

Kalp Transplantasyonlarında Red Fenomeninin Sitoimmünolojik Monitörizasyon Yöntemi ile İzlenmesi

Denyan MANSUROĞLU, Kaan KIRALİ, Mustafa GÜLER, Altuğ TUNCER, Ercan EREN Esat AKINCI, Ali GÜRBÜZ, Ömer İŞİK, Cevat YAKUT

Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Bölümü. İSTANBUL

Kalp transplantasyonu sonrası görülen mortalite ve morbiditeyi etkileyen nedenlerin başında greftin akut rejeksiyonu ve enfeksiyonlar gelmektedir. Transplantasyon sonrası red yanıtının erken tanısında, endomiyokardiyal biyopsi ile organın histopatolojik incelemesi günümüzde en duyarlı yöntem olarak kabul edilmektedir. Ancak bu yöntemin invaziv olması, bir takım zorlukları da beraberinde getirmektedir. Bu nedenle, histopatolojik bulgulara yakın duyarlılık göstermesi ve basit uygulanabilir noninvaziv bir metod olması nedeniyle sitoimmünolojik monitorizasyon, çoğu merkezde endomiyokardiyal biyopsiye yardımcı bir yöntem olarak kullanılmakta ve erken tanıdaki önemli etkinliği ile transplantasyon sonrası hasta takibinde etkin bir yer tutmaktadır.

Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi'nde, 1989-1998 tarihleri arasında 13 hastaya kalp transplantasyonu uygulandı. Hastaların ikisi kadın, onbiri erkek olup, yaş ortalaması 38.5 ± 11 (19-58) yıl idi. Kalp bir hastaya heterotopik pozisyonda, geri kalan oniki hastaya ise ortotopik pozisyonda takıldı. Ortotopik pozisyonda takılan hastaların ilki sadece endomiyokardiyal biyopsi ile izlendi, ikinci hasta hem sitoimmünolojik monitorizasyon, hem de endomiyokardiyal biyopsi ile izlenmiş, ve sitoimmünolojik monitorizasyondan elde edilen bulguların postoperatif izlemde yeterli olabileceğinin görülmesi üzerine geri kalan 10 hastanın red izlemi sadece sitoimmünolojik monitorizasyon ile yapıldı. Rejeksiyondan şüphelenilen durumlarda bulguların teyidi amacıyla endomiyokardiyal biyopsi yapıldı. Sitoimmünolojik monitorizasyon ile enfeksiyon tanısı konulan hastalarda ise klinik tablonun teyidi amacı ile, kültür çalışmaları ve antikor titrasyon testleri de incelemeye eklendi.

Follow-up of Rejection Phenomenia by Using Cytoimmunologic Monitorisation in The Heart Transplantations

The leading mortality and morbidity seeing after heart transplantation are infection and acute rejection phenomenon. Currently, the most accurate early rejection diagnostic method after cardiac transplantation is the hystopathologic analysis of the endomyocardial biopsy. However, endomyocardial biopsy has many disadvantages. For these reasons Cytoimmunologic monitorization, which is a noninvasive and technically simple method correlates well with the hystopathologic findings, has gained great attention in many centers as a supportive method to endomyocardial biopsy.

Between 1989 and 1998, 13 patients underwent heart transplantation at Koşuyolu Heart and Research Hospital. There were two female and 11 male patients and their mean age was 38.5 ± 11 years (19-58). One of them underwent heterotopic heart transplantation, and the others undevent orthotopic heart transplantation. The first orthotopic heart transplantation was followed up only with endomyocardial biopsies. The second patient was followed up with endomyocardial biopsy and Cytoimmunologic monitorization. After we had seen the correlation between both techniques, the other patients were followed up only with Cytoimmunologic monitorization. When acute rejection was suspected, the diagnosis was certainied by performing endomyocardial biopsy and the results were compared with the other invasive and noninvasive methods. When infection was suspected, blood cultures, antibody titrations and clinical findings were searched to support the diagnosis.

According to our study, correlating with and supported by the other noninvasive methods

Sunulduğu kongreler:

5th Bulgarları - Hellenic Symposium, September 10-12, Varna, Bulgaria.

5. Ulusal Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Kongresi, 20-24 Ekim 1998, Belek, Antalya.

ISCTS-The 8th World Society of Cardio-Thoracic Surgeons, November 1-4, 1988 Houston, Texas, USA

Kalp transplantasyonu sonrası akut red yanıtı ile enfeksiyonların erken tanısında ve tedaviye yönlendirilmesinde sitoimmünolojik monitörizasyonun, diğer invaziv ve noninvaziv yöntemlerle korele olarak bu yöntemler tarafından desteklenmek şartı ile, geçerli ve güvenilir bir yöntem olabileceğini ve endomiyokardiyal biyopsi sayısını azaltabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar sözcükler sitoimmünolojik monitörizasyon, kalp transplantasyonu, red fenomeni

GKDC Dergisi 1998; 6: 369-378

Son dönem kalp yetmezliği gelişmiş hastalarda hayat kurtarıcı etkisi ve olumlu uzun dönem sonuçları ile kalp transplantasyon ameliyatları, tüm dünyada olduğu gibi yurdumuzda da artan sıklıkla uygulanmaktadır. Başarılı ilk insandan insana kalp nakli Barnard tarafından gerçekleştirilmiştir (1). Ülkemizde ilk kalp transplantasyonu, 1968'de K. Beyazıt ve S. Ersek tarafından iki gün arayla ayrı ayrı gerçekleştirilmiş, ancak iki hasta ameliyat sonrası birinci günde kaybedilmişlerdir. İlk başarılı ve uzun takipli kalp nakli ise 1989'da Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi'nde, Yakut ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (2). İlk başarılı kalp-akciğer transplantasyonu ise 1998 yılında Oto ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (3).

