güçlendirdiğini düşünmekteyiz.

Aterosklerozun bir enflamatuar süreç olduğu bildirilmekte ise de olayı başlatan mekanizma hala net olarak anlaşılamamıştır. Bu enflamatuar sürecin başlamasında etkili olduğu öne sürülen CMV'nin etki mekanizmasını araştırmak amacı ile direk olarak insan Cytomegalovirusu tarafından indükte edilen IFN aracılığı ile eksprese olan bir antiviral protein olan Cig5(viperin) üzerinde tek çalışma bulunmuş(126), diğer bir çalışma da cig5'in JC virusu ile ilişkisidir(127). HCMV'nin, fibroblastlarda cig5 (viperin) sentezini indükte ettiği, hatta HCMV enfeksiyonundan önce fibroblastlarda eksprese olduğunda ise viruse karşı direnç sağladığı bildirilmiştir(126). Uluslararası düzeyde virolojik, immunolojik ve moleküler yöntemleri içeren tek seri olgulu çalışmanın sahibi olan Olofsson ve ark(5) yaptıkları çalışmada, insan ve hayvanlarda aterosklerozda viperin ekspresyonunu tespit etmişler, Renal ve karotid arterlerden alınan doku örneklerinde yaptıkları çalışmada aterosklerotik lezyonlarda normal arterlere göre 3,8 kat daha fazla cig5 (viperin) mRNA düzeyi saptayarak anlamlı bir sonuç elde etmişlerdir. Bu çalışmada aynı zamanda vasküler hücrelerin endoteliumda CMV enfeksiyonunun kuvvetli aktivatörlüğü ve enflamatuar sürecin stimülasyonu ile aterosklerotik arterlerde cig5 (viperin) eksprese edildiği ileri sürülse de aterosklerotik cig5'in CMV'ye bağlanabileceği gibi lezyonlardaki aktif bir immun yanıtın da rol oynayabileceği belirtilmiştir. Bundan dolayı araştırmada aterosklerotik cig5'in mikrobiyal mekanizması ile ilgili karar verebilmek için yeni ve seri olgulu çalışmalara gereksinim olduğunu vurgulamışlardır. Biz de CMV-DNA pozitif saptadığımız iki olguda cig5 (viperin) ekspresyonuna ilişkin cig5 primerleri ile yapılan Gerçek Zamanlı PZR çalışmasında cig5 ekspresyonunu saptayamadık. Bu durum cig5 geninin bu dokularda eksprese olmamasından ya da

tespit edilemeyecek kadar az olmasından kaynaklanıyor olabilir. Ancak çalışmada kullanılan primerlerin çalıştığını test edebilecek *cig5* pozitif bir kontrolümüzün olmaması nedeni ile, yapılan literatür taraması sonucunda bulunan *cig5* geni ile çalışma yapan araştırma gruplarından temin edilebilecek bir pozitif kontrolle tekrarlanması gerektiğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; HCMV'nin damar duvarında latent bir enfeksiyon oluşturması ve buradan reaktif olarak meydana getirdiği hasarla enflamatuvar bir sürecin oluşmasına ve ateroskleroz gelişimin başlamasına sebep olabileceğini öne süren pek çok çalışma mevcuttur. Bunun yanı sıra bu düşünce ile çelişkili sonuçlar bulan çalışmalara da rastlanmaktadır. CMV'nin damar duvarında primer olarak aterosklerozu tetikleyici mi yoksa affiniteye bağlı olarak rastlantısal olarak mı burada bulunduğu henüz bir netlik kazanmamıştır. Her ne kadar bizim sonuçlarımız CMV ile ateroskleroz arasında anlamlı bir ilişkiyi gösteriyor olmasa da bu konu ile ilgili yeni çalışmalara gereksinim vardır. Özellikle *cig5* pozitif bir kontrol örneğinin varlığında bu genin aterosklerotik dokularda eksprese olup olmadığının araştırılmasının CMV-ateroskleroz ilişkisi yönünden önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Ustaçelebi Ş. İnsan Sitomegalovirusu. In: Bilgiç A, Özacar T. (eds), *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, Güneş Kitabevi Ankara: 1999;835-841
2. Başustaoğlu A. İnsan Sitomegalovirusu. In: Çolak D (ed), *Klinik Mikrobiyoloji Cilt 2. Atlas* Kitapçılık Ankara: 2009; 1549-1563.
3. Başustaoğlu A. İnsan Herpesvirusları. In: Mutlu E, Baysan BÖ, Çolak D. (eds), *Tıbbi Mikrobiyoloji*,6. baskı. Atlas Kitapçılık Ankara: 2010; 517-540.
4. Enar R. *Akut Miyokard İnfarktüsü Trombolitik Tedavi*. Tatlıdil Matbaacılık İstanbul: 1998;11-46.
5. P.S. Olofsson, K. Jatta, D. Wågsäter, S. Gredmark, U. Hedin, G. Paulsson-Berne, C. Söderberg-Nauclér, G.K. Hansson and A. Sirsjö. The Antiviral Cytomegalovirus Inducible Gene 5/Viperin Is Expressed in Atherosclerosis and Regulated by Proinflammatory Agents. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, 25:113-116
6. Landolfo S, Marigliano M, Griboudo G, Lembo D. The Human Cytomegalovirus. *Pharmacology and Therapeutics* 2003;98: 269-97.
7. Söyletir G: Herpes virusların Genel Özellikleri. In: Topçu WA, Doğanay M(eds), *İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri İstanbul: 2002;1174-1176.
8. Giffiths PD, Emery VC: Cytomegalovirus. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG(eds): *Clinical Virology*. ASM, Washington DC:2002;433-63.
9. Hodinka R: Cytomegalovirus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC(eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 8th edition. ASM, Washington DC: 2003; 1304-18.
10. Stefan H: Cytomegalovirus” Kaufmann E, Sher A, Rafi A: *Immunology of Infectious Diseases*, ASM, Washington 2002; 253-275, 314-318.
11. Ling P, Lednicky JA, Keitel WA, Poston DG, White ZS, PengR, Liu Z, Mehta SK, Pierson DI, Rooney CM, Vilchez RA, Smith EOP, Butel JS. The Dynamics of Herpesvirus and polyomavirus Reactivation and Shedding in Healthy adults: A 14-Month Longitudinal Study. *J Infect Dis*, 2003; 187:1571-80.
12. Reinke P, Prösch S, Kern F, Volk HD. Mechanisms of human CMV reactivation and its impact on organ transplant patients. *Transpl Infect Dis* 1999;1:157-64.
13. Streblow DN, Nelson JA. Models of HCMV latency and reactivation, *Trends in Microbiology* 2003; 11(7): 293-5.

