

Ekstrakardiyak Aterosklerotik Arter Hastalıklarında Chlamydia Pneumoniae'nin Rolü

THE ROLE OF CHLAMYDIA PNEUMONIAE AT EXTRACARDIAC ATHEROSCLEROSIS

Dr. İslam Kaklıkkaya, *Dr. Neşe Kaklıkkaya, *Dr. Faruk Aydın, *Dr. Kurtuluş Buruk

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Trabzon
*Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Trabzon

Özet

Amaç: Chlamydia pneumoniae infeksiyonu ile koroner ateroskleroz arasında ilişki olduğu belirtilen çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmada ekstrakardiyak aterosklerotik arter hastalığı oluşumunda Chlamydia pneumoniae'nin bir rolü olabileceği hipotezi test edildi.

Materyal ve Metod: Bu çalışmada ekstrakardiyak aterosklerotik arter hastalığı tanısı konan 49 hasta ve 34 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubunun serumlarında klamidya lipopolisakkarit antijenine karşı oluşmuş IgG türü antikorlar enzime bağlı immüno-sorbent testi (ELİSA) ile değerlendirildi. Hastalardan ameliyat sırasında elde edilen 38 aterosklerotik arter biyopsi örneğinde klamidya lipopolisakkarit antijeni ELİSA ile araştırıldı.

Bulgular: Kırk dokuz hastanın 31'inde (%63.26), 34 kontrol olgusunun 12'sinde (%35.29) pozitif IgG cevabı görüldü [%95 güven aralığında tahmini rölatif risk = 3.16 (1.16-8.75), $p = 0.0223$]. Otuz sekiz aterosklerotik plağın sekizinde (%21.05) klamidya lipopolisakkarit antijeni tespit edildi.

Sonuç: Bu veriler Chlamydia pneumoniae enfeksiyonunun aterosklerozda majör bir risk faktörü olabileceği hipotezini desteklemektedir. Sonuçlarımız ayrıca Chlamydia pneumoniae'nin ateroskleroz oluşumunda direkt olarak etkili olduğunu da düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Ekstrakardiyak ateroskleroz, Chlamydia pneumoniae

Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2001;9:229-232

Summary

Background: Several reports have shown a correlation between presence of Chlamydia pneumoniae infection and coronary artery disease. In this study the hypothesis that chronic infection with Chlamydia pneumoniae is associated with extracardiac atherosclerosis was tested.

Methods: The IgG antibodies to Chlamydial lipopolysaccharide in 49 patient with extracardiac atherosclerotic artery disease and 34 healthy people which were recruited as control subjects were examined. Thirty eight atherosclerotic artery biopsy specimens obtained from these patients were tested by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) to investigate the presence of Chlamydia pneumoniae lipopolysaccharide antigen.

Results: Thirty one of the 49 (63.26%) patients, 12 of the 34 (35.29%) control subjects had a positive IgG response [Odds ratio = 3.16 (1.16-8.75), 95% CI, $p = 0.0223$]. Chlamydia pneumoniae lipopolysaccharide antigen were positive in 8 of the 38 (21.05%) atherosclerotic plaques.

Conclusion: These data support the hypothesis that infection with Chlamydia pneumoniae might be a major risk factor for atherosclerosis. Our results also indicate the possibility of a direct involvement of Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis.

Keywords: Extracardiac atherosclerosis, Chlamydia pneumoniae

Turkish J Thorac Cardiovasc Surg 2001;9:229-232

Giriş

Sigara, hipertansiyon, dislipidemi gibi bilinen risk faktörleri aterosklerotik hastalıkların prevalansının zamana ve coğrafik bölgelere göre farklılığını tam olarak açıklayamamaktadır [1,2]. Son yıllarda bu konu ile ilgili olarak yapılan araştırmalar bazı infeksiyon ajanlarının ateroskleroz oluşumunda etkili olabileceğini göstermiştir [3,4]. Özellikle Chlamydia

pneumoniae infeksiyonu ile koroner arter hastalıkları arasında pozitif ilişki olduğu sonucuna varılan birçok çalışma mevcuttur [5,6]. Ekstrakardiyak ateroskleroz oluşumunda Chlamydia pneumoniae'nin etkili olup olmadığı ve bir etki söz konusu ise bunun hangi mekanizma ile gerçekleştiği konusu tartışmalıdır [7,8]. Biz çalışmamızda ekstrakardiyak aterosklerotik arter hastalıkları ile Chlamydia pneumoniae infeksiyonu arasında bir ilişki ve organizmanın ateroskleroz oluşumuna direkt

katkısının olup olmadığını cerrahi girişim sırasında steril olarak çıkarılan aterosklerotik arter doku örneklerinde deneysel bir çalışma ile araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod

