

# Ortotopik Kalp Transplantasyonu Yapılan Hastaların Rejeksiyon Takibinde Sitoimmünolojik Monitörizasyonun Etkinliği

Dr. Haşmet BARDAKCI, Dr. Şeref KÜÇÜKER, Dr. Onurcan TARCAN, Dr. M. Ali ÖZATIK, Dr. Mustafa BALCI\*, Doç. Dr. Süha KÜÇÜKAKSU, Doç. Dr. Erol ŞENER, Doç. Dr. Oğuz TAŞDEMİR  
Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği, Ankara \* T. Yüksek İhtisas Hastanesi İmmünoloji Bölümü

## ÖZET

Kardiyak transplantasyon hastaları postoperatif dönemde akut rejeksiyon açısından yakın takip gerektirirler. Transplantasyon sonrası akut rejeksiyonun tanısında endomiyokardiyal biyopsi (EMB) temel yöntemdir. Bununla birlikte sitoimmünolojik monitorizasyon (CIM), akut rejeksiyon tanısında basit, noninvaziv ve günlük kullanıma uygun bir methodur. Bu prospektif çalışmada kliniğimizde ortotopik kalp transplantasyonu yapılan 13 hastada sitoimmünolojik monitorizasyonun akut rejeksiyonun erken tanısındaki etkinliğini saptamayı ve literatür bilgileri ışığında tartışmayı amaçladık. Hastaların ilk 6 aylık takiplerindeki CIM verilerini, EMB ve klinikleri ile karşılaştırdık. Elde edilen sonuçlarla CIM 'in sensitivitesi %85,71, spesivitesi %75 ve pozitif tahmin değeri %85,71 bulunmuştur. Sonuç olarak CIM kalp transplantasyonu yapılan hastaların özellikle erken dönem günlük takibinde EMB'nin sıklığını azaltıcı ve zamanlaması için fikir vericidir, ancak akut rejeksiyon tanısında sınırlı yardımcı olduğu gözönüne alınarak diğer tanı metodlarıyla birlikte kullanılmamalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Kalp transplantasyonu, akut rejeksiyon, endomiyokardiyal biyopsi, sitoimmünolojik monitorizasyon

Kalp yetersizliği her geçen gün insidansı ve prevalansı artan bir sağlık sorunudur. Son yirmi yıldır kalp hastalıklarının medikal tedavisinde kaydedilen ciddi ilerlemelere karşın, kalp yetersizliği gelişen hastalarda ölüm riski hala yüksektir.

Konvansiyonel tedaviye yanıt vermeyen ileri derecede kalp yetersizliği olan hastalarda kalp transplantasyonu tek ve kesin tedavi yöntemidir. İmmünoşüpresyon uygulamasındaki başarının artması sonucunda,

ortotopik kalp transplantasyonu ile 1 yıllık yaşam oranı %80'nin, 5 yıllık yaşam oranı da % 65'in üzerindedir (2). İmmünoşüpresif tedavideki ilerlemelere karşın kalp transplantasyonu sonrası ilk 30 günde ve uzun dönem takiplerde enfeksiyon ve rejeksiyon majör ölüm nedeni olmaya devam etmektedir (3). Rejeksiyonda fokal nekroz başlamadan önce tanı konulması ve erken tedaviye başlanması ile inflamatuvar değişiklikler tamamen düzelebilmektedir. Akut rejeksiyon tanısında endomiyokardiyal biyopsi (EMB) standart yöntem kabul edilmektedir (4). Bununla birlikte EMB uygulamasında birçok sorunla karşılaşmaktadır. Bu sorunlardan bazıları; biyopsinin uygun bölgeden alınamaması, histolojik preparatları hazırlamadaki zorluklar, transplantasyon sonrası işlemin zamanlaması, tekrarlanan invaziv işlemlere bağlı olarak hastada oluşan stress, uygulanacak tedaviye karar vermede karşılaşılan güçlükler, triküspit kapak komplikasyonlar ve perikardiyal efüzyondur (4,5).

Sitoimmünolojik monitorizasyon (CIM) birçok merkezde rejeksiyon takibinde endomiyokardiyal biyopsiye yardımcı bir yöntem olarak kullanılmaktadır ve noninvaziv, sık uygulanabilir, histopatolojik bulgulara uyumlu ve erken tanıya yardımcı bir yöntem olarak tanımlanmaktadır (5).

Bu prospektif çalışmada kliniğimizde ortotopik kalp transplantasyonu yapılan hastalarda sitoimmünolojik monitorizasyonun akut rejeksiyonun erken tanısındaki etkinliğini saptamayı ve literatür bilgileri ışığında tartışmayı amaçladık.