14. Günhan C: Cytomegalovirüs infeksiyonları. In: Topçu WA, Söyletir G, Doğanay M(eds): *İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul: 2002;1191-7.
15. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S(eds). Herpesviruslar. In: Çolak D, Mutlu D(eds). *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. Güneş Kitabevi Ankara: 2004;113-144.
16. Crumpacker CS: Cytomegalovirus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's. *Principles and Practise of Infectious Diseases*. 5th, Churchill Livingstone Philadelphia: 2000;1586-99.
17. Mete Z, Yenen OŞ. Kan donörleri ve çocuklarda sitomegalovirus (CMV) IgM ve IgG antikor prevalansı. *İnfeksiyon Dergisi* 1988; 2(2):227-32.
18. Toppare M, Öztürk O, Kitapçı F, Şenses D, Kaya S, Dilmen U. Türkiye'de 4-12 yaş grubu çocuklarda ELISA methodu ile Sitomegalovirus antikorlarının araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 1994;28:166-9.
19. Giuseppe G, Baldanti, Fausto, Grossi, Paolo, Franco L, Colombo, Paolo, Vigano, Mario, Revello, Grazia M. Diagnosis and monitoring of human CMV infections in transplant recipients. *Rev Med Microbiol*, Lippincott Williams&Wilkins Inc 2001; 12(3):155.
20. Sissons JGP, Carmichael AJ, McKinney N, Sinclair JH, Wills MR. Human CMV and immunopathology, Springer Seminars in immunopathology. 2002;24:169-85.
21. Akan E. *Genel ve Özel Viroloji*. 2.baskı. Desen Matbaası Ankara: 1991; 187-195.
22. Halwachs-Baumann G, Wilders-Trusching M, Enzinger G, Eibi M, Linkesch W, Dornbusch HJ, Santer BL, Marth E, Kessler HH. CMV diagnosis in renal and bone marrow transplant recipients: the impact of molecular assays. *J Clin Virol* 2001; 20:49-57.
23. Baldanti F, Sarasini A, Furione M, Gatti M, Comolli G, Revello MG, Gerna G. Coinfections of the immunocompromised but not the immunocompetant hosts by multipl HCMV strains. *Arch Virol* 1998; 143:1701-9.
24. Emery V. Prophylaxis for CMV should not now replace pre-emptive therapy in solid organ transplantation. *Med Virol* 2001; 11:83-6.
25. Kutza AST, Muhl E, Hackstein H, Kirchner H, Bein G. High incidence of Active CMV Infection Among Septic Patients. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1076-82.
26. Morfin F, Boucher A, Najjioullah F, Bertrand Y, Bertrand N, Aymard M. CMV and Adenovirus infections and disease among 75 paediatric unrelated allogeneic bone marrow transplant recipients. *J Med Virol* 2004; 72: 257-62.