Anamnez ve fizik muayeneden sonra Doppler ultrasonografi, anjiyografi, kompüterize tomografi yöntemlerinden biri veya birkaçı kullanılarak ekstrakardiyak aterosklerotik arter hastalığı tanısı konan 49 hasta çalışma grubuna kabul edildi. Kronik böbrek yetmezliği, romatizmal kapak hastalığı, malign veya metabolik hastalığı bulunan kişiler çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu olarak aterosklerotik periferik arter ve koroner kalp hastalığını düşündürecek anamnez, semptom, fizik muayene ve elektrokardiyografi bulgusu olmayan 34 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi.

Hastalardan ve kontrol vakalarından standart koşullarda venöz kan alındı. Kanların serumları ayrıldı ve çalışma gününe kadar -20°C'de saklandı. Klamidya türlerindeki grup spesifik lipopolisakkarit antijenine karşı oluşmuş antikorlar (anti cLPS IgG) ticari bir kit (Medac, Hamburg, Germany) ile değerlendirildi. Bu ELISA kitinde rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmiş, tüm klamidya türlerindeki ortak bir epitopu içeren klamidya lipopolisakkarit antijenleri kullanılmaktadır. Prosedürde önerildiği şekilde testler çalışıldı. Ameliyat sırasında otuz sekiz hastanın arteriyotomi yerinden aterosklerotik plağı içeren tam kat arter doku örneği steril şartlarda alındı. Bu örneklerde ELISA yöntemi ile grup spesifik lipopolisakkarit antijenleri (cLPS Ag) arandı. Bu amaçla cLPS Ag'e spesifik monoklonal antikorların kullanıldığı bir ELISA kiti (Chlamydia CELISA, Brookvale, Avustralya) kullanıldı. Örnekler ameliyathanede steril ortamda alınarak kitin içerdiği transport vasatı içerisine konularak çalışılacağı kadar -20°C'de saklandı. Çalışma günü oda ısısında bekletilerek çözülen örneklerin üç farklı bölgesinden 5 x 5 mm ebatlarında kesitler alınarak steril bir bistiiri, daha sonra steril homojenizatör yardımı ile transport vasatı içerisinde parçalandı. Test, prosedürde belirtildiği şekilde çalışıldı ve spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu. Kitin içerdiği negatif kontrollerden elde edilen optik dansiteler kullanılarak "cut off" değeri hesaplandı. Bu değerin üzerindeki sonuçlar pozitif olarak kabul edildi.

İstatistik

İstatistiksel analizler Epi info versiyon 6.02 bilgisayar paket programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel analiz olarak ki-kare testi kullanıldı. Tahmini rölatif risk değerleri ve % 95 güven aralıkları hesaplandı. İstatistiksel analizlerde anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 49 hastanın 41'i erkek (%83.67) ve 8'i kadın (%16.33) iken, 34 kontrol vakasının 30'u erkek (%88.24) ve 4'ü kadın (%11.76) idi. Çalışma grubundaki 34 hastada (%69.38), kontrol grubundaki 16 olguda (%47.05) sigara alışkanlığı vardı. Çalışma grubundaki 5 hasta (%10.2) ve kontrol grubundaki 3 olgu (%8.82) diyabetes mellitus tanısı ile takip ediliyordu.

Çalışmaya alınan hastaların tanıları lezyonlarına göre Tablo 1'de belirtilmiştir. Tüm hastalara uygun greftle bypass

Tablo 1. Ekstrakardiyak aterosklerotik arter hastalıkları nedeniyle takip ve tedavi edilen hastaların lezyonlarına göre tanıları.

