

150 KALP BİYOPSİSİNDE REJEKSİYON BULGULARININ STANDART ISHT DERECELEME SİSTEMİNE GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ VE BU TABLOYA EŞLİK EDEN MORFOLOJİK ÖZELLİKLER

Dr. Vildan Karpuz, Dr. Sophie Diebold-Berger, Prof. Dr. Betina Borisch

ÖZET: Kalp transplantasyonlu hastaların takip ve tedavilerinin yönlendirilmesine yardımcı olan en öncelikli yöntem endomiyokard biyopsilerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesidir. Yedi hastaya ait 150 kalp biyopsisini içeren çalışmamızda bu tekniğin pratikteki çabuklu kve emniyeti gösterilmektedir. Bu tetkik hastanın takibi esnasında seçilecek immunosupresif tedavinin ayarına ışık tutmanın dışında, fırsatçı bir enfeksiyon ve progressif bir aterosklerozun tanısına da yardımcı olmaktadır.

ANAHTAR KELİMELEER: Kalp transplantasyonu, rejeksiyon, biyopsi.

SUMMARY: 150 transvenous percutaneous endomyocardial biopsies obtained from seven orthotopic heart transplant recipients are documented. The analysis of the results confirms the very important place that this technique has in the control of these patients. The technique, although invasive, remains the method of choice, for is safe, reliable and rapid, not only for the early detection of acute rejection, but also as a means of monitoring immunosuppressive treatment in such instances. It is also a useful diagnostic tool for diagnosing opportunistic infections as well as atherosclerotic lesions in longterm survivors.

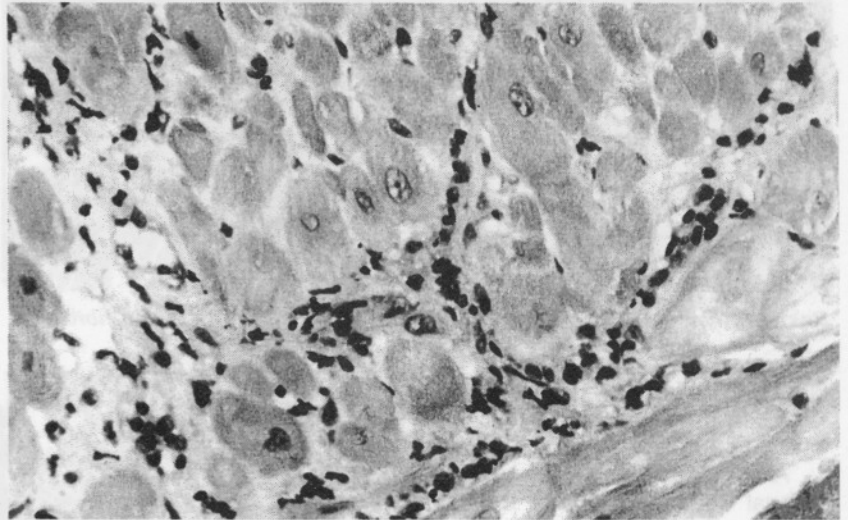
KEY WORDS: Heart transplantation, rejection, biopsy.

GİRİŞ

Kalp rejeksiyonunun genel histolojik tablosunda, lenfositlerin hakim olduğu perivas-küler ve interstisyel iltihabi bir infiltrasyon, bu-na eşlik eden veya etmeyen fokal miyosit nekrozu odakları ve ödem gözlenir (1).

Rejeksiyonu engellemek üzere siklospo-rinin kullanılmaya başlaması ortotopik kalp transplantasyonu konusunda yeni bir çıkır açmıştır (2). Bu yeni tedavi yöntemi ile T len-fositleri inhibe edilerek greft taşıyıcılarının yaşam oranı bir yılda % 88'e dek uzatılmıştır (3). Kalp transplantasyonuna aday olan hastaların seçim kriterlerinin daha iyi değerlendirilmesi, kalbin prelevmanı ve transplantasyonu arasındaki sürenin daha kısaya indirgenmesi ve miyokardın transplantasyona dek daha uygun şartlarda korunabilmesi ile bu oranı daha da yükseltmek mümkün olacaktır.