27. Torok-Storb B, Boeckh M, Hoy C, Leisenring W, Myerson D and Gooley T. Association of specific CMV Genotypes With Death From Myelosuppression after Marrow Transplantation, *Blood* 1997; 90(5) : 2097-102.
28. Soldan SS, Berti R, Salem N, Secchiero P, Flamand L, Calabresi PA, Brennan MB, Maloni HW, Mcfarland HF, Lin HC, Patnaik M, Jacobson S. Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: Increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. *Nat Med*,1997; 3(12): 1394-7.
29. Giraldo G, Beth E, Huang ES. Kaposi sarcoma and its relationship to cytomegalovirus (CMV).III.CMV DNA and CMV early antigens in Kaposi sarcoma. *Int J Cancer*,1980; 26(1):23-9.
30. Nyberg A, Skagius E, Nilsson I, Ljungh A, Henriksson AE. Abdominal Aortic Aneurysm and Cytomegalovirus Infection *J Med Virol* 2008; 80: 667-669.
31. Al-Ghamdi A, Jiman-Fatani AA, El-Banna H. Role of Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori and Cytomegalovirus in coronary artery disease.*Pak J Pham Sci*.2011; 24(2): 95-101.
32. Cheng Y, Li DD, Cheng X, Liu BL, Cheng JL. Distribution of cytomegalovirus DNA in vascular tissues and the relationship between virus and atherosclerogenesis. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi*, 2009; 23(5): 321-4.
33. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S Çolak D, Mutlu D. Herpesviruslar. In: Çolak D, Mutlu D(eds). *Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji*. Güneş Kitabevi Ankara: 2004; 113-144.
34. Çolak D. Betaherpesvirus infeksiyonlarında laboratuvar tanısı. *Antiviral Tedavi Serisi* 2007
35. Çolak D. Cytomegalovirus infeksiyonlarının tanısında nükleik asit testlerinin kullanımı. *Moleküler Tanı Dergisi* 2007; 3: 87-89.
36. The TH, Van den Berg AP, Harmsen MC, Van der Bij W, Wanson WJ. The cytomegalovirus antigenemia assay: a plea for standardization. *Scant J Infect Dis* 1995; 99: 25-29.
37. Boeckh M, Boivin G. Quantitation of CMV: Methodologic Aspects and Clinical applications. *Clin Microbiol* 1998; 11(3): 533-4.
38. Caliendo AM, George KS, Allegra J, Gilbane L. Distinguishing CMV infection and disease with CMV nucleic acid assays. *J Clin Microbiol* 2002; 40(5): 1581-6.
39. Greijer AE, Van de Crommert JMG, Stevens SJC, Middeldorp JM. Molecular fine-specificity analysis of antibody response to human cytomegalovirus and design of novel synthetic-peptide-based serodiagnostic assays. *J Clin Microbiol* 1999; 37:179-188.

40. Landini MP, Mach M. Searching for human cytomegalovirus: is it useful? When and how. *Scand J Infect Dis* 1995; 99: 18-23.
41. Grazia Revello M, Percivalle E, Arbustini E, Pardi R, Sozzani S, Gerna G. In Vitro Generation of Human CMV pp65 Antigenemia, Viremia and LeukoDNAemia. *J Clin Invest* 1998; 101(12):2686-92.
42. Nokta MA, Holland F, Gruttola V, Emery VC, Jacobson MA, Griffiths PA. CMV PCR Profiles in individuals with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection Relationship to CMV disease. *J Infect Dis* 2002; 185: 1717-22.
43. Roback JD. CMV and blood transfusions, *Med Virol* 2002; 41:211-19.
44. Roback JD, Drew WL, Laycock E, Todd CD, Hillyer D, Busch MP. CMV DNA is rarely detected in healthy blood donors using validated PCR assays. *Transfusion* 2003; 43: 314-21.
45. Matthes-Martin S, Aberle SW, Peters C, Holter W, Popow-Kraupp T, Potschger U, Fritsch G, Ladenstein R, Rosenmayer A, Diekmann K, Gadner H. CMV-viremia during allogeneic bone marrow transplantation in paediatric: association with survival and graft-versus-host disease, *Bone Marrow Transplant* 1998; 21(2): S53-6.
46. Roback JD, Hillyer CD, Lawrence W, Drew, Laycock ME, Luka J, Mocarski ES, Slobedman B, Smith JV, Soderberg-Naucler C, Todd DS, Woxenius S, Busch MP. Multicenter evaluation of PCR methods for detecting CMV DNA in blood donors. *Transfusion* 2001; 41: 1249-1257.
47. Aono T, Kondo K, Miyoshi H, Tanaka K, Kondo M, Osugi Y, Hara J, Okada, Yamanishi K. Monitoring of Human CMV Infections in Pediatric Bone Marrow Transplant Recipients by Nucleic Acid Sequence-Based Amplification. *J Infect Dis* 1998; 178:1244-9.
48. Boriskin Y, Fuller K, Powles R, Rice PC, Boot JC, Butcher PD. Early detection of CMV infection in bone marrow transplant patient by reverse transcription-PCR for CMV spliced late gene UL21.5: a two site evaluation. *J Clin Virol* 2002;24:13-23.
49. Jebbink J, Bai X, Roggers B, Dawson DB, Scheuermann RH, Domiati-Saad R. Development of Real Time PCR assays for the Quantitative Detection of Epstein-Barr Virus and Cytomegalovirus, Comparison of Taqman Probes and Molecular Beacons. *J Mol Diag* 2003; 5(1): 15-20.
50. Najiollah F, Thouvenot D, Lina B. Development of a real time PCR Procedure including an internal control for the measurement of HCMV viral load. *J Virol Met* 2001; 92: 55-64.

