

70911

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

RASTGELE SEÇİLMİŞ ADLİ OTOPSİ OLGULARINDA
ATEROSKLEROZİS ZEMİNİNDE *CHLAMYDIA PNEUMONIA*'NİN
HİSTOKİMYASAL ve İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE
ARAŞTIRILMASI

TEZ YÖNETİCİSİ
Yrd.Doç.Dr. Mete K. GÜLMEN

Dr. Ahmet HİLAL

UZMANLIK TEZİ

ADANA-1998

TEŞEKKÜR ve DESTEKLEYEN KURULUŞ

Asistanlığım süresince eğitimimde gösterdikleri çaba ve sağladıkları destekleri nedeniyle Anabilim Dalı hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma,

Tezimin oluşmasında değerli bilgi ve deneyimleri ile yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd.Doç.Dr. Mete K. GÜLMEN'e, Sayın Prof.Dr. İlhan TUNCER'e ve Sayın Prof.Dr. Serpil SALAÇIN'e,

Tez çalışmam sırasında gerekli örneklerin temini için gösterdikleri ilgi ve kolaylıktan ötürü Adli Tıp Kurumu Adana Grup Başkanlığı çalışanlarına,

TF.97.U.52 nolu Tıpta Uzmanlık Tez Araştırma Projesi olarak bu çalışmanın gerçekleştirilmesindeki maddi katkıları nedeni ile, Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonuna teşekkür ederim.

Saygılarımla

Dr.Ahmet HİLAL

*Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1-Teşekkür ve destekleyen kuruluş	I
2-İçindekiler	II
3-Tablo listesi	III
4-Şekil listesi	IV
5-Özet	V
6-Anahtar sözcükler	V
7-Abstract	VI
8-Keywords	VI
9-Giriş ve Amaç	1
10-Genel bilgiler	4
11-Gereç Yöntem	19
12-Bulgular	23
13-Tartışma ve Sonuç	35
14-Kaynaklar	43

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo I	23
Tablo II	24
Tablo III	25
Tablo IV	25
Tablo V	28
Tablo VI	29

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1	11
Şekil 2	18
Şekil 3	23
Şekil 4a	27
Şekil 4b	27
Şekil 5a	27
Şekil 5b	27
Şekil 6a	31
Şekil 6b	31
Şekil 7a	31
Şekil 7b	31
Şekil 8a	32
Şekil 8b	32
Şekil 9a	32
Şekil 9b	32
Şekil 10a	33
Şekil 10b	33
Şekil 11a	33
Şekil 11b	33
Şekil 11c	33

ÖZET

Ani-beklenmedik şüpheli ölümlerin önemli bir kısmını kardiovasküler sistem hastalıklarının oluşturduğu, bunların gelişiminde ise aterosklerotik değişikliklerin belirgin bir yerinin olduğu bilinmektedir. Son yıllarda ateroskleroz etyopatogenezinden *Chlamydia pneumonia*'yı sorumlu tutan çok sayıda yayın bulunmaktadır. Ani-beklenmedik şüpheli ölümler içerisinde ateroskleroz ve komplikasyonlarının yer alması nedeniyle ateroskleroz gelişiminde *Chlamydia pneumonia*'nın rolünün araştırılması amacıyla bu çalışma planlandı.

Bu çalışmaya 10-30 yaş arası 25 adli otopsi olgusu ölüm nedenlerine ve cinsiyetlerine bakılmaksızın alındı. Olguların otopsilerinde 4 ayrı arterden alınan örneklerle, histokimyasal boyalar ve *Chlamydia pneumonia*'ya spesifik monoklonal antikorlarla immünoenzimatik boyama uygulandı. Olguların hiç birinde makroskobik aterosklerotik değişiklik olmamasına rağmen 25 olgunun 21'inde mikroskobik olarak köpük hücrelerinin varlığı saptandı. Bu olguların 7'sinde subendotelial alanda değişik şiddetlerde pozitivite gösteren *Chlamydia pneumonia*'ya ait immünoenzimatik boyanma görüldü.

Genç erişkinlere ait mikroskobik düzeyde aterosklerotik değişiklikler bulunan arterlerde *Chlamydia pneumonia*'ya spesifik monoklonal antikorlarla pozitif immünoenzimatik boyanma izlenmektedir. Saptadığımız bulgular ateroskleroz ile *Chlamydia pneumonia*'nın ilişkisini düşündürmekle birlikte kesin yorum yapabilmek için yeterli değildir. Bulgularımızın otopsinin hastalıkların etyopatogenezinin araştırılmasındaki önemi göstermesinin yanısıra, ülkemizde bu konudaki ilk veri tabanı oluşturması nedeniyle de önemli olduğu düşüncesindeyiz. Bu çalışmaların geniş klinik ve otopsi serilerinde, değişik arterlerde çok sayıda örnekte çalışılması gerektiği kanısındayız

Anahtar Sözcükler: Adli Tıp, Otopsi, Patoloji, Aterosklerozis, *Chlamydia pneumonia*.

**ABSTRACT: HISTOCHEMICAL and IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY
on CHLAMYDIA PNEUMONIA of ATHEROSCLEROSIS in THE RANDOMLY
SELECTED MEDICO-LEGAL AUTOPSY CASES.**

Cardiovascular disease is the most common cause of death in sudden-unexpected-suspected deaths. The great majority of such deaths are due to coronary atherosclerosis. Recently *Chlamydia pneumonia* is shown as a cause and responsible pathogen in the atherosclerosis mechanism. In this study *Chlamydia pneumonia* and the relation with the mechanism of atherosclerosis has been investigated.

25 forensic autopsy cases aged between 10-30 are selected randomly. Various histochemical stains applied to four different arteries that have been sampled during the autopsy. *Chlamydia pneumonia* specific monoclonal antibody used with the ABC immunoenzymatic technique. Foam cells evaluated microscopically of the 21 cases however there was no macroscopic finding of atherosclerosis. *Chlamydia pneumonia* observed in the subendothelial area with various patterns in seven of the cases.

Chlamydia pneumonia specific monoclonal antibody stained positive in the arteries which show minimal microscopic atherosclerosis. Our study reveals that there is a relation existing between atherosclerosis and *Chlamydia pneumonia*, yet it is insufficient for a definite conclusion. This study shows that medico-legal autopsies are of value in understanding the etiopathology of the diseases and their mechanisms.

This study is the first serial of its kind in our region and country and we think that it will be of helpful data for future series. We believe that these studies must be carried out in broad clinic and autopsy series with various arteries.

Keywords: Forensic Medicine, Autopsy, Pathology, Atherosclerosis, *Chlamydia pneumonia*

1-GİRİŞ

Adli tıp çalışmalarında, ölüm nedenlerini araştırmak ve belirlemek önemli bir yer tutmaktadır. Uygulamalarda ölümler karşımıza doğal ve doğal olmayan ölümler şeklinde çıkmaktadır (25,26,68).

Adli Tıp genel yaklaşımında doğal olmayan ölümlerin bir dış etkene bağlı olduğu yaklaşımı benimsenmekte ise de, doğal ölümlerde de dış etmenlerin rol oynadığı belirtilmektedir (25,27,72).

16. yüzyılda Avrupa tıp okullarında uygulanmaya başlanan otopsinin önemi, günümüzde herkes tarafından kabul edilmektedir. Ölüme neden olan hastalık ve beraberindeki hastalıkların tanımlanmasında, bu hastalıkların patogenezinin aydınlatılmasında, tedavilerin etkisi ve yan etkilerinin belirlenmesinde ve her seviyedeki tıp elamanının eğitiminde otopside yararlanıldığı bilinmektedir. A.B.D’de 1940-1960 yılları arasında otopsi uygulama oranının % 50-55 düzeyine ulaştığı, son yıllarda ise bu oranın %10-15’e kadar düştüğü belirtilmektedir. Araştırmacılar otopsi oranını çok yetersiz bulmakta, ulaşılması gereken hedefin tüm ölümler olduğunu ifade etmektedirler (7,28,82)

Adli tıp uygulamalarında doğal nedenlere bağlı oluşan ölümlerin, karşımıza genellikle ani-beklenmedik şüpheli ölüm olarak çıktığı bildirilmektedir. Adli soruşturma ya da ölünün dış muayenesi sırasında ölüm nedeni hakkında fikir verecek bulgu saptanamayan ve ölüm nedeninin bu aşamada tam olarak anlaşılamadığı ölümler, ani-beklenmedik şüpheli ölüm olarak nitelendirilmektedir. Bu tür olgularda ölüm nedenlerinin yaş gruplarına göre değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Batılı toplumlarda erişkin yaş gruplarında, belirgin cinsiyet ayrımı göstermeksizin, ölümlerin önemli bir kısmından kalbe ait patolojilerin sorumlu tutulduğu izlenmektedir. Olgularda belirgin makroskobik veya mikroskobik morfolojik patolojiler olabileceği belirtilmektedir. Myokarda ait bu patolojilerin önemli bir bölümünden myokardın beslenmesini sağlayan koroner arterlerin aterosklerotik vasküler değişikliklerinin neden olduğu ileri sürülmektedir. Bu beslenme bozukluğunun kalpteki iletim sistemini de bozarak, kalpte iletim patolojilerine neden olabildiği bilinmektedir. Örneğin; atrial fibrilasyonun etyolojisinde koroner arter hastalığının %55 ile ilk sırada yer aldığı belirtilmektedir (10,16,33).

Aterosklerozun önemli bir damar hastalığı olduğu, özellikle kalp ve beyin gibi organların arterlerini tuttuğu ve oluşturduğu lezyonlar nedeniyle, batı ülkelerindeki tüm ölümlerin yarısından fazlasından sorumlu tutulduğu belirtilmektedir. Bu nedenlerden dolayı ateroskleroz, üzerinde çok araştırma yapılmış konuların başında geldiği bildirilmektedir (8,56,63,75)

Ateroskleroz gelişiminde risk faktörleri olarak; hiperkolesterolemi, hipertansiyon, sigara içimi, diabetes mellitus, düzenli fiziksel egzersiz yokluğu, stresli-yarışmalı yaşam tarzı, oral kontraseptif kullanımı, hipertürisemi, şişmanlık, fazla karbonhidrat alımı tanımlanmıştır (11,46,57,58,60).

Bütün bu risk faktörlerinin yanı sıra 1990'lı yılların başından itibaren yapılan ve giderek yoğunlaşan çalışmalarda, aterosklerozun patogeneğinde, akut solunum hastalıkları ve pnömoninin yaklaşık %10'undan sorumlu tutulan *Chlamydia pneumonia*'nın rol oynadığı belirtilmektedir (4,11,22,36,46,50,51,63,65,69,70,85).

Bu yöndeki çalışmalarda, *Chlamydia pneumonia*'nın varlığının aterosklerotik lezyonlarda gösterilmesi için; organizmanın doğrudan tayini, seroepidemiyolojik çalışmalar ya da aterom plaklarında polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve immünoenzimatik boyama yöntemleri ile saptanmasına yönelik çok sayıda çalışma mevcuttur (11,19,46,65).

Çalışmaların sonuçları, kontrol grupları ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında; ateroskleroz ve *Chlamydia pneumonia* ilişkisini desteklemekte ve ateroskleroz gelişiminde *Chlamydia pneumonia*'nın önemli bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir (22,36,40,45,77).

Medikolegal otopsilerin yaklaşık yarısında ölüm doğal nedenlere bağlıdır. Otopsi ve otopside elde edilen materyalin bilimsel araştırmalarda; hastalıkların etyopatogenezinin aydınlatılması ile morbidite ve mortalite oranlarının araştırılmasında en önemli kaynak olduğu bilinmektedir. Ülkemiz hastanelerinde klinik otopsilerin çok düşük oranlarda yapılması nedeniyle, medikolegal otopsiler, bilimsel çalışmalarda veri tabanı olarak kullanılabilecek çok önemli bir kaynaktır (7,33,72,83).

Bu çalışmada, Adli Tıp Kurumu Adana Grup Başkanlığı Morg İhtisas Dairesinde adli otopsileri yapılan, 10-30 yaşları arasında, makroskopik olarak aterosklerotik değişiklikler bulunmayan 25 olgu ve kontrol amaçlı olarak Adli Tıp Anabilim Dalı Patoloji laboratuvarında

daha önce mikroskopik olarak incelenerek koroner arterlerinde %50 ve üzerinde ateroskleroz saptanan 8 olgu değerlendirildi. Olgulardan alınan arter örneklerinde, histokimyasal ve immünoenzimatik yöntemlerle *Chlamydia pneumonia* ve ateroskleroz ilişkisi araştırıldı.



2-GENEL BİLGİLER

Otopsinin günümüz tıp uygulamalarındaki önemi ve rolü bilinmektedir. 16. Yüzyılda Padua Tıp Okulunda başlayan bilimsel otopsiler, 19. Yüzyılda Viyana’da en yüksek değerine ulaşmış, bu yıllarda bir çok yeni hastalığın tanımlanmasının yanı sıra bu uygulamaları yapan ülkelerin ulusal sağlık politikalarına yön vermiştir (7,28).

Otopsinin yararları; ölüme neden olan ve beraberindeki hastalıkların saptanması, yeni hastalıkların tanımlanması, bu hastalıkların patogenezinin aydınlatılması, premortem ve postmortem tanı farklılıklarının karşılaştırılması, tedavilerin etkisinin ve yan etkilerinin ortaya çıkarılabilmesi, vital istatistiklerin yapılması ve halk sağlığı planlamasıdır (72,73).

Otopsi halk sağlığı planlanmasında önemli bir yer tutmaktadır. Bunlar, hastalıkların önlenmesi, epidemiyolojik araştırmalar ve koruyucu sağlık hizmetleri olarak belirtilmektedir. Ülkemizde bilimsel çalışmalarda veri tabanı oluşturmak amacıyla kullanılabilecek en önemli kaynak adli otopsilerdir. Çeşitli hastalıkların etyopatolojilerinin aydınlatılmasında, yaygınlığının araştırılmasında, organ tutulumlarının ve tedavi sürecinde kullanılan ilaçların etkilerinin anlaşılmasında otopsi serileri kullanılmaktadır (28,73).

Günümüzde, tıp biliminde ve teknolojiadaki gelişmeler nedeni ile Adli Bilimlerin konumu ve kapsamı değişmiştir. Adli Bilimler kendisine yöneltilen soruları yapısında bulundurduğu çeşitli bilim dallarının ortak çalışması ile yanıtlamaktadır. Adli Bilimlerin işlevlerinin önemli bir bölümünü; ölümün oluş şeklinin, nedenlerinin ve mekanizmalarının belirlenmesi oluşturmaktadır. Bu sorulara yanıt bulabilmek için, Adli Bilimler içinde yer alan tüm bilim dallarından, özellikle de Adli Patoloji’den yararlanıldığı görülmektedir. Bu soruların yanıtları, olay yeri incelemesinden başlayarak, ölünün dış muayenesinin dikkatli ve ayrıntılı bir şekilde yapılması, otopside mutlaka tüm sistemlerin tek tek incelenmesi ve değişik teknolojiler kullanılarak soruların yanıtlanmaya çalışılmasıdır. Otopsi sırasında elde edilen dokularda, organlarda ve vücut sıvılarında yapılan incelemeler ölüm nedenlerini aydınlatabilmektedir (17,25,26,27,73).

Adli Tıp’da doğal nedenlere bağlı ölümler;

1-Otopsi sırasında yaşamla bağdaşmayacak nitelikte makroskopik patolojileri olan ve ölüm nedeninin ortaya konulabildiği olgular,

2-Otopsi sırasında makroskopik olarak ölüm nedeni saptanamayan fakat mikroskopik olarak yaşamla bağdaşmayacak bulguların gösterilebildiği olgular,

3-Otopsi sırasında ölüm nedenini açıklayacak makroskopik ve mikroskopik veya toksikolojik herhangi bir bulgunun saptanamadığı, ölüm nedeninin ancak kişiye ait anamnez ile birleştirilerek belirlendiği olgular,

4-Anamnez, otopsi sırasında elde edilen makroskopik bulgular, toksikolojik ve histopatolojik araştırmalarla ölüm nedeninin belirlenemediği olgular, olarak sınıflandırılmaktadır (16,17,25,26,30,33).

Olguların %90'ının ikinci grupta yer aldığı, geriye kalan olguların %5'inin ise birinci grupta olduğu, üçüncü ve dördüncü grupların bunları takip ettiği belirtilmektedir. Ani-beklenmedik şüpheli ölüm ise, bilinen bir hastalığı olmayan kişinin ölü bulunması, bilinen bir hastalığı olmayan kişinin nedeni anlaşılmadan ölmesi veya bilinen hastalığı olup da bunun ölüme neden olacağı beklenmeyen kişinin ölmesi olarak tanımlanmaktadır (25).

Ani-beklenmedik şüpheli ölümler çeşitli nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Ani-beklenmedik şüpheli ölüme yol açan sistemik hastalıklar ile bunların komplikasyonları, ülkelerin sosyo-ekonomik düzeyleri ile sağlık sistemlerinin gelişmişlik düzeylerine göre ülkeler arasında ve kendi içerisinde çok değişiklikler gösterebilmektedir. Merkezi sinir sistemi hastalıkları (beyin kanamaları, epilepsiler, beyin tromboz ve embolileri....), solunum sistemi hastalıkları (akciğer embolileri, astım ve komplikasyonları....), sistemik enfeksiyon hastalıkları, jinekolojik hastalıklar (kriminal abortuslar, dış gebelik ve uterus rüptürleri....), gastrointestinal sistem hastalıkları (kanamalar ve ülser perforasyonları....), maligniteler görülebilmektedir. Bunlarla birlikte tüm dünyada ve ülkemizde en çok ölüme neden olduğu belirtilen ve ölüm istatistiklerinde ilk sırayı kalp hastalıklarının aldığı belirtilmektedir. Ancak ülkemizde tüm ani ölümlere otopsi yapılmamakta, dolayısıyla kalbe ait patolojilerin ölüm üzerine etkisini ileri süren istatistik verilerin sağlıklılığı tartışılmaktadır (25,27,29,42,67,73).

