

KORONER ARTER HASTALARININ ATEROM PLAĞI ÖRNEKLERİNDE HERPES GRUBU VE HEPATİT A VİRUSLARINA AİT NÜKLEİK ASİT VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF HERPES GROUP AND HEPATITIS A VIRUS NUCLEIC
ACIDS IN THE ATHEROME PLAQUE SAMPLES OF PATIENTS WITH
CORONARY ARTERIAL DISEASE

**Belgin ALTUN¹, Seyyal ROTA², Metin DEMİRCİN³, Adem REŞATOĞLU⁴
Ali YENER⁴ Gülendam BOZDAYI²**

ÖZET: Kronik inflamatuvar bir süreç olarak kabul edilen aterosklerozun patogeneğinde çeşitli enfeksiyon etkenlerinin doğrudan ya da dolaylı olarak rolü olabileceği düşünülmekte, ancak bu konuda yapılan çalışmalardan çelişkili sonuçlar alınmaktadır. Bu çalışmada, ateroskleroz etiyolojisinde tartışılan herpes grubu viruslar [Herpes simpleks virus (HSV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV)] ile hepatit A virusu (HAV)'nın koroner arter hastalığındaki rolünün araştırılması planlanmıştır. Bu amaçla, koroner arter hastalığı olan 28 hastadan (23'ü erkek; yaş aralığı: 43-74 yıl) alınan aterom plağı örnekleri ile kontrol grubu olarak ateroskleroz dışında damar hastalığı olan 22 hastadan (19'u erkek; yaş aralığı: 37-85 yıl) alınan damar örneklerinde viral nükleik asitlerin varlığı gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırılmıştır. Ayrıca çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun taşıdığı klasik kardiyovasküler risk faktörleri (hipertansiyon, hiperlipidemi, hiperkolesterolemi, diyabet, sigara kullanımı, cinsiyet, yaş, ailesel özgeçmiş) de sorgulanmıştır. Çalışmada 28 aterom plağı örneklerinin üçünde (%10.7) CMV-DNA pozitifliği bulunurken (viral yükler; 21, 188 ve 288 kopya/mg), hiçbirisinde HSV tip 1 ve 2, EBV ve HAV nükleik asitleri saptanmamıştır. Kontrol grubundaki 22 damar örneğinin ise ikisinde (%9.1) EBV DNA'sı pozitif olarak bulunmuş (viral yükler; 5 ve 10 kopya/mg), hiçbirisinde HSV tip 1 ve 2, CMV ve HAV nükleik asit pozitifliği tespit edilmemiştir. Hastalarımızın ateroskleroz gelişiminde bilinen risk faktörleri değerlendirildiğinde, majör risk faktörlerinden olan hipertansiyon ve hiperlipidemi varlığının hasta (sırasıyla %64 ve %50) ve kontrol grubu (sırasıyla %32 ve %23) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterdiği saptanmıştır (p<0.05). Sonuç olarak bulgularımız, diğer birçok çalışmada elde edilen bulgulara benzer olarak, araştırılan viral etkenlerin ateroskleroz patogeneğinde rolü olduğu hipotezini desteklememiş olup, bu konuda doğrudan ya da dolaylı bir ilişki kurulabilmesi için daha ileri çalışmalara gereksinim olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Ateroskleroz, aterom plağı, herpes simpleks virus, Cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, hepatit A virusu, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu.

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesi, Ankara. (baltun@tr.net)

² Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

³ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara.

⁴ Çankaya Hastanesi, Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara.