51. Nelson PN, Rawal BK, Boriksin YS, Mathers KE, Powles RL, Steel HM, Tryhorn PS, Butcher D, Booth JC. A polymerase chain reaction to detect a spliced late transcript of human CMV in the blood of bone marrow transplant recipients. *J Virol Met* 1996; 56:139-48.
52. Preiser W, Brink NS, Ayliffe U, Peggs KS, Mackinnon S, Tedder RS, Garson JA. Development and clinical application of fully controlled quantitative PCR assay for cell-free CMV in human plasma, *J Clin Virol* 2003; 26: 49-59.
53. Skiest DJ, Crosby C. CMV pp65 antigen testing is of limited utility in the diagnosis of concomitant CMV disease in HIV-infected patients in the Haart era. *J Clin Virol* 2003; 1-11.
54. Wu F, Li H, David BS, Zhang Y. Differential Detection of CMV Immediate-early Messenger RNA in Clinical samples using Ligation-dependent PCR. *Mol Diagnosis New York* 2001; 6(4):233-9
55. Camara R, Fernandez-Ranada JR. Does High Dose Prophylactic Acyclovir Add Benefit in Allogenic Marrow Transplant Recipients Receiving Prophylactic or Preemptive Ganciclovir? *J Infect Dis* 1999; 180:570-1.
56. Einsele H, Hebart H, Kauffmann-Schneider C, Sinzger C, Jahn G, Bader P, Klingebirl T, Dietz K, Löffler J, Bokemeyer C, Müller CA, Kanz L. Risk factors for treatment failures in patients receiving PCR-based preemptive therapy for CMV infection. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25:757-63.
57. Razonable RR, Crujisen HV, Brown RA, Wilson JA, Harmsen WS, Smith TF, Paya CV. Dynamics of CMV Replication during Preemptive Therapy with Oral Ganciclovir, *J Infect Dis* 2003; 187:1801-8.
58. Ketley D, Woods KL. Impact of clinical trials on clinical practice: example of thrombolysis for acute myocardial infarction. *Lancet* 1993; 9:342: 891-4.
59. Cragg DR, Friedman HZ, Bonema JD, Jaiyesimi IA, Ramos RG, Timmis GC, et al. Outcome of patients with acute myocardial infarction who are ineligible for thrombolytic therapy. *Ann Intern Med* 1991;115:173-7.
60. Onat A(eds). Ateroskleroz ve Koroner Arter Hastalığı. In: Onat A. *Kalp ve Damar Hastalıkları*, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları İstanbul: 1977; 226-236.
61. Pınar A. Ateroskleroz patogeneğinde enfeksiyonlar. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2003;34(2): 109-115
62. Castelli WP, Lipids, risk factors and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis* 1996;124: 1-9.

63. Azad K, Court S, Parkin JM, Laker MF, Alberti KG. Lipid levels in schoolchildren in North East England: effects of feeding and age. *Ann Clin Biochem* 1994; 31: 233-9.
64. PDAY Research Group: Relationship of atherosclerosis in young men to serum lipoprotein cholesterol concentrations and smoking. *JAMA* 1990; 264:3018-24.
65. K lt rsoy H. Risk Faktörleri. *Koroner Kalp Hastalığı Primer ve Sekonder Koruma* 2001: 335-358.
66. Koneti A, Goldberg R, Walsh PN. Trombosit coagulation activities in diabetes mellitus. *J Lab Clin Med* 1984;103:182-192.
67. Fuster V, Alexander RW, O'Rourke R. Dislipidemi, diğ r risk faktörleri ve koroner kalp hastalıklarının  nlenmesi. *The Heart* 2002(10): 1131-1144.
68. Hajjar DP, Fabricant JG, Minick CR, Fabricant J: Virus induced atherosclerosis: herpesvirus infection alters aortic cholesterol metabolism and accumulation. *Am J Pathol* 1986: 122;70.
69. Gyorkey F, Melnick JL, Guinn GA, Gyorkey P, DeBakey ME: Herpesviridae in the endothelial and smooth muscle cells of the proximal aorta of atherosclerotic patients. *Exp Mol Pathol* 1984; 40: 339.
70. Fabricant CG, Fabricant J. Litrenta M, Minick C: Virus-induced atherosclerosis. *J Exp Med* 1978: 148; 335.
71. Melnick JL, Petric BL, Dreesman GL, Burck J. McCollum CH, DeBakey ME: Cytomegalovirus antigen within human arterial smooth muscle cells, *Lancet* 1983;2; 644.
72. Yamashiroya H, Ghosh L, Yang R, Robertson A: Herpesviridae in the coronary arteries and aorta of young trauma victims, *Am J Pathol* 1988; 130:71
73. Saikku p, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Makela PH, Huttunen JK, Valtonen V: Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myokardial infarction, *Lancet* 1988; 2:983
74. 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.
75. Kuo CC, Shor A, Campbell LA, Fukushi H, Patton DL, Grayston JT: Demonstration of Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic lesions of coronary arteries. *J Infect Dis* 1993 : 167;841.
76. Yamashita K, Ouchi K, Shirai M, Gondo T, Nakazawa T, Ito H: Distribution of *C.pneumoniae* in the atherosclerotic carotid artery, *Stroke* 1998; 29: 773