Lezyonlu arterler	Sayı
İnfrarenal abdominal aort (Lerich sendromu)	18
Tek taraflı femoral arter stenozu	9
Tek taraflı iliak arter stenozu	6
Abdominal aort anevrizması	5
Bilateral femoral arter stenozu	3
Rüptüre abdominal aort anevrizması	2
Torako-abdominal aort anevrizması	2
Popliteal arter stenozu	2
Femoro-popliteal arter diffüz stenozu	1
Subklavyan arter stenozu	1
Toplam	49

ameliyatı, anevrizmektomi, endarterektomi, "patchplasty" ve embolektomi işlemlerinden biri veya birkaçı uygulandı. Abdominal aort anevrizması olan bir ve torakoabdominal aort anevrizması olan iki hasta cerrahi tedaviyi kabul etmedi. Distal tip lezyonlu bir hasta ve subklavyan arter stenozu olan bir olgu takibe alındı.

Çalışma grubundaki hastaların 31'inde (%63.26) ve kontrol grubundakilerin 12'sinde (%35.29) anti-cLPS IgG antikorları tespit edildi. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık gösteriyordu ($p = 0.0223$). Çalışma grubunda anti cLPS IgG antikorları pozitifliği bakımından %95 güven aralığında tahmini rölatif risk 3.16 (1.16-8.75) olarak bulundu. Opere edilen hastalardan elde edilen aterosklerotik arter biyopsi örneklerinin 22'si abdominal aortadan, 10'u femoral arterden, altısı iliak arterden elde edildi. Toplam 38 aterosklerotik plağın sekizinde (%21.05) ELISA ile cLPS Ag tespit edildi. Bunlardan beşi abdominal aortadan, ikisi femoral arterden, biri iliak arterden alınan aterosklerotik plak örneğiydi.

Toplam 38 hastada hem cLPS Ag, hem de anti-cLPS IgG antikorları birlikte değerlendirildi. Bu hastaların 26'sında (%68.42) anti cLPS IgG antikorları pozitifiti. Aterosklerotik plağında cLPS Ag bulunan sekiz hastanın ikisinde (%25) anti-cLPS IgG antikorları negatifiti. Serumda anti cLPS IgG antikorları pozitif bulunan 20 hastada (%76.92) antijen negatifiti.

Tartışma

Çalışmamızda aterosklerotik lezyonu bulunan hastalar ile kontrol grubu olarak seçilen sağlıklı bireylerde tespit edilen anti-cLPS IgG antikor pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür. Chlamydia pneumoniae'nin koroner arter hastalığı ile ilişkisi konusunda ilk bulgular Saikku ve arkadaşları [9] tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada akut miyokard infarktüsü (AMI) geçiren 40 ve koroner arter hastalığı olan 30 hasta çalışmaya alınmış,

bunlarda mikroimmünofloresan (MIF) yöntemi ile sırasıyla %68 ve %50, AMI olan grupta ELISA ile %68 oranlarında anti cLPS IgG antikorları tespit edilmiştir. Bu değerler kontrol grubundakilerden anlamlı derecede farklı bulunmuştur.

Osswaarde ve arkadaşları [5] yaptıkları bir çalışmada koroner arter hastalığı teşhisi konan 54 hastada %84 oranında Chlamydia pneumoniae'ya karşı oluşan antikor varlığını göstermiş ve bu değerlerin kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olduğunu belirtmişlerdir (tahmini rölatif risk 2.76). Serolojik testlerin kullanıldığı bazı çalışmalarda ise Chlamydia pneumoniae enfeksiyonu ile koroner ateroskleroz arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilememiştir [10,11].