ABSTRACT: It is assumed that various infectious agents play direct or indirect roles in the pathogenesis of atherosclerosis which is accepted as a chronic inflammatory phenomenon. However, the data obtained from different studies are contradictory. The aim of this study was to investigate the roles of herpes virus group [Herpes simplex virus (HSV), Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV)] and hepatitis A virus (HAV) which are debated in terms of their impact in the pathogenesis of coronary arterial diseases. For this purpose, atherome plaque samples collected from 28 patients (23 were male; age range: 43-74 years) with atherosclerotic heart disease and vein samples from 22 control patients (19 were male; age range: 37-85 years) who had vascular diseases other than atherosclerosis, were investigated by means of the presence of nucleic acids of the above mentioned viruses by real-time polymerase chain reaction (PCR). Besides, classical cardiovascular risk factors (hypertension, hyperlipidemia, hypercholesterolemia, diabetes mellitus, smoking habits, gender, age and familial background) were questioned in both patient and control groups. As a result, no positivity were detected for nucleic acids of HSV type 1 and 2, EBV and HAV, whereas CMV-DNA was found positive in three of 28 (10.7%) atheromateous plaques (viral loads were 21, 188 and 288 copies/mg). Amongst 22 vascular samples from controls, two (9.1%) yielded positive results for EBV-DNA (viral loads were 5 and 10 copies/mg), while the other samples were found negative for nucleic acids of HSV type 1 and 2, CMV and HAV. The evaluation of the known risk factors for atherosclerosis revealed that, the difference between the presence of hypertension and hyperlipidemia which are the major risk factors, was statistically important ($p < 0.05$) in patient group (64% and 50%, respectively) and control group (32% and 23%, respectively). In conclusion, the hypothesis concerning the possible relationship between these viral agents and the progression of atherosclerosis, have not been supported by our data which are similar to the results obtained from various other studies. Actually, further studies are needed to clarify such direct or indirect roles of infectious agents in the pathogenesis of coronary arterial diseases.

Key words: Atherosclerosis, atherome plaques, herpes simplex virus, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, hepatitis A virus, real time-PCR.

GİRİŞ

Dünyada ölümlere en çok neden olan kalp ve serebrovasküler hastalıkların esas nedeni aterosklerozdur¹. Dünya nüfusunun %50'den fazlası ateroskleroz hastalığına sahiptir. Yapılan araştırmalar, hiperkolesterolemi, sigara kullanımı, hipertansiyon ve diyabetin ateroskleroz gelişimi için risk faktörleri olduğunu göstermektedir. Bu faktörlerin yanında yaş, cinsiyet ve genetik yatkınlık gibi diğer risk faktörleri de hastaların önemli bir kısmında patogenezi açıklamaya yetmemektedir. Bu gözlemler farklı etiyolojilerin, farklı popülasyonlarda ateroskleroz patogenezinin sorumlu olabileceği fikrini ortaya çıkarmıştır².

Ateroskleroz birçok faktörün rol oynadığı, kronik bir süreç olarak tanımlanmaktadır. Aterosklerozun patogenezinde rol oynayan yüksek kolestrol seviyesi, sigara kullanımı ve hipertansiyon gibi tanımlanmış risk faktörlerine ek olarak, immün sistem reaksiyonları da bu süreçten sorumlu tutulmaktadır³. Bu konuda yapılan çalışmalara rağmen, inflamasyonun başlaması ve sürdürülmesinden sorumlu olan uyarılar tam olarak bilinmemektedir. Tetişin çekilmesinde rol oynayan etkenler arasında okside olmuş düşük dansiteli

lipoproteinler (ox-LDL), ısı şoku proteinleri (HSP) ve enfeksiyöz etkenler sayılmaktadır⁴. Bu enfeksiyöz etkenler, Cytomegalovirus (CMV), Herpes simpleks virus (HSV) ve hepatit A gibi viruslar ile *Chlamydia pneumoniae* ve *Helicobacter pylori* gibi bakterileri içeren bazı hücre içi patojenleridir⁵.