## MATERYAL ve METOD

Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Kardiyovasküler Cerrahi Kliniği'nde ilk kalp transplantasyonu 1968 yılında yapıldı. Mayıs 1998 - Ağustos 2001 tarihleri arasında opere

Alındığı tarih: 12 Aralık 2001 , revizyon 16 Temmuz 2002  
Yazışma adresi: Dr. Haşmet Bardakçı Kıracağı sok. Çiğdem apt. 12/6 Maltepe - Ankara  
Tlf: (0 312) 310 30 80 / 1239  
E-posta: hasmetbardakci@yahoo.com  
Çalışmanın ilk bölümü 25 - 29 Ekim 2000, İstanbul Ü ÖNKKD Transplantasyon Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

edilen 15 hastadan postoperatif erken dönemde rejeksiyon dışı nedenle kaybedilen iki hasta hariç 13'ünde rejeksiyon takibi ilk 6 aylık dönemde sitoimmünolojik monitörizasyon ve ihtiyaç duyulduğu zamanlarda endomiyokardiyal biyopsi ile yapıldı. Takip edilen hastaların 7 tanesine biatriyal kaf tekniği, 6 tanesine de bikaval anastomoz tekniği ile transplantasyon yapıldı. Çalışmaya dahil edilen hastaların biri kadın, on ikisi erkek olup yaşları 16 ile 58 arasında değişmekte ve ortalaması  $41.62 \pm 11$  idi. Hastalar preoperatif dönemde 3 - 71 ay arasında ortalama  $22.92 \pm 19$  ay medikal tedavi ile takip edildiler. Donörlerin tamamı erkek olup, yaş ortalaması  $28 \pm 10$  idi ve preoperatif dönemde yakınlarından alınan anamnezlerinde özellik yoktu. Üç dönörün ortalaması 258dk süre ile  $\leq 10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{dk}$  dozunda dopamin ihtiyacı oldu. Grefti değerlendirmek amacı ile donörlerin tamamının fizik muayenesi yapıldı, elektrokardiyografileri değerlendirildi, buldukları merkezlerin imkanları dahilinde ekokardiyografileri yapıldı, donör yaşının 41 olduğu bir hastada koroner anjiyografi yapıldı. Yapılan tüm ekokardiyografiler normaldi, koroner anjiyografi yapılan hastanın sol ön inen koroner arter distalinde minimal, hemodinamik önem oluşturmayan iki plak mevcuttu ve bu greft kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen greftlerin iskemik süreleri ortama 164dk idi.

Hastaların postoperatif klinik takibi fizik muayene bulguları, rutin biyokimya, hematolojik tetkikler, elektrokardiyografi, telekardiyografi, tam idrar tetkiki, idrar, boğaz, balgam kültürleri, ekokardiyografi, sitoimmünolojik monitörizasyonla ve gerektiğinde endomiyokardiyal biyopsi ile yapıldı. Hastalara operasyondan 2 - 4 saat önce intravenöz yolla  $4 \text{mg}/\text{kg}$  azatioprin, operatif dönemde kross klemp kaldırıldıktan sonra  $500 \text{mg}$  metilprednizolon, postoperatif yoğun bakım döneminde azatioprin  $2 \text{mg}/\text{kg}/\text{gün}$ , metilprednizolon  $125 \text{mg}$  günde üç kez verildi, idrar çıkımı stabilleşince ortalama 10 - 12 saatte siklosporin (Cyc A)  $0.1 \text{mg}/\text{kg}/\text{saat}$ , kan düzeyi  $250 - 300 \text{ng}/\text{ml}$  olacak şekilde başlandı, uzun süreli takipte siklosporin  $2.5-10 \text{mg}/\text{kg}/\text{gün}$ , azatioprin  $1-2 \text{mg}/\text{kg}/\text{gün}$ , prednizolon  $0.3-0.15 \text{mg}/\text{kg}/\text{gün}$  şeklinde klasik üçlü immünosupresif tedavi verildi, grade 2 ve üzeri akut rejeksiyon durumlarında metilprednizolon 3 gün süreyle  $1 \text{gr}/\text{gün}$ , yetersiz kaldığı durumlarda OKT3  $5 \text{mg}/\text{gün}/7-14$  gün uygulandı.