77. Wang P, Ba ZF, Chaudry IH. Administration of tumor necrosis factor- α in vivo depresses endothelium-dependent relaxation. *Am J Physiol* 1994; 266: 2535-41.
78. Hajjar DP, Pomerantz KB, Falcone DJ. Herpes simplex virus infection in human arterial cells: Implications in arteriosclerosis. *J Clin Invest* 1987;80: 1317-21.
79. Schussheim AE, Fuster V. Antibiotics for myocardial infarction? *Drugs* 1999; 57: 283-91.
80. Cook PJ, Lip GYH. Infectious agents and atherosclerotic vascular disease. *Q J Med* 1996; 89: 727-35.
81. Lip GYH. Fibrinogen and cardiovascular disease. *Q J Med* 1995; 88: 155-65.
82. Fowkes FGR, Lowe GDO, Housley E, et al. Cross-linked fibrin degradation products, progression of peripheral arterial disease and risk of coronary heart disease. *Lancet* 1993; 342: 84-86
83. Yarnell JWG, Baker IA, Sweetman FM, Bainton PJ, Elwood PC. Fibrinogen, viscosity and white blood cell count are major risk factors for ischaemic heart disease. *Circulation* 1991; 83: 836-44.
84. Rasi V, Ikkala E, Valtonen V. Plasma β -tromboglobulin in severe infections. *Tromb Res* 1982; 26:267-74.
85. Reines H, Haluska P, Wise W, Cook J, Rambo W. Plasma thromboxane concentrations are raised in patients dying with septic shock. *Lancet* 1982;2: 174-75.
86. Vaarala O, Palisuo T, Kleemola M, Aho K. Anticardiolipin response in acute infections. *Clin Immunol Ommonopathol* 1986; 41: 8-15.
87. Richardson SGN, Matthews KB, Cruikshank JK, Geddes AM, Stuart J. Coagulation activity and hyperviscosity in infection. *Br J Haematol* 1979; 42: 469-80.
88. Kuvin JT, Kimmelstiel CD: Infectious causes of atherosclerosis. *Am Heart J* 1999; 137:216.
89. Farsak B, Yıldırım A, Akyön Y, et al. Detection of Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori DNA in human atherosclerotic plaques by PCR. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4408-11.
90. Moazet T, Kuo C, Patton D, Grayston J, Campbell L. Experimental rabbit models of Chlamydia pneumoniae infection. *Am J Pathol* 1996; 148:667-76.
91. Muhlestein J, Anderson J, Hammond E, et al. Infection with Chlamydia pneumoniae accelerates the development of atherosclerosis and treatment with azithromycin prevents it in a rabbit model. *Circulation* 1998; 97: 633-6.

92. Gaydos CA, Summersgill JT, Sahney NN, Ramirez JA, Quinn TC. Replication of *Chlamydia pneumoniae* in vitro in human macrophages, endothelial cells and aortic smooth muscle cells. *Infect Immun* 1996;64: 1614-20.
93. Kalayoğlu MV, Byrne GI. *Chlamydia pneumoniae* component that induces macrophage foam cell formation is chlamydial lipopolysaccharide. *Infect Immun* 1998; 66: 5067.
94. Bulut Y, Faure E, Thomas L, et al. Chlamydial heat shock protein 60 activates macrophages and endothelial cells through toll-like receptor 4 and MD2 in MyD88-dependent pathway. *J Immunol* 2002;168:1435-40.
95. Coombes BK, Chiu B, Fong IW, Mahony JB. *Chlamydia pneumoniae* infection of endothelial cells induces transcriptional activation of platelet-derived growth factor-B: A potential link to intimal thickening in rabbit model of atherosclerosis. *J Infect Dis* 2002; 185: 1621-30.
96. Parchure N, Zouridakis EG, Kaski JC. Effect of azithromycin treatment on endothelial function in patients with coronary artery disease and evidence of *Chlamydia pneumoniae* infection. *Circulation* 2002; 105: 1298-1303.
97. Gurfinkel E, Bozovich G, Daroca A, Beck E, Mautner B and The ROXIS Study Group. Randomized trial of roxithromycin in non-Q-wave coronary syndromes: ROXIS pilot study. *LANCET* 1988:983-86.
98. Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, et al. Relation of *Helicobacter pylori* and coronary heart disease. *Br Heart J* 1994; 71: 437-39.
99. Danesh J, Koreth J, Youngman R, et al. Is *Helicobacter pylori* a factor in coronary atherosclerosis? *J Clin Microbiol* 1999; 37:1651.
100. Mach F, Sukhova GK, Michetti M, Libby P. Influence of *Helicobacter pylori* infection during atherogenesis in vivo in mice. *Circ Res* 2002; 90:1-4.
101. Kocazeybek B, Yuksel P, Çelik DG, Balcı A, Abdelkareem A, Ergin S, Koksall V, Aslan M, Saribas S, Ziver T, Kaygusuz A, Yekeler İ. Relationship between aneurysm and microorganism: Is *Helicobacter pylori* a primer agent or has an affinity to the tissue?. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 1(2):162
102. Benditt EP, Barrett T, McDougall JK. Viruses in the etiology of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:6386-89.
103. Grahame-Clarke C, Alber DG, Lucas SB, Miller R, Vallance P. Association between Kaposi's sarcoma and atherosclerosis: implications for gammaherpesviruses and vascular disease. *AIDS* 2001;15: 1902-1904.
104. Bozer AY, Günay İİ. Damar Hastalıkları ve Cerrahisi. 1984: A-50: 74-6.