Bu konuda yapılan çalışmalara ve kaydedilen ilerlemelere rağmen, kalp transplantasyonlu hastalarda en sık görülen ölüm nedeni, ilk altı ay içerisindeki akut rejeksiyondur(3). Bu hastalarda rejeksiyona ait bir çok belirti olmakla birlikte, bunların çoğu geç tesbit edilebilmektedir. Elektrokardiyografi ve ekokardiyografi gibi invazif olmayan yöntemler bu konuda büyük ölçüde yardımcı olmaktadır(4). Son yıllarda P-31 ile gerçekleştirilen manyetik rezonans (5) ve Doppler ekokardiyografisi (2,6) yeni ve çok geçerli yöntemler olmakla birlikte, bir rejeksiyonu daha öncelikle tesbit etmek için yeterli hassasiyet ve özgüllüğü taşımamaktadırlar. Bu nedenle endomiy-



Resim 1. Evre 2: Unifokal aktif infiltrasyon odağı ve lenfositlerle çevrili miyositlerde barabiyet (HEEx40).

kard biyopsisi bütün bu metodların arasında, takip ve akut rejeksiyonun erken teşhisi için en geçerli yöntem gibi görünmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 1992-95 yılları arasında, Cenevre Kanton Üniversitesi Hastanesi Kalp Cerrahisi servisinde 7 transplan-tasyon olgusundan alınan 150 endomiyokardik biyopsi, his-topatolojik olarak yeniden gözden geçirilerek değerlendirildi. Bugün halen hayatta olan bu hastalarda, transplantasyonun başlangıcından itibaren maksimum yirmiüç biyopsi uygulan-dı. Her seferinde yalancı bir negatifliği önlemek için, ortala-

TABLO 1. 147 ENDOMİYOKARDİK BİYOPSİNİN (3 BİYOPSİ, YETERSİZ MATERYAL OLARAK DEĞERLENDİRİLİP ÇALIŞMA DIŞI TUTULMUŞTUR) REJEKSİYON EVRELERİNE GÖRE (ISHT) DAĞILIMI

Rejeksiyon evresi	0	1		2	3		4
		a	b		a	b	
Biyopsi sayısı	8	88	23	14	10	3	1

ma 4-6 miyokard örneği (en az 4 miyokard örneği) incelemeye alındı. Daha az sayıda parça içeren 3 örnekleme yetersiz materyal olarak değerlendirildi.

Biyopsiler % 10'luk formol solüsyonu içerisinde fikse edildikten sonra parafin blokları haline getirilip 4 mikron kalınlığında kesildi. Bu kesitler Hematoksilen-Eozin (HE), van Gieson elastin ve "tricrom de Mason" boyaları ile boyandı. Bu prose-

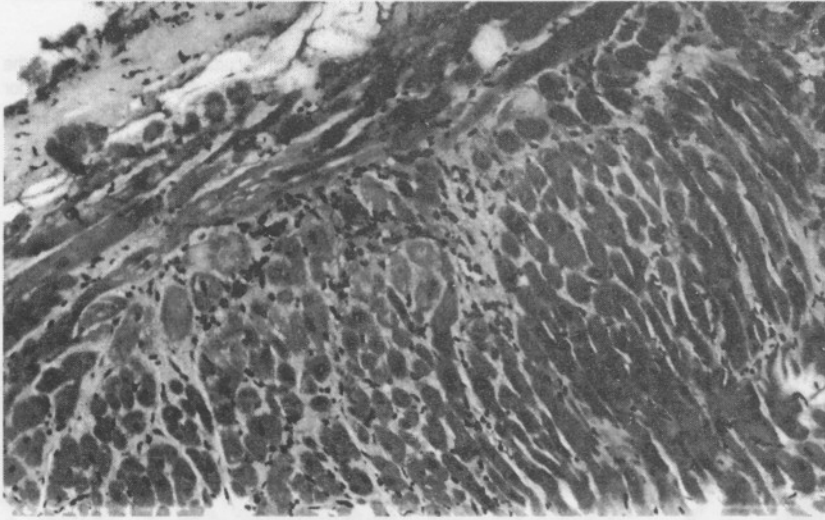
Ard arda gerçekleştirilen bu biyopsilerin ışığında, sonuncu olguya ek olarak, evre 2 ve üzerinde rejeksiyon bulgusu gözlenen tüm olgulara immunosupresif tedavi düzenlendi. Bu tedavi şekli evre 2'den itibaren immunosupresif uygulama yapıldığı belirtilen literatüre uygun idi (2). Sonuç olarak rejeksiyon bulgularının önce hafif dereceye indiği daha sonra da tamamen kaybolduğu izlendi.