### Sitoimmünolojik Monitörizasyon Protokolü

Hastalardan düzenli olarak periferik kandan aseptik teknik ile K3 EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı.  $12 \times 75 \text{mm}$ 'lik işaretlenmiş falkon tüplerinde  $20 \text{L}$  monoklonal antikor ile  $100 \mu\text{L}$  tam kan örneği karıştırıldı. 30 dk oda ısısında karanlıkta bekletildikten sonra  $1 \times \text{FACS}$  Lysing solüsyonundan  $2 \text{mL}$  her tüpe eklendi ve 10dk daha aynı şekilde bekletildi. Süre sonunda  $300 \times \text{g}$ 'de oda ısısında 5dk santrifüj edildi. Süpernatant  $50 \mu\text{L}$  residü hacim kalacak şekilde aspire edildi. Kalan kısım vortekslenerek  $2 \text{mL}$  fosfatlı tampon solüsyonu eklendi. Tekrar vortekslenerek oda ısısında  $200 \times \text{g}$ 'de 5dk santrifüj edildi. Aspirasyon ve vortekslenme işlemleri yeniden tekrarlandıktan sonra  $0.5 \text{mL}$  %1'lik paraformaldehit eklenip karıştırıldı. Hazırlanan hücreler FACScan (Becton Dickinson) akım sitometri cihazında analiz edildi. Analizde Lysis-II yazılımı kullanıldı. Hasta popülasyonunda bulunan CD4, CD8, CD25 değerlerini karşılaştırmada hasta sayısının sınırlı olması nedeniyle

kontrol grubu oluşturmak yerine elde edilen sonuçlar literatür bilgileri ışığında değerlendirildi.

Bugüne kadar yapılan klinik araştırmaların sonuçlarına göre;

1 - Aktif T hücrelerinin eşik değeri %5 üzerine çıkması, CD 25'in %10'un üzerinde bulunması ve CD4/CD8 (1 olması akut red olayı

2 - Aktif T hücrelerinin eşik değeri %5 üzerine çıkması ve CD4/CD8 (1 olması akut bakteriyel enfeksiyon ya da rejeksiyon

3 - Aktif T hücrelerinin eşik değeri %5 üzerine çıkması ve CD4/CD8 (1 olması viral enfeksiyon yönünde değerlendirilmiştir (6-8).

Bu protokolle elde edilen veriler hastaların kliniği ve diğer verileri ile birleştirilerek hastaların durumları değerlendirildi.

Protokole göre tüm hastalardan ilk iki haftada gūnaşırı, daha sonra ayda bir kez ve ihtiyaç duyulduğunda daha fazla sayıda olacak şekilde altıncı aya kadar kan örnekleri alındı ve bu kan örneklerinde beyazkūre sayımı, aktive lenfosit yüzdesi, lenfosit yüzey antijen düzeyleri, CD4/CD8 oranı ve kan siklosporin düzeyi çalışıldı. Sitoimmünolojik monitörizasyonda Becton Dickinson firması tarafından üretilen monoklonal antikorlar kullanıldı. Siklosporin ilaç düzeyleri FPIA (Florasana Polarizasyon İmmün Assay) yöntemiyle ölçüldü. Elde edilen bu değerler Windows 6.0 Excell programı ile grafiğe aktarıldı.

### BULGULAR

CIM verileri takip edilen hastaların 7'sinde (% 53.84) rejeksiyon yönünde idi ve bunlara EMB yapıldığında 6 tanesinde grade 1 ve üzeri rejeksiyon saptandı, bir hastada ise EMB normaldi. CIM'in enfeksiyona işaret ettiği 2 hastadan (%15.38), klinik olarak bir tanesinde enfeksiyon saptandı. CIM'in dalgalı seyir gösterdiği 2 hastanın (%15.38) bir tanesinde klinik bulgular normaldi, diğerinin kliniği enfeksiyon, EMB'si ise normaldi. Normal CIM bulguları olan 2 hastanın (%15.38) EMB'lerine bakıldığında bir tanesi normalken diğerinde grade 1A rejeksiyon mevcuttu (tablo1).

Hastaların sonuçları ayrı ayrı değerlendirildiğinde ilk hastanın ikinci haftadaki CD4/CD8 oranları 1.6 ve 1.7 idi ve beyazkūre sayısı 10 bin civarındaydı. Bu bulgular bakteriyel enfeksiyon lehine değerlendirildi ve yapılan klinik incelemede pnömokoksik pnömomi saptanıp tedavi edildi.

İkinci hasta klinik bulgu vermeksizin ani ölümlü postoperatif üçüncü ayında evinde kaybedildi. Bu hastanın CD4/CD8 oranları dalgalı bir seyir izlemiştir