Kalp transplantasyonu sonrası uzun dönem sürviyi etkileyen etkenlerin başında red epizotları ve enfeksiyonlar gelmektedir. Akut rejeksiyonların tanı ve tedavisi, temelde endomiyokardiyal biyopsi (EMB) ile yapılmaktadır (4-5). Ancak EMB'nin çeşitli sakıncaları bulunmaktadır (6). Bu dezavantajlardan kurtulmak amacıyla çeşitli noninvaziv yöntemler geliştirilmiş ve klinik uygulamaya konmuştur (7-11). Bu metodların içerisinde en yaygın kullanım alanı bulan yöntemler sitoimmünolojik monitörizasyon (CIM), ekokardiyografik takip ve EKG'dir (6). Son yıllarda, akut rejeksiyon ve enfeksiyonların, özellikle de viral

cytoimmunologic monitorization seems to be a reliable method for screening of rejection phenomenon and infection, and can reduce the need of endomyocardial biopsies in heart transplantant patients.

Keywords: cytoimmunologic monitorization, heart transplantation, rejection phenomena

enfeksiyonların tanısında sitoimmünolojik monitörizasyon yönteminin önemli bir yeri olduğu ve EMB'nin yapılma sıklığını azaltabileceği bildirilmektedir (11). 1984'de Hammer ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu yöntem, kanın monoklonal antikorlarla muamele edilerek yüzey antijenlerine göre lenfosit fenotiplenmesi esasına dayanmaktadır (12). Bu yöntem ile, özellikle transplantasyonu sonrası ilk 6 ayda akut red ataklarının veya enfeksiyonların ön tanısı mümkün olmakta ve tanının kesinleştirilmesi için invaziv yöntemlerin uygulanması için transplant ekibini yönlendirmektedir.

Materyel ve Metod

Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi'nde, 1989-1998 tarihleri arasında toplam 13 hastaya kalp transplantasyonu uygulandı. Kalplerin 12'si ortotopik, 1'i ise heterotopik pozisyonda takıldı (Tablo 1). Hastaların ikisi kadın, onbiri erkek olup hastaların yaş ortalaması 38.5 ± 11 (19-58) yıl idi. Bunlardan 5 tanesi, yoğun bakım koşullarında izlenen ve inotrop desteğe ihtiyacı olan hastalardı. Ortotopik transplantasyonu yapılan hastaların ilki sadece EMB ile izlendi. İkinci hasta CIM ve gerektiğinde EMB ile izlendi. Geri kalan 10 hastanın red ve enfeksiyon takibi sadece CIM ile yapıldı. Heterotopik kalp transplantasyonu uygulanan 6. hasta, post-operatif 30. saatte kaybedilmesi nedeniyle bu çalışmaya dahil edilmedi.

Tablo 1. Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi'nde 1989-1998 yılları arasında kalp transplantasyonu uygulanan hastaların preoperatif özellikleri, uygulanan transplantasyon tipi ve postoperatif sürvileri.

Yaş/Cins	Etiyoloji	NYHA	Ameliyat	Sürvi
58/E	İskemik	Class-III	Ortotopik	24. ayında ex; nonkardiyak
45/E	İskemik	Class-IV	Ortotopik	72. ayında, aktif
37/K	İdiopatik	Class-III	Ortotopik	21. ayında, aktif
36/E	İdiopatik	Class-IV	Ortotopik	19. ayında, aktif
47/E	İdiopatik	Class-III	Ortotopik	5.5 ayında ex; sepsis (Toxoplasma)
57/E	İskemik	Class-IV	Helerotopik	30. saatte ex; peroperatif
39/E	İdiopatik	Class-III	Ortotopik	12. ayında, aktif
19/K	İdiopatik	Class-III	Ortotopik	12. ayında, aktif
43/E	Valvular	Class-IV	Ortotopik	11. ayında, aktif
30/E	İdiopatik	Class-III	Ortotopik	9. ayında, aktif
32/E	Konjenital	Class-III	Ortotopik	4. ayda ex; ani ölüm (CMV)
20/E	İdiopatik	Class-IV	Ortotopik	6. ayında, aktif
38/E	İdiopatik	Class-III	Ortotopik	4. ayında, hastanede tedavi altında

CIM takip protokolü

Bazal değerleri saptamak amacıyla ameliyattan hemen önce, postoperatif ilk bir ay içinde hergün, 1-3. aylar arası haftada iki, 3-6. aylar arası ise iki haftada bir periferik venden aseptik, 1-3. aylar arası haftada iki, 3-6. aylar arası ise iki haftada bir periferik venden aseptik teknik ile EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. Fleuroscin isocyanate veya phycoerythrin ile direkt olarak monoklonal antikorlarla konjuge edildi (Tablo 2). Kan ürünleri düşük devirde

Tablo 2. Monoklonal antikorlar ile araştırılan lenfosit antijenleri. (CD = cluster designation)