Kalp hastalıklarına bağlı ani-beklenmedik şüpheli ölümlerin nedenlerinin başında koroner arter patolojilerine bağlı iskemik kalp hastalıklarının geldiği belirtilmektedir. Kapak hastalıkları, iletim sistemi anomalileri, hipertansif kalp hastalıkları, idiyopatik dilate

kardiyomyopati, aritmojenik sağ ventriküler kardiyomyopati ve diğerleri bu patolojileri takip etmektedir (17,25,27,42,57,64,73).

Koroner arter patolojilerine bağlı kalp hastalıklarında temel etmen, koroner arterlerin daralmasına yol açan aterosklerotik plaklar nedeniyle kalbin oksijen ihtiyacının karşılanmamasıdır. Koroner lümenin daralmasına bağlı ortaya çıkan kan akımındaki azalma sonucunda, distaldeki myokard dokusunda hipoksi ve kronik iskemi gelişmektedir. Hipoksidede kalan myokard dokusunda da elektriksel aktivitenin instabil olduğu, egzersiz, öfke ya da heyecanlanma gibi durumlarda aritmi veya ventriküler fibrilasyon sonucu ölüme neden olabildiği bilinmektedir. Yine, kanama, aterom parçalanması gibi koroner aterom komplikasyonları sonucunda çok sayıda küçük enfarktlar oluşabilmektedir. Otopsilerde koroner arter trombozu izlenmekle beraber bu tablo ancak tüm koroner arter patolojilerine bağlı ölümlerin üçte birinde saptanmaktadır. Ayrıca koroner arter patolojisine bağlı gelişen iskemi ve myokard enfarktüsü sonucu rüptür ve kalp tamponadı görölmektedir (10,17,33,42,75).

Ateroskleroz; aterosklerotik plaklar adı verilen damar lümenini daraltan intima yerleşimli yağlı-fibröz lezyonlarla karakterize olup, mediya ve adventisiyada dejeneratif değişikliklere yol açmaktadır. Bu plaklar, fibröz veya yumuşak yağlı yapıdadır ve sıklıkla ortalarında kolesterol ve kolesterol esterleri içeren lipidden zengin atık bulunmaktadır. Lipidden zengin büyük çekirdekleri olan bu plaklara aterom adı verilmektedir. Ateroskleroz mekanizması kronik inflamasyona benzemektedir. Burada da endotelyal yaralanma sonucunda, makrofajlar subendotelial alana göç etmekte ve akümüle olmaktadırlar. Ayrıca düz kas hücreleri çoğalmakta ve makrofajlardan büyüme faktörü salınmaktadır. Bu mekanizmada endotelyal zedelenmenin hastalığın patogenezinde anahtar rolü oynadığı belirtilmektedir (8,58).

Aterosklerozun öneminin; aort, koroner arterler, beyin arterleri gibi yaşamsal damarları tutması ve bunlara bağlı yaşam kalitesinde bozulmalar ile ani ölümlere yol ağmasından kaynaklandığı belirtilmektedir. Batı ölkelerinde aterosklerozdan daha fazla ölüme neden olan, üzerinde daha çok araştırma yapılmış ve en iyi şekilde nasıl önleneceği konusunda bu kadar görüş ayrılıkları bulunan bir başka hastalığın olmadığı, yalnız başına aterosklerozun batıdaki ölümlerin yarıdan fazlasından sorumlu tutulduğu belirtilmektedir. Çoğu gelişmiş ölkelerde

ateroskleroz epidemik boyutlara ulaşmış, ancak son yıllarda kontrol altına alınmaya başlanmıştır. A.B.D’de ateroskleroza bağlı ölüm hızının 1968’de en yüksek düzeye geldiği, ancak bu özelliğin 1984 yılına kadar %40-60 oranında azaldığı bildirilmektedir. Ancak hala Kuzey Amerika, Avrupa ve Bağımsız Devletler Topluluğu gibi batılı bazı toplumlarda daha çok görülmektedir. Bunun nedeninin genetik yatkınlıktan çok, çevresel etkenler ve diyetle ilgili olduğuna inanılmaktadır (8,40,56,75,81).

Yapılan çok sayıdaki araştırmalarda aterosklerozun, kalp ve santral sinir sistemini tutan hastalıkların gelişiminde etkili olduğu ve bundan çeşitli risk faktörlerinin sorumlu tutulduğu belirtilmektedir (25,33,56,76).

Ateroskleroza yol açabilen risk faktörleri arasında yapısal risk faktörler olarak; yaş, cinsiyet ve aile öyküsü kabul edilmektedir. Bazı etkenlerin ise ateroskleroz ile belirgin ilinti gösterdiği ve bunlara temel risk faktörleri denilmektedir. Bunların dört başlıkta toplandığı görülmektedir;

1- Hiperkolestrolemi : Ateroskleroz ile ilişkisi ortaya en çok konan serum kolesterol düzeyinin yüksek olmasıdır. Kolesterol düzeyinin 200mg/100ml üzerindeki değerleri ile ateroskleroz arasında doğru orantı bulunduğu belirtilmektedir. Yüksek kolesterolü diyetlerle yapılan deneysel çalışmalar, insanlardaki aterosklerotik lezyonların hemen aynısının tavşan, kobay ve köpeklerde olduğunu göstermektedir. Kolesterol kanda serbest olarak bulunmayıp daha çok lipoprotein bileşikleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu lipoproteinler; şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoprotein, düşük dansiteli lipoprotein, yüksek dansiteli lipoproteindir. Bunlar içinde en çok kolesterolü, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) içerdiği, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ise tam tersine serum kolesterolünü karaciğere taşıyarak serum kolesterol düzeyini azaltıcı etki yaptığı, HDL’nin artması ile ateroskleroz riskinin azaldığı bilinmektedir. Bu nedenle de HDL/LDL oranının artmasının ateroskleroz gelişimini önlemek için çok önemli olduğu belirtilmektedir. Serum kolesterolünün düşürülmesi ile aterosklerotik plakların gerilediği ya da ilerlemesinin durduğu yönünde deneysel çalışmalarda önemli bulguların saptandığı belirtilmektedir (8,56,75,78,79,80).

2- Hipertansiyon : Hipertansiyonun ateroskleroz riskini arttırdığı görüşü bütün büyük epidemiyolojik çalışmaların ortak özelliğidir. Özellikle 45 yaşın üzerindeki kişilerde hiperkolestremisinin daha önemli olduğu ileri sürülmektedir. Framingham çalışmasında; 45-62

yaş arasında, kan basıncı 160/95 mmHg ve üzerinde olan erkeklerin kan basıncı 140/90 mmHg ve altında olanlara göre 5 kez artmış riske sahip olduğunu belirtmektedir (75,79).

3- Diabetes Mellitus : Aterosklerozun erken gelişimine ve daha hızlı ilerlemesine zemin hazırladığı ve bu etkisini özellikle diabetin iyi kontrol edilmediği dönemlerde kan lipid düzeyini artırarak ortaya çıkardığı belirtilmektedir (8,79).

4- Sigara kullanımı: Bir çok çalışmada sigara kullanımı ile ateroskleroz ve iskemik kalp hastalığı arasında kuvvetli ve sürekli bir ilişkinin olduğu bildirilmektedir (34,79).

Diğer risk faktörleri olarak; düzenli fiziksel egzersiz yokluğu, stresli-yarışmalı yaşam tarzı, oral kontraseptif kullanımı, hiperürisemi, şişmanlık, fazla karbonhidrat alımı bilinmektedir (8,75,79).

Yukarıda söz edilen risk faktörlerinin hiç birisinin tek başına etken olamayacağı, birden fazlasının birlikte olması durumunda riskin artacağı belirtilmektedir. Aterosklerotik plakların orijinini açıklamak için çok sayıda hipotez ileri sürülmüştür (8,54,75).

Bunları inceleyecek olursak;

1-İnsudasyon Hipotezi : Bu hipotez, aterosklerozda lipidlerin odaksal birikimine dayanmaktadır. Bu, lipidin plazma lipoproteinlerinden elde edildiği ve myokard infarktüsünde kan lipidlerinin risk faktörü olduğu savı ile tutarlılık göstermektedir. Bu hipotez, lipidlerin damar duvarına nasıl girdiğini tam olarak açıklayamamasına karşın genel kabul görmektedir (8,25,33,76).

2-Enkurustasyon Hipotezi: 19 yüzyılda ileri sürülen bu teoride; aterosklerozun arterlerin iç yüzeyine kanın şekilli elemanlarının alınması ile oluştuğu belirtilmektedir. Bu teorisinin günümüzdeki yorumu, aterosklerozun başlangıcının küçük bir mural trombüs olduğunu savlamaktadır. Bu trombüslerin organizasyonu plak oluşmasına ve tekrar eden trombüsler ile bu lezyonların genişlemesine yol açtığı ileri sürülmektedir. Çocuk otopsileri ve hayvan deneyleri aterosklerozdaki başlangıç olayının mural trombüsler olmadığını göstermektedir. Ancak mural trombüs, aterosklerotik lezyonların ilerlemesinin kritik noktası ve büyük olasılıkla vasküler daralmaya yol açan major bir olay olarak kabul görmektedir (23,33,76).

3-Monoklonal Hipotez : Bu görüş, düz kas hücre proliferasyonunun kontrolsüz artmasına odaklanmıştır. Lezyon leiomyomadaki gibi benign düz kas hücre tümörünün

analoğu tarzında birden fazla ya da bir hücrenin büyüme kontrolünün kaybına dayanmaktadır (31,32,54,75,76).

4- İntimal Hücre Kitle Hipotezi : Aterosklerotik lezyonlar, damarların dallanma noktalarına ve koroner arterler gibi bazı damarların intimasına düz kas hücrelerinin odaksal birikimini savunmaktadır. İntimal hücre kitlesi çocuklarda saptanmış ve bunun çocuklardaki dağılımının erişkinlerdeki aterosklerotik lezyonların dağılımına benzediği bundan dolayı intimal hücre kitlesinin ateroskleroza erken lezyonu ya da onun prekürsörü olduğu ileri sürülmektedir (8,31,33,54,76).

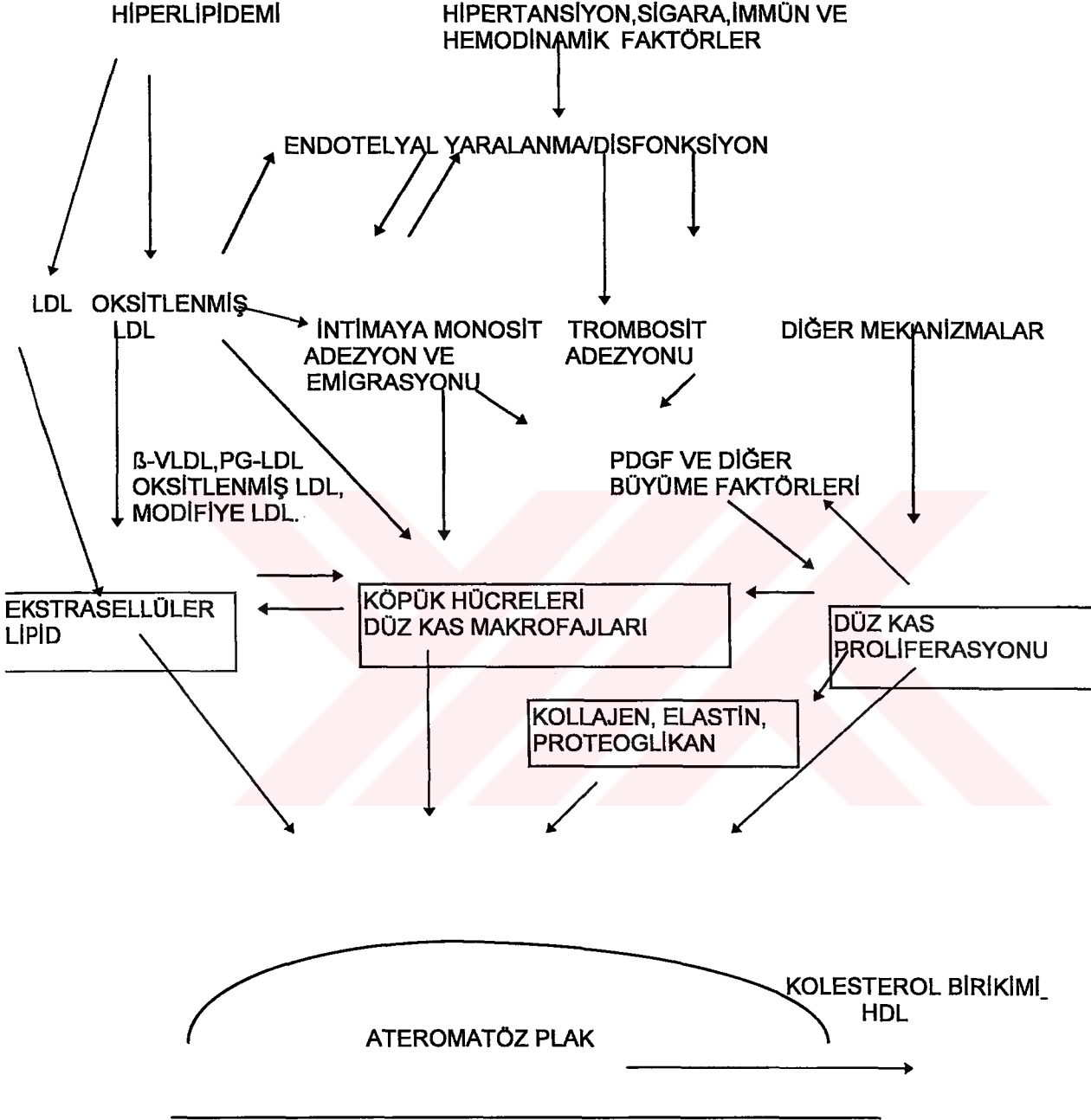
5-Hemodinamik Hipotez : Ateroskleroza orijininde hemodinamiğin rolünden sıklıkla bahsedilmektedir. Büyük damarlardaki aterosklerotik lezyonların dağılımı, yerleşimdeki farklılıklar ve farklı damar yataklarındaki lezyonların sıklığı hemodinamik faktörü savunanları arttırmaktadır. Buna örnek olarak da, hipertansiyonda pulmoner arterlerde ateroskleroza pek görülmemesine rağmen, pulmoner hipertansiyonu olan vakalarda pulmoner arter ve onun major dallarında ateroskleroza görülebilmesi belirtilmektedir (23,32,54,76).

6-Zedelenmeye Yanıt (Injury) Hipotezi : Bu hipotezler içinde en çok kabul görenin zedelenmeye yanıt hipotezi olduğu belirtilmektedir. Hipotez aterosklerotik lezyonlarda düz kas birikimini açıklamak amacıyla, düz kas proliferasyonunu, düz kas bölgesinde biriken monosit ve trombositler tarafından salınan polipeptit büyüme faktörüne bağlamaktadır. Yine bu hipoteze göre; lipid yüklü düz kas hücreleri ve makrofajların, arterlerin endotel hücrelerinde fonksiyonel bir değişime yol açarak, arteriyel duvarın intima tabakasına doğru göç ettikleri ve çoğaldıkları belirtilmektedir (8,23,31,54,58,75,76,78).

Bu hipotezin mekanizmasını incelediğimizde; zedelenmeye yanıt hipotezinin temelini endotel zedelenmesi olduğu, hayvan deneylerinde endoteli ortadan kaldıran etmenlerin ateroskleroza yol açtığına gösterildiği belirtilmektedir. Endoteldeki hafif düzeydeki zedelenmeler bile endotelin üretimini arttırmakta bu da düz kas hücrelerinde proliferasyona ve trombosit agregasyonuna yol açmaktadır. Bu zedelenmeleri ise; dolaşan endotoksinler, anoksi, enfeksiyöz etkenler, mekanik ve hemodinamik etkenlerin oluşturduğu ileri sürülmektedir. Kronik hiperlipideminin özellikle kendi başına ateroskleroza yol açabileceğini bir çok araştırmacı öne sürmüştür. Endotel membranındaki kolesterol/fosfolipid oranının artmasının endoteli rijitleştirdiği, intrasellüler ilişkiyi zayıflattığı, potansiyel olarak permeabilite artışına

yol açtığı ve bunun sonucunda da hafif düzeyde endotel zedelenmesi meydana geldiği belirtilmektedir. Kronik hiperlipidemi, aynı zamanda lipoproteinlerin oksidasyonuna zemin hazırlayarak modifiye LDL(düşük yoğunlukta lipoprotein) oluşumuna yol açmaktadır. LDL'nin oksidatif modifikasyonunun ise günümüzde aterogenez sürecinin önemli bir boyutu olduğu düşünülmektedir. Oksitlenmiş LDL, endotel hücreleri için toksik olup, zedelenmeyi arttırdığı, aynı zamanda monositler için kemotaktik, makrofajlar içinse immobilize edici özellikte olup, bu etkiyle aterom oluşum bölgesinde toplanmalarını sağladığı ileri sürülmektedir. Sonuçta ateromların lipid içeriğinin büyük kısmının oksitlenmiş LDL olduğu düşünülmektedir (8,18,30,54,59,63,69,75,79).





ŞEKİL 1: Aterosklerozda hücreler arası etkileşimler ve hipotezlerin şematik görünümü.

PDGF: Trombosit derive büyüme faktörü
 LDL: Düşük dansiteli lipoprotein
 HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein
 VLDL: Çok düşük dansiteli lipoprotein

Ateroskleroz ile enfeksiyöz etkenler arasında ilişki olduğu savı yeni değildir. Mikrobiyolojik veya immünolojik faktörlerin ateroskleroza yol açtığı veya dolaylı yoldan bu olayı başlattığı ileri sürülmektedir. Son zamanlarda araştırmacılar tarafından zedelenmeye yanıt hipotezinde belirtilen enfeksiyöz ajanlardan birinin de *Chlamydia pneumonia* olduğu düşünülmektedir (4,11,22,36,43,46,58,65,69,70,85).