Tablo 1. Hasta takip sonuçları

	AKTİVE T LENFOSİT (%)	CD25 ORANI (%)	SİKLOSPORİN DÜZEYİ ng/ml	CD4/CD8 ORANI	CIM TANISI	KLİNİK TANI	EMB TANISI
hasta 1	15.2	5.1	295	1.6	Enfeksiyon	enfeksiyon	-
hasta 2*	1,7-27	1,5-8,8	138-256	0.7-2,8	Dalgali seyir	normal	-
hasta 3	24	16	247	2.3	Rejeksiyon	normal	grade 0
hasta 4	13.3	31	263	2.6	Rejeksiyon	normal	grade 1A
hasta 5	15.4	17	217	1.6	Rejeksiyon	normal	grade 1A
hasta 6	12	23	204	1.8	Rejeksiyon	normal	grade 1A
hasta 7	19	28	298	2.4	Rejeksiyon	rejeksiyon	grade 3A
hasta 8	14	19	269	1.7	Rejeksiyon	normal	grade 1A
hasta 9	13	34	276	2.9	Rejeksiyon	rejeksiyon	grade 2,1B,1B
hasta 10	5.2	9	301	1.2	Normal	normal	grade 0, 0
hasta 11	14	8	290	0.5	Enfeksiyon	normal	grade 0
hasta 12	3.1	12.4	276	1.1	Normal	normal	grade 1A, 0
hasta 13*	4-27,2	2-21	161-297	0,6-2,3	Dalgali seyir	enfeksiyon	grade 0

\* 2 ve 13'üncü hastaların verileri dalgali seyrettiği için en düşük ve en yüksek değerler bildirilmiştir

ve lenfosit yüzdeleri giderek yükselmişti. Hastanın CD4/CD8 oranlarının dalgali seyri Cyc A düzeylerinin de dalgali seyretmesine bağlanmıştı. Hastaya endomiyokardiyal biyopsi planlandı ancak hasta EMB öncesi ani ölümle kaybedildi.

Yedinci hastanın CD4/CD8 oranları üç ve onbirinci günler arasında 2'nin üzerinde seyretti. İlk hafta sonundaki CD25 değerlerinde %50'ye yakın artış görülmesi ve hastanın kliniğinin bozulması nedeniyle rejeksiyon tedavisine başlandı. Metilprednizolon ve takiben OKT3 uygulandı. Bu dönemde yapılan EMB sonucu baskılanmış akut rejeksiyon ile uyumlu bulundu. Hasta dördüncü haftanın sonunda sağ kalp yetersizliğinden kaybedildi.

Dokuzuncu hastada CIM verileri akut rejeksiyon düşündürdüğü için onuncu gününde EMB yapıldı ve grade 2 rejeksiyon saptandı. Hastaya metilprednizolon 1gr/gün/iv 3 gün boyunca uygulandı. Tedaviye rağmen CIM değerleri rejeksiyonla uyumlu seyretti ancak kontrol EMB sonucu grade 1B olduğu için ilave rejeksiyon tedavisi verilmedi. Klasik üçlü immünosupresif tedaviye devam edildi. Hastaya ikinci ayında yapılan kontrol biyopsi de grade 1B olarak rapor edildi.

On birinci hastanın üçüncü haftadaki CD4/CD8 oranlarının düşük olması (<1) viral bir enfeksiyonu düşündürdü ancak hastanın ne kliniğinde ne de yapılan laboratuvar tetkiklerinde enfeksiyon tablosu yoktu.

On üçüncü hastanın CD4/CD8 oranları iki farklı zamanda alınan örnekte 2'nin üzerinde seyretti, bunun dışındaki değerleri normal sınırlardaydı. Hastada postoperatif birinci ayın sonunda diare gelişti yapılan klinik araştırmada gaita mikroskopisinde Giardia Trofozoitleri saptandı, aynı dönem balgam kültüründe de Candida üremesi oldu. Patojenlere uygun tedavi verildi. Hastanın birinci ayında yapılan kontrol EMB'si grade 0 olarak rapor edildi.

Üç, dört, beş, altı ve sekizinci hastaların CIM takiplerinin rejeksiyonla uyumlu olduğu dönemlerde hastalara EMB yapıldı ancak grade 0 ile 1A arasında sonuçlandığı için tedavilerinde değişikliğe gidilmedi. Onuncu ve on ikinci hastaların hem CIM değerleri hem de klinikleri normal seyretti, kontrol EMB sonuçları da grade 0 ile 1A aralığında seyretti (tablo 1).

Bir hastada hipertrikozis, bir hastada da renal fonksiyon bozukluğu nedeniyle siklosporin kesilip yerine

tacrolimus verilerek immünoşpresif tedaviye devam edildi. Hastaların izlem süresi 1- 45 ay arasında değişti. Takip edilen hastalarda allograft survisi ilk bir yıl için %80 idi. Erken dönem mortalite %7.69 ve geç dönem mortalite ise %16.66 idi. Erken dönemde kaybedilen bir hasta birinci ayında sağ kalp yetersizliğinden, geç dönemde kaybedilen iki hastanın bir tanesi üçüncü ayında sebebi tam açıklanamayan ani ölümle bir tanesi de on beşinci ayında immünoşpresif ilaçlarını kullanmayı bırakması sonucunda akut rejeksiyondan kaybedildi. Geç dönemde başka bir şehirde evinde ani ölümle kaybedilen hasta için otopsi yapmak mümkün olmadığından bununla birlikte erken dönemde sağ kalp yetersizliğinden kaybedilen ve geç dönemde akut rejeksiyondan kaybedilen hastaların öykü, CIM,EMB, hemodinamik ve diğer klinik tabloları ölüm nedenlerinin tanısı için yeterli bulundu ve otopsiye ihtiyaç duyulmadı.