Marker	
CD3	olgun T lenfositler
CD4	yardımcı T lenfositler
CD8	sitotoksik/baskılayıcı T lenfositler
CD16/56	doğal killer hücresi
CD25	TAC Interleukin-2 reseptör/aktivasyon antijeni
CD45	tüm lökositler
CD57	T hücre aktivasyonu
CD19, CD20	olgun B hücresi

santrifüj edildikten sonra 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı, inkübasyon sonrası kan ürünleri, lizise uğramış eritrositlerden arındırılmak amacıyla, fosfat ile- tamponlanmış serum fizyolojik ile yıkandı. Lenfosit subset analizi, Facscan Flowcytometer (Becton Dickinson) ile yapılarak elde edilen veriler Facscan Software program ile analiz edildi. Lenfoid hücreler küçük istirahat halindeki lenfositler, aktive lenfositler, lenfoblastlar, plazmositler ve büyük granüllü lenfositler şeklinde ayrıldılar. Total ve farklılaşmış kan lökosit sayısı çıkarıldı. Elde edilen veriler birbirleriyle ve bazal değerlerle karşılaştırılarak değerlendirildi.

Bugüne kadarki klinik araştırmaların sonuçlarına göre;

- Aktive J hücrelerinin eşik değeri (%5) üzerine çıkması ile birlikte, CD25'in %10'un ve CD57'nin %20'nin üzerinde bulunması akut red olayını,

- CD4/CD8>1.2 ile birlikte CD16/56 (NK) hücrelerin %14'ün üzerine çıkması **akut bakteriyel enfeksiyonu,**

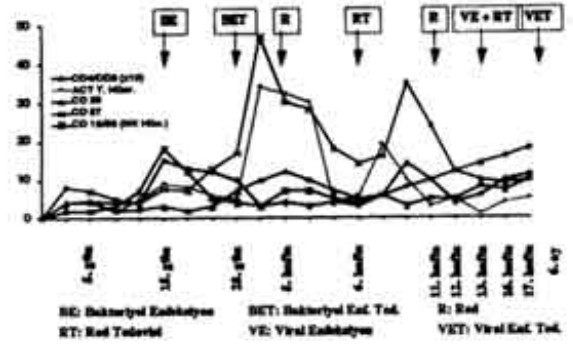
- CD4/CD8<1 olması ve özellikle <0.4 bulunması veya büyük granüllü lenfositlerin >%15 olması akut viral enfeksiyonu gösterdiği bildirilmiştir (13-15).

Postoperatif Takip

Hastaların hepsinde siklosporin (5-10 mg/kg/gün), kortikosteroid (1 mg/kg/gün), azathioprin (1-2 mg/kg/gün) klasik üçlü immüno-supresif tedavisi uygulandı. Akut red ataklarının hücum tedavisinde öncelikle metilprednizolon (1 gr/gün/3 gün), başarısız kalınan durumlarda RATG veya ALG (1.5 mg/kg/7-14 gün), ya da OKT3 (5 mg/gün/7-14 gün) uygulandı.

İlk hastanın kardiyak red izlemi, düzenli ve klasik olarak belirlendiği üzere 14 adet EMB yapıldı. Hastada ilk 5 ayda toplam 4 red epizodu EMB ile saptandı. Bu hastamız Türkiye'nin ilk uzun takipli hastası olup postoperatif 2. yılında kardiyak olmayan bir nedenle kaybedildi (2).

Daha önceden koroner bypass ameliyatı yapılmış ikinci hasta sadece CIM izlendi. CIM ile 15. günde saptanan CD4/CD8 oranındaki ani artış (>1.2) akut bakteriyel enfeksiyon lehine yorumlandı. Klinik ve diğer laboratuvar incelemeleri ile pnömokoksik tonsillit teyid edildi. Hastadaki birincisi 5. haftada, ikincisi de 11. haftada olmak üzere orta derecedeki iki red atağı CIM ile saptandı. CIM bulgularının teyidi amacıyla her defasında EMB yapıldı ve histolojik olarak da rejeksiyon tanısı kesinleştirildi. Postoperatif 15. haftadaki CIM ile saptanan CD4/CD8 oranındaki ani düşüş (<0.4) akut viral enfeksiyon olarak değerlendirildi ve antikor titrasyon testlerinde Anti-HSV Tip-I IgM titresi anlamlı derecede yüksek bulundu. Hastamız halen postoperatif 6. yılında aktif yaşamına devam etmektedir. CIM yöntemi ile tespit edilen akut red, bakteriyel ve viral enfeksiyonla r m tanı ve tedavilerinin etkinliği Grafik-1 'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Ortotopik kalp transplantasyonu uyguladığımız ikinci hastanın postoperatif dönemdeki akut rejeksiyon veya enfeksiyon takibinde ve uygulanan tedavilerin etkinliğinin izlenmesinde kullanılan CIM yöntemi.

Üçüncü hastadaki postoperatif 10. haftada görülen CIM ile saptanan CD4/CD8 oranındaki ani düşüş (=0.3) viral enfeksiyon lehine yorumlandı. Yapılan virüs titrasyon testlerinde Anti-HSV Tip-I IgM'de anlamlı yükselme saptandı. CIM ile hiç akut rejeksiyon saptanmayan hastaya EMB yapma gereği duyulmadı, Postoperatif 21. ayında yaşamına aktif olarak devam etmektedir.