Bazı enfeksiyon etkenlerinin, inflamasyon ve endotel hücre hasarı sonucu koroner arter hastalığına katkıda bulunabildiği düşünülmektedir. Enfeksiyon etkenlerinin direk (etkenin doğrudan damar duvarı hasarı oluşturması, endotel disfonksiyonuna neden olması, lokal inflamasyon geliştirmesi, düz kas proliferasyonu geliştirmesi ve LDL etkisiyle köpük hücre oluşumunun gözlenmesi) ya da indirek (vücutta başka bir bölgedeki kronik enfeksiyon sonucu ortaya çıkan immün mediatörler ya da antikor varlığı sonucu önceden hasarlanmış ya da sağlam damar bölgelerinde ateroskleroz oluşması) yoldan ateroskleroz gelişiminde etken olabilecekleri hipotezleri son çalışmalarda ortaya atılmıştır⁶. Herpes virusların vasküler hücreleri enfekte edebildiği, damar duvarında, daha sonra hücresel dejenerasyonu (köpük hücre görüntüsü) ve ateroskleroza dönüşebilen proinflamatuvar fenotipik değişimine neden olabildiği de ileri sürülmüştür⁶. Son yıllardaki çalışmalar, birçok enfeksiyon etkeninin farklı mekanizmalar ile ateroskleroz patogenezinde rolünün olabileceği konusunda birleşmektedir⁴⁻⁸.

Bu çalışmada, koroner arter hastalığının etiolojisinde bilinen risk faktörlerinin yanında, son yıllardaki bazı yayınlarda tartışılan ateroskleroz gelişiminde herpes grubu virusların ve hepatit A virusunun (HAV) rolü ile ilgili olarak, koroner arter hastalarından alınan aterom plağı örneklerinde HSV tip 1 ve 2, CMV, Epstein-Barr virus (EBV) ve HAV nükleik asitlerinin gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya hasta grubu olarak Özel Çankaya Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi (n=17) ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (HÜTF) Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda (n=11) koroner kalp hastalığı tanısı konmuş hastalardan alınan toplam 28 aterom plağı örneği dahil edildi. Bu örneklerin 19'u koroner by-pass sırasında koroner arterden, 7'si aortadan, 2'si ise endarterektomi ile femoral arterden alındı. Kontrol grubu olarak, ateroskleroz patogenezi dışında koroner arter hastalığı olan 22 hastadan damar örnekleri toplandı. Doku örnekleri deney aşamasına kadar 1 ml TE solüsyonu (1 mM Tris, 0.5 mM EDTA, pH: 8.0) içerisine alınarak -70°C'de saklandı. Ayrıca, çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun taşıdığı tüm kardiyovasküler risk faktörleri (sigara kullanımı, hipertansiyon, diyabet, cinsiyet, yaş, hiperkolesterolemi, ailesel özgeçmiş, vb) belirlendi.

Örneklerden nükleik asitlerin ekstraksiyonu için, her bir doku örneğine 100 µl doku eritme (lisis) sıvısı (Tissue Digestion Buffer; Heliosis, Metis, Türkiye) ve 5 µl proteinaz K (10 mg/ml; Sigma-Aldrich, Almanya) eklenerek 65°C'de 3 saat ısıtıcıda (Thermolyne, Iowa, ABD) inkübe edildi. Daha sonra örnekler 95°C'de 10 dakika bekletildi ve tüpler 10.000 rpm'de bir dakika santrifüj

(Heraeus osterode, Almanya) edildi. Santrifüjden sonra üst sıvı alınarak DNA/RNA saflaştırılma aşamasına geçildi. Lizis aşamasından sonra amplifikasyonun inhibe olması ya da ekstraksiyonun yetersizliğinden kaynaklanan yanlış negatif sonuçları önlemek için tüm örnekler ve negatif kontrollere, çalışılacak virüslere (HSV-1, HSV-2, EBV, HAV) ait internal kontrollerden 0.05'er μ l eklendi. DNA/RNA saflaştırılmasında "High Pure Viral Nucleic Acid Kit"i (Roche Diagnostic, Mannheim, Almanya) kullanıldı. Ekstraksiyonu yapılan DNA ve RNA örnekleri çalışılıncaya kadar -20°C 'de saklandı.