Chlamydia enfeksiyonlarının bazıları çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Trahom eski Mısır yapıtlarında ve Çin’de bulunan el yazması tarihi belgelerde yer almaktadır. Bu hastalığın özellikle Ortadoğuda sık görüldüğü ve Avrupa’ya savaşlar sırasında taşındığı bilinmektedir. Dünyada yaklaşık olarak 600 milyon insan trahoma yakalanmış, bunlardan 10 milyonunda görme kaybı gelişmiştir (3).

Chlamydia bulaşma yollarının; enfekte anneye sahip bireylerde, intrauterin dönemde veya doğum kanalından geçerken, doğum sonrasında ise çevreden ya da erişkin dönemde seksüel temas ile olduğu bilinmektedir. *Chlamydia* ile ilk temastan sonra akut enfeksiyon gelişebildiği gibi yıllar süren sessiz dönemden sonra şiddetli seyreden reenfeksiyonlar olabilmektedir (44,49,79).

Chlamydia’lar enerji üretmedikleri için zorunlu hücre içi parazitleridir. Gram(-) bakterilere benzerlik gösteren, hem DNA hem de RNA içeren bakterilerdir. *Chlamydia*’nın dış membranında peptidoglikan bulunmaması nedeniyle lizozimden etkilenmemekte ve ilkel ribozomları metabolik aktivitesini sürdürmektedir. Bu nedenle ancak protein sentezini inhibe eden (bakteriostatik) antibiyotiklerle üremelerinin önlenebileceği belirtilmektedir (37,41,60,82,85).

Chlamydia trochomatis’in 1957 yılında trahomlu hastaların konjunktiva kazıntılarının ekildiği embriyolu yumurtanın sarı kesesinde, 1965 yılında da hücre kültüründe üretildiği bilinmektedir. 1970’li yıllarda *Chlamydia* tanısında mikroimmünofloresan yöntemi, 1990’lı yıllarda ELISA, doğrudan floresan antikor yöntemleri ve PCR gibi yöntemler kullanılmaktadır (10,49,86).

Chlamydia morfolojik olarak, enfeksiyöz ekstra sellüler elementer cisimcik (EB) ve nonenfeksiyöz intrasellüler retiküler cisimcik (RB) olmak üzere iki formda bulunmaktadır. Enfeksiyöz olan elementer cisimcik, hücre içine girdiğinde retikülat cisimciğe dönüşmekte ve

sayısız kereler bölünerek çoğalabilmektedir. *Chlamydia* 'ların çoğalmaları için gerekli olan enerjiyi konak hücrenin mitokondiriası ve oksidatif fosforilizasyon sisteminden sağladığı bildirilmektedir. *Chlamydia* 'lar hücre içinde çoğaldıktan sonra oradan tekrar salındığı ve bundan sonra enfekte hücrenin tekrar normal fonksiyonlarına döndüğü, böylece *Chlamydia* enfeksiyonların ciddi primer akut enfeksiyon tabloları değil, kronik, latent veya reenfeksiyon şeklinde görülebildiği belirtilmektedir (41,44,45,).

Chlamydia 'ların antijenik yapısı değerlendirildiğinde 3 farklı antijenik yapı görülmektedir.

1) Lipopolisakkarit antijen; cinse spesifik grup antijenidir. Bu antijen T hücrelerinden bağımsız olarak B hücrelerini aktive edebilmekte, enfekte monosit, makrofaj ve epitel hücrelerinden monokinlerin salgılanmasını uyarabilmektedir. Lipoprotein antijeni genel dolaşımda doğrudan damar duvarına çökme ve yapışma özelliğine sahiptir. *Chlamydia*, lipoproteinleri aracılığıyla dolaşımdaki HDL ve LDL ile bağlanarak onların pıhtılaşmasına ve immün sistem için hedef haline gelmesine neden olmaktadır. *Chlamydia* tarafından uyarılmış monositlerin salgıladığı İnter lökin -1 (IL-1)'in kollogenase ve kollojen doku üretimini artırdığı fibroblast ve düz kas hücrelerinde proliferasyona yol açarak damarlarda stenoza neden olduğu bildirilmektedir. Lipopolisakkarit antijen tarafından salınımı tetiklenen tümör nekroz edici faktör (TNF) kan akımında trigliserid birikimini ve lipid mekanizmasını değiştiren lipoprotein lipaz aktivitesini inhibe etmektedir. Kronik *Chlamydia* enfeksiyonu ile devamlı salınımı sağlanan TNF'ün koroner kalp hastalığındaki tipik yüksek serum lipid düzeyini açıklayabileceği belirtilmektedir. *Chlamydia* lipopolisakkaritin LDL'ye bağlanmasının, onun endotel hücrelerine toksik veya immünolojik etki yapabilen lipoproteine modifiye edebileceği ve bunun da ateroskleroz gelişiminde ilk faz olarak kabul edilen invitro köpük hücresi (foam cell) oluşumuna yol açacağı belirtilmektedir. *Chlamydia* 'larda ortak olan bu antijenin *Chlamydia* türüne spesifik monoklonal antikor (CF-2) testi ile gösterilebilmektedir (40,44,45,46,69,70,81,82,87).

2) Major dış membran proteinleri; *Chlamydia* 'nın tipini ayırmaya yarayan spesifik antijenlerdir. *Chlamydia pneumonia* enfeksiyonlarının, antijen spesifik lenfosit blast transformasyonunu uyardığı bu uyarımların enfeksiyonlardan hemen sonra oldukça güçlü fakat kısa ömürlü olduğu, akut enfeksiyona ait blast transformasyonunun standart bir kalıbı

olmadığı belirtilmektedir. Uyarılan blastojenik transformasyonun, reenfeksiyon sıklığına bağlı olarak lenfoid dokuda önce hiperplaziye sonrada granümatöz değişimlere sebep olabileceği varsayımı desteklenmektedir (44,45).

3) Isı şok proteinleri; *Chlamydial* enfeksiyonlardan sonra görülen geç tip hipersensitivite reaksiyonları ve otoimmün cevaptan sorumlu oldukları ve patolojik immün cevaptaki önemlerinin konak hücrenin ısı şok proteinleri ile büyük ölçüde homolog olmalarından kaynaklandığı belirtilmektedir. *Chlamydia* ısı şok proteinlerine karşı uyarılan humoral ve sellüler immünitinin konak hücrenin ısı şok proteinlerine yöneldiği ve böylece otoimmünitinin başladığı ileri sürülmektedir. *Chlamidia trochomatis* reenfeksiyonlarından sonra görülen infertilite ve pelvik inflamatuvar hastalığın oluşması bu şekilde açıklanmaktadır (41,44,45).

Chlamydia'nın emriyolu yumurtada veya hücre kültürlerinde üretilebildiği yalnız bunların oldukça zor yöntemler olduğu bilinmektedir. *Chlamydia* serolojik yöntemlerle, cins-spesifik ortak antijene karşı oluşan antikorun CF testi ile gösterilebilir. Serolojik testlerin dezavantajının, antikorun geçirilmiş eski enfeksiyona mı yoksa akut geçirilmekte olan bir enfeksiyona mı bağlı olduğunun ayırımının yapılamamasıdır. Ancak immünglobulin M (IgM) antikorunun, immünglobulin G (IgG) antikorundan en az 4 misli yüksek olması akut enfeksiyon tanısında önemlidir (37,41).

Chlamydia'ların bilinen dört türü vardır. Bunlardan üç türü insanlarda hastalık oluşturmaktadır. Bunlar *Chlamydia trochomatis* (trahom, genito-üriner enfeksiyonlar, lenfogranüloma venorum, respiratuvar sistem enfeksiyonları), *Chlamydia psittachi* (Psittacosis ve pnömoni enfeksiyonları) ve *Chlamidia pneumonia* (pnömoni, bronşit, faranjit, sinüzit) dir. Bunlardan *Chlamidia pneumonia*'nın 1965 yılında Taiwan'lı bir çocuğun konjunktivasından izole edildiği ve bunun *Chlamydia psittachinin* bir türü sanıldığı, gelişen hücre kültürü yöntemleri ile 1983 yılında ikinci izolasyonda bunun yeni bir tür olduğu anlaşıldığı belirtilmektedir. Taiwan'da izole edilmesi ve Akut Respiratuvar hastalığa neden olmasından dolayı önceleri TWAR olarak adlandırıldığı bilinmektedir (3,4,12,19,22,37,60,68).

Chlamydia pneumonia çoğunlukla asemptomatik veya orta şiddette alt ve üst solunum yolu hastalığına neden olmakta, bazen daha ciddi enfeksiyonlara yol açmaktadır. *Chlamydia*

pneumonia'nın en sık faranjite yol açtığı, erişkinlerde saptanan pnömoni, sinüzit, bronşit, otitis media gibi enfeksiyonların ise %10'undan sorumlu olduğu belirtilmektedir. Ayrıca hepatit, koroner kalp hastalığı, geçici serebral iskemi, endokardit ve myokardit gibi hastalıklarla ilişkili olabileceği, sepidemiyolojik ve kliniko-patolojik çalışmalarla gösterilmektedir. *Chlamydia pneumonia*'nın neden olduğu pnömoni, *Mycoplasma pneumonia* tarafından oluşturulan atipik pnömoniye çok benzemektedir (11,23,32,37,39,51,66,71,82,86).

Kuzey Batı Avrupa ülkelerinde 5 ile 7 yılda bir *Chlamydia pneumonia* enfeksiyonunun epidemiler oluşturduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda antikor bulunma sıklığı %50-70 arasında olup, yetişkinlerin çoğunun yaşamları boyunca 2-3 kez bu mikroorganizmayla enfekte oldukları bildirilmektedir. Çocuklarda 5 yaşına kadar *Chlamydia pneumonia*'ya karşı oluşan IgG antikoruna seyrek rastlanmakta, yetişkinlerin ise yarısında bu antikor pozitif bulunmaktadır. Bu bulgu da, yaşam boyu enfeksiyon ve reenfeksiyona uğranıldığını göstermektedir. 70 yaşın üzerinde hemen hemen herkeste IgG antikorunun pozitif olduğu belirtilmektedir (1,11,21,37,41,45,52,71,82,86).

Ateroskleroz nedeni olarak uzun süredir çeşitli enfeksiyonların etkisinden söz edilmektedir. 19. yüzyılın başlarında Sir William Osler ve arkadaşları enfeksiyonun aterosklerozun bir nedeni olduğunu ileri sürdüler. Günümüzdeki zedelenmeye yanıt hipotezi de enfeksiyonun ateroskleroz oluşumuna damar endotelini zedeleyerek katkıda bulunduğunu ileri sürmektedir. Tavuklarda deneysel olarak oluşturulan *Avian herpes virus* enfeksiyonunun ateroskleroz gelişimini sağlamasının bu hipotezi destekler nitelikte olduğu belirtilmektedir. Yapılan seroepidemiolojik çalışmalar *Chlamydia pneumonia*'nın respiratuar hastalıklar oluşturmalarının yanı sıra, koroner arter hastalığı ile de bu organizmanın bir ilişkisinin olduğunu göstermektedir. Seroepidemiolojik çalışmalarda tüm bireylerin herhangi bir zaman diliminde *Chlamydia pneumonia* ile enfekte olduğu ve reenfeksiyonun da yaygın bulunduğu bildirilmektedir. *Chlamydia pneumonia* ile ateroskleroz ilişkisinin çeşitli yöntemlerle gösterilmeye çalışıldığı belirtilmektedir. Bu yöntemlerin immünoenzimatik boyama, PCR, elektron mikroskopi ve serolojik çalışmalar olduğu bilinmektedir (11,19,22,23,38,40,45,46,57,64,65,78).

Chlamydia pneumoniae'nin immünoenzimatik yöntem ve PCR ile damarsal yapılarda daha fazla gösterildiği, organlarda ise görülme oranının anlamlı olarak düşük olduğu, bunun da ateroskleroz etyolojisindeki rolünü destekler nitelikte bulunduğu belirtilmektedir. Koroner kalp hastalığı olan veya myokard enfarktüsü geçirmiş ya da asemptomatik koroner aterosklerozu bulunan hastalarda *Chlamydia pneumoniae*'ya karşı IgG veya IgA titresinin yükselmesinin anlamlı olduğu bildirilmektedir. Yine immünoenzimatik yöntem ve PCR'la *Chlamydia pneumoniae*'nin koroner arterler ile ateroma içinde saptanmasının, buna karşın normal arterlerde bulunmamasının bu bulguları destekler nitelikte olduğu belirtilmektedir (36,44).

Vasküler yapılarda aterosklerozun saptanması ve *Chlamydia pneumoniae*'nin gösterilmesi amacıyla çeşitli çalışmalar yapıldığı bilinmektedir. Bu çalışmalarda histokimyasal, immünoenzimatik yöntemlerin önemli bir yer tuttuğu belirtilmektedir. Bu çalışmalarda, dokular laboratuvara %10'luk tamponlanmış formaldehit tespit solusyonu içerisinde ulaştırılmaktadır. Doku tespit ve takip işlemleri, rutin histopatolojik yöntemlere göre yapılmaktadır. Bilindiği gibi formaldehit dokunun moleküler biyokimyasında önemli bir değişiklik oluşturmada dokunun tespit anındaki özelliklerini korumakta laboratuvar çalışmaları için ekonomik ve çoğu histolojik incelemeler için yeterli bulunması nedeni ile evrensel tespit çözültisi olarak kabul edilmektedir. En iyi kullanım şekli olarak sodyum fosfat monobazik ve sodyum fosfat dibazik ile tamponlanmış hali olduğu belirtilmektedir. Bu şekilde formaldehit ile tespit edilen dokularda çeşitli lezyonların gösterilmesi amacıyla XIX. Yüzyıldan günümüze kadar histokimyasal ve günümüzde de immünoenzimatik çalışmalar yapılmaktadır (15,27).

Histokimya çeşitli dokularda hücre içerikleri, elemanları, hücre dışı elemanlar ve destek dokuların gösterilmesi gibi temel histomorfolojinin anlaşılmasına yardımcı bir yöntemdir. Rutin Hemotoksilen Eozin (H&E) yöntemi ile değerlendirilen dokuların çeşitli histokimyasal yöntemler ile doku ve hücrel ayrıntıların belirlenmesinin olası olduğu bilinmektedir. Örneğin; vasküler yapıların ayrıntılarının gösterilmesinde, H&E yanı sıra Masson Trikrom ve Verhoff'un elastik boyama gibi yöntemlerin uygulanması yararlıdır. Ancak histokimyasal yöntemler bazı özgül doku elemanlarını görünür hale getirmekte yetersiz kalmaktadır. XX. Yüzyılın ikinci yarısından itibaren gelişen immünoenzimatik çalışmalar

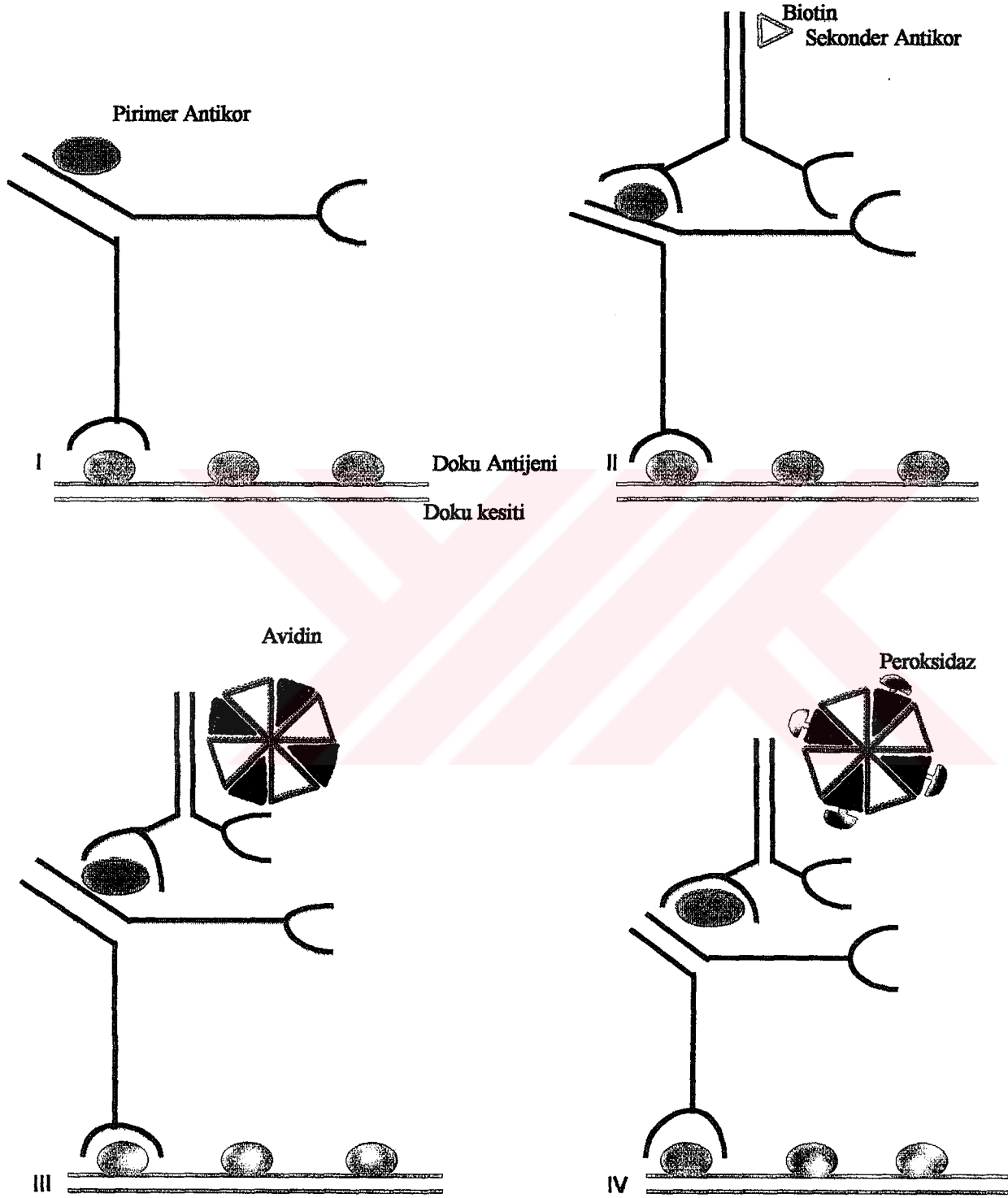
çeşitli antikorların kullanımı ile özgül antijenik yapının görülür hale gelmesini sağlamakta, hücreler arasındaki antijenik yapısal farklar ortaya konulabilmektedir (15,27,88).