Beşinci hastaya postoperatif 11. günde gelişen pansitopeni nedeniyle kemik ilgi aspirasyon biopsisi ve EMB yapıldı. İmmüno-supresif tedaviye bağlı kemik iliği depresyonu saptandı ve bu durum ilaç dozlarının ayarlanması ile düzeldi. EMB'de ise rejeksiyon saptanmadı. Ancak postoperatif 8. haftada gelişen akciğer enfeksiyon bulguları ile interne edilen hastanın yapılan CIM incelemesinde CD4/CD8 oranının düşük (=0.2) seyrettiği gözlemlendi. Toxoplazma IgM titresi anlamlı derecede yüksek bulundu. Toxoplazma enfeksiyonuna yönelik tedaviye başlandı, ancak tedaviye yanıt alınamadı ve hasta 22. haftada sepsisten kaybedildi.

Onuncu hastaya postoperatif 1. haftada gelişen sağ plevral effüzyon nedeniyle toraks dreni yerleştirildi ve buradan alınan seropürülan mayinin mikrobiyolojik incelemesinde gram (-) enterobakter tanımlandı. Ancak tedaviye dirençli ateş ve genci durum bozukluğu geliş-

mesi üzerine 1. ayda yapılan toraks BT incelemesinde sağ akciğer orta lob lateral segmentinde apse formasyonu tespit edildi. BT altında yapılan apse drenajından elde edilen mayinin mikrobiyolojik incelemesinde *Aspergillus flavus* İdentifiye edildi. Bu süre zarfındaki tüm CIM incelemelerinde enfeksiyonu düşündürecek bir bulguya rastlanılmadı. Uygun antifungal tedaviye olumlu yanıt alınan hasta halen postoperatif 9. ayında normal yaşamına devam etmektedir.

Onbirinci hasta postoperatif 2. ayda gelişen ateş, diare ve genel durum bozukluğu ile yatırıldı. CIM incelemesinde CD4/CD8 oranı anlamlı derecede düşük ($=0.1$) bulundu. Anti-CMV IgM yüksek bulundu ve antiviral tedaviye başlandı. Postoperatif 4. ayda tedaviye cevap vermeyen hasta kaybedildi.

Onüçüncü hastada CIM takipleri normal seyrederken, postoperatif 2. ayda ateş ve öksürük şikayetlerini takiben teleda sağ alt lob ve sol üst lobda apse formasyonu tespit edildi. Bu dönemdeki CIM incelemelerinde CD4/CD8 oranı düşük (<1) bulundu. Yapılan torakal BT'de fungal apse düşünülmesi üzerine antifungal tedaviye başlandı. Enfeksiyonun birinci haftasında meningoensefalit tablosu gelişmesi üzerine yapılan lomber ponksiyon ile alınan BOS'un sitolojik incelemesinde *Cryptococcus neoformans* görüldü. Uygulanan tedavi ile klinik tam düzelme sağlanan hasta halen kliniğimizde takip edilmektedir.

Diğer hastalarda rejeksiyon ve enfeksiyon lehine klinik, ekokardiografik ve CIM bulguları saptanmadı. Ancak iki hastaya postoperatif 3. aylarında kontrol amacıyla EMB yapıldı ve rejeksiyona rastlanılmadı. Geri kalan üç hastaya ise EMB uygulanmadı.

Sonuç

Hastaların izlem süresi 4-72 ay arasında değişmekte ve ortalama 18.4 ± 20.4 ay İdi. Allo-greftlerin sürvisi ilk 3 ay için %100, ilk 6 ay ve ilk 1 yıl için %83.3 idi.

Ortotopik kap transplantasyonu yapılan hastalarda erken dönem mortalitemiz (<30 gün) sıfırdır. Geç mor tali tc oranımız 3 hasta ile %25'dir. Birinci hasta kardiyak dışı nedenle 2. yılında kaybedildi. Geri kalan iki hastadan ilki 22. haftada akciğer toxoplazmozisi, diğeri postoperatif 4. ayında CMV enfeksiyonu nedeniyle kaybedildi.

Tartışma

Günümüzde tıpta önemli bir dönüm noktası sayılan ve son dönem kalp yetmezliği gelişmiş hastalara yeni bir yaşam olanağı sunan kalp transplantasyonu, Özellikle siklosporinin immunosupresif tedaviye eklenmesinin greft sürvisini olumlu yönde etkilemesiyle her yıl artan sıklıkla uygulanmaktadır. Bu hastalar için en riskli dönem ameliyattan sonraki ilk altı aylık periyoddur. Çünkü bu dönemde görülen akut red epizodları ve enfeksiyonlar, erken ve orta dönem greft sürvisini etkileyen başlıca komplikasyonlardır. Özellikle doku reddi, olguların %90'ında görülmektedir (16). Akut rejeksiyon kalp transplantasyonu sonrası görülen ölümlerin %25'inden sorumlu tutulmaktadır (17). Alıcı hayatını tehdit eden bu komplikasyonların gerekli tedavilerinin uygulanabilmesinin, bu komplikasyonların kalp yetmezliğinin klinik bulguları ortaya çıkmadan önce tanınmasına ve etkinliğinin izlenmesine bağlı olması tanıda çeşitli invaziv ve noninvaziv yöntemlerin geliştirilmesine neden olmuştur. Red olaylarının tanısında kullanılan başlıca yöntemler EMB, greftin imaj görüntüleri (MRI, BT), fonksiyon durumunu gösteren noninvaziv incelemeler (EKG, EKO) ve kandaki lenfosit aktivasyonunu gösteren testlerdir. Tanıda en değerli yöntem EMB'dir (18). Buna karşın invaziv bir yöntem olan EMB ile ilgili bildirilen bazı dezavantajlar nedeniyle araştırmacılar çalışmalarını, EMB'nin yerini tutabilecek ve yapılma sıklığını azaltacak, ayrıca onun kadar duyarlı olabilecek noninvaziv yöntemler üzerinde yoğunlaştırmışlardır (6) Günümüzde 40'dan fazla noninvaziv takip yöntemi geliştirilmiştir (6, 19). Ancak bu