Ekstrakardiyak aterosklerotik arter hastalığı oluşumunda Chlamydia pneumoniae enfeksiyonunun bir risk faktörü olup olmadığı konusunda yapılan çalışma sayısı kısıtlıdır. Bu çalışmalardan birinde abdominal aort anevrizması tanısı konan 51 hastanın 49'unda (%96.07) MIF yöntemi ile Chlamydia pneumoniae'ya karşı seropozitiflik tespit edilmiştir [12]. Melnick ve arkadaşları [13] ultrasonografi ile karotid arter kalınlaşması tespit edilen 326 asemptomatik olguda %73, 326 bireyden oluşan kontrol grubunda %64 oranında Chlamydia pneumoniae IgG antikorları bulunmuş, hipertansiyon, sigara alışkanlığı, düşük ve yüksek dansiteli lipoproteinlerin düzeyi, diyabet gibi risk faktörlerinin etkileri ile birlikte Chlamydia pneumoniae enfeksiyonunun ateroskleroz oluşumuna katkıda bulunabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarda elde edilen farklı sonuçların çalışma gruplarının ve çalışma yöntemlerinin farklılığından kaynaklanabileceği, Chlamydia pneumoniae enfeksiyonlarının sık görülmesi nedeni ile sadece serolojik yöntemlerle yapılan çalışmaların yeterli olamayacağı da akla gelmektedir.

Çalışmamızda ekstrakardiyak aterosklerotik arter hastalığı nedeni ile yapılan cerrahi işlemler sonucu elde edilen arter örneklerinin %21.05'inde ELISA ile cLPS Ag tespit edildi. Abdominal aortadan alınan örneklerde bu oran %22.72, femoral arterden alınanlarda %20, iliyak arterdekilerde %16.66 idi. Aterosklerotik plaklarda Chlamydia pneumoniae varlığının araştırıldığı çeşitli çalışmalarda farklı yöntemler kullanılmıştır. Kuo ve arkadaşları [8] popliteal arterlerden çıkarılan 21 aterosklerotik plağın 8'inde (%38.1), 18 femoral arterin 3'ünde (%16.7) immünohistokimyasal analiz veya polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile Chlamydia pneumoniae varlığını göstermişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada 7 otopsi vakasının koroner arterlerinden elde edilen aterosklerotik plaklarının 5'inde immünohistokimyasal analiz ile Chlamydia pneumoniae türüne spesifik monoklonal antikorlar tespit edilmiş, elektron mikroskopu ile de bu plaklarda Chlamydia pneumoniae varlığını düşündürülen bulgularla çalışma desteklenmiştir [14]. Ülkemizde Farsak ve arkadaşlarının [15] yaptıkları başka çalışmada 46 endarterektomi örneğinin 12'sinde (%26) PCR ile Chlamydia pneumoniae DNA'sı bulunmuş, sağlıklı damar duvarlarında ise bu bakterinin varlığı gösterilememiştir.

Çalışmamızda aterosklerotik plakta cLPS Ag bulunan hastaların 2'sinde (%25) anti cLPS IgG antikorları tespit edilememiştir. Chlamydia pneumoniae enfeksiyonlarında primer ve reenfeksiyona ait antikor cevabı ortaya çıkar. Primer enfeksiyonda IgM 1:16, IgG 1:512 titrelerde pozitifdir. Reenfeksiyonlarda IgM ve kompleman bağlayan antikorlar bulunmaz, ancak IgG antikorları hızla yükselir. IgM antikorları enfeksiyonun 2-4., IgG antikorları 6-8. haftasında tanı

koydurucudur. IgG 2-3 yıl süreyle yüksek titrelerde kalır ve sonra titresi düşer [16]. Bu düşüş bizim çalışma grubumuzdaki antijen tespit edilen olguların bir kısmında antikor tespit edilememesinin nedeni olabilir.

Serumda anti-cLPS IgG antikorları pozitif bulunan 20 hastada (%76.92) antijen negatiftir. Bu bulgu da aterosklerozun multifaktöriyel olabileceğini ve tüm Chlamydia pneumoniae enfeksiyonlarında ateroskleroz oluşmadığını düşündürmektedir. Hastalarımızda koroner anjiyografi yapılmamış olup, Chlamydia pneumoniae'nın indüklediği muhtemel bir koroner ateroskleroz da söz konusu olabilir.