İmmünoenzimatik teknikte doku düzeyinde önemli gelişmelerin kaydedildiği bilinmektedir. İmmünperoksidaz yöntemi olarak anılan yöntemde temel ilke; doku ya da hücredeki antijeni görülebilir bir işaretleyici ile yüklü spesifik bir antikor yardımı ile uygun antijenin lokalizasyonunda hem immün hem de kimyasal reaksiyonla ortaya çıkarmak ve bu antijen antikor kompleksini rutin ışık mikroskopunda göstermektir (15,27).

İmmünperoksidaz yöntemlerden peroksidaz-antiperoksidaz ve Avidin-Biotin Kompleks (ABC) teknikleri günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır. Peroksidaz-antiperoksidaz (PAP) tekniğinde peroksidaz- antiperoksidaz kompleks belirteci, bir sekonder antikorun pirimer antikora bağlanmasına dayanmaktadır (15).

1981 yılında Hsu tarafından geliştirilen ve hala en yaygın kullanımı olan Avidin-Biotin Kompleks (ABC) yönteminde; pirimer antikor biotinle işaretlenmiş bir sekonder antikora bağlanmakta ve bu yapıda daha geniş bir kompleks halindeki avidin-biotin ve peroksidaz kompleksi ile bütünleşmektedir. Avidin-biotin immünoenzimatik işaretleme tekniğinde, monoklonal antikorların çift işaretleme ile endojen doku immünglobulinlerinin neden olduğu zemin boyamasının önüne geçildiği ve az miktarda antikor ile daha net görüntü sağlanması nedeniyle peroksidaz-antiperoksidaz yönteminden üstün kabul edilmektedir (34).

Avidin-Biotin Kompleks İmmünoenzimatik Tekniği



Şekil 2: Avidin-Biotin kompleks yöntemi

3-GEREÇ YÖNTEM

Adli Tıp Kurumu Adana Grup Başkanlığı Morg İhtisas Dairesinde Temmuz 1997 ile Şubat 1998 tarihleri arasında otopsileri yapılan 10-30 yaş arasında 25 olgu orijinlerine, cinsiyetlerine ve ölüm nedenlerine göre ayırım yapılmaksızın alındı. Olguların tümünün en geç 24 saat içinde otopsileri yapıldı. Çalışmada ayrıca; Çukurova Üniversitesi Adli Tıp Anabilim Dalı Patoloji laboratuvarında daha önce histopatolojik incelemeleri yapılan olgular arasında, sol ön inen dal koroner arterlerinde makroskobik olarak %50 ve üzerinde aterosklerotik değişiklikler saptanan 5 olgu örneklendi. Bu örnekleme; ateroskleroz morfolojisi ile bu morfolojideki damarlarda *Chlamydia pneumonia* antijenik varlığının araştırılması amacıyla yapıldı. Benzeri çalışmalardaki örnekler gibi çalışma kapsamına alınan bu örnekler de, histokimyasal ve immunoenzimatik yöntemlerle incelenerek değerlendirildi.

Adli Tıp Kurumu Adana Grup Başkanlığı Morg İhtisas Dairesinde otopsileri yapılan olgulardan standart otopsi tekniği kullanılarak 4 arterden örnek alındı.

Bunlar:1-Arteria bazillaris; Arteria vertebralis'lerin birleşerek Arteria bazillaris oluşturduğu yerden itibaren 0.5 cm aralarla yapılan seri kesitlerden 3. parça alındı.

2- Arteria koronaria sinistra ramus intervenrikularis (Sol ön inen dal); sol koroner arterin aort trunkusundan ayrıldıktan sonra 0.5 cm aralarla yapılan seri kesitlerden 3. parça alındı.

3- Arteria koronaria dekstra (Sağ koroner arter) ; sağ koroner arterin aort trunkusundan ayrıldığı yerden itibaren 0.5 cm aralarla yapılan seri kesitlerden 3. parça alındı.

4-Arteria karotis eksterna; Hyoid kemik seviyesinden aşağı doğru 0.5 cm aralarla yapılan seri kesitlerden 3. parça alındı.

Çalışmamızda 100 tanesi 25 olguda, beş tanesi ise %50 ve üzerinde aterosklerotik değişiklikler gösteren sol ön inen dal koroner arter örnekleri olmak üzere toplam 105 ayrı damar incelendi.

Alınan örnekler Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı patoloji laboratuvarında hazırlanan %10'luk tamponlanmış formaldehit içerisinde doku takibi ve parafin bloklar haline getirilene kadar bekletildi.

Tamponlanmış formaldehit; kaynaklarda belirtildiği şekilde aşağıda miktarları verilen kimyasalların karışımı ile hazırlandı (2).

fomaldehit %37-40.....100ml
distile su.....900ml
sodyum fosfat monobazik.....4.0gr.
sodyum fosfat dibazik.....6.5gr.

Alınan örneklerin rutin doku takipleri, Fisher Histomatic 166 MP doku takip aygıtı ile yapıldı. Rutin takip sonrasında Merck parafin kullanılarak blok haline getirildi. Arter yapılarının örneklendiği parafin blokların her biri Reichart-Jung Rotary mikrotomunda beş mikron kalınlığında kesildi. Kesitlere deparafinizasyon işlemi sonrası üç ayrı histokimyasal boyama yöntemi uygulandı.

Mayer'in H+E boyama yönteminde; nükleus mavi, sitoplazma ve dokunun diğer yapıları pembe-kırmızı renkte boyanmaktadır (67).

Bağ dokusunu oluşturan kollojen, elastin ve retiküler lifleri daha ayrıntılı gösterebilmek amacıyla Masson'un Trikrom boyama yöntemi ile Verhoff'un elastik boyama yöntemi uygulandı. Verhoff'un elastik boyama yöntemi için kullanılan kimyasal maddelerin tümü Merck ürünü idi. Masson'un Trikrom boyamasında, Weigert'in demir hemotoksilen çalışma solusyonu (Merck), Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin solüsyonu (Sigma), Fosfomolibdik-Fosfotungustik asit solüsyonu (Merck), Anilin mavisi solüsyonu (Merck), ile %1'lik asit solüsyonu kullanıldı (55).

Masson'un Trikrom boyama yönteminde; nükleus siyah, kas, sitoplazma ve keratin kırmızı, kollajen mavi veya yeşil renkte boyanmaktadır. Verhoff'un elastik boyamasında ise; elastik lifler ve nükleus siyah, kollajen kırmızı, diğer doku yapıları yeşil renkte boyanmaktadır (55).

İmmünoenzimatik boyama yöntemi için Avidin-Biotin Complex (ABC) yöntemi seçildi. Antikor olarak, bu yöntemle çalışılabilir özellikteki Mouse Anti-*Chlamydia pneumonia* primer antikor (DAKO Code No: M6600, Clone No RR402) kullanıldı. Ünlversal kit olarak ise, ABC yöntemi uyumlu DAKO LSAB + Kits (K 0690) kullanıldı.

İmmünoenzimatik boyamada, Hsu ve arkadaşlarının tanımladığı yöntem uygulandı. Bu yöntemde; bloklardan arterin aynı alanını temsil eden iki ayrı kesit bir lam üzerine alınarak, çalışma sırasında aynı işlem hem negatif hem de pozitif antikor boyanması için gerçekleştirildi. Negatif kontrol örneklerine boya aşamaları sırasında, primer antikor uygulanmamış, negatif kontrol antikor damlatılmıştır. Diğer tüm aşamalar usulüne uygun gerçekleştirilmiştir. Burada negatif kontrol antikor veya non-immün serum uygulamasının nedenin, özgül olmayan boyanışların fark edilmesini sağlamaktır (34).

Her arterin aynı alanından her bir lam üzerine 5 mikron kalınlığında pozitif ve negatif kontrol için 2 ayrı kesit alındı. Kesitler deparafinize edilip alkollerden geçirildikten sonra fosfat tamponlu salinle (Phosphate Buffered Saline “PBS”, 0.01 molar, pH7.2) yıkandı. Her yıkama aşamasından sonra kesitlerin etrafı dikkatlice kurulandı. Kesitlerin çevresi dikkatlice kurutuldu. Kesitler nemli ortama konuldu ve çalışma yöntemi gereği bu aşamadan itibaren nemli ortamda sürdürüldü. Bu evreden başlayarak her basamakta kurutma işlemi tekrarlandı.

Boyama evrelerinde;

1- Her kesitin üzerini tamamen kaplayacak şekilde 2-3 damla tripsin konuldu ve 15 dakika beklenildi.

2- Preparatlar üzerindeki fazla solüsyon dökülerek kesitler önceden hazırlanmış PBS ile beş dakika yıkandı.

3- Her kesitin üzerini tamamen kaplayacak şekilde iki-üç damla %3 Hidrojen Peroksidaz Solüsyonu “Peroksidaz Blocking Reagent” damlatılarak oda sıcaklığında ve nemli ortamda beş dakika süresince bekletildi. Burada amaç ortamda bulunan endojen peroksiditleri yok ederek zemin boyamasını azaltmaktır.

4- Preparatlar üzerindeki fazla solüsyon dökülerek kesitler önceden hazırlanmış PBS ile beş dakika yıkandı.

5- Her kesitin üzerine *Chlamydia pneumonia*’ya spesifik anti-mouse antikor damlatıldı. Kesitler bir saat oda sıcaklığında bekletildi.

6- Kesitler PBS solüsyonunda beş dakika süre ile yıkandı.

7- Kesitlere DAKO LSAB kitinden iki-üç damla bağlayıcı belirteç damlatıldı. Oda sıcaklığında ve nemli ortamda 30 dakika bekletildi.

8- Kesitler PBS solüsyonunda beş dakika süreyle yıkandı.

9- Her kesitin yüzeyini tamamen kaplayacak şekilde iki-üç damla konjüge streptavidin damlatıldı. Oda sıcaklığında ve nemli ortamda 30 dakika bekletildi.

10- Kesitler PBS solüsyonunda beş dakika süreyle yıkandı .

11- Kesitlere tarife göre hazırlanan dimethyl formamide içinde 3-amino-9-ethy carbazole ("AEC" Working Color Reagent) bol miktarda damlatıldı. 15 dakika süre ile oda sıcaklığında ve nemli ortamda bekletildi.

12- Kesitler musluk suyunda yıkandı.

13- Mayer Hemotoksilen ile 30-60 saniye zemin boyaması yapıldı. Musluk suyu ile yıkanarak, %0.3'lük amonyaklı su ile mavileştirildi ve yıkandı.

14- Kesitler gliserinli jel ile kapatılarak mikroskobik incelemeye hazır hale getirildi.

Antikor uygulamalarında renklendirici (Color Reagent) olarak Üç,3'-Diaminobenzidin tetrahidroklorid (DAB) veya Üç-amino-9-etilkarbazol (AEC) kullanılmaktadır. AEC oksidasyon reaksiyonu ile renklendirme özelliğinde olup, genellikle gül kırmızısı-kahverengi veya turuncu-kahverengi boyanış göstermektedir. Ekonomik ve boyanmanın değerlendirilmesi sırasında daha belirgin boyanış özelliği gösterdiğinden çalışmamızda tercih edildi.

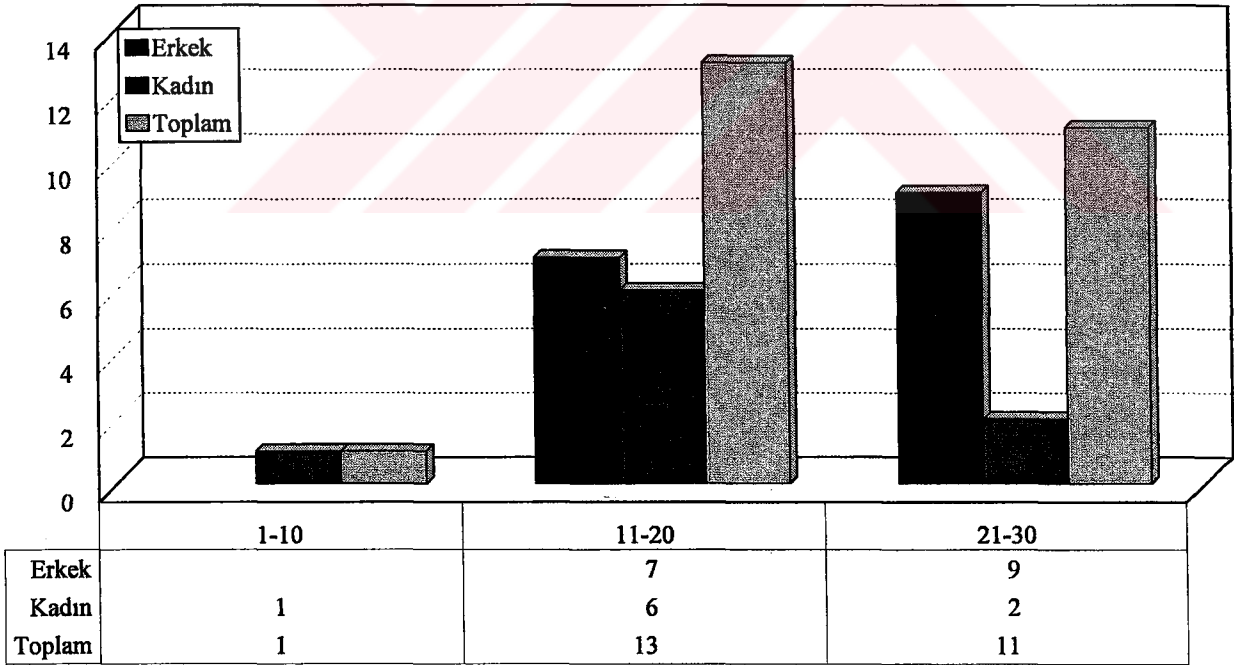
Çalışmaya alınan olguların kesitlerine uygulanan H+E, özel histokimya ve immünoenzimatik boyalı preparatlar ışık mikroskobik olarak iki ayrı patolog tarafından kör yöntemle değerlendirildi.

4-BULGULAR

Bu çalışmadaki 25 otopsi olgusunda; olguların 16'sı (%64) erkek, 9'u (% 36) kadın olup yaşları 10-30 arasındadır. Olguların yaş ortalamaları ise 19.7 olup en küçüğü 10 yaşında idi. 25 olgunun 3'ü ani beklenmedik şüpheli, 8'i ateşli silah yarası, 4'ü kesici-delici alet yarası, 3'ü künt travma, 5'i entoksikasyon şüphesi, 1'i ası, 1'i suda boğulma nedeniyle ölüm olgularıydı. Olguların yaş ve cinsiyet dağılımı tablo I' de görülmektedir.

Tablo I: Olguların yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımı

	1-10	11-20	21-30	Toplam
Erkek	-	7	9	16
Kadın	1	6	2	9
Toplam	1	13	11	25



Şekil 3 : Olguların yaş ve cinsiyet dağılımları

Olguların ölüm yerlerine göre dağılımları incelendiğinde; 8 olgunun olay yerinde öldüğü, bunu 6 olgu ile sağlık kurumuna giderken yolda oluşan ölümlerin izlediği görüldü. 5 olgunun acil serviste ilk müdahale sırasında, 6 olgunun ise ameliyat sırasında veya tedavinin sonraki aşamalarında ölmüş olduğu anlaşıldı.

Tablo II : Olguların yaş, cinsiyet, ölüm nedeni ve ölüm yerlerine göre dağılımı

Olgu no	Yaş/Cins	Ölüm Nedeni	Ölüm Yeri
1	27/E	Kesici-Delici Alet Yarası	Acil serviste
2	17/K	Künt Genel Vucut Travması	Olay Yeri
3	11/E	Ateşli silah Yarası	Yolda
4	13/E	Ası	Olay Yeri
5	22/E	Kesici-Delici Alet Yarası	Ameliyat sırasında
6	17/E	Ateşli Silah Yarası	Yolda
7	19/E	Kesici-Delici Alet Yarası	Acil Serviste
8	22/E	Ani-Beklenmedik Şüpheli	Olay Yeri
9	24/E	Ateşli Silah Yarası	Olay Yeri
10	18/K	Suda Boğulma	Olay Yerinde
11	25/E	Kesici-Delici Alet Yarası	1 Gün Hastane Tedavis
12	18/E	Ani-Beklenmedik Şüpheli	Olay Yeri
13	16/E	Ateşli Silah Yarası	1 Gün Hastane Tedavisi
14	15/K	Künt Genel Vucut Travması	Hastanede Ameliyat Sırasında
15	13/K	Entoksikasyon Şüphesi	Acil Serviste
16	26/K	Entoksikasyon Şüphesi	7 Gün Hastane Tedavisi
17	17/K	Entoksikasyon Şüphesi	Acil Serviste
18	22/E	Ateşli Silah	Yolda
19	25/K	Ani-Beklenmedik Şüpheli	Acil Serviste
20	29/E	Ateşli Silah Yarası	Yolda
21	16/E	Künt Genel Vucut Travması	Yolda
22	13/K	Entoksikasyon Şüphesi	Olay Yeri
23	30/E	Ateşli Silah Yarası	Olay Yeri
24	28/E	Entoksikasyon Şüphesi	Yolda
25	10/K	Ateşli Silah Yarası	1 Gün Hastane Tedavisi

Tablo III: Ateroskleroz morfolojisini ve bu morfolojideki damarlarda *Chlamydia pneumonia* antijenik varlığının araştırılması amacıyla alınan olguların yaş, cinsiyet, ölüm nedeni ve ölüm yerlerine göre dağılımı.