yöntemlerin hiçbirisi red olayı ortaya çıkmadan önce tanı konması için yeterli bulunmamıştır. Red tanısında ve tedavinin yönlendirilmesinde bu yöntemlerin konbine olarak değerlendirilmesinin daha iyi sonuçlar verdiği kabul edilmektedir (18).

Akut red fenomeninin fizyopatolojisi tam olarak bilinmemektedir (19). Ancak bu reaksiyonun hücrel immün cevabın gelişmesi ile enflamasyonun lenfokin mediatörleri arasındaki karşılıklı etkileşmeye bağlı olduğu sanılmaktadır (20). Sitotoksik T hücrelerinin ve doğal killer hücrelerinin yabancı dokuya karşı doğal saldırılarının doku reddine neden olduğuna inanılmaktadır (21). Buna göre rejeksiyona uğrayan dokudan periferik kana salınan lenfositler teorik olarak lenfosit subgruplarının aktivasyonuna yol açar. Ancak lenfosit aktivasyon hızının viral enfeksiyonlar ve enflamatuvar hastalıklardan da etkilenmesi, rejeksiyon ile enfeksiyon ayırımının yapılabilmesini zorlaştırmaktadır (22). Bunun da ötesinde, transplant hastalarının kullandıkları immüno-supressif ilaçlar da immün ve hücrel cevabı değiştirir, dolaşımdaki hücreleri etkilerler (10).

İmmün cevabın erken serolojik işaretlerinin (marker) incelenmesi, bu konudaki yeni ilerlemelerin de etkisiyle akut red fenomeninin tanısında ön plana çıkmıştır. Organ naklinden sonra alıcının immün sisteminin allogreft toleransı, kan lenfosit popülasyonundaki sayısal ve oransal değişiklikler ile kendini gösterir. Ancak ameliyattan bir ay sonraki T hücrelerinin subseti ile akut rejeksiyon arasında herhangi bir ilişkinin kurulamayacağını görmesi bu alanda yeni arayışları gündeme getirmiştir (25). 1970'li yılların sonlarından beri dolaşımdaki T lenfositlerinin aktivasyon ve subgruplarının monitörizasyonu ve sitokin veya sitokin reseptör düzeylerinin incelenmesi ("E-rosette assay" yöntemi) allogreft rejeksiyon tanısında kullanılmaya başlanmıştır (26-28). Yapılan birçok çalışmada lenfosit aktivasyon tanısının periferik kandaki ufak, atipik ve immünoblasrik lenfositlerin oranlarının ince-

lenmesi ile yapılabileceği bildirilmiştir (11, 13, 24). Akut red olayında lökosit, lenfosit, lenfoblast ve prelenfoblast sayılarında ciddi artışlar görülmüştür. T lenfosit sayısı artarken B lenfosit sayısında ise bir artış görülmemiştir. Ancak yapılan klinik incelemelerde bu yöntemin rejeksiyon ile enflamatuvar olayların ayırımı konusunda güvenilir bir metod olduğuna dair kanıtlar elde edilememiş, sadece bu iki komplikasyonun tanısında ayırıcı bir test olarak kullanılabilmesi öne sürülmüştür (8, 29-30). Dolaşımdaki T lenfositlerin kantitatif ölçümünün siklosporin tedavisi altındaki transplant hastalarında da güvenilir olmaması nedeni ile 1984'te Hammer ve arkadaşları periferik kandaki lenfosit ve subgruplarının analizi ile incelenmesi tekniğini geliştirmişlerdir (13). CIM'in iki amacı vardır: periferik kandaki aktive olmuş hücrelerin incelenerek genel bilgilerin elde edilmesi ve akut rejeksiyon ile enfeksiyon arasında ayırıcı tanıya yardımcı olması.

Kandaki lenfosit subgruplarının aktivasyonu rejeksiyon ve enflamatuvar olaylar sırasında değişim gösterirken CD4/CD8 oranı, transferin (T9) ve interlökin-2 (IL-2R) reseptörlerindeki farklılaşmalar da bu olaylar hakkında genel bilgi vermektedir (30). Tüm bunlar lenfosit subgruplarına ve aktivasyon işaretlerine özgün monoklonal antikorlarla tespit edilir.