## TARTIŞMA

Günümüzde kalp transplantasyonu, son dönem kalp yetersizliğinde tek, etkin tedavi seçeneğidir. 1960'lı yılların sonlarında başlayan ve yetersiz immünoşpresyon sonucu kısa sürede duraksayan insandan insana kalp transplantasyonu 1980'lerde siklosporinin immünoşpresyonda kullanılmaya başlanması ile tüm organ nakillerinde olduğu gibi allograftın yaşam süresinin uzaması sonucunda her yıl artarak uygulanmaktadır. Günümüzde dünyada her yıl 2700'ün üzerinde kalp transplantasyonu gerçekleştirilmektedir (2,9). Bu sayının artırılabilmesi konusunda çalışmalar devam etmektedir. Jeevanandam ve arkadaşları donör grubunun genişletilmesi konusunda yaptıkları çalışmalarında 50 yaş üstü, myokard disfonksiyonlu, ejeksiyon fraksiyonu %35±10, 20µg/kg/dk dozunda dopamin alan, triiodotironin ile resüsite edilmiş, donör ve alıcı kilolarının oranlarının %45±0.4 düzeylerine çıktığı, iskemik süreleri 297.4±53.6 dakikaya uzayan, hepatit C'li ve ileti anormallikleri bulunan 83 kişilik donör grubundan yapılan transplantasyon sonuçlarını, standart donör kriterleri ile oluşturulmuş 113 kişilik donör grubundan yapılanlarla karşılaştırdıklarında, akut rejeksiyon, erken dönem hastane ölümleri, 1 yıllık yaşam oranı ve hemodinamikleri açısından benzer sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir(10).

Kalp transplantasyonu yapılan hastalarda akut hücrel rejeksiyon ve immünoşpresyona bağlı oluşan enfeksiyonlar açısından en riskli dönem operasyondan sonraki ilk altı aydır. Kalp transplantasyonundan sonra meydana gelen ölümlerin %25'i akut rejeksiyondan kaynaklanmaktadır (2,3,11).

Teknik gelişmelere ve immünoşpresif tedavideki ilerlemelere karşın, alıcı için allograft rejeksiyonu yaşam boyunca tehdit oluşturmaktadır. İmmünoşpresyon için birden çok ajanın yeterli dozda kullanımı gereklidir. Bununla birlikte bu ajanlar fırsatçı enfeksiyonlara yol açmayacak dozda olmalıdır. İmmünoşpresif tedavi aralığının dar olması nedeniyle hastalar genellikle hem enfeksiyon komplikasyonlarına hem de rejeksiyon epizodlarına maruz kalmaktadırlar.

Rejeksiyon tüm hastaların %90'ında ortaya çıkmaktadır (9). Erken tanı ve yeterli tedavi bu immün reaksiyonların tamamen tedavi edilebilmesini sağlar. Akut rejeksiyonun kinetikleri henüz tam aydınlatılamamıştır. Alıcı yaşamını tehdit eden bu komplikasyonların tedavi edilebilmesi özellikle rejeksiyonun kardiyak kontraktıl fonksiyonlarda herhangi bir kayıp olmadan tanınabilmesi ile mümkündür (12).

Rejeksiyon tanısında kullanılan endomiyokardiyal biyopsi halen en güvenilir yöntemdir. Ancak EMB invaziv bir yöntem olması nedeniyle özellikle günlük takipler için uygun bir yöntem değildir. Ayrıca rejeksiyonun fokal dağılım gösterdiği durumlarda EMB ile yalancı negatif sonuçlar elde edilebilir. Bir hastada rejeksiyon takibi sadece EMB ile yapıldığında klinikler arasında farklılıklar olmakla birlikte yılda ortalama 15 - 20 kez invaziv girişim gerektirir. (4,13).

Rejeksiyonun ortaya çıkarılabilmesi için yeni yöntemlere ihtiyaç vardır. Tanı için kullanılacak alternatiflerin noninvaziv, güvenilir ve sıklıkla uygulanabilir olması gereklidir. Bu konuda elektrofizyolojik çalışmalar, ekokardiyografi, immünoşpresif metodlar, çeşitli biyokimyasal parametreler, radyoizotopik tetkikler ve magnetik rezonans konularında pekçok araştırma yapılmıştır (14). Ancak şimdiye kadar geliştirilen noninvaziv yöntemlerin hiçbiri tek başına bunu sağlayamamaktadır.