105. Köksoy C. (2010). Damar Hastalıkları. Erişim 07.03.2012, http://www.cuneytkoksoy.com/damarhastaliklari_ateroskleroz.htm
106. Freymuth F, Gennetay E, Petitjean J. Comparison of nested PCR for detection of DNA in plasma with pp65 leukocytic antigenemia produce for diagnosis of human cytomegalovirus infection. *J Clin Microbiol* 1994. 32(6):1614-1618.
107. Rivieccio MA, Suh HS, Zhao Y, Zhao ML, Chin KC, Lee SC, Brosnan CF. TLR3 ligation activates an antiviral response in human fetal astrocytes: a role for viperin/cig5. *J Immunol.* 2006;177(7):4735-41.
108. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 1999; 138 : 419-420.
109. Castelli W. Epidemiology of coroner artery disease. *Am J Med* 1984; 76: 4-12.
110. Watt S, Aesch P, Lanotte P, Tranquart F. Viral and Bacterial DNA in Carotid Atherosclerotic Lesions. *Eur Clin Microbiol Infec Dis* 2003; 22:99-105
111. Melnick JL, Adam E, Debakey M. Possible role of cytomegalovirus in atherogenesis. *JAMA* 1990; 263: 2204-7.
112. Burnett MS, Durrani S, Stabile E, et al. Murine Cytomegalovirus infection increases aortic expression of proarterosclerosis genes. *Circulation* 2004; 109:893-7.
113. Rott D, Zhou YF, et al. IL-6 is produced by splenocytes derived from CMV-infected mice in response to CMV antigens, and induces MCP-1 production by endothelial cells: a new mechanistic paradigm for infected-induced atherogenesis. *Atherosclerosis* 2003; 170:223-8.
114. Attannavch TS, Roubalova K, Kucera P, et al. Effect of human cytomegalovirus and glucose on adhesion molecules expression in cultured human endothelial cells. *Acta Virol* 2002; 46:183-6.
115. Chiu B, Viira E, Tucker W, Fong I.W. Chlamydia pneumoniae, Cytomegalovirus and Herpes simplex virus in atherosclerosis of carotid artery. *Circulation* 1997; 96: 2144-2148.
116. Chen R, Xiong S, Yang Y, Fu W, Wang Y, Ge J. The relationship between human Cytomegalovirus infection and atherosclerosis development. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2003; 249: 91-96.
117. Müller BT, Huber R, Henrich B, Adams O, Berns G, Siebler M, Jander S, Müller W, Loncar R, Godehardt E, Sandmann W. Chlamydia pneumoniae, Herpes simplex virus and Cytomegalovirus in symptomatic and asymptomatic high-grade internal carotid artery stenosis. Does infection influence plaque stability?. *Vasa* 2005; 34(3): 163-9.