Olgu no	Yaş/ Cinsiyet	Ölüm nedeni	Ölüm yeri
1	80/K	Ani-Şüpheli	Olay yerinde
2	58/E	Ani-Şüpheli	Olay Yerinde
3	37/K	Ateşli silah	Olay yerinde
4	35/E	Ani-Şüpheli	Acil serviste
5	26/E	Ani-Şüpheli	Olay yerinde

Tablo IV: Ateroskleroz morfolojisi ile bu morfolojideki damarlarda *Chlamydia pneumonia* antijenik varlığının araştırılması amacıyla alınan olgularda; aterostklerotik değişiklikler ve immünoenzimatik boyama yöntemiyle *Chlamydia pneumonia*'nın değerlendirilmesi.

Olgu No	Köpük Hücreleri	Endotel Zedelenmesi	Dev Hücre.	Medial Kalsifikasyon	Kolesterol Yarığı	ICC
1	+++	+	+	++	++	+++
2	++	+	+	++	++	+++
3	++	+	+	+	+	+++
4	++	-	-	+	+	++
5	++	+	+	+	-	+++

ICC: ABC yöntemi ile immünoenzimatik olarak anti-*Chlamydia* Antikor

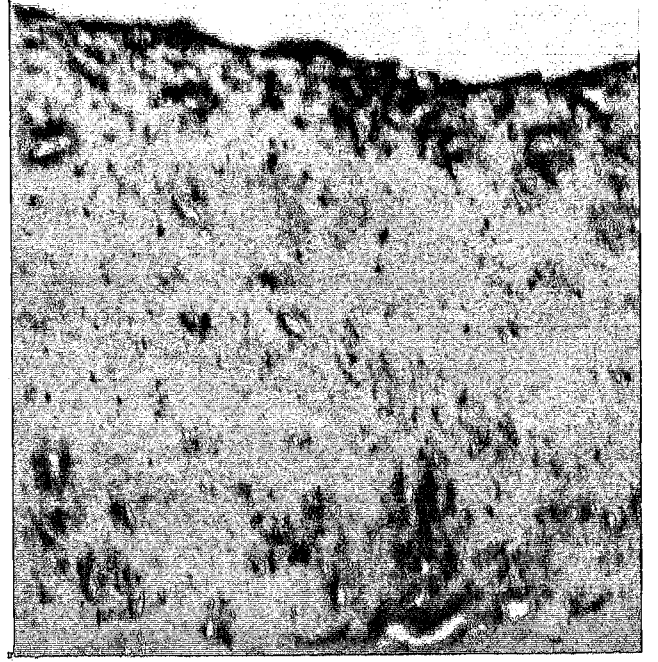
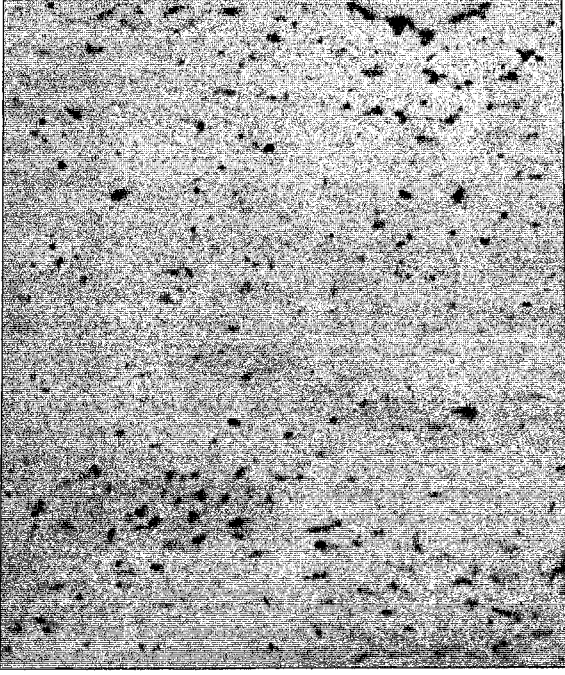
+:hafif şiddette pozitif

++: orta şiddette pozitif

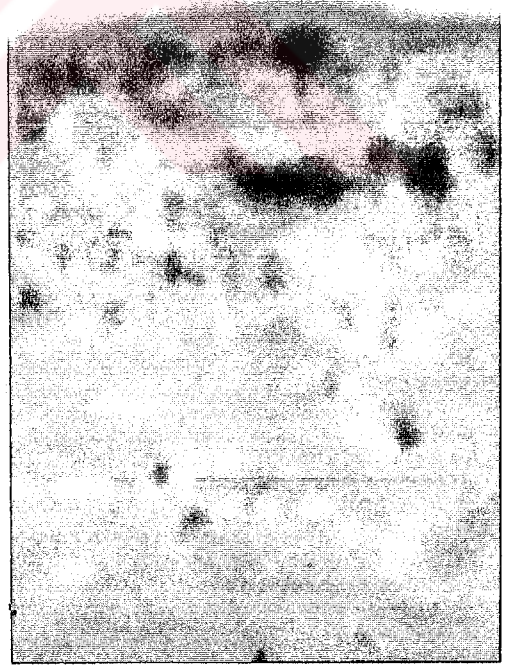
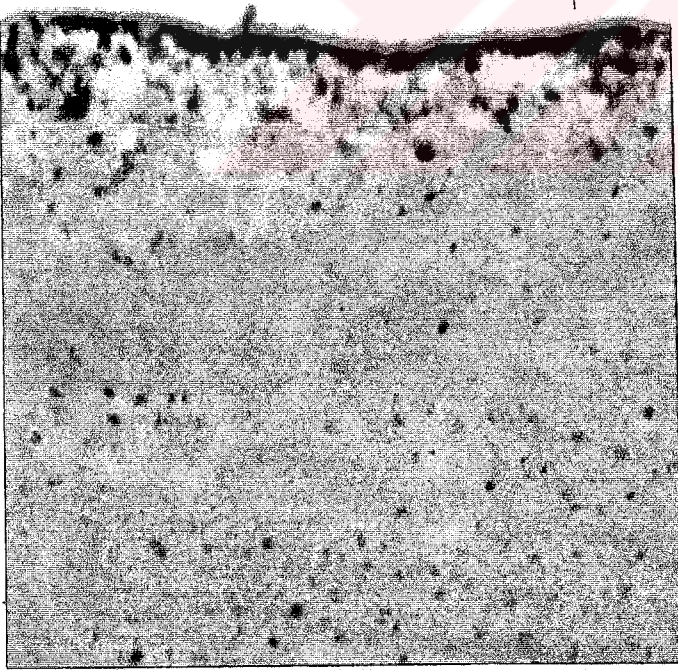
+++ : şiddetli pozitif

Ateroskleroz morfolojisi ile bu morfolojideki damarlarda *Chlamydia pneumonia* antijenik varlığının araştırılması amacıyla alınan 1nolu olgunun histokimyasal ve immünoenzimatik boyamasında ; endotel yüzeyinde ülserasyon, fokal kalsifikasyon, kolesterol yarıkları, lümeni yaklaşık %80 oranında daraltan medial hyalinizasyon ve çok miktarda köpük hücreleri görülmektedir (şekil 4a, 4b). Bu olguda subendotelial tabakada kas liflerinde ve hücre stoplazması içinde şiddetli pozitif immünoenzimatik boyanma görülmektedir (şekil 5a, 5b)





Şekil 4a: Ateroskleroz morfolojisi ile bu morfolojideki damarlarda *Chlamydia pneumonia* antijenik varlığının araştırılması amacıyla alınan 1 nolu olgunun, intimada köpük hücreleri ve kolesterol yarıkları. X 350 H+E.
 Şekil 4b: Aynı olgunun, elastik laminada izlenen dejenerasyonu. X 350 Verhoff'un Elastik boyaması.



Şekil 5a: Aynı olguda immünoenzimatik yöntemle subendotelial alanda pozitif ICC boyanma. X 350. C.pneumonia monoklonal antibody.
 Şekil 5b: Aynı olguda immünoenzimatik yöntemle subendotelial alanda pozitif ICC boyanma X 600. C.pneumonia monoklonal antibody.

25 olgunun 20'sinde farklı aterosklerotik değişiklikler vardı. Aterosklerotik değişikliklerin görüldüğü en küçük olgu 13 yaşında erkek ve 13 yaşındaki kız çocuklarıydı. 20 olguda aterosklerotik değişikliğin ilk bulgusu sayılan köpük hücreleri vardı. Endotel zedelenmesi ve dev hücre oluşumu hiç bir olguda yokken, medial kalınlaşma 4 olguda, kolesterol yarığı ise 2 olguda görüldü.

Tablo V: Olgulardaki aterosklerotik bulgular ve immünoenzimatik boyama ile *Chlamydia pneumonia* pozitifliği arasındaki ilişki gösterilmiştir.

Olgu No/Yaş-cins	Köpük Hücresi				Endotel Zedelenmesi				Dev Hücre				Medial Kalsifikasyon				Kolesterol Yarığı				ICC			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1/ 27-E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2/ 17-K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3/ 11-E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4/ 13-E	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
5/ 22-E	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6/ 17-E	+	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7/ 19-E	++	+	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	++
8/ 22-E	+	++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
9/ 24-E	+	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10/ 18-K	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
11/ 25-E	+	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-
12/ 18-E	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
13/ 16-E	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
14/ 15-K	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15/ 13-K	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16/ 26-K	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17/ 17-K	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18/ 22-E	-	++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19/ 25-K	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20/ 29-E	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21/ 16-E	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22/ 13-K	++	+	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-
23/ 30-E	-	+	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-
24/ 28-E	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
25/ 10-K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

I: Baziller Arter
III:Arteria koronaria dekstra

II: Arteria koronaria sinstra ramus intervenrikularis
IV: Arteria karotis eksterna

+:hafif şiddette pozitif
++: orta şiddette pozitif
+++: şiddetli pozitif

25 olgunun 7'sinde immünoenzimatik boyama ile *Chlamydia pneumonia* antijeninin pozitif olduğu görüldü. Bunlar arasında erken aterosklerotik değişiklikler izlenmeyen olgu yoktu.

Tablo VI: İmmünoenzimatik boyamayla pozitif olan olgulardaki yaş cinsiyet ve aterosklerotik değişiklikler gösterilmiştir.

Olgu/No	Yaş/cins	Köpük hüc.				Endotel zed.				Dev hüc				Medial kal.				Kolesterol yar.			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
4	13/E	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	19/E	++	+	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
8	22/E	+	++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
10	18/K	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	25/E	+	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
13	16/E	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	13/K	++	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-

I: Baziller Arter

II: Arteria koronaria sinstra
ramus intervenikülaris

III: Arteria koronaria dekstra

IV: Arteria karotis eksterna

+: hafif şiddette pozitif

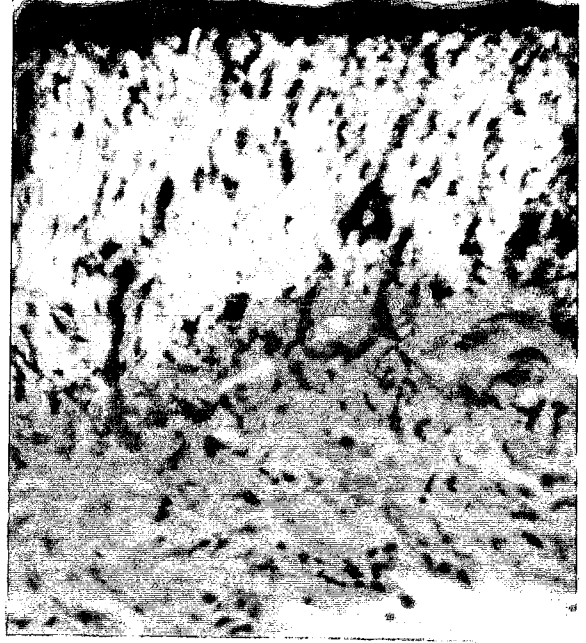
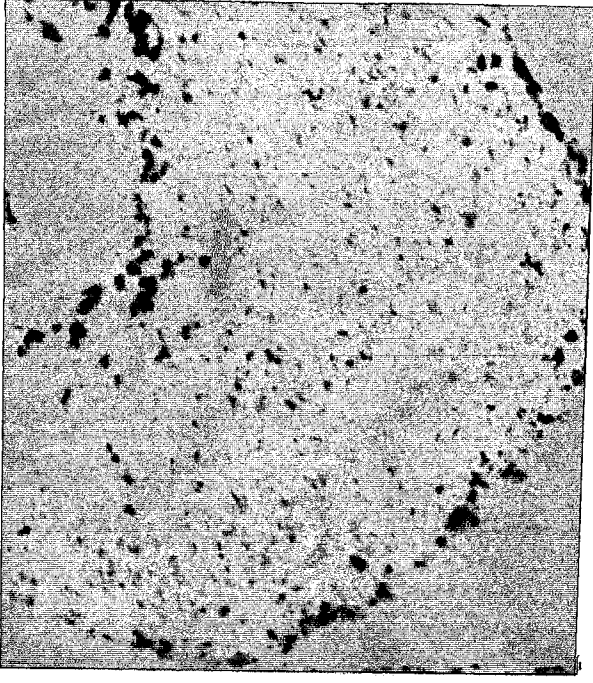
++: orta şiddette pozitif

+++ : şiddetli pozitif

Çalışmaya alınan 25 olguya uygulanan üç histokimyasal boyamada (H+E, Masson'un trikrom ve Verhoff'un elastik boyama yöntemide) damarların yapısı ve aterosklerotik değişiklikler değerlendirildi. Aterosklerotik değişiklikler olsun olmasın tüm preparatlar immünoenzimatik boyama uygulandı.

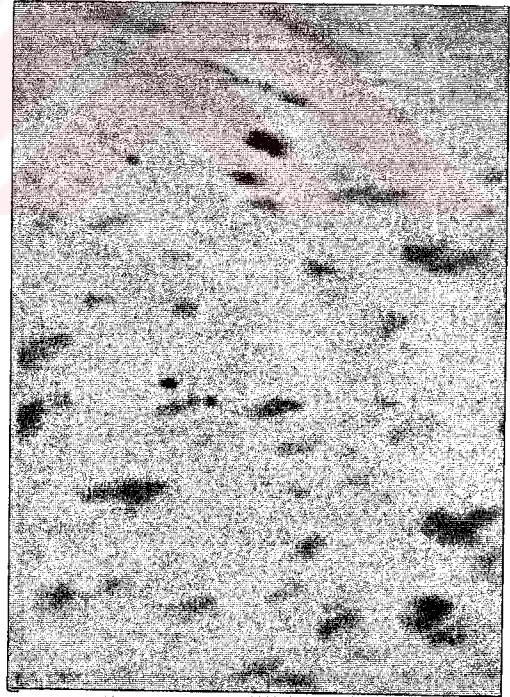
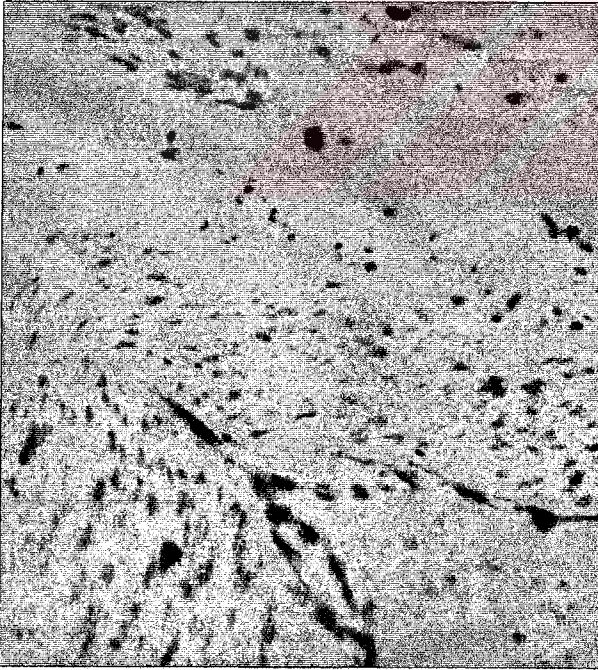
13 yaşında kız çocuk olan 22 nolu olguda histokimyasal boyamada orta şiddette köpük hücreleri arteria bazillariste, arteria kronaria sinstrada ve karotis eksternada görüldü (şekil 6a,6b). Bu olguda baziller arterde subendotelial mesafede, stoplazma içinde orta şiddette pozitif immünoenzimatik boyanma görülmektedir (şekil 7a, 7b). 19 yaşında erkek çocuk olan 7 nolu olguda histokimyasal boyamada karotis eksternada hem köpük hücreleri hem de kolesterol yarığı olduğu diğer üç arter örneğindede köpük hücrelerinin olduğu görülmektedir (şekil 8a, 8b). İmmünoenzimatik olarak da arteria karotis eksternada subendotelial mesafede orta şiddette pozitif boyanmanın olduğu görüldü (şekil 9a, 9b). 13 yaşında erkek çocuk olan 4 nolu olguda arteria karotis eksterna ve baziller arterde subendotelial mesafede hafif şiddette pozitif immünoenzimatik boyanma görülmektedir (şekil 10a, 10b). Olgu 8, 10,13 de arteria karotis eksternada hafif şiddette pozitif immünoenzimatik boyanma görülmektedir (11a, 11b, 11c).