Vücudun kendine ait olanı "self" ve olmayanı "non-self" ayırtedebilme yeteneği organizmada doku uy-

gunluk antijenleri ile gerçekleşmektedir. Bu yapı insanlarda Human Leukocyte Antigen (HLA) sistemi olarak bilinir. Rejeksiyon donör hücrelerinin yüzeyindeki HLA antijenlerinin alıcıninkilerden farklı olması nedeniyle immün sistemin aktivasyonu sonucu oluşan kompleks immünolojik bir olaydır<sup>(15)</sup>.

Kalp transplantasyon hastalarının takibi için yapılan erken çalışmalarda karışık lenfosit kültürleri, hücre aracılı lenfolizis, reaktif lökosit blastogenezis tahlili ve donör spesifik antikora bağlı sitotoksiste gibi in-vitro hücrel tetkikler denenmiştir. Bu tetkikler zahmetli, kompleks ve geç sonuç verdiği için akut rejeksiyonun tanısında klinik değeri azdır<sup>(16)</sup>. 1981'den itibaren Thomas ve arkadaşları dolaşımdaki T lenfositlerinin aktivasyon ve subgruplarının monitörizasyonunu E - rosette assay yöntemiyle yapmışlardır. T hücrelerinin koyun eritrositleri ile rozet formasyonu oluşturması sayesinde periferik kandaki diğer mononükleer hücrelerden ayırddedilmesini sağlayan bu yöntem erken dönemlerde siklosporin almayan hastaların takibinde kullanılmıştır<sup>(17)</sup>.

1984' te Hammer ve arkadaşları sitoimmünolojik monitörizasyonu (CIM) geliştirmişlerdir. Bu yöntemle periferik kanda lenfosit subgruplarının değişimi değerlendirilmekte ve mononükleer hücre preparatlarında artmış sayıda lenfoblast veya prelenfoblastların bulunması ile immün sistemin aktivasyonu tespit edilmektedir<sup>(6,7,16)</sup>.

Lenfosit subgrupları lenfositlerin yüzey antijenlerinin monoklonal antikolar kullanılarak işaretlenmesi ile belirlenir. Sitoimmünolojik monitörizasyon periferik kanda mononükleer hücrelerin morfolojik olarak inspeksiyonu ile lenfosit subgruplarının fenotiplerinin birlikte değerlendirilmesine dayanmaktadır. Bu yolla rejeksiyonun erken tanısı ve rejeksiyon ile enfeksiyonun ayırımının yapılabileceğini bildiren çalışmalar vardır<sup>(6 - 9,18,19)</sup>.

Aktive lenfoid hücrelerin (lenfoblastlar, aktive lenfositler, plasmasitoid hücreler) total lenfoid hücre popülasyonuna oranı rölatif değer, bir mikrolitre kandaki aktive hücre sayısı da mutlak değer olarak kabul edilir. Bu konuda yapılan çalışmalarda aktive T lenfositlerin rölatif oranının % 5'in ve mutlak değerinin mililitrede 50' nin üzerinde olması lenfosit aktivasyonu kabul edilmektedir<sup>(8,9)</sup>. Bununla birlikte lenfosit aktivasyonunun inflamatuvar hastalıklar ve

viral enfeksiyonlardan da etkilenmesi, rejeksiyon ile enfeksiyon ayırımının yapılabileceğini güçleştirmektedir<sup>(18)</sup>.

Mononükleer hücre konsantratlari aktivasyon indeksinin de (oran : lenfoblastlar/lenfoid hücreler X 100) farklı derecelerdeki akut rejeksiyonla uyumlu olduğunu ve akut rejeksiyonun koroner sinüsten alınan kan örneklerinden yapılan CIM yoluyla periferik kandan yapılan CIM'den daha erken saptanabileceğini bildiren deneysel çalışmalar vardır<sup>(19)</sup>.

Hammer ve arkadaşları CIM ile rejeksiyon, viral, bakteriyel veya fungal enfeksiyonların ayırımının yapılabileceğini bildirmişlerdir<sup>(20)</sup>. CIM'in kalp transplantasyonu sonrası rejeksiyonun tanısında ilk rejeksiyon epizoduna kadar veya ilk 6 aylık sürede kullanışlı olduğu bildirilmektedir<sup>(7,8,19)</sup>. Bu iki fenomenle açıklanmaktadır, bunlardan birincisi ilk akut rejeksiyondan sonraki akut rejeksiyonların şiddetinin daha az olması ve buna bağlı olarak dolaşımdaki aktive olan lenfositlerin miktarının az olması, ikincisi ise EMB ile saptanan bir akut rejeksiyon olmadığı halde, enfeksiyonların lenfosit aktivasyonu yapabileceğidir<sup>(21)</sup>.