CIM takibinde sıklıkla kullanılan CD4/CD8 oranı analizinin, transplantasyon sonrası görülebilecek akut rejeksiyon veya enfeksiyonların tanısında oldukça yararlı bilgiler verdiği ve sensitivitesinin %85-100, spesifitesinin %90-94 arasında değiştiği bildirilmiştir (7,31-32). Yapılan başka araştırmalarda ise bu orandaki ani değişimlerin rejeksiyon ile korelasyonunu saptanamamış, CD4/CD8 oranının rejeksiyondaki sensitivitesi 7.43, spesifitesi %56 olarak belirtilmiş ve bu tekniğin nonspesifik olduğu ve enfeksiyonlardan etkilenebileceği bildirilmiştir (5, 9, 33). Stanford ve arkadaşları, nakil sonrası ilk 5 hafta içinde meydana gelen enfeksiyon veya rejeksiyonlar ile CD4/IL-2R

arasında da doğrudan ilişki olduğunu tespit etmişler ve testin sensiti vitesin i %79, spesifitesini ise %97 olarak bulmuşlar, ayrıca nakil sonrası 5. haftadan itibaren oranın akut red atağında sensitivitenin %25'e kadar düştüğünü görmüşlerdir (34). Genel olarak CD4/CD8 oranının 1,5'in üzerine çıkması, blast hücrelerinin %7'den veya aktive lenfositlerin %20'den yüksek olmasının eşliğinde, ciddi akut rejeksiyon lehine yorumlanmaktadır. Viral enfeksiyonlarda ise bu oran l'in altına düşmekte, ağır seyreden durumlarda 0.1'in de altına inmekte ve büyük granüllü lenfositlerin oranı oldukça yükselmektedir. Özellikle CMV, EBV ve HSV bu tabloyu oluşturmaktadır. Bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda CD4/CD8 oranı pek değişmezken, B hücrelerindeki ve genç polimorfonükleer hücrelerdeki belirgin artış bu enfeksiyonların varlığına işaret etmektedir (35). Kardiyak transplantasyon sonrası siklosporin ve prednol tedavisindeki hastalarda, CD4/CD8 oranındaki anî azalma viral enfeksiyon ile ilişkili olup en ciddi düşmenin konbine CMV ve EBV enfeksiyonlarında görüldüğü belirtilmiştir (35).

Transferin reseptörleri, lenfositlerin antijenik veya mitojenik stimülasyonu sonrası lenfositlerin yüzeyinde artış gösterir ve bu artış kalp nakli yapılan hastanın immünolojik durumunu gösterir (30). Prerejeksiyon ve rejeksiyon sırasında bu sayıda belirgin artış görülürken kontrol altına alınan ataklardan sonra ise belirgin bir düşüş görülmektedir. Eğer tedaviye rağmen transferin reseptörleri yüksek ise 4 hafta içinde %80 prerejeksiyon görülür. Bu nedenle rcd fenomeninin erken tanısında ve tedavinin etkinliğini belirlemede kullanılan yararlı bir parametredir (30). Ancak enfeksiyonda da artışı ve %97 sensitivite ve %93 pozitif anlamlılık verebileceği, rejeksiyon için ise sırayla %92 ile %71 olduğu tespit edilmiştir (33).

Periferik kandaki mononükleer hücrelerin antijenik veya mitojenik aktivasyonu sonrası salgılanan interleukin 2 reseptörleri de lenfosit

aktivasyonunu gösterir (8, 30). IL-2R istirahat halindeki hücrelerden salgılanmazken, allostimüle edilen T hücrelerinden hızlıca salınır (36). Testin pozitif sonucu için "IL-2R pozitif olan" T4 hücrelerinin total T hücrelerinin %20'sinden fazla olması veya absöüt miktarının 120 hücre/ml'den yüksek olması gerekmektedir. Bunun artışı orta ve ileri derecede red fenomenini gösterir. Aynı şekilde enfeksiyonlarda (viral, toksoplazma) ve diğer bazı enflamatuar hastalıklarda da artış gösterir ve bu hastalıkların rejeksiyon ile ayırıcı tanısında pek de yararlı değildir. Sensitivitesi %78 ve spesifitesi %97 düzeyindedir. Uzun dönem takiplerde ise siklosporinin etkisi ile "IL-2R pozitif olan" T4 hücrelerinin sayısal değişimi nedeni ile güvenilirliği azalmaktadır (9, 34).

Kandaki lenfosit aktivasyonunun tespitinde diğer bir yaklaşım ise, aktive hücrelerin spesifik morfolojilerinin incelenmesidir. Rejeksiyon sırasında aktive olan lenfositler bazofilik karakterde sitoplazma gösterir ve blast hücrelerine dönüşürler. Nitekim Hammer ve arkadaşları, CIM yöntemini bu aktivasyon farklılaşmasına dayandırmışlardır. Lenfosit aktivasyonu tanısı, aktive olmuş lenfositlerin aktive olmuş-t-olmamış lenfositlere bölünmesi ile elde edilen sonucun analizine dayanmaktadır. Bu değerın üst sınırı %5 olarak kabul edilmekte ve anlamlı sonuç için bu değerın üzerine çıkması gerekmektedir (22). Yapılan deneysel bir çalışmada lenfosit aktivasyonundaki anlamlı artışın, histolojik olarak allogreftin miyosit nekrozisi ile beraber seyreden orta derecede rejeksiyon ile aynı döneme rast geldiği gösterilmiştir (35). Daha önceki evrelerde ise lenfosit aktivasyonu negatif olarak bulunmuştur.