118. Grandmark-Russ S, Dzabic M, Rahbar A, Wanhainen A, Björck M, Larsson E, Michel J, Söderberg-Naucler C. Active Cytomegalovirus infection in aortic smooth muscle cells from patients with abdominal aortic aneurysm. *J Mol Med* 2009; 87:347-356.
119. Mayr M, Kiechl S, Willeit J, Wick G, Xu Q. Infections, Immunity, and Atherosclerosis: Associations of Antibodies to *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, and Cytomegalovirus With Immune Reactions to Heat-Shock Protein 60 and Carotid or Femoral Atherosclerosis. *Circulation* 2000, 102:833-839
120. Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE, Csako G, Epstein SE. Cytomegalovirus in the pathogenesis of atherosclerosis: The role of inflammation as reflected by elevated C-reactive protein levels. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1999;34:1738-1743
121. Betjes MGH, Litjens NHR, Zietse R. Seropositivity for cytomegalovirus in patients with end-stage renal disease is strongly associated with atherosclerotic disease. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 3298–3303.
122. Ibrahim AI, Obeid MT, Jouma MJ, Moasis GA, Al-Richane WL, Kindermann I, Boehm M, Roemer K, Mueller-Lantzsch N, Gartner BC. Detection of herpes simplex virus, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus DNA in atherosclerotic plaques and in unaffected bypass grafts. *Journal of Clinical Virology* 2005;32: 29-32.
123. Kilic A, Onguru O, Tugcu H, Kilic S, Guney C, Bilge Y. Detection of cytomegalovirus and Helicobacter pylori DNA in arterial walls with grade III atherosclerosis by PCR. *Pol J Microbiol* 2006; 55(4):333-7.
124. Wenli H, Jingzhong L, Shiqin N, Min L, Huaiyin S, Lixin W. Prevalance of CMV in arterial walls and leukocytes in patients with atherosclerosis. *Chinese Medical Journal* 2001; 114(11): 1208-1210.
125. Yi L, Wang D, Feng Z. Detection of Human Cytomegalovirus in Atherosclerotic Carotid Arteries in Humans. *J Formos Med Assoc* 2008; 107(10): 774-81.
126. Chin KC, Cresswell P. Viperin (cig5), an IFN-inducible antiviral protein directly induced by human cytomegalovirus. *PNAS* 2001; 98(26): 15125-15130.
127. Verma S, Ziegler K, Ananthula P, Co JK, Frisque RJ, Yanagihara R, Nerurkar VR. JC virus induced altered patterns of cellular gene expression: interferon-inducible genes as major transcriptional targets. *Virology* 2006; 345(2): 457-67.

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI



Sayı : 8749
Konu :

İstanbul//

Temel Tıp Bilimleri Bölümü
Başkanlığına

08 Mart 2011

İLGİ: 04.02.2011 tarihli, 179 sayılı yazınıza:

Bölümünüze bağlı Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim öğretim üyesi **Prof.Dr. S.Bekir KOCAZEYBEK**'in danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğr. Deniz Gözde ÇELİK**'in yürüteceği " Ateroskleroz gelişiminde Cytomegalovirus (CMV)'nin rolü ve Cytomegalovirus Gen 5(cig5)/Viperin ekspresyonunun saptanması" başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında, ilgi yazınız ve ekleri **08 Şubat 2011** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Değerlendirme Kurulunca müzakere edilmiş olup, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini saygılarımla rica ederim.

Eki:
1 dosya

Prof.Dr.Fatih ALTINDAŞ
Dekan Yardımcısı ve Klinik Araştırmalar
Etik Değerlendirme Kurulu Başkanı

Not: Yanıtlarda yazımızın gün sayısının belirtilmesi rica olunur.Tel(0212)4143000

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Deniz Gözde	Soyadı	Çelik
Doğ.Yeri	Ankara	Doğ.Tar.	21.08.1986
Uyruğu	TC	TC Kim No	22010358506
Email	denizgozdecelik@gmail.com	Tel	0554 614 98 86

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Lisans	Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2009
Lise	İncesu Anadolu Lisesi	2004

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	85

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	76.93	76.41	64.38

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	Çok iyi

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

MAKALELER

ULUSLARARASI

- 1- Yuksel P, Caliskan R, Ergin S, Aslan M, **Celik DG**, Saribas S, Ziver T, Yalciner A, Kocazeybek B. New approaches to in vitro diagnosis of hepatitis C infection a reason for post transfusion hepatitis: Diagnostic value of determination of hepatitis C virus core antigen. Transfus Apher Sci. 2011 Dec;45(3):247-50. Epub 2011 Nov 2.

- 2- **Celik DG**, Yuksel P, Baltalı ND, Abdelkareem A, Aslan M, Saribas S, Ziver T, Nazlican O, Gencer S, Celikkol E, Kocazeybek B. The Importance of Transmission Time in HIV Infections and an Epidemiological Prospective follow-up study for one year in the Marmara Region of Turkey. *Transfus Apher Sci* 2012 Apr 5

ULUSAL

- 1- Yüksel P, **Çelik DG**, Güngördü Z, Ziver T, İzmirli S, Yakar H, Sarıbaş S, Aslan M, Kocazeybek B. Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerinde Rotavirus Antijen Pozitifliğinin Değerlendirilmesi. *Klinik Dergisi* 2011; 24(1): 48-51.
- 2- Ziver T, Yüksel P, Güngördü Z, İzmirli S, **Çelik DG**, Abdelkareem A, Sarıbaş S, Yakar H, Aslan M, Kocazeybek B. Sifiliz enfeksiyonlarının tanısında kullanılan Rapid Plasma Reagin (RPR) ve Treponema pallidum Hemaglutinasyon Assay (TPHA) test sonuçlarının 2005-2010 yılları arasındaki değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 2011; 68(1): 1-7
- 3- İzmirli S, **Çelik DG**, Güngördü Z, Ziver T, Aslan M, Sarıbaş S, Çalışkan R, Yüksel P, Kocazeybek B. Hepatit Delta virusu enfeksiyonu seroprevalansı: Retrospektif temelli seroepidemiolojik bir değerlendirme. *Flora* 2011; 16(3):120-126.
- 4- Yüksel P, **Çelik DG**, Güngördü Z, Ziver T, İzmirli S, Yakar H, Sarıbaş S, Aslan M, Kocazeybek B. Dışkı Örneklerinde Elisa Yöntemi İle Entamoeba Histolytica Lektin Antijeni Varlığı: 3 Yıllık Verilerimiz. *Klinik Dergisi* (Baskıda)