Yapılan çalışmalarda CD4/CD8 oranının akut rejeksiyon veya enfeksiyon tanısında sensitivitesinin %43 - 100, spesifitesinin %56 - 94 aralığında değiştiği bildirilmektedir<sup>(6,16,22,23)</sup>. Lenfosit aktivasyonunun %5 eşik değere göre sensitivitesi %58 - 95, spesifitesi %90 -91 oranlarında değişmektedir<sup>(7,8)</sup>. Wijngaard ve arkadaşları kalp transplantasyonu yapılan hastaların CIM ile rejeksiyon takiplerindeki 6 yıllık sonuçlarını sundukları çalışmalarında CIM'in sensitivitesini %29, spesifitesini %73, tahmin değerini %66 bildirmişlerdir<sup>(19)</sup>. Bazı araştırmacılarca CD4/CD8 oranlarındaki değişikliklerin bir rejeksiyonun belirtisi olabileceği ancak bu enfeksiyondan da kaynaklanabileceği için nonspesifik olduğu, CIM'in alıcının periferik kanındaki lenfosit aktivasyonunu %95 sensitivite ile saptadığı ancak rejeksiyonu tanımda kullanıldığında %28 yanlış pozitiflik gösterdiği bildirilmiştir<sup>(23 -25)</sup>.

Avrupadaki 12 ayrı kalp transplantasyonu merkezi tarafından CIM'in güvenilirliğini değerlendirmek için yapılan çok merkezli çalışmada lenfosit aktivasyonunun ayırddedilmesinde ciddi farklılıklar tespit edilmiştir. Bunun nedeni olarak da etkilenen hücre tipleri

rinin tanınması ve sınıflandırılması işlemini yapan kişilerin değerlendirmelerindeki farklılıklar gösterilmiştir (26).

Bizim klinik deneyimimizde sitoimmünolojik monitörizasyonla takip ettiğimiz 13 olgudan bir tanesinde enfeksiyon, iki tanesinde grade 2 ve üzeri olmak üzere altı hastada akut rejeksiyon, iki tanesinde de normal immünolojik profil klinik incelemeler ve endomiyokardiyal biyopsi ile doğrulanmıştır. CIM ve rilerinin rejeksiyonla uyumlu olduğu bir hastanın EMB'si grade 0 gelirken, enfeksiyon ile uyumlu olduğu bir hastada normal klinik bulgular saptanmıştır. Takip sürecinde tüm hastalara toplam 15 biyopsi yapılmıştır, bu sayı rejeksiyon takibinin sadece EMB ile yapıldığı protokollerden oldukça düşüktür. Elde edilen sonuçlarla CIM 'in sensitivitesi %85,71, spesivitesi %75 ve pozitif tahmin değeri %85,71 bulunmuştur.

Hasta sayımızın düşük olması nedeniyle sonuçlarımızı literatür bilgileri ışığında değerlendirdik. Değişik merkezlerin sonuçlarına göre sitoimmünolojik monitörizasyonun rejeksiyon ile enfeksiyonun net ayırımında yetersiz olması, sensitivite ve spesifitesinin kullanılan eşik değere göre farklılıklar göstermesi, morfolojik incelemenin subjektif olması, değerlendirmenin kliniklerin deneyimleriyle ilgili olması, akut rejeksiyonun tanısında ilk 6 aya kadar veya ilk epizoda kadar etkin olması kullanımını sınırlamaktadır. CIM'in endomiyokardiyal biyopsinin yerine kullanılamayacağı açıktır. Major avantajı basit, noninvasiv, EMB'den daha sık tekrarlanabilen ve rejeksiyonların tanısında EMB'den önce fikir verici bir yöntem olmasıdır. CIM kalp transplantasyonu yapılan hastaların özellikle erken dönem günlük takibinde ve ilk 6 aylık dönemde akut rejeksiyonun erken tanısında EMB'nin sıklığını azaltıcı ve zamanlaması için fikir verici, ancak sınırlı yardımı olduğu gözönüne alınarak diğer tanı metodlarıyla birlikte kullanılacak bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

## KAYNAKLAR

1. Bardakçı H, Küçüker Ş, Tarcan O ve ark: Ortotopik Kalp Transplantasyonu Yapılan Hastaların Rejeksiyon Takibinde Sitoimmünolojik Monitörizasyonun Etkinliği II-ONKKD Transplantasyon Kongre Özet Kitabı 25-29 Ekim 2000, İstanbul
2. Hosenpund JD, Bennet LE, Berkeley MK, et al: Registry of the international society for heart and lung trans-

plantation: fifteenth official report - 1998. J Heart Lung Transplant 1998; 17: 656-68