Gerçek zamanlı PCR aşamasında HSV-1, HSV-2, EBV, CMV ve HAV DNA'ları özgül primerler ile amplifiye edildi. Bu amaçla, CMV-DNA kalitatif gerçek zamanlı PCR kiti (Metis, Ankara, Türkiye), Lightcycler HSV 1/2 Detection kiti (Roche Molecular Systems, Branchburg, ABD), Lightcycler EBV Quantification kiti (Roche Diagnostic Penzberg, Almanya), Lightcycler Hepatitis A Virus Quantification kiti (Roche Diagnostic Penzberg, Almanya) kullanıldı. Reaksiyon karışımları üretici firmaların önerileri doğrultusunda hazırlandı. Amplifikasyon aşaması Lightcycler 2.0 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) cihazı kullanarak üretici firmanın kriterleri kullanarak uygulandı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubuna ait demografik özellikler ile kardiyovasküler risk faktörleri Tablo I'de görülmektedir. İncelenen 28 aterom plağı örneğinin 3'ünde CMV-DNA pozitifliği (viral yük sırasıyla; 21 kopya/mg, 188 kopya/mg ve 288 kopya/mg) saptanmış, hiçbirisinde HSV tip 1 ve 2, EBV ve HAV nükleik asitlerine rastlanmamıştır. Buna karşın kontrol grubundan alınan 22 damar örneğinin 2'sinde EBV-DNA pozitifliği (viral yük sırasıyla; 10 kopya/mg ve 5 kopya/mg) belirlenirken, hiçbirisinde CMV, HSV tip 1 ve 2 ve HAV nükleik asit pozitifliği saptanmamıştır (Tablo II). Örneklerinde CMV-DNA pozitifliği saptanan hastaların taşıdığı kardiyovasküler risk faktörleri ise Tablo III'de verilmiştir.

Tablo I. Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik Özellikleri ve Kardiyovasküler Risk Faktörleri

| Özellik | Hasta Grubu (n=28) | Kontrol Grubu (n=22) | P Değeri* |
|--|-----------------------|-------------------------|--------------|
| Yaş aralığı (yıl) | 43-74 | 37-85 | |
| Kadın (sayı) | 5 | 3 | |
| Erkek (sayı) | 23 | 19 | |
| Sigara kullanımı | 11 (%39) | 8 (%36) | >0.05 |
| Hipertansiyon | 18 (%64) | 7 (%32) | <0.05 |
| Diabetes Mellitus | 7 (%25) | 6 (%27) | >0.05 |
| Hiperkolesterolemi | 12 (%43) | 7 (%32) | >0.05 |
| Hiperlipidemi | 14 (%50) | 5 (%23) | <0.05 |
| Soy geçmişinde kardiyovasküler hastalık öyküsü | 6 (%21) | 3 (%14) | >0.05 |

* p>0.05: Hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur; p<0.05: Hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

Tablo II. Hasta ve Kontrol Grubunun Gerçek Zamanlı PCR Sonuçları

| Virus | Hasta grubu (n=28) | | Kontrol grubu (n=22) | |
|----------------------------------|--------------------|---------|----------------------|---------|
| | Pozitif (%) | Negatif | Pozitif (%) | Negatif |
| Herpes simpleks virus tip 1 ve 2 | 0 | 28 | 0 | 22 |
| Epstein-Barr virus | 0 | 28 | 2 (9.1) | 20 |
| Cytomegalovirus | 3 (10.7) | 25 | 0 | 22 |
| Hepatit A virus | 0 | 28 | 0 | 22 |

Tablo III. CMV-DNA Pozitif Hastaların Kardiyovasküler Risk Faktörleri

| | Hasta 1 | Hasta 2 | Hasta 3 |
|--|---------|---------|---------|
| Yaş | 65 | 60 | 70 |
| Cinsiyet | Kadın | Erkek | Kadın |
| Sigara kullanımı | Var | Var | Yok |
| Hipertansiyon | Var | Var | Var |
| Diabetes Mellitus | Yok | Yok | Yok |
| Hiperkolesterolemi | Yok | Var | Yok |
| Hiperlipidemi | Yok | Yok | Var |
| Soy geçmişinde kardiyovasküler hastalık öyküsü | Var | Var | Yok |