Biyopsi örnekleri üzerinde saptanan genel morfolojik bulgular şunlardı:

1) Bir önceki biyopsiye ait olan: Daha önce gerçekleştirilmiş eski veya yeni bir biyopsi varlığında bu bölgedeki fibrin depoları, granülasyon dokusunun çevrelediği organize trombüs gibi imajlar ve sikatrissel dokunun alttaki miyokard lifleri arasında ilerlemesi, rejeksiyonun evrlenmesinde zorluk yaratmaktaydı. Bu bulgu biyopsilerde % 25 kadar oranda mevcuttu.

2) Çözülme "resolutif" devre: Akut rejeksiyon lezyonlarının bazen kendiliğinden, bazen de tedavi sonucu progressif olarak gerilediği görüldü. Bu lezyonlar tamamen iyileşebiliyor veya sikatrissel bir zemin bırakıyordu.

3) Vasküler duvar değişimleri: Bir tek olguda vaskülit gözlemlendi. Bu olguda endotel hücrelerinin tümeftaksiyonu ve parietal bir ödem söz konusu idi. Arterlerin mükül duvarların-



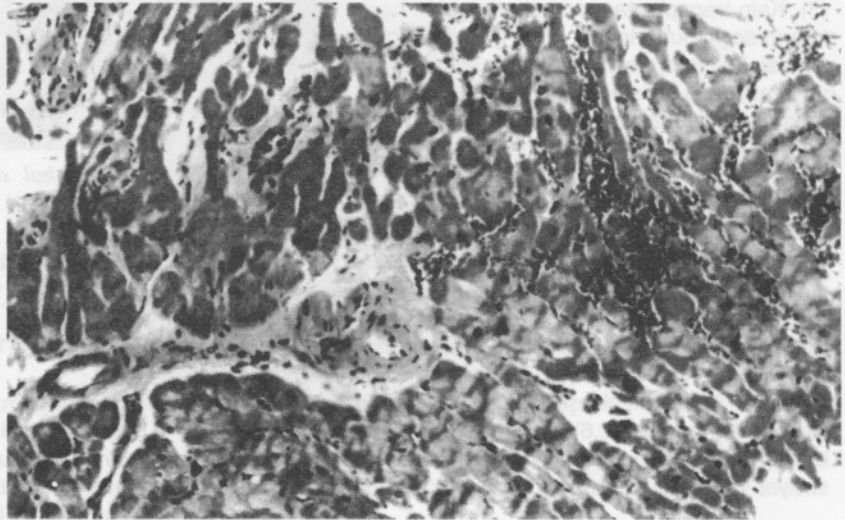
Resim 2. Evre 3a: Eski bir olguda miyokard lifleri arasında yayılan fibroz.

dür, biyopsiyi takiben en çok beş ile altı saat içerisinde uygulanarak, histolojik teşhis ilgili bölümlere iletilirdi.

Akut rejeksiyonun değerlendirilmesi International Society for Heart Transplantation (ISHT) tarafından standardize edilmiş derecelendirme sistemine göre gerçekleştirildi (7).

BULGULAR

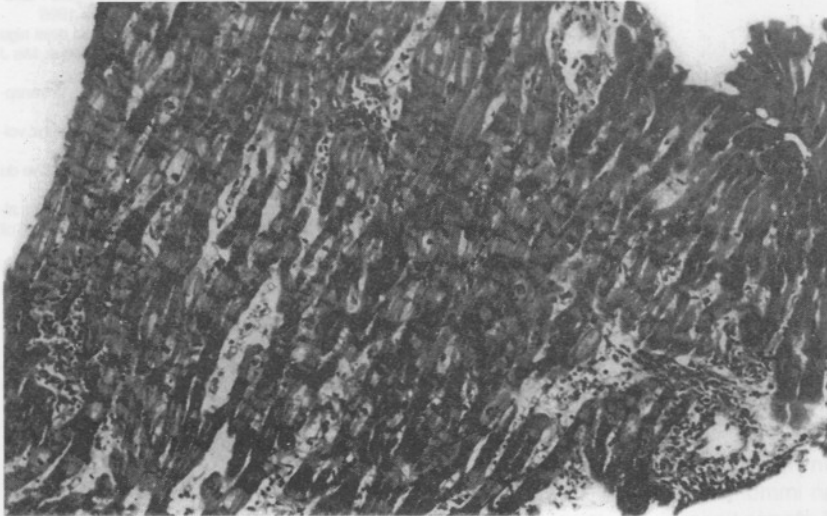
Yetersiz materyal olarak değerlendirilen üç biyopsi haricinde geriye kalan 147 biyopsiden çoğunluğu teşkil eden seksensekizinde evre 1a, yirmiüçünde evre 1b, ondördünde evre 2, on biyopside evre 3a ve üç biyopside de evre 3b rejeksiyon tesbit edildi. Evre 4 kriterlerine sahip bir biyopsi örneği mevcuttu. Sekiz biyopsi örneğinde ise hiç bir rejeksiyon kriterine saptanmadı. Bunların içerisinde evre 3b kriterlerini taşıyan üç biyopsi ve evre 4 kriterlerini taşıyan bir biyopsi örneği aynı olguya ait idi (Tablo 1).



Resim 3. Evre 3b: Mültifokal aktif infiltrasyon ve miyosit barabiyet, arterlerin mükül duvarlarında belirgin kalınlaşma (HEx10).

TABLO 2. STANDARDİZE EDİLMİŞ KARDİYAK BİYOPSİ DERECELENDİRMESİ

Derece	Yeni "nomenklatur"	Eski "nomenklatur"	Texas
0	Rejeksiyon yok	Rejeksiyon yok	Rejeksiyon yok
1	a Fokal perivasküler veya interstisyel infiltrasyon Nekroz yok	Hafif rejeksiyon	1-3
	b Yaygın fakat seyrek infiltrasyon Nekroz yok		
2	Ünifokal aktif infiltrasyon ve/veya fokal miyosit harabiyeti	"Fokal ılımlı rejeksiyon"	4
3	a Múltifokal aktif infiltrasyon ve/veya miyosit harabiyeti	"Düşük derecede" ılımlı rejeksiyon	5-6
	b Yaygın infiltrasyon Nekroz var	"Sınır (borderline)/şiddetli" rejeksiyon	7-8
4	Yaygın, aktif, polimorf infiltrasyon+hemoraji +vaskülit+ödem Nekroz var	"Şiddetli akut" rejeksiyon	9-10



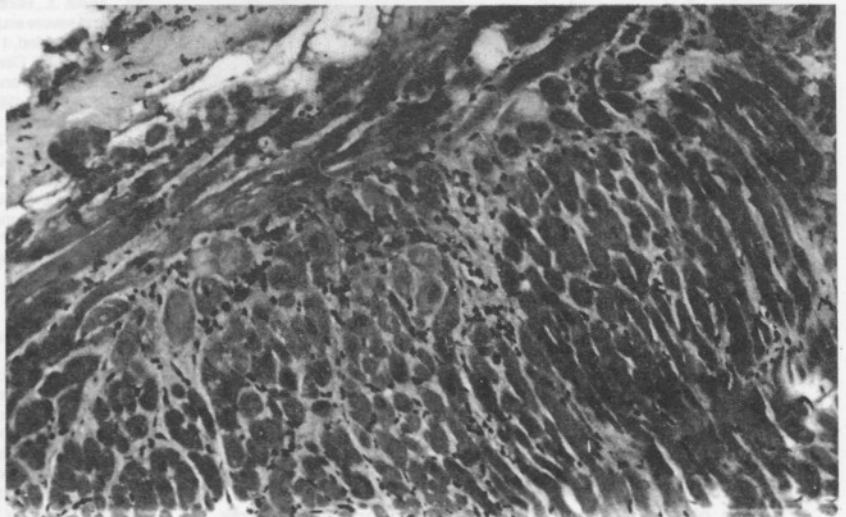
Resim 4. Evre 4: Yaygın, aktif polimorf infiltrasyon, vaskülit ve ödem (HEx10)

da kalınlaşma, pek çok biyopsi örneğinde izlenen kayda değer diğer bir vasküler bulgu idi.

4) Intersitisyel fibroz: Daha eski olgularda miyokard lifleri arasında yayılan, çoğu kez hafif, bazen de belirgin derecede bir fibroz bulunuyordu.

5) Miyokard liflerinin modifikasyonu: Miyokard liflerinin hipertrofisi transplantasyon sonrasında belli bir süre geçtikten sonra tesbit edilen sabit bir bulgu idi. Bazen sikatriyel alanların çevresinde kas liflerinin dezorganizasyonu da göze çarpıyordu.

6) Epikard dokusu mevcudiyeti: 13 biyopside az miktarda iltihabi infiltrasyon taşıyan epikard dokusu parça mevcuttu. Bu bulgu rejeksiyon ile ilgili olarak değil, operasyon sonrasına bağlı olarak değerlendirildi. Aslında bu olgular klinik olarak rejeksiyon komplikasyonları göstermemekteydiler.

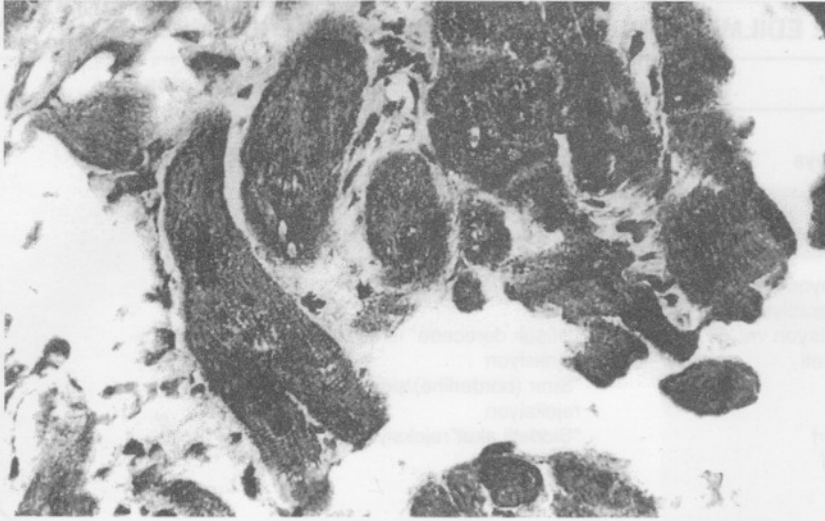


Resim 5. Evre 4: Vaskülit odağı (HEx40)

İRDELEME

Perkütan transvenöz endomiyokardik sağ ventrikül biyopsisi kalp transplantasyonlu hastaların takibinde diğer pek çok tekniğin yanında en önemli yeri işgal etmektedir. Invazif olan bu teknik bizi, rejeksiyonun klinik olarak yerleşmesinden ve irreversibl bir disfonksiyonun oluşumundan önce, miyokarddaki morfolojik değişimleri erken olarak haberdar eder (8,9,10,11). Birbiri ardına tekrarlanan bu biyopsiler rejeksiyonun çeşitli evrelerinden tedavinin takibi için en geçerli yöntem olarak kabul edilir (10,11,12,13,14).