3. Elaine Winkel, Verdi J: DiSesa, Maria Rosa Costanzo. Advances in heart transplantation. Disease-a-Month Part I, March 1999

4. International Society for Heart Transplantation, Billingham ME, Cary NRB, 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: 587-93

5. Williams MJ, Lee MY, DiSalvo TG: Biopsy induced flail tricuspid leaflet and tricuspid regurgitator following orthotopic cardiac transplantation. Am J Cardiol 1996 Jun 15; 77: 1339-44

6. Mansuroğlu D, Kırallı K, Güler M, ark: Kalp transplantasyonunda red fenomeninin sitoimmünolojik monitörizasyon yöntemi ile izlenmesi. GKDC Dergisi 1998;6:369-78

7. Wijngaard PLJ, Gimpel JA, Schuurman H-j, et al: Monitoring rejection after heart transplantation: cytoimmunological monitoring on blood cells and quantitative birefringence measurements on endomiyokardiyal biyopsi specimens. J Clin Pathol 1990; 43: 137-42

8. Hammer C, Reichenspurner H, Ertel W, et al: Cytologic and immunologic monitoring of Cyclosporin-treated human heart recipients. Heart Transplant 1984; 3: 228-32

9. Fleischer KJ, Baumgartner WA. Heart Transplantation. In: L. Henry Edmunds Jr, editor. Cardiac Surgery in The Adult. New York: The McGraw-Hill Companies Inc. 1997: 1411

10. Jeevanandam V, Furukawa S, Predengast TW et al: Standart criteria for an acceptable donor heart are restricting heart transplantation. Ann Thorac Surg 1996 Nov; 62: 1268 - 75

11. Solis E, Kaye MP: The registry of international society for heart transplantation: third official report -june 1986; 5: 2-5.

12. Schütz A, Kemkes BM, Breuer M, et al: Kinetics and dynamics of acute rejection after heterotopic heart transplantation. J Heart Transplant 1992; 11: 289-99

13. Levine JM, Baim SD: Endomyocardial biopsy. In: Grossman W, Baim SD editors. Cardiac Catheterization, Angiography and Intervention, Fourth Edition. Philadelphia: LEA & FEBIGER, 1991: 383-95

14. Kemkes BM, Schütz A, Engelhardt M, et al: Noninvasive methods of rejection diagnosis after heart transplantation. J Heart Transplant 1992; 11: S221-31

15. Düzgün N: Transplantasyon İmmün Biyolojisi. Tokgöz G, editör. Klinik İmmünoloji Kitabı. Ankara: Antıp A.Ş Yayınları, 1997: 30-38

16. Kotylo PK, McCloskey DW, Moriarty A, et al: Immunologic monitoring of the cardiac transplant patient. Chest 1988; 94: 834-36

17. Thomas F, Lee, H, Lower R et al: Value of immunologic monitoring studies of human E, EA and EAC ro-

setting lymphocyte subpopulations in renal and cardiac transplantation. *Transplant Proc* 1981; 13: 1599-1603a

**18. Monney ML, Calson P, Szentpetery S, et al:** A prospective study of clinical utility of lymphocyte monitoring in the cardiac transplant recipient. *Transplantation* 1990; 50: 951 - 54

**19. Peter LJ, Doornewaard WH, van der Meulen A, et al:** Cytoimmunologic monitoring as an adjunct in monitoring rejection after heart transplantation: Results of a 6 - year Follow - up in Heart Transplant Recipients. *J Heart and Lung Transplantation* September / October 1994

**20. 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: 3631-33

**21. Wijngaard PLJ, Van der Meulen A, Schurman HJ, et al:** Cytoimmunologic monitoring for the diagnosis

of acute rejection after heart transplantation. *Transplant Proc* 1989; pp2521 - 22

**22. Feiguth HG, Haverich A, Schaeffers HJ, et al:** Cytoimmunologic monitoring in early and late acute rejection. *J heart Transplant* 1988; 7: 95-101

**23. Reader JA, Burke MM, Counihan P, et al:** Noninvasive monitoring of human cardiac allograft rejection. *Transplantation* 1990; 50: 29-33

**24. Hanson CA, Bolling SF, Stoolman LM, et al:** Cytoimmunologic monitoring and heart transplantation. *J Heart Transplant* 1988; 7: 424

**25. Ertel W, Reichenspurner H, Hammer C, et al:** Cytoimmunologic monitoring a method to reduce biopsy frequency after heart transplantation. *Transplant Proc* 1985; 17: 204

**26. Schubel C, Caca K, Dirschedl P, Hammer C, Kempkes BM.** Reliability of cytoimmunologic monitoring after heart transplantation: a multicentre study. *Transplant Proc* 1990; 22: 2317-8