CIM, kalp nakli sonrası rejeksiyon ve enfeksiyon takibinde yararlı bir teknik olarak ileri sürülmektedir (7, 12, 23, 32, 37), CIM'in aktive olmuş lenfositlerin %5 eşik değerinde elde edilen sensitivitesî %29, spesifitesi %73 olarak bulunmuştur (15). Ancak bazı yazarlarca ise sensitivite %79-95. spesifite %90-97 arasında tespit edilmiştir (7, 9, 23, 31, 34, 37). Bu değişkenliğin

sebebi aktivasyonun morfolojik kriterlerinin tanımlanmasındaki farklılıklar, EMB'in histopatolojik değerlendirilmesinin ve tekrarlama sıklığının farklı olması ve İmmüno-supresyon tedavi protokolü farklılığıdır.

Nitekim kalp transplantasyonu sonrası akut rejeksiyon ve enfeksiyon gelişimi takibinde kullandığımız CIM yönteminin, Özellikle ilk 6 ay içerisinde tanıya olumlu katkısının bulunduğunu ve EMB yapılmadan da hastaların izlenebilmesini sağladığını tespit ettik. CIM'in anlamlı sonuç verdiği durumlarda uyguladığımız ek tanı metodları ile de tanıyı kesinleştirdik. Akut rejeksiyon düşündüğümüz durumlarda direk hücum tedavisine başladık; enfeksiyon düşündüğümüz durumlarda ise antikor titrasyonları ile etkenin tespit edilmesi sonrası uygun antibiyoterapiye başladık. Literatürdeki bildirilere uygun şekilde postoperatif EMB uygulama sıklığını oldukça sınırlı tuttuk ve bunun izlemde olumsuz bir etkisini görmedik. Nitekim akut rejeksiyondan şüphelendiğimiz durumlarda yaptığımız EMB'lerde de rejeksiyon tespit edilmiş, kontrol amacıyla yapılan EMB'ler ise negatif olarak bulunmuş olup CIM ile korelasyonu tamdı.

Sitoimmünolojik monitörizasyonun hala giderilmeyen bazı dezavantajları vardır, ilki ve en Önemlisi, rejeksiyon ile enfeksiyonun birbirinden net olarak ayırt edilememesidir. İkincisi, morfolojik incelemenin sübjektif olması ve klinik deney ve tecrübeye dayalı olmasıdır. Üçüncüsü ise, uzun dönem takiplerinde red fenomeninin tanısında etkisiz kalmasıdır. CIM'in güvenilirliği, transplantasyonu sonrası ilk 6 aylık süre içerisinde veya ilk akut rejeksiyon atağına kadar yüksektir. Kalp transplantasyonu sonrası gelişebilecek akut red veya enfeksiyonun erken tanısında diğer tanı metodları ile birlikte kullanılabilir yararlı bir yöntemdir. Özellikle kalp nakli uygulanan alıcıların hastanede kaldıkları süre içerisinde, hastanın günlük kan takibi ile izlenmesi akut rejeksiyonun erken tanısını sağlayacak ve bu amaçla yapılacak EMB'nin sıklığını azaltacak kolay ve

noninvaziv bir methodur. Bu yöntemin EMB'nin yerini alabileceği beklenmemeli, ancak EMB'nin sıklığını azaltacak ve hasta izleminde yardımcı bir yöntem olarak kullanılacak basit, noninvaziv ve kolay uygulanabilen bir metod olacağı bilinmelidir.

Kaynaklar

1. Barnard CN. A human cardiac transplant: An interim report of a successful operation performed at Gmote Schuur Hospital, Cape-Lown. *J Afr Med* 1967; 41: 1271-1274.
2. Beyazid Ö, Balkanay M, Öztekin I, et al. The first successful heart transplantation in Turkey. *Koşuyolu Heart J* 1989; 1: 3-10.
3. Oto Ö. ve ark. Çocukta kalp ve akciğer transplantasyonu (abstrakt) 5. Ulusal Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Kongresi, 20-24/10/1998, Belek.
4. Imakita M, Tazelaar HD, Bilingham ME Heart allograft rejection under varying immunosuppressive protocol as evaluated by endomyocardial biopsy. *J Heart Transplant* 1986; 5: 279-285.
5. Baughman KL. Monitoring of allograft rejection. in Baumgartner WA, Reitz BA, Achuff SC: Heart and Heart-lung Transplantation. Philadelphia, WB Saunders CO, 1990; p 86.
6. Kemkes DM, Schütz A, Engel HM, et al. Noninvasive methods of rejection diagnosis after heart transplantation. *J Heart Transplant* 1992; 11:221-231.
7. Fieguth HG, Haverich A, Schaefer HJ, et al. Cytoimmunologic monitoring in early and late acute cardiac rejection. *J Heart Transplant* 1988; 7:95-101.
8. McNally CM, Luckhurst E, Penny R. Çel! free serum interleukin-2 reseptör levels after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1991; 10: 769-774.
9. Reader JA, Burke MM, Coughlin P, et al. Noninvasive monitoring of human cardiac allograft rejection. *Transplantation* 1990; 50: 29-33.
10. Pelletier LC, Montplaisir S, Pelletier G, et al. Lymphocyte subpopulation monitoring in cyclosporin treated patient following heart