BİLDİRİLER

ULUSLARARASI

- 1- Cakan H, Saribas S, Aslan M, **Çelik DG**, Yuksel P, Abdelkareem A, Ziver T, Yakar H, Kocazeybek B. The Importance of Indirect Fluorescent Antibody (IFA) Test in Diagnosis of Cystic Echinococcosis and the Role of Western Blot (WB) Test in Following-up the cases. *1st European Conference of Microbiology and Immunology-Budapest, Hungary- 12-14 May, 2011*

2- Kocazeybek B, Yuksel P, **Celik DG**, Balcı A, Abdelkareem A, Ergin S, Koksall V, Aslan M, Saribas S, Ziver T, Kaygusuz A, Yekeler İ. Relationship Between Aneurysm and Microorganism: Is Helicobacter pylori a Primer Agent or Has an Affinity to the Tissue?. *1st European Conference of Microbiology and Immunology-Budapest, Hungary- 12-14 May,1011*

3- **Celik DG**, Kocazeybek B, Yuksel P, Baltalı ND, Abdelkareem A, Aslan M, Saribas S, Ziver T, Nazlican O, Gencer S, Celikkol E. The Detection of New HIV Infections by Determination of Transmission-Time; A Prospective Follow-up Study For One Year in Marmara Region (Primarily İstanbul) of Turkey. *1st European Conference of Microbiology and Immunology-Budapest, Hungary- 12-14 May,1011*

4- **Celik DG**, Izmirli S, Gungordu Z, Ziver T, Yuksel P, Aslan M, Saribas S, Kocazeybek B. Seroprevalance of Hepatitis Delta Infection: Retrospective Based Seroepidemiologic Assessment. *1st European Conference of Microbiology and Immunology-Budapest, Hungary- 12-14 May,1011*

ULUSAL

1- Sirekbasan S, Abdelkareem A, Yüksel P, **Çelik DG**, Çalışkan R, Sarıbaş S, Aslan M, Kocazeybek B. İnfeksiyöz Mononükleoz Şüpheli Olgularda EBV'ye Yönelik Serolojik Testlerin Sonuçları: 6 Yıllık Retrospektif Değerlendirme. *I. Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. 12-16 Kasım 2011, Antalya*

2- Abdelkareem A, Sirekbasan S, Yüksel P, **Çelik DG**, Çalışkan R, Sarıbaş S, Aslan M, Kocazeybek B. Bruselloz Tanısında Direk Aglütünasyon (Wright) Ve Rose-Bengal Test Sonuçları: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Seroloji Laboratuvarından 6 Yıllık Retrospektif Değerlendirme. *I. Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. 12-16 Kasım 2011, Antalya*

3- İzmirli S, **Çelik DG**, Yüksel P, Aslan M, Şen S, Çakal B, Öner A, Kocazeybek B. Okült HBV Enfeksiyon Varlığının HBsAg Negatif Farklı Paternlerde Real-Time PCR Yöntemiyle Saptanması. *I. Klinik Mikrobiyoloji Kongresi. 12-16 Kasım 2011, Antalya*

4-Yüksel P, **Çelik DG**, Güngördü Z, Ziver T, İzmirli S, Yakar H, Sarıbaş S, Aslan M, Kocazeybek B. Çocukluk Yaş Grubu Gastroenteritlerinde Rotavirus Sıklığının Belirlenmesi. *XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 2010, Program ve Bildiri Kitabı*, 264. Girne

5- Yüksel P, **Çelik DG**, Güngördü Z, Ziver T, İzmirli S, Yakar H, Sarıbaş S, Aslan M, Kocazeybek B. Dışkı Örneklerinde ELISA Yöntemi ile Entamoeba Histolytica Lektin Antijeni Varlığı: 3 Yıllık Verilerimiz. *XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 2010, Program ve Bildiri Kitabı*, 264. Girne

6-Ziver T, Yüksel P, Güngördü Z, İzmirli S, **Çelik DG**, Sarıbaş S, Yakar H, Aslan M, Kocazeybek B. Sifiliz Enfeksiyonlarının Tanısında Kullanılan Rapid Plasma Reagin(RPR) ve Treponema Pallidum Hemaglutinasyon Assay (TPHA) Test Sonuçlarının 5 Yıllık Değerlendirilmesi. *XXXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi 2010, Program ve Bildiri Kitabı*, 264. Girne

KİTAP BÖLÜMLERİ

- 1- Lippincott's Illustrated Reviews: Immunology (İngilizceden çeviride 6. ve 7. Bölümlerin editörlüğü, Lippincott Williams&Wilkins) Nobel Tıp Kitapevleri(Baskıda)