Chlamydia pneumoniae gibi kronik enfeksiyon ajanları ateroskleroz ile ilişkili olduğu bilinen C-reaktif protein, lökosit, tümör nekrozis faktör (TNF), interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-6 (IL-6) gibi inflamasyon göstergelerinin artmasına neden olur. Bunlardan TNF, IL-1 ve IL-6 bu etkisini özellikle lipid metabolizmasını değiştirerek gösterir [17]. Ayrıca kronik enfeksiyonlarda fibrinojen miktarının artması da trombosit agregasyonunu, kan viskozitesini, vasküler permeability ve lökosit kemotaksisini artırarak bu olaya katkıda bulunabilir [18]. Elde ettiğimiz sonuçlar Chlamydia pneumoniae enfeksiyonunun ateroskleroz oluşumuna katkıda bulunduğu hipotezini desteklemektedir. Ayrıca bulgularımız bu katkının kronik enfeksiyonun indirekt etkilerinin yanında bakterinin direkt etkisi ile de olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu mikroorganizmanın ateroskleroz patogenezindeki mekanizmasını belirlemek için daha ileri çalışmalara gerek vardır.

Kaynaklar

1. Nieminen MS, Mattila K, Valtonen V. Infection and inflammation as risk factors for myocardial infarction. Eur Heart J 1993;14:12-6.
2. Farmer JA, Gotto AM. Risk factors for coronary artery disease. In: Braunwald E, ed. Heart Disease - A Textbook of Cardiovascular Medicine. Philadelphia: Saunders, 1992:1125-60.
3. Epstein SE, Speir E, Zhou YF, Guetta E, Leon M, Finkel T. The role of infection in restenosis and atherosclerosis: Focus on CMV. Lancet 1996;349:13-7.
4. Ossei-Gerning N, Moayyedi P, Braunholtz D, et al. Helicobacter pylori infection is related to atheroma in patients undergoing coronary angiography. Cardiovascular Research 1997;35:120-4.
5. Osswaarde JM, Feskens EJ, De Vries A, Vallinga CE, Kromhout D. Chlamydia pneumoniae is a risk factor for coronary heart disease in symptom-free elderly men, but Helicobacter pylori and Cytomegalovirus are not. Epidemiol Infect 1998;120:93-9.
6. Carlsson J, Miketic S, Brom J, Ross R, Bachmann H, Tebbe U. Prior Cytomegalovirus, Chlamydia or Helicobacter pylori infection and risk of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. Int J Cardiology 2000;73:165-71.
7. Hoffmeister A, Rothenbacher D, Wanner P, et al. Seropositivity to Chlamydial lipopolysaccharide and Chlamydia pneumoniae, systemic inflammation and stable coronary artery disease. J Am Coll Cardiol 2000;35:112-8.
8. Kuo C, Coulson S, Campbell LE, et al. Detection of

- Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic plaques in the walls of arteries of lower extremities from patients undergoing bypass operation for arterial obstruction. *J Vasc Surg* 1997;26:29-31.
9. Saikku P, Leinonen M, Mattila K, et al. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988;2:983-6.
 10. Kark JD, Leinonen M, Paltiel O, Saikku P. Chlamydia pneumoniae and acute myocardial infarction in Jerusalem. *Int J Epidemiol* 1997;26:730-8.
 11. Altman R, Rouvier J, Scazziotto A, Absi RS, Gonzalez C. Lack of association between prior infection with Chlamydia pneumoniae and acute or chronic coronary artery disease. *Clin Cardiol* 1999;22:85-90.
 12. Blasi F, Denti F, Erba M, et al. Detection of Chlamydia pneumoniae but not Helicobacter pylori in atherosclerotic plaques of aortic aneurysms. *J Clin Microbiol* 1996;34:2766-9.
 13. Melnick SL, Shahar E, Folsom AR, et al. Past infection by Chlamydia pneumoniae strain TWAR and asymptomatic carotid atherosclerosis. Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Am J Med* 1993;95:499-504.
 14. Shor A, Kuo CC, Patto DL. Detection of Chlamydia pneumoniae in coronary arterial fatty streaks and atheromatous plaques. *S Afr Med J* 1992;82:158-61.
 15. Farsak B, Yıldırım A, Akyon Y, et al. Detection of Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori DNA in human atherosclerotic plaques by PCR. *J Clin Microbiol* 2000;38:4408-11.
 16. Ustaçelebi Ş, ed. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999:713-4.
 17. Leinonen M. Chlamydia pneumoniae and other risk factors for atherosclerosis. *J Infect Dis* 2000;181:414-6.
 18. Ernst E. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor-interrelationship with infection and inflammation. *Eur Heart J* 1993;4:82-7.