- transplantation. *Ann Thorac Surg* 1988; 45: 11-15.
11. Ertel W, Reichenspurner H, Hammer C, et al. Cytoimmunologic monitoring: a method to reduce biopsy frequency after cardiac transplantation. *Transplant Proc* 1985; 17: 204-206.
 12. Hammer C, Reichenspurner H, Ertel W, et al. Cytological and immunologic monitoring of cyclosporine-treated human heart recipients. *Heart Transplant* 1984; 3: 224-231.
 13. Giorgi JV. Lymphocyte subset measurements: Significance in clinical medicine. in Rose N, Friedman H and Fahey JL: *Manual of clinical laboratory immunology*, 3rd ed. Washington DC, American Society of Microbiology, 1986; p 233.
 14. Moretta L, Mingari MC, Moretta A. Human T celi subpopulations in normal and pathologic conditions, *Immunol Rev* 1979; 45:163-193.
 15. Winjgaard PLj, Doornewaard H, van der Meulen A, et al. Cytoimmunologic monitoring as an adjunct in monitoring rejection after heart transplantation: Result of a 6 year follow up in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 1994; 13: 869-875.
 16. Schüetz A, Kemkes BM, Kugler C, et al. The influence of rejection episodes on development of coronary artery disease after heart transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 1990; 4: 300-308.
 17. Solis E, Kaye MP. The registry of international society for heart transplantation: third official report-June 1986. *J Heart Transplant* 1986; 5: 2-5.
 18. Billingham ME, Cary NR, Hammond ME, et al. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection: Heart Rejection Study Group. *J Heart Transplant* 1990; 9: 587-593.
 19. Schüetz A, Kemkes BM, Hammer C. Kinetics and dynamics of rejection after heterotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11:289-300.
 20. Hanson CA, Boiling SF, Stoolman LM, et al. Cytoimmunologic monitoring and heart transplantation. *J Heart Transplant* 1988; 7: 424-429.
 21. Harry P, von Willebrand B, Partenais E, et al. The inflammatory mechanisms of allograft rejection. *Immunol Rev* 1984; 77: 85-142
 22. Blumberg RS, Schooley RT. Lymphocyte markers and infectious diseases. *Semin Hematol* 1985; 22: 81-114.
 23. Ertel W, Reichenspurner H, Lersch C, et al. Cytoimmunologic monitoring in acute rejection and viral, bacterial or fungal infection following transplantation. *J Heart Transplantation* 1985; 4: 390-393.
 24. Rabin BS. Aspects of human cardiac transplantation. *J Heart Transplant* 1983; 2: 188-193.
 25. English TAH, McGreoger C, Walhovk J, Pearce CR. Aspects of immunosuppression for cardiac transplantation. *J Heart Transplant* 1982; 1: 280-286.
 26. Jondai M, Holm G, Wigzell H. Surface markers on human T and B lymphocytes. *J Exp Med* 1972; 136:207-215.
 27. Luckhurst E, McNaaly C, Spratt P, Chang V, Penny R. T lymphocyte function following cardiac transplantation. *Transplant Proc* 1986; 18:352-354.
 28. Kung PC, Goldstein G, Reinherz EL, Schlossmann SF. Monoclonal antibodies defining distinctive human T celi antigens, *Science* 1979; 206:347-350.
 29. McKay DB, Milford EL, Carpenter CB, et al. T celi activation in cardiac transplant recipients. *Transplantation* 1994; 58: 241-268.
 30. Westra AL, Heijn AA, Uyama T, Prop J, Wildevuur CRH. Morphologic activation of lymphocytes in blood during rejection of heart and lung grafts in rats. *Transplantation* 1991; 51:705-711.
 31. May RM, Cooper DKC, Du Toit ED, Richard B. Cytoimmunologic monitoring after heart and heart-lung transplantation. *J Heart Transplant* 1990; 9: 133-135.
 32. Hammer C, Klanke D, Lersch C, et al. Cytoimmunologic monitoring (CIM) for differentiation between cardiac rejection and viral, bacterial, or fungal infection: its specificity and sensitivity. *Transplant Proc* 1989; 21: 3631-3633.
 33. Monney ML, Calson P, Szentpetery S, et al. A prospective study of the clinical utility of lymphocyte monitoring in the cardiac trans-

plant recipient Transplantation 1990; 50: 951-954.

34. Roodman ST, Miller LW, Tsai CC, Role of interleukin-2 receptors in immunologic monitoring following cardiac transplantation. Transplantation 1988; 45: 1050-1056.
35. Dummer JS, Bound LM, Singh G, Atchison RW, Kapadia SB, Ho M. The effect of Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infection on T lymphocyte subsets in cardiac transplant patients on cyclosporine. Am J Med 1984; 77:179-184.
36. Waldmaan TA. The structure, function and expression of interleukin-2 receptors on normal and malignant lymphocytes. Science 1986; 232: 727-732.
37. Ömer I, Yalçiner A, Laleli Y, Öztekin I, Yakut C. Kalp transplantasyonlarında sito immünoloji k monitörizasyon. Türkiye Organ Nakli Derneği 1. Bilimsel Kongresi, 20-23 Ekim 1993, Ankara.

Yazışma Adresi: Op. Dr. Denyan MANSUROĞLU
Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi,
81020, Kadıköy – İSTANBUL
Tel : 0 216 325 54 57
Fax: 0216 339 04 41