TARTIŞMA

Son dekatta yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, çok faktörlü kronik hastalıkların patogeneğinde, enfeksiyon etkenlerinin doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkilendirilmesi eğilimi olduğu göze çarpmaktadır. Tüm dünyada önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olan ateroskleroz için de kabul edilen önemli risk faktörlerinin (hiperkolesterolemi, hipertansiyon, sigara kullanımı, genetik yatkınlık, cinsiyet, vb) yanı sıra çeşitli viral ve bakteriyel ajanlar patogeneze ile ilişkili olarak suçlanmaktadır^{1,2,7-10}. Sunulan bu çalışmanın amacı, koroner kalp hastalarına ait aterom plağı örneklerinde herpes grubu viruslar ile hepatit A virusuna ait nükleik asit varlığının araştırılması ve kontrol grubu ile karşılaştırılmasıdır. Hastalarımızın ateroskleroz gelişimi ile ilgili klasik risk faktörleri incelendiğinde; %82'sinin erkek, %64'ünün hipertansiyon, %50'sinin hiperlipidemik, %43'ünün hiperkolesterolemik, %25'nin diyabet hastası ve %21'inin ailesel geçmişe sahip olduğu, %39'unun ise sigara kullandığı görülmüştür. Yapılan istatistiksel değerlendirmede, aterosklerotik damar hastalıklarının majör risk faktörlerinden olan hipertansiyon ve hiperlipidemi varlığının beklendiği gibi hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmamızda, hastalara ait örneklerin üçünde (%10.7) CMV DNA'sının pozitif olduğu bulunmuş, ancak kontrol grubu örneklerinde pozitiflik belirlenmemiştir. Ibrahim ve arkadaşlarının⁸ çalışmasında da benzer olarak aterosklerotik plaklarda CMV-DNA pozitifliği %10 oranında bulunurken, kontrol grubunda negatif sonuç alınmıştır. Shi ve Tokunaga¹¹ aterosklerotik olan ve olmayan aort dokuları ile yaptıkları çalışmada, CMV pozitifliğini sırasıyla %40 ve %4 oranında bildirmiştir. Buna karşın Saetta ve arkadaşları¹² ile ülkemizde Pınar

ve arkadaşları¹³ aterom plaklarında PCR ile CMV-DNA varlığı belirlememişlerdir. CMV'un vasküler duvarın intimasında endotel hücre apoptozisi, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve düz kas hücre proliferasyonu ile karakterize çeşitli vasküler bozukluklara neden olduğu gösterilmiştir¹⁴. CMV ile enfekte insan düz kas hücrelerinin göçündeki artışın, viral bir proteine (US28) ya da bazı sitokinlerin (RANTES veya MCP-1) ekspresyonuna bağlı olduğu belirtilmektedir¹⁵. CMV ile ateroskleroz gelişiminin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, virus aracılığı ile oluşan hücresel gen ekspresyonu şeklinde olabileceği düşünülmektedir¹⁶.

Çalışmada incelediğimiz örneklerin hiçbirisinde HSV tip 1 ve 2'ye ait nükleik asit varlığı saptanamamıştır. Herpesviruslar ile yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda ateroskleroz ile ilişkili sonuçlar bildirilmektedir^{7,17,18}. HSV-1'in koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğunu, buna karşın HSV-2 ile bir ilişki olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur^{8,11,19}. Marek hastalık virusu (MDV) ile enfekte olmuş tavuklarda, insanlardakine tamamen benzer ateroskleroz geliştirdiği gösterilmiştir²⁰. HSV-1'in epitel ve nöronlara karşı özel bir afinitesi bulunmaktadır²¹. Normal epitel hücresi çeşitli antitrombotik özelliklere sahiptir, ancak enfeksiyon etkenlerinin aracılığı ile epitel hücresinin bu özelliği değişebilmektedir²². Herpesviruslar ile enfekte olmuş epitel hücrelerinde trombin oluşumu ile trombositlerin ve granülositlerin aderansının arttığı gösterilmiştir². Dolayısıyla herpesvirusların direk etkiden ziyade inflamasyon aracılığı ile ateroskleroz patogeneğinde çeşitli etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalar, gerek hasta gerekse kontrol grubuna ait örneklerde EBV-DNA varlığının saptanabildiğini göstermektedir^{11,16,19}. Bizim çalışmamızda hastalara ait aterom örneklerinde EBV-DNA saptanmazken, kontrol grubuna ait damar örneklerinin ikisinde (%9.1) pozitiflik bulunmuştur. Bu bulgu, arterlerin EBV ile enfekte olabildiği göstermekle birlikte, virusun ateroskleroz ile ilişkisinin kurulabilmesi için daha fazla çalışmaya gerek vardır.