Billingham (1) tarafından ortaya konmuş "Stanford" dereceleme sistemi kardiyak biyopsilerin değerlendirilmesinde temel sistem olarak kalmıştır. "Texas klasifikasyonu" adı altında tanıdığımız dereceleme sistemi ise "Stanford" dereceleme sisteminin (15) modifiye edil-



Resim 6. Eski bir olguda miyokard liflerinin hipertrofisi ve dezorganizasyon (HE40).

miş şeklindedir. Son olarak 1990 yılında kalp rejeksiyonu inceleme grubundan olan Billingham ve arkadaşları(7), yine eski temele bağlı kalarak biraz daha basite indirgenmiş standardize yeni bir dereceleme sistemini ortaya koymuşlardır (Tablo 2). Serimizde kullandığımız dereceleme bu sistemi göre gerçekleştirildi.

Kalp biyopsilerinin değerlendirilmesinde en büyük problemlerden biri akut rejeksiyonu hem klinik hem de morfolojik olarak özellikle viral veya fırsatçı paraziter bir enfeksiyondan ayırd etmektir. İltihap için duyarlı ve emin bir markör olan C-reaktif proteinin serumda tesbiti, bu konuda yardımcı bir tekniktir(16). Biyopsi tekniği ile bazen yalnız rutin HE boyası ile, gerektiğinde de immunohistokimyasal boyaların yardımı ile, örneğin sitomegalovirüs gibi bir mikro-organizmayı somut olarak tesbit etmek mümkündür.

Serimizdeki biyopsilerde rejeksiyon kriterlerinin yanısıra izlenen intersitisel ve perimiyositer fibroz uygulanan immunosupresör tedavinin ikincil etkisi olarak değerlendirildi. Ayrıca vericilerin kalp biyopsileri ile ilgili olarak yapılan bazı çalışmalar, transplantasyon önce ve sonrasında miyokardın çeşitli lezyonlara maruz kaldığını göstermiştir. Bu lezyonlar, kalbin prelevmanı sırasında, kalbin taşınmasındaki korunma şartlarına veya hatalı transporta bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Şartların düzeltilmesi ile kalp transplantasyonu geçirmiş hastalarda ameliyat sonrası optimal bir fonksiyon gözlenmiş, aynı zamanda biyopsilerde perimiyositer fibrozun azaldığı ve hatta tamamen ortadan kalktığı tesbit edilmiştir(17,18).

Heterolog kalp grefi taşıyanların uzun bir yaşam sürecine sahip olmaları ile birlikte, rejeksiyon, fırsatçı enfeksiyonlar, tümör ve ayrıca ateroskleroz gibi problemlerle ortaya çıkmıştır(9,11). Çalışmamızdaki biyopsi örneklerinde, damar duvarlarının kalınlaşması sabit bir bulgu idi. Bir olguda ayrıca vaskülit gözlemlendi. Kalp transplantasyonlu hastaların otopsi materyalinde ise, yaygın enfarktüse eklenmiş olarak belirgin derecede ateroskleroz sıklıkla gözenen bir bulgu idi (19,20). Bütün bu gözlemler bazı transplantasyon merkezlerinde verici yaşını 35 olarak sınırlamaya götürmüştür (5,7).

Sonuç olarak, sağ ventrikülden alınan endomiyokardik biyopsi, kalp rejeksiyonunun takibinde en güvenli ve hızlı metod

olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu metod ile selüler ve humoral rejeksiyonun haricinde bazen hiç şüphelenilmeyen bir enfeksiyon da tesbit edilebilecektir. Bunun yanında rejeksiyon esnasında uygulanan tedavinin