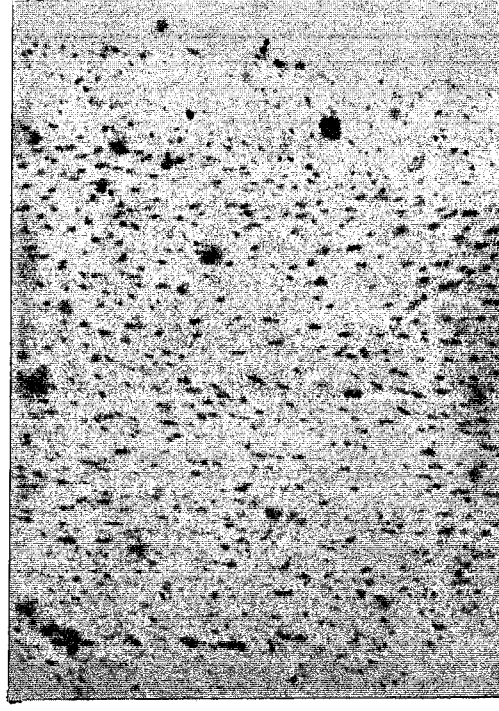
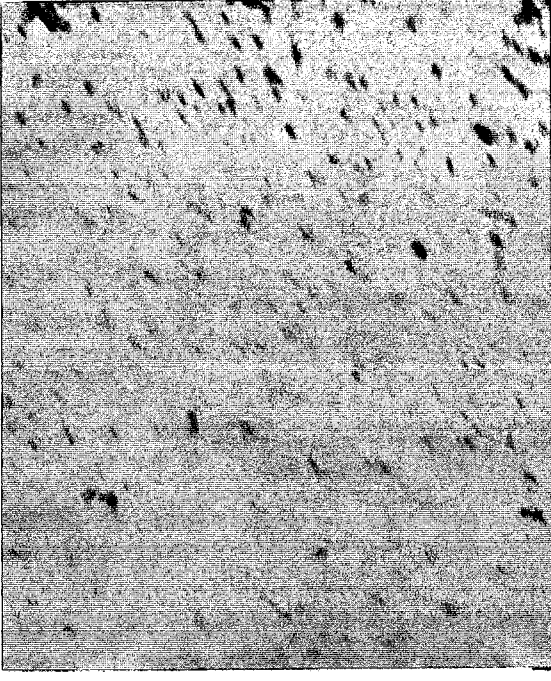
Şekil 6a:22 nolu olguda arteria bazillariste köptük hücrelerinin görünümü. X 350. H+E.

Şekil 6b:22 nolu olguda arteria karotis eksternada köptük hücrelerinin görünümü. X 350. Masson Trikrom

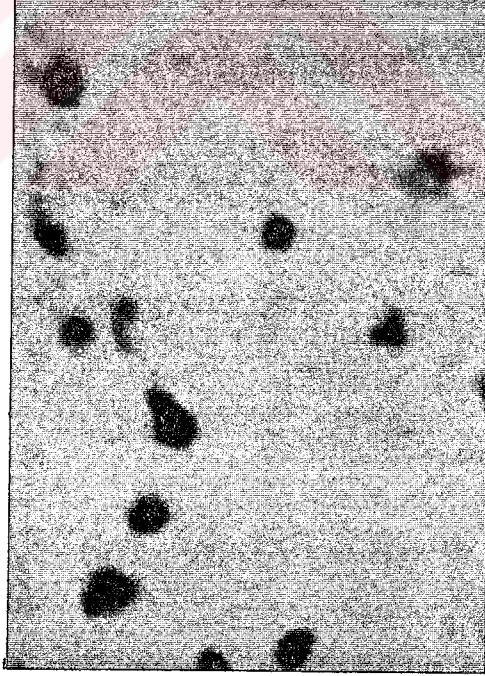
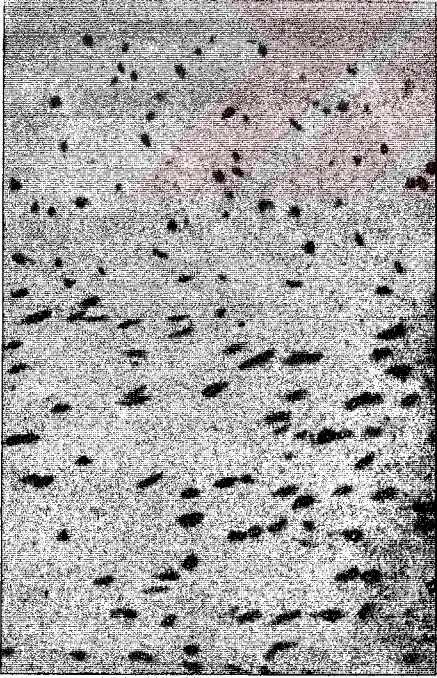


Şekil 7a:22 nolu olguda baziller arterde subendotelial mesafede pozitif ICC boyanma X 350. C. Pneumonia monoklonal antibody. ABC yöntemi.

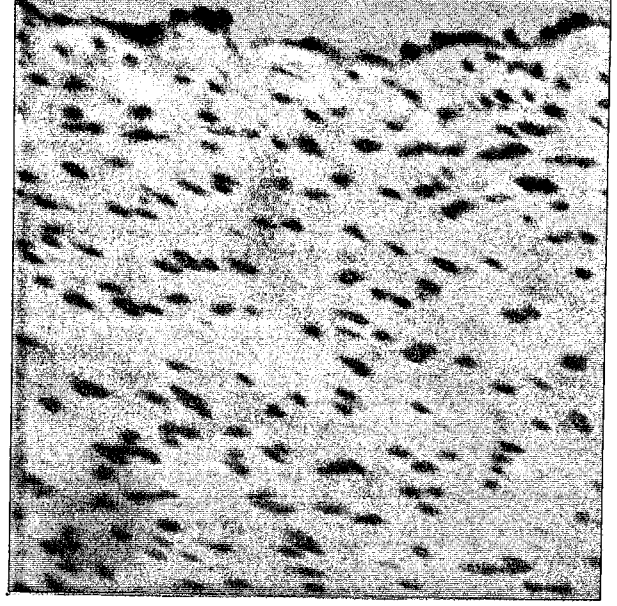
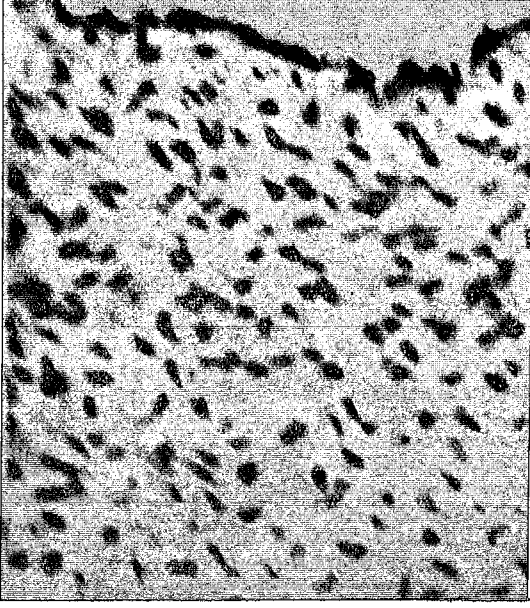
Şekil 7b:22 nolu olguda baziller arterde subendotelial mesafede pozitif ICC boyanma X 600. C. Pneumonia monoklonal antibody. ABC yöntemi.



Şekil 8a:7 nolu olguda arteria karotis eksternada köpük hücreleri ve kolesterol yarığının görünümü. X 350. H+E.
 Şekil 8b: 7 nolu olguda a.karotis eksternada subendotelial mesafede orta şiddette pozitif ICC boyanma. X 150.
 C.Pneumonia monoklonal antibody. ABC yöntemi

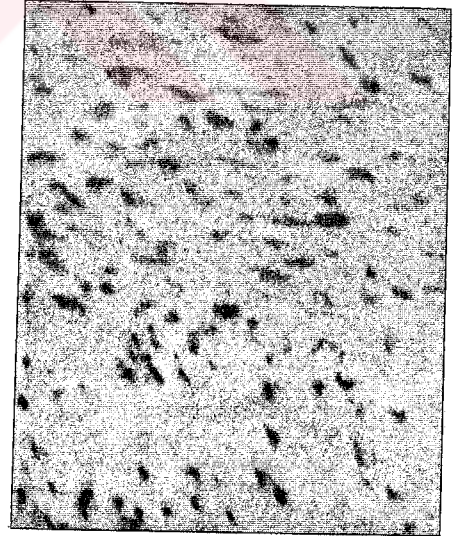
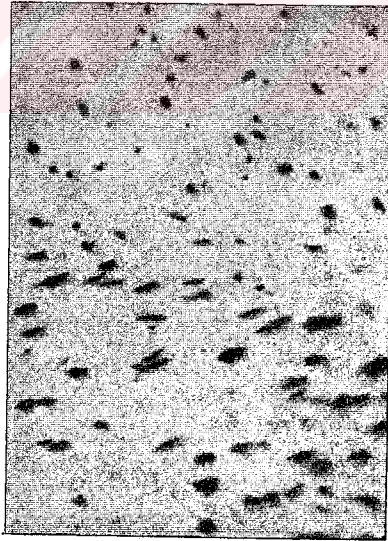
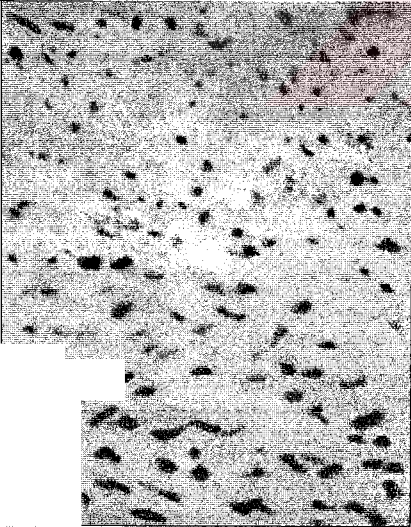


Şekil 9a:7 nolu olguda a.karotis eksternada subendotelial mesafede orta şiddette pozitif ICC boyanma. X 350
 C.Pneumonia monoklonal antibody. ABC yöntemi
 Şekil 9b:7 nolu olguda a.karotis eksternada subendotelial mesafede orta şiddette pozitif ICC boyanma. X 600
 C.Pneumonia monoklonal antibody. ABC yöntemi.



Şekil 10a: 4 nolu olguda A. bazilleriste subintimal mesafede ICC ile pozitif boyanma. X 350. C.Pneumonia monoklonal antibody. ABC yöntemi.

Şekil 10b: 4 nolu olguda A. karotis eksternada subintimal mesafede ICC ile pozitif boyanma. X 350. C.Pneumonia monoklonal antibody. ABC yöntemi.



Şekil 11a: 8 nolu olguda A. karotis eksternada subintimal mesafede ICC ile pozitif boyanma. X 350. C.Pneumonia monoklonal antibody. ABC yöntemi

Şekil 11b: 10 nolu olguda A. karotis eksternada subintimal mesafede ICC ile pozitif boyanma.X.350. C. Pneumonia monoklonal antibody. ABC yöntemi

Şekil 11c: 13 nolu olguda A. karotis eksternada subintimal mesafede ICC ile pozitif boyanma. X. 350. C. Pneumonia monoklonal antibody. ABC yöntemi.

5-TARTIŞMA

Dünyada ve ülkemizde otopsinin istenen ve gereken oranda yapılmaması, ölüm nedenlerinin ve mekanizmalarının aydınlatılmasındaki yetersizliği gündeme getirmekte, bilime sağlanacak katkılar gözardı edilmektedir. Bugün tüm dünyada otopsi oranlarının artırılması ile ilgili tartışmalar sürmektedir (17,72,73).

Ülkemizde otopsi yapılmadan dış muayene bulguları ve elde edilebilen öykü ile yetinilerek ölüm nedeninin belirlenmeye çalışıldığı görülmektedir. Bu tür yaklaşımlar sonucunda hukuki problemler ortaya çıkmakta, delil niteliğindeki bulguların kaybolmasına yol açılmaktadır. Oysa adli tahkikat, dış muayene, otopsi ve laboratuvar sonuçlarına göre ölüm nedeninin saptanmasını sağlayacak pozitif bulguların bulunamadığı olgularda, anamnez ve adli tahkikata dayanılarak ölüm nedeni belirlemek Adli Bilimler içerisinde ciddi tartışma konusudur. Ülkemizde otopsi oranının genel düşüklüğü yanı sıra adli otopsi sayısının da ciddi oranda az olduğu izlenilmektedir. Bunun da ölüm nedenlerinin belirlenmesinde önemli hatalara neden olduğu ve mahkemelerin hızlı, doğru yargıya varmalarına engel olduğu bilinmektedir. Anabilim dalımızca yapılan bir çalışmada, Adana ilinde adli olgu olarak nitelenen olguların %28'ine, tüm ölüm olgularının ise ancak %3.6'sına otopsi yapıldığı görülmektedir. Otopsi oranlarının bu kadar düşük olması, adli olgularda yargı sorunlarına neden olmasının yanı sıra, ülkemizde sıklıkla karşılaşılan hastalıkların tanımlanması, hastalık mekanizmalarının aydınlatılması, tedavilerin etkinliğinin araştırılmasında yetersizliğe neden olduğu belirtilmektedir. Ülkemiz gibi adli amaçlı otopsiler dışında otopsinin çok az uygulandığı ülkelerde, bilimsel araştırmalara kaynak olarak adli otopsi olgularının kullanılması gerektiği kanısındayız (12,25,41,64,75).

Adli Tıbbın ilgi alanında yer alan doğal nedenlere bağlı ölümler içerisinde ani-beklenmedik şüpheli ölümler önemli bir yer tutmaktadır. Bunlar arasında kardiovasküler sistem hastalıklarının tüm dünyada ilk sırayı aldığı bilinmektedir. Ülkemizde de kardiovasküler sistem hastalıklarının doğal nedenlere bağlı ani-beklenmedik şüpheli ölüm olgularında, ölüm nedenlerinin %40-60'ını oluşturduğu, daha sonra bunu enfeksiyon hastalıklarının izlediği bilinmektedir. Kardiovasküler sistem hastalıkları içinde ilk sırayı

iskemik nedenlere bağlı kalp hastalıkları almakta, bunun da zemininde aterosklerozun bulunduğu belirtilmektedir. Ayrıca kardiyomyopatiler, iletim sistemi hastalıkları, koroner arter anomalileri, kapak hastalıkları ve konjenital anomalilerin daha sonra geldiği bilinmektedir. İskemik kalp hastalıklarında en çok suçlanan nedenin ateroskleroz olduğu ve aterosklerozun patogenezi ile ilgili tartışmaların devam ettiği bilinmektedir. Son yıllarda aterosklerozun patogenezinden sorumlu tutulan ajanlardan birisi olan *Chlamydia pneumonia* ile ateroskleroz arasındaki ilişki otopsi serilerinde araştırılmaktadır (11,12,36,39,43,45,46,50,56,63,69,70,75).

Araştırmacılar aterosklerotik değişikliklerin minimal olduğu damarlarda da iskemik değişikliklerin olabildiğini ileri sürmekte ve buna koroner arterlerin spazmının neden olabileceğini ileri sürmektedirler. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ateroskleroza neden olduğu ileri sürülen *Chlamydia pneumonia*'nın bundan da sorumlu olup olamayacağı tartışılmaktadır. Belirgin ateroskleroz bulunan damarlarda bu mikroorganizmanın çeşitli yöntemlerle gösterildiği bilinmektedir. İnternal mamarian arter gibi ateroskleroz gelişiminin beklenmediği arterlerde *Chlamydia pneumonia*'nın gösterilemediği, yalnızca vasküler yapılarıdaki aterosklerotik dokularda saptandığı, normal dokularda olmadığı, bunun da ateroskleroz sürecindeki patojenitede rolünü gösterdiği ileri sürülmektedir (23,46,60,65,82).

Çalışmamızda, H+E yanı sıra, Masson'un Trikrom ve Verhoff'un Elastik boyama yöntemi uygulanarak köpük hücrelerinin varlığı saptanarak, erken evre aterosklerotik değişiklikler daha net ortaya konuldu. Bu nedenle benzer çalışmalarda olduğu gibi vasküler yapıların ortaya konmasında rutin H+E'nin yanı sıra özel histokimyasal yöntemlerin uygulanmasının anlamlı olduğunu düşünmekteyiz (6,53,65,84).

Değişik yöntemlerle yapılan çalışmaların ateroskleroz ile *Chlamydia pneumonia* arasındaki ilişkiyi destekler nitelikte olduğu görülmektedir. Kuo ve arkadaşları 36 otopsi olgusundaki çalışmalarında olguların 20'sinde *Chlamydia pneumonia*'yı saptadıklarını, bununda aterosklerotik süreçte *Chlamydia pneumonia*'nın yer alabildiğini gösteren önemli bir bulgu olduğunu bildirmektedirler. Yapılan çalışmalarda; karotid arterektomiye giden 5 hastadan alınan örneklerin hepsinde ilerlemiş aterosklerotik plaklar ve kalsifikasyonların olduğu, tümünde de immünoenzimatik olarak *Chlamydia pneumonia*'nın pozitif bulunduğu belirtilmektedir. Serolojik olarak 15800 hasta üzerinde yapılan çalışmada ise olguların %73'ünde *Chlamydia pneumonia*'ya karşı oluşan IgG antikorlarının bulunmasının anlamlı

olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda ateroskleroz morfolojisini ve bu morfolojideki damarlarda *Chlamydia pneumonia* antijenik varlığının araştırılması amacıyla alınan, makroskopik ve mikroskopik olarak belirgin aterosklerotik değişiklikler bulunan 5 sol koroner arter ön inen dal örneğinin hepsinde *Chlamydia pneumonia*'yı immünoenzimatik olarak göstermemizin anlamlı olduğunu ve bu bulguların diğer araştırmacıların sonuçları ile uyumlu olduğunu düşünmekteyiz. Lümeni %50 ve daha fazla daraltan, yer yer kalsifiye aterosklerotik değişiklikler bulunan 5 koroner arter örneğinin tamamında *Chlamydia pneumonia*'nın bulunmasını dikkat çekici bulmaktayız (11,19,22,23,38,40,45,46,57,64,65,78).

Yöntemler, çeşitli çalışmalarda birbirlerine üstünlük sağlamaktadırlar. PCR yönteminde, formalinle tesbit edilen dokularda, formalinin DNA'yı bağlaması nedeniyle iyi sonuç alınamadığı ve immünoenzimatik tekniğin bu tür dokularda PCR dan daha hassas bir yöntem olduğu belirtilmektedir. Çalışmamızda da bu nedenle immünoenzimatik teknik tercih edildi ve yayınlarda belirtildiği gibi bir boyanma özelliği ortaya konuldu. Bunun da özellikle formalin tesbitli doku dışında zaman zaman doku elde edilemeyen Adli Tıp günlük uygulamaları için anlamlı bir teknik özellik olduğu kanısındayız (88).

Saikku ve arkadaşlarının Finlandiya'da yaptıkları çalışmada bakteriler ve viruslarla ateroskleroz arasındaki ilişkiyi araştırdıkları, yalnızca *Chlamydia pneumonia* ile ateroskleroz arasında anlamlı bir ilişki bulunduğunu belirtmektedirler. Çeşitli çalışmalarda, koroner kalp hastalıklarında postmortem örneklerin elektron mikroskopik incelemesinde, aterom plaklarında köpük hücreleri içinde *Chlamydia pneumonia*'nın elementer cisimciklerinin gösterildiği bilinmektedir. *Chlamydia pneumonia*'nın, diğer *Chlamydia* türleri gibi kronik ilerleyici bir enfeksiyon oluşturduğu ve kronik *Chlamydia pneumonia* enfeksiyonunun ateroskleroz ile çapraz bir ilişkisinin bulunduğu belirtilmektedir. Bizim çalışmamızda 25 olgunun 7'sinde (%28'inde) veya başka bir deyişle örneklenen 100 ayrı damarın 8'inde immünoenzimatik boyamada *Chlamydia pneumonia*'ya spesifik pozitif boyanma görüldü. Bu oran Güney Afrika'da Kuo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, PCR ile, 30 olgunun 13'ünde, immünoenzimatik olarak ise, 36 olgunun 15'inde elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Ancak bizim çalışma kapsamına aldığımız olguların 10-30 yaş grubunda olması ve makroskopik olarak aterosklerotik değişiklik bulunmayan olgularda, immünoenzimatik olarak *Chlamydia pneumonia*'nın gösterilmesinin daha anlamlı olduğu

kanısında. Bu nedenle, olgunun kendisinin değil damar çeşitliliğinin belirleyici olduğu görüşündeyiz. Yapılacak çalışmalarda elde edilecek serideki olgu sayısı kadar, her bir olgudan alınan arterlerin çeşitliliğinin de önemli olduğu düşüncesindeyiz. Bizim çalışmamızda her olgudan dört damar örneği alınmış olmasına rağmen, geniş serili çalışmalarda bunun artırılması gerektiği kanısındayız (63,70,71).

Çalışmamızda immünoenzimatik olarak *Chlamydia pneumonia*'nın pozitif olduğu saptanan 7 olguda (8 arterde) makroskobik aterosklerotik değişiklik olmamasına rağmen mikroskobik olarak aterosklerozun ilk bulgusu sayılan köpük hücrelerinin varlığı dikkati çekti. Kuo ve arkadaşlarının 15-35 yaş arası 49 otopsi olgusunda saptadıkları bulgularla nitelik ve nicelik açısından benzediği, aterosklerotik değişikliklerin olmadığı damarlarda *Chlamydia pneumonia*'nın saptanamaması bulgusu ile tamamen örtüştüğü görüldü. Ancak serimizde saptadığımız bulgular, *Chlamydia pneumonia*'nın ateroskleroz mekanizmasında tetik etmen mi, sürecin bir parçası mı yoksa aterosklerotik zemine yerleşen fırsatçı bir enfeksiyon mu sorularına açıklık getirilememektedir. Benzeri çalışmaların yer aldığı yayınlarda da bu sorular aydınlığa kavuşturulamamaktadır. Yine de aterosklerozun etyolojisinde *Chlamydia pneumonia*'nın daha geniş olgu ve damar serilerinde araştırılmasının diğer araştırmacılar gibi önemli olduğu düşüncesindeyiz (47).

Aterosklerotik süreç başlangıcının çok erken yaşlarda ortaya çıkmasına karşın bu bulgu ile ilişkili klinik tabloların geç yaşlarda izlendiği bilinmektedir. Nitekim bizim çalışmamızda 13 yaşındaki bir erkek ve kız çocukta aterosklerozun erken belirtisi saptanmıştır. Her ikisinde de *Chlamydia pneumonia*'ya spesifik immünoenzimatik boyanmanın olması enfeksiyon ve aterosklerozun başlangıcı açısından anlamlı olduğu kanısındayız. Yine kadınlarda aterosklerozun geç geliştiği ve hiç bir zaman erkeklerdeki gibi olmadığı yaygın kanısının, yeni çalışmalarla elde edilen bulgularla şüphe ile karşılanması gerektiği kanısındayız. Bizim serimizdeki 4 numaralı olgu olarak yer alan 13 yaşındaki kız çocuğunda saptadığımız bulgularda bu şüpheleri destekler niteliktedir. Özellikle cinsiyetle ateroskleroz ilişkisinin çocukluk çağında bulunmadığını göstermesi açısından bu bulguların anlamlı olduğu kanısındayız (11,63,69).

13 yaşındaki kız ve erkek çocukların damarlarında mikroskobik düzeyde aterosklerotik değişikliklerin başlamış olması ve *Chlamydia pneumonia*'ya spesifik antikorların gösterilmesi,

ateroskleroz etyolojisiinde rol oynadığı belirtilen çevresel faktörlerin varlığı savını gündeme getirmektedir. Çukurova bölgesinde bu çevresel faktörlerin daha belirgin bir etken olup olmadığı konusunda bir yorum yapmak için çalışmamız yetersizdir. Bu bölgedeki *Chlamydia pneumonia* yaygınlığını ve ateroskleroz ile ilişkisinin gösterebilmek için daha fazla çalışmaya ve daha geniş serilere gereksinim olduğu kanısındayız (11,47,63,65,69).

Bizim çalışmamızda aterosklerozun beklenmediği ve/veya çok hafif düzeyde olmasını beklediğimiz genç erişkinlerde bile *Chlamydia pneumonia*'ya spesifik immünoenzimatik boyanmanın olması, Weis ve arkadaşlarının tipik aterosklerozu olan 72 olguda *Chlamydia pneumonia*'yı araştırması ve ancak 1 olguda PCR ile pozitif olarak değerlendirmesi ile çelişmektedir. Doğal olarak PCR ile immünoenzimatik çalışmalar farklılık gösterebilmektedir. Ancak bu farklılığın, Weis ve arkadaşlarının belirgin aterosklerotik değışiklikler bulunan çok sayıdaki olguda *Chlamydia pneumonia*'nın immünoenzimatik olarak negatifliğini açıklamada yeterli olmadığı kanısındayız. Weis ve arkadaşları bu bulgularını farklı popülasyonlarda infeksiyonun farklı paternite gösterebileceği veya coğrafik değışikliliğın virulansı etkileyeceği görüşü ile desteklemektedirler. Biz de değışik bölgelerde yapılan çalışmalarda bu tür farklı sonuçların ortaya çıkmasını açıklamak açısından ileri sürülen bu savın anlamlı olduğu görüşüne katılıyoruz. Bu nedenle de çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların, bölgemizdeki özellikleri yansıtmaması ve morbidite - mortalite çalışmalarında bir başka bakış açısını işaretlemesinin değeri olduğuna inanıyoruz. Çukurova bölgesinin çevre, iklim ve beslenme gibi özelliklerinin bu infeksiyon paternindeki rolünün araştırılması gerektiğini, bizim çalışmanın da sözü edilen soruları yükselttiğini düşünüyoruz. (81).

Çalışmamızda immünoenzimatik olarak pozitif boyanan 7 olgunun 5'inde arteria karotis eksternada *Chlamydia pneumonia*'ya spesifik pozitif immünoenzimatik boyanma saptanmasının diğeri çalışmalarda izlenen koroner arterlere özgü boyanmadan farklı bulunmasının anlamlı olduğu kanısındayız. Diğeri bir çok araştırmada sadece koroner arterlerin çalışılması ve bizim çalışmamızda ise koroner dışındaki arterlerde immünoenzimatik boyanmanın pozitif olmasının anlamlı olduğunu, bundan sonra yapılacak çalışmalarda bunun göz önüne alınarak değışik arterlerden çok sayıda örneklemelerin yapılması gerektiğı düşüncesindeyiz (8,11,18,28,66,70,71).

Çalışmamızın sonucunda *Chlamydia pneumonia*'nın immünoenzimatik olarak 7 olgunun (8 arterinde) arterlerinde pozitif olarak değerlendirilmesi, çeşitli araştırmalarda ileri sürülen ve daha önce belirttiğimiz iki ayrı tezin, herhangi birini doğrulayıcı ya da ortadan kaldırııcı özellikte değildir. İleri sürülen tezlerin, geniş serilerde klinik ve postmortem araştırmalar, ilaç ve hayvan deneyleri ile aydınlığa kavuşacağı kanısındayız (13,63,65,85).

Bazı araştırmacılar serebro-vasküler hastalıklara (akut inme, geçici serebral iskemi) kronik bir enfeksiyon olan *Chlamydia pneumonia*'nın yol açabileceğini belirtmektedirler. Hatta nedeni belli olmayan vasküler iskemik atakların riskini %40-50 oranında arttırabildiği ileri sürülmektedir. Cook ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; akut inme geçirenlerin %32.4'ünde eski *Chlamydia pneumonia* enfeksiyonunun serolojik bulgusunu göstermişlerdir. Bu oranın kontrol olgularında ise %12'de kaldığı belirtilmektedir. Çalışmamızda yalnızca baziller arterde immünoenzimatik olarak *Chlamydia pneumonia*'nın gösterildiği 2 olgu bulunmaktadır. Toplam 7 olgunun pozitif olduğu düşünüldüğünde, özellikle serebral iskemiye yol açan ölümlerin aydınlatılmasında serebral arterlerin (Arteria bazillaris, Arteria serebri anterior ve media...gibi) örneklenmesinin ve ateroskleroz yönünden değerlendirilmesinin bazı olgularda ölüm mekanizmasını aydınatabileceği kanısındayız (13,82).

Çalışma kapsamına aldığımız 25 olgunun 21'inde köpük hücresinin varlığı bulunmuş, ancak bunlardan 7'sinde *Chlamydia pneumonia*'ya spesifik pozitif immünoenzimatik boyanma görülmüştür. Bu bulguların ileri sürülen her iki tezle de çelişen tarafları bulunmaktadır. Çalışmamızın sonuçları da göstermektedir ki bu konudaki tartışmalar daha uzun bir süre devam edecek ve bir çok araştırmaya kaynak oluşturacaktır.

Araştırmamız sonucunda aterosklerotik değişikliklerin bulunduğu damarlarda *Chlamydia pneumonia*'nın immünoenzimatik olarak göstermenin anlamlı olmasına karşın, çalışmamızın sadece otopsi olgularına sınırlı olması, klinik ve laboratuvar bulgularına ulaşamaması ve aynı olgularda kontrol amaçlı olarak diğer tanısal yöntemlerin (PCR, Elektron mikroskopi, hücre kültürü) uygulanamamasının çalışmamızın yetersiz unsurları olduğu inancındayız.

Chlamydia pneumonia'nın tetrasiklin ve makrolid grubu antibiotiklerle tedavi edilen bir mikroorganizma olduğu bilinmektedir. Uzun süreli klinik çalışmalarla, ileride restenoz beklenen by-passlı hastalara tetrasiklin ve eritromisin gibi geniş spektrumlu antibiotik

uygulanmasının ateroskleroz gelişimini önleyip önleyemeyeceği tartışılmaktadır. Ong ve arkadaşlarının belirttiği gibi bu gerçekleşebilirse önemli bir halk sağlığı sorunu olan aterosklerozun önüne geçmenin olası olduğu görüşündeyiz (60,63,65).

Koroner arterlerde minimal düzeyde aterosklerotik değişiklikler bulunanlarda bile oluşan spazm ve iletim anomalilerinin etkisi ile kardiyak kökenli ani-beklenmedik şüpheli ölümlerin olduğu bilinmektedir. Ayrıca serebral arterlerdeki aterosklerotik değişiklikler nedeni ile ortaya çıkan serebro-vasküler ataklar ve inmeler ani ölümlere yol açabilmekte, bütün bunlar da ani-beklenmedik şüpheli ölüm olarak karşımıza çıkabilmektedir. Günlük uğraşları sırasında sıklıkla ani-beklenmedik şüpheli ölümlerle karşılaşan Adli Tıp uğraşanları, özellikle bu tür olgularda minimal bir aterosklerozun dahi ani ölümlere yol açabileceğini akılda tutmalı, histopatolojik incelemelere çok sayıda ve değişik arterden örnek almalıdır. Özellikle ölüm nedeninin açıklanamadığı olgularda, bu yaklaşımın yararlı olacağı kanısındayız.



6-SONUÇLAR

1. Bu çalışmaya Adli Tıp Kurumu Adana Morg İhtisas Dairesinde Temmuz 1997 ile Şubat 1998 tarihleri arasında otopsileri yapılan 16'sı (%64'ü) erkek, 9'u (%36'sı) kadın 25 otopsi olgusu alındı.
2. Olgular 10-30 yaş arasında, yaş ortalamasının ise 19.7 olduğu, olguların en küçüğünün 10 yaşında bulunduğu saptandı. 22 olgu doğal olmayan nedenlerle, 3 olgunun ise doğal nedenlerle ölmüş olduğu belirlendi. Çalışmaya 25 olgudan her birinden dört ayrı damardan örnek alındı (100 arter). 5 olgu da ateroskleroz morfolojisini ve bu morfolojideki damarlarda *Chlamydia pneumonia*'nın antijenik varlığının araştırılması amacıyla alındı.
3. 10-30 yaşları arasında ve damarsal yapılarında makroskobik aterosklerotik değişiklikler olmayan olgular alınmasına rağmen, 21 olguda mikroskobik olarak aterosklerotik değişikliklerin bulunduğu ve bu değişikliklerin yaş ve cinsiyetle ilişkili olmadığı görüldü.
4. Tüm olgulardan hazırlanan preparatlar Mayer's H+E ile boyandıktan sonra aterosklerotik değişiklikler yönünden incelendi. Sonra tüm preparatlar Masson'un Trikrom ve Verhoff'un elastik boyama yöntemi ile boyanarak damar yapılarındaki aterosklerotik değişikliklerin daha net görülmesi sağlandı.
5. 25 olgudan alınan (100 arter) arterlerin hepsine Hsu'nun tanımladığı Avidin-Biotin Kompleks immüno enzimatikeyöntemi uygulandı. Olguların 7'sinde (%28) *Chlamydia pneumonia*'ya spesifik pozitif immünoenzimatik boyanma görüldü.
6. 13 yaşında 2 olguda, makroskopik aterosklerotik değişiklikler olmamasına rağmen, *Chlamydia pneumonia*'ya spesifik pozitif boyanma özelliği görülmesinin ve ayrıca bu immünoenzimatik boyama ile baziller arterde orta şiddette pozitivite saptanmasının araştırılması gerektiği düşüncesindeyiz.
7. Ateroskleroz morfolojisini ve bu morfolojideki damarlarda *Chlamydia pneumonia* antijenik varlığının araştırılması amacıyla alınan olgularda, sol koroner arter ön inen dalda makroskopik aterosklerotik değişiklikler ve şiddetli pozitif immünoenzimatik boyanma görüldü. Diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında bu bulguların anlamlı olduğu kanısındayız.

8. Mikroskopik düzeyde aterosklerotik değişikliklerin izlendiği damarlarda, *Chlamydia pneumonia* 'ya spesifik pozitif immünoenzimatik boyanma görüldü. Oysa, bu tür aterosklerotik değişikliklerin olmadığı damarlar negatif boyanma özelliğinde idi.
9. Bu mikroorganizmanın sadece aterosklerotik damarlarda olması ve çok küçük yaşlarda dahi saptanması nedeniyle ateroskleroz için risk faktörleri listesine *Chlamydia pneumonia* 'nın eklenmesi gerektiği kanısındayız.
10. Çalışmamız kapsamına aldığımız olgularda ateroskleroza neden olan diğer etkenler (beslenme alışkanlıkları, çevresel ve genetik faktörler) bilinmese de, ikinci ve üçüncü dekattaki olgularda saptadığımız aterosklerotik değişikliklerde *Chlamydia pneumonia* 'nın gösterilmesinin diğer çalışmalardaki bulgularla benzerlik gösterdiği ve bölgemizde konunun daha ayrıntılı araştırılması gerektiğini ortaya koyduğunu düşünmekteyiz.
11. *Chlamydia pneumonia* ve ateroskleroz ilişkisinin daha geniş klinik ve otopsi serilerinde çalışılması gerekmektedir.
12. Sıklıkla ani-beklenmedik şüpheli ölümlerle karşılaşan Adli Tıp uğraşanları, özellikle bu tür olgularda minimal bir aterosklerozun dahi ani ölümlere yol açabileceğini akılda tutmalı, histopatolojik incelemelere çok sayıda ve değişik arterden örnek almalıdır. Özellikle ölüm nedeninin açıklanamadığı olgularda, bu yaklaşımın yararlı olacağı kanısındayız.
13. Ülkemiz gibi hastane otopsi oranının düşük olduğu ülkelerde, Adli Tıbbın ve Adli otopsilerin bilime katkılarının gösterilmesi açısından bu araştırmanın sonuçlarının anlamlı olduğu kanısındayız.

7-KAYNAKLAR

- 1-Ağaçfıdan A: Chlamydial Infections in Turkey, in Chlamydia İnfeksiyonları ve Tanıda Yenilikler(Eds Anđ Ö, Badur S, Ağaçfıdan A). Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No:20. İstanbul 1994.
- 2-Allen TC: Hemotoksylen and Eosin, in Laboratory Methods in Histotechnology (Eds Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH). American Registry of Pathology, Washington, 1992;53-58.
- 3-Anđ Ö: Chlamydia İnfeksiyonlarının Önemi, Chlamydia İnfeksiyonları ve Tanıda Yenilikler (Eds Anđ Ö, Badur S, Ağaçfıdan A). Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No:20. İstanbul 1994.
- 4-Beaty CD, Grayston JT, Wang S, et al: *Chlamydia Pneumoniae* Strain TWAR, Infection in Patients With Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **Am Rev Respir Dis** 1991; 144:1408-1410
- 5-Beaty CD, Grayston T, Wang SP, Kuo CC, Reto CS: *Chlamydia pneumoniae*, Strain TWAR Infection in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **Am Rev Respir Dis** 1991;144:1408-1410.
- 6-Beckstead JH: Histochemistry, in Anderson's Pathology. (Eds Damjanov I, Linder J). Tenth Edition. Mosby-Year Book, Inc, St Louis, Baltimore, Boston, Caribad, Chicago, Nables, New York, Philadelphia, Portland, London, Madrid, Mexico City, Sydney, Tokyo, Toronto, Weisbaden, 1996;136-175.
- 7-Benbow EW: Medical Students' Views on Necropsies. **J Clin Pathol** 1990;43:969-976.
- 8-Benditt EP, Schwartz SM: Blood Vessels, in Pathology (Eds Rubin E, Forber JL) J.B. Lippincott Company, Philadelphia 1994;454-502.
- 9-Binak K, Sırmacı N, Başar: I. Pratik Kardiyoloji. Yegenaga Matbaacılık, İstanbul 1991;143-159.
- 10-Bozkurt A, Acartürk E: Atrial Fibrilasyon. **ARŞİV** 1997;6:108-123.
- 11-Campbell LA, O'Brien ER, Cappuccio AL, et al: Detection of *Chlamydia pneumoniae* TWAR in Human Coronary Atherectomy Tissues. **JID** 1995; 172: 585-588.

- 12-Chillag S, Batus M, Voltin R, Jones D: Sudden Death: Myocardial Infarction in a Runner With Normal Coronary Artery. **The Physician and Sports Medicine**. 1990;18:89-94.
- 13-Cook PJ, Honeybourne D, Lip GYH, et al: *Chlamydia pneumoniae* Antibody Titers Are Significantly Associated With Acute Stroke and Transient Cerebral Ischemia. **Stroke** 1998;29:404-410.
- 14-Cook PJ, Lip GY: Infectious Agents and Atherosclerotic Vascular Disease. **QJM**. 1996; 89:727-735.
- 15-Cote RJ, Taylor CR: Immunohistochemistry and Related Marking Techniques, in Anderson's Pathology (Eds Damjanov I, Linder J). Tenth Edition. Mosby-Year Book, Inc, St Louis, Baltimore, Boston, Caribad, Chicago, Nables, New York, Philadelphia, Portland, London, Madrid, Mexico City, Sydney, Tokyo, Toronto, Weisbaden, 1996;136-175.
- 16-Di Maio VJM, Di Maio DJM: Natural Death as Viewed by the Medical Examiner: Areview of 1000 Consecutive Autopsies of Individuals Dying of Natural Disease. **JFSCA** 1991;36:17-24.
- 17-DiMaio DJ, DiMaio VJM: Forensic Pathology. CRC Press. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1993;43-56.
- 18-Ellis RW: Infections and Coronary Heart Disease. **J Med Microbiol**. 1997;46:535-539.
- 19-Ekman MR, Leinonen M, Syrjala H, et al: Evaluation of Serological Methods in the Diagnosis of *Chlamydia pneumoniae* Pneumonia During an Epidemic in Finland. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis** 1993; 12(10): 756-760.
- 20-Ellis RW: Infections and Coronary Heart Disease. **J Med Microbiol**. 1997;46:535-539.
- 21-Fryer RH, Schwobe EB, Woods ML, Rodgers GM: Chlamydia Species Infect Human Vascular Endothelial Cells and Induce Procoagulant Activity. **J Investing Med**. 1997;45:168-174.
- 22-Grayston JT, Campbell LA, Kuo C, et al: A New Respiratory Tract Pathogen: *Chlamydia Pneumoniae* Strain TWAR. **JID** 1990;161:618-25.
- 23-Grayston JT, Kuo C, Coulson AS, et al: *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) in Atherosclerosis of the Carotid Artery. **Circulation** 1995; 92: 3397- 4000.
- 24-Grayston JT, Mordhorst C, Bruu AL, et. al: Countrywide Epidemics of *Chlamydia pneumoniae* Strain TWAR, in Scandinavia 1981-1983. **JID** 1989;159:1111-1114.

- 25-Gordon I, Shapiro HA, Berson SD: Forensic Medicine. A Guide to Principles. Churchill, Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne, New York 1988; 164-193.
- 26-Gök Ş: Adli Tıp. Filiz Kitabevi, İstanbul 1980;52-96.
- 27-Gülmen MK: Medikolegal Otopsilerde Sağ Venrikül Yağlanması Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Yöntemlerle Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana 1997.
- 28-Gülmen MK, Hilal A, Alper B, ve ark: Halk Sağlığı Planlamasında Otopsinin Yeri ve Önemi. VI. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi. Adana 14-18 Nisan 1998.
- 29-Gülmen MK, Çekin N, Şen F, ve ark: Ani-Beklenmedik Şüpheli Ölüm Olgusu Olarak Akut Lenfoblastik Lösemi (Bir Olgu Sunumu). I. Ulusal Adli Tıp Kongresi. İstanbul 14 Kasım 1994.
- 30-Hajjar DP, Fabricant CG, Minick CR, Fabricant J: Virus-Induced Atherosclerosis. **Am J Pathol** 1986, 122:62-70.
- 31-Halme S, Surcel HM: Cell Mediated Immunity to Chlamydia pneumoniae. **Scand J Infect Dis Suppl.** 1997;104:18-21.
- 32-Halme S, Syriala H, Bloigu A, et. al: Lymphocyte Responses to Chlamydia Antigens in Patients with Coronary Heart Disease. **Eur Heart J.** 1997;18:1095-1101.
- 33-Hirsch CS, Zumwalt RE: Forensic Pathology, in Anderson's Pathology (Eds Damjanov I, Linder J) Tenth Edition. Mosby-Year Book, Inc, St Louis, Baltimore, Boston, Caribad, Chicago, Nables, New York, Philadelphia, Portland, London, Madrid, Mexico City, Sydney, Tokyo, Toronto, Weisbaden, 1996; 80-109.
- 34-Hsu SM, Raine L, Fanger H: A Comparative Study of the Peroxidase-antiperoxidase Method and an Avidin-Biotin Complex Metod for Studying Polypeptide Hormones with Radioimmunoassay Antibodies. **Am J Clin Pathol** 1981;75:734-738.
- 35-Jackson LA, Campbell LA, Kuo C, et al: Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from a Carotid Endarterectomy Specimen. **JID** 1997;176:292-295.
- 36-Jackson LA, Campbell LA, Schmidt RA, et al: Specificity of Detection of *Chlamydia pneumoniae* in Cardiovascular Atheroma. **Am J Pathol** 1997;150:1785-1790.

- 37-Brooks GF, Butel JS, Ornstan NL: Javetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology 20. Ed. Appleton and Lange A Simons and Shuster Company, London, Sydney, Toronto, Mexico, New Delhi, Tokyo, Singapore, 1995;294-303.
- 38-Juvonen J, Juvonen T, Laurila A, et. al: Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in the Walls of Abdominal Aortic Aneurysms. **J Vasc Surg** 1997;25:499-505.
- 39-Juvonen J, Laurilla A, Juvonen T, et al: Detection of *Chlamydia pneumoniae* in Human Nonrheumatic Stenotic Aortic Valves. **J Am Coll Cardiol**. 1997;29:1054-1059.
- 40-Kalayoğlu VM, Byrne GI: Induction of Macrophage Foam Cell Formation by *Chlamydia pneumoniae*. **JID** 1998;177:725-729.
- 41-Kılıçturgay K: Chlamidia, Klinik Mikrobiyoloji (Ed Kılıçturgay K). Bursa Güneş ve Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 1994;219-225.
- 42-Knight B: Simpson's Forensic Medicine. Tenth Edition. Edward Arnold Hodder Headline Group. London, Sydney, Auckland.1991;166-178
- 43-Koskela M, Leinonen M: Comparison of ELISA and RIA for Measurement of Pneumococcal Antibodies Before and After Vaccination with 14-valent Pneumococcal Capsular Polysaccharide Vaccine. **J Clin Pathol** 1981; 34: 93-98.
- 44-Köksal F: Chlamydial İmmünoloji. **ARŞİV** 1994;3:273-283.
- 45-Köksal F: Atherosclerosis'in Patogeneğinde *C.pneumoniae* Enfeksiyonları ve Tanı Problemleri. **ARŞİV** 1997;6:171-185.
- 46-Kuo C, Shore A, Campbell LA, Fukushi H, et al: Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in Atherosclerotic Lesions of Coronary Arteries. **JID** 1993;167:841-9.
- 47-Kuo CC, Grayston JT, Campbell LA, et. al: *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) in Coronary Arteries of Young Adults (15-30 years old).**Proc Natl Acad Sci USA** 1995;12:6911-6914.
- 48-Kuo C, Grayston JT: A Sensitive Cell Line, HL Cells, for Isolation and Propagation of *Chlamydia pneumoniae* Strain TWAR. **JID** 1990;162:755-758.
- 49-Li D, Daling JR, Wang S, Grayston JT: Evidence that *Chlamydia pneumoniae*, Strain TWAR, Is Not Sexually Transmitted. **JID** 1989;160:328-331.
- 50-Laurilla A, Bloigu A, Nayha S, et al; Chronic *Chlamydia pneumoniae* Infection is Associated with a Serum Lipid Profile Known to be a Risk Factor for Atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 1997;17:2910-2913.

- 51-Maass M, Bartels C, Engel PM, et al: Endovascular Presence of Viable *Chlamydia pneumoniae* Is a Common Phenomenon in Coronary Artery Disease. **J Am Cardiol** 1998;31:827-832.
- 52-Marrie TJ, Harczy M, Mann OE, Landymore RW, et al; Culture Negative Endokarditis Probably Due to *Chlamydia pneumoniae*. **JID** 1990;161:127-129.
- 53-Mattilla KJ, Valtonen VV, Nieminen MS, Asikainen S: Role of Infection as a Risk Factor for Atherosclerosis, Myocardial Infarction and Stroke. **Clin Infect Dis**. 1998;26:719-734.
- 54-McConce KL, Richardson SJ: Structure and Function of the Cardiovascular and Lymphatic Systems, in Pathophysiology (Eds McConce KL, Huether SE). Second Edition, Mosby-Year Book, Inc. St Louis, Baltimore, Boston, Chicago, London, Madrid, Philadelphia, Sydney, Toronto, 1990;943-1000.
- 55-McElroy DA: Connective Tissue, in Laboratory Methods in Histotechnology (Eds Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH) American Registry of Pathology, Washington, 1992;127-149.
- 56-McManus BM, Davies MJ: Heart Disease in the Adult, In. Anderson's Pathology (Eds Damjanov I, Linder J) Tenth Edition. Mosby-Year Book, Inc, St Louis, Baltimore, Boston, Caribad, Chicago, Nables, New York, Philadelphia, Portland, London, Madrid, Mexico City, Sydney, Tokyo, Toronto, Weisbaden, 1996;1256-1339.
- 57-Mehta JL, Saldeen TGP, Rand K, et al: Interactive Role of Infection , Inflammation and Traditional Risk Factors in Atherosclerosis and Coronary Artery Disease. **J Am Coll Cardiol** 1998;31:1217-1225.
- 58-Melnick SL, Shahar E, Falsom RA, et al: Past Infection by *Chlamydia pneumoniae* Strain TWAR and Asymptomatic Carotid Atherosclerosis. **Am J Med** 1993; 95:499-504.
- 59-Mendall MA, Patel P, Strachan D, Northfield TC: C Reactive Protein and its Relation to Cardiovascular Risk Factors: A Population Based Cross Sectional Study. **BJM**. 1996;312:1061-1065.
- 60-Moazed TC, Kuo C, Patton DL, Grayston JT, Campbell LA: Experimental Rabbit Models of *Chlamydia pneumonia* Infection. **Am J Pathol** 1996;148:667-676.
- 61-Moazed TC, Kuo C, Grayston JT, Campbell LA: Murine Models of *Chlamydia pneumoniae* Infection and Atherosclerosis. **JID** 1997;175:883-890.

- 62-Molestina RE, Dean D, Miller RD, et al: Characterization of a Strain of *Chlamydia pneumoniae* Isolation From a Coronary Atheroma by Analysis of the Omp 1 Gene and Biological Activity in Human Endothelial Cells. **Infect Immun.** 1998;66:1370-1376
- 63-Muhlestein JB, Anderson JL, Hammond EH, et al: Infection With *Chlamydia pneumoniae* Accelerates the Development of Atherosclerosis and Treatment With Azithromycin Prevents It in a Rabbits Model. **Circulation** 1998;97:633-636.
- 64-Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF, et al: Increased Incidence of Chlamydia Species Within the Coronary Arteries of Patients With Symptomatic Atherosclerotic Versus Other Forms of Cardiovascular Disease. **J Am Coll Cardiol.** 1996;27:1555-1561.
- 65-Ong G, Thomas BJ, Mansfield AO, Davidson BR, et. al: Detection and Widespread Distribution of *Chlamydia pneumoniae* in the Vascular System and Its Possible Implications. **J Clin Pathol.** 1996;49:102-106.
- 66-Ossewaarde JM, Feskens EJ, De Vries A, et al: *Chlamydia pneumoniae* is a Risk Factor for Heart Disease in Symptom-free Elderly Men, But *Helicobacter pylori* and Cytomegalovirus are Not. **Epidemiol Infect.** 1998;120:93-99
- 67-Prophet EB: Fixation, in Laboratory Methods in Histotechnology (Eds Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH). American Registry of Pathology, Washington, 1992;25-29.
- 68-Peeling RW, Brunham RC. Chlamydiae as Pathogenes: New Species and New Issues. **Emerg Infect Dis.** 1996;2:307 -319.
- 69-Ramirez JA: Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from the Coronary Artery of a Patient with Coronary Atherosclerosis. **Ann Intern Med.** 1996;125:979-982.
- 70-Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, et al: Chronic *Chlamydia Pneumoniae* Infection as a Risk Factor for Coronary Heart Disease in the Helsinki Heart Study. **Ann Intern Med** 1992; 116: 273-278.
- 71-Saikku P, Mattila K, Nieminen MS, et al: Serological Evidence of an Association of a Novel Chlamydia TWAR, With Chronic Coronary Heart Disease and Acute Myocardial Infarction. **The Lancet** .1988;29:983-985.
- 72-Salaçin S, Gülmen MK, Alper B, Çekin N: Entoksikasyon Ön Tanılı Olgularda Antemortem-Postmortem Tanı Farklılıkları. **Ankara Patoloji Bülteni** 1994;11:12-15.

- 73-Salaçin S: Adli Tıp Ders Notu. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Adana 1995;1-20.
- 74-Salaçin S, Çekin N, Gülmen MK, ve ark: Medikolegal Ölümelerde Otopsi Kararını Etkileyen Faktörler. I. Ulusal Adli Bilimler Kongresi Kongre Kitabı 12-15 Haziran 1994 Adana.
- 75-Saruç M, Özdemir E: Endotelin ve Ateroskleroz. **Sendrom**. 1997;10:74-77.
- 76-Schoen FJ: Blood Vessels, in Robbins Pathologic Basis of Disease.(Eds,Cotran RS, Kumar V, Robbins ST). 5 Ed. Pennsylvania: Saunders Company, 1994: 467-516.
- 77-Takeichi S, Nakajima Y, Osawa M, et. al: The Possible Role of Remnant-like Particles as a Risk Factor for Sudden Cardiac Death. **Int J Legal Med** 1997;110:213-219.
- 78-Thom DH, Grayston JT, Siscovick DS, et al: Association of Prior Infection With *Chlamydia pneumoniae* and Angiographically Demonstrated Coronary Artery Disease. **JAMA** 1992;268(1):68-72.
- 79-The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: Design and Objectives. **Am J Epidemiol** 1989;129:687-702.
- 80-Uluslararası Ateroskleroz Derneği. Hiperlipidemi. 1996;15-19.
- 81-Weiss SM, Roblin PM, Gaydos CA, et. al: Failure to Detect *Chlamydia pneumoniae* in Coronary Atheromas of Patients Undergoing Atherectomy. **JID** 1996;173:957-962.
- 82-Wimmer MLJ, Saikku P, Haberl RL: Association of Chlamydial Infection With Cerebrovascular Disease. **Stroke** 1996;27:2207-2210.
- 83-Wisser RW: The Value of the Autopsy for Understanding Cardiovascular Disease. **Arc Pathol Lab Med** 1984;108:479-483.
- 84-Wright RK: Sudden Unexpected Deaths, in Handbook of Forensic Pathology (Ed; Froede RC). College of American Pathologist, Northfield, Illinois, 1990;86-95.
- 85-Yamashita K, Ouchi K, Shirai M, et al: Distribution of *Chlamydia pneumoniae* Infection in the Atherosclerotic Carotid Artery. **Stroke** 1998;29:773-778
- 86-Yamazaki T, Nakada H, Sakurai N, et. al: Transmission of *Chlamydia pneumoniae* in Young Children in a Japanese Family. **JID** 1990;162:1390-1392.
- 87-Yang Z-p, Cukkirgs PK, Patton DL, Kuo C: Ultrastructural Lung Pathology of Experimental *Chlamydia pneumoniae* Pneumonitis in Mice. **JID** 1994;170:464-7.

88-Zeren H, Kayaselçuk F, Coşar E, Tuncer İ; Doku Tespit Solüsyonu ve Süresinin İmmünohistokimyaya Yansıması. Ankara Patoloji Bülteni 1996;13:87-91.