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubuna ait örneklerin hiçbirisinde hepatit A virus (HAV) RNA'sı tespit edilememiştir. Bazı araştırmacılar, HAV-IgG seropozitif bireylerde koroner arter hastalığı prevalansının seronegatif bireylere göre daha yüksek olduğunu bildirmektedirler^{23,24}. Bunun aksini savunan araştırmacılar ise HAV serolojik durumu ile kardiyovasküler olaylar arasında herhangi bir bağlantının olmadığını ifade etmektedir^{25,26}. Her ne kadar Zu ve arkadaşları²³ HAV seropozitif hastalarda inflamasyonun göstergesi olan C-reaktif protein (CRP) seviyelerinin, seronegatiflerden önemli derecede yüksek olduğunu ve CRP artışının immünolojik mekanizmaları tetikleyerek koroner arter hastalığı riskinin artmasına katkıda bulunabileceğini ifade etmiş olsalar da bu konu ile ilgili yeterli araştırma mevcut değildir.

Ateroskleroz gelişimi birçok faktörün bir arada bulunduğu, uzun süreç gerektiren ve patogenezi hala tam olarak belirlenemeyen olaylar zinciridir. Aterosklerozda enfeksiyöz patojenlerin etkisinin, endoteldeki direk hasara, sitokin ve/veya büyüme hormonlarının aşırı düzeyde üretimine, bazı özel adeziv

moleküllerin ekspresyonuna, CRP düzeylerinin yükseltilmesine ve çeşitli viral ya da bakteriyel antijenlerin konak proteinleri ile gösterdiği moleküler benzerliğe bağlı olarak ortaya çıkabileceği ile ilgili çeşitli hipotezler ileri sürülmektedir¹⁶. Enfeksiyon etkenleri ile ateroskleroz gelişimi ve ilerlemesi arasındaki ilişkiyi gösteren kesin kanıtların bulunması halinde, bu etkenlere karşı etkin aşuların geliştirilmesi veya antibiyotik tedavisi ile aterosklerotik patogenezin sınırlandırılması mümkün olabilecektir²⁷.

Koroner arter hastalığının etiolojisinde bilinen risk faktörlerinin yanında, son yıllarda yaygın olarak tartışılan enfeksiyon hipotezine katkıda bulunmayı amaçlayan bu çalışma, bildiğimiz kadarıyla aterom plaklarında HSV, CMV, EBV ve HAV nükleik asitlerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Sonuçlarımız, araştırılan viral etkenlerin ateroskleroz patogenezinde doğrudan ya da dolaylı olarak rolü olduğu hipotezini desteklememiş ve bugüne dek birçok yurtdışı ve yurtiçi çalışmanın sonuçlarına benzer olarak, bir ilişki kurulabilmesi için yeterli bulunmamıştır. Böyle bir ilişkiden bahsedilebilmesi için daha çok sayıda çalışmaya gereksinim olduğu açıktır.

KAYNAKLAR

1. Stollberger C, Finsterer J. Role of infectious and immune factors in coronary and cerebrovascular arteriosclerosis. Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9: 207-15.
2. Mehta JL, Saldeen TG, Rand K. Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. J Am Coll Cardiol 1998; 31: 1217-25.
3. Roivainen M, Alfthan G, Jousilahti P, Kimpimäki M, Hovi T, Tuomilehto J. *Enterovirus* infections as a possible risk factor for myocardial infarction. Circulation 1998; 98: 2534-7.
4. Georges JL, Rupprecht HJ, Blankenberg S, et al. Impact of pathogen burden in patients with coronary artery disease in relation to systemic inflammation and variation in genes encoding cytokines. Am J Cardiol 2003; 92: 515-21.
5. Prasad A, Zhu J, Halcox JP, Waclawiw MA, Epstein SE, Quyyumi AA. Predisposition to atherosclerosis by infections: role of endothelial dysfunction. Circulation 2002; 106: 184-90.
6. Paoletti RP, Gotto AM, Hajjar DP. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy. Circulation 2004; 109 (Suppl III): 20-6.
7. Zhu J, Nieto FJ, Horne BD, Anderson JL, Muhlestein JB, Epstein SE. Prospective study of pathogen burden and risk of myocardial infarction or death. Circulation 2001; 103: 45-51.
8. Ibrahim AI, Obeld MT, Journa MJ, et al. Detection of herpes simplex virus, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus DNA in atherosclerotic plaques and in unaffected bypass grafts. J Clin Virol 2005; 32: 29-32.
9. Farsak B, Yildirim A, Akyon Y, et al. Detection of *Chlamydia pneumoniae* and *Helicobacter pylori* in human atherosclerotic plaques by PCR. J Clin Microbiol 2000; 38: 4408-11.
10. Jantos CA, Krombach C, Wuppermann FN, et al. Antibody response to the 60-kDa heat-shock protein of *Chlamydia pneumoniae* in patients with coronary artery disease. J Infect Dis 2000; 181: 1700-5.
11. Shi Y, Tokunaga O. Herpesvirus (HSV-1, EBV and CMV) infections in atherosclerotic compared with non-atherosclerotic aortic tissue. Pathol Inter 2002; 52: 31-9.
12. Saetta A, Fanourakis G, Agapitos E, Davaris PS. Atherosclerosis of the carotid artery: absence of evidence for CMV involvement in atheroma formation. Cardiovasc Pathol 2000; 9: 181-3.
13. Pinar A, Oc M, Akyon Y, et al. The presence of *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori* and cytomegalovirus in human atherosclerosis detected by molecular and serological methods. Mikrobiyol Bul 2004; 38: 213-22.

14. Lunardi C, Bason C, Corrocher R, Puccetti A. Induction of endothelial cell damage by hCMV molecular mimicry. *Trends Immunol* 2005; 26: 19-24.
15. Reinhardt B, Minisini R, Mertens T. Opinion article: cytomegalovirus is a risk factor in atherogenesis. *Herpes* 2002; 9: 21-3.
16. Horvath R, Cerny J, Benedik J Jr, Hökl J, Jelinkova I, Benedik J. The possible role of human cytomegalovirus (HCMV) in the origin of atherosclerosis. *J Clin Virol* 2000; 16: 17-24.
17. Ridger PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, Wang F. Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and the risk of future myocardial infarction and stroke. *Circulation* 1998; 98: 2796-9.
18. Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE, et al. Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-Reactive protein levels. *Am J Cardiol* 2000; 85: 140-6.
19. Schlitt A, Blankenberg S, Weise K, et al. Herpesvirus DNA (Epstein-Barr virus, herpes simplex virus, cytomegalovirus) in circulating monocytes of patients with coronary artery disease. *Acta Cardiol* 2005; 60: 605-10.
20. Mattila 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: 719-34.
21. O'Connor S, Taylor C, Campbell LA, Epstein S, Libby P. Potential infectious etiologies of atherosclerosis: a multifactorial perspective. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 780-8.
22. Epstein SE, Zhou YF, Zhu J. Infection and atherosclerosis: emerging mechanistic paradigms. *Circulation* 1999; 27: e20-8.
23. Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE, Costello R, Csako G, Epstein SE. The possible role of hepatitis A virus in the pathogenesis of atherosclerosis. *J Infect Dis* 2000; 182: 1583-7.
24. Auer J, Leitinger M, Berent R, et al. Hepatitis A IgG seropositivity and coronary atherosclerosis assessed by angiography. *Int J Cardiol* 2003; 90: 175-9.
25. Smieja M, Gnarp J, Lonn E, et al. Multiple infections and subsequent cardiovascular events in the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study. *Circulation* 2003; 107: 251-7.
26. Burnett MS, Zhu J, Miller JM, Epstein SE. Effects of hepatitis A vaccination on atherogenesis in a murine model. *J Viral Hepat* 2003; 10: 433-6.
27. Capron L. How to design vaccination trials to prevent atherosclerosis. *Am Heart J* 1999; 138: S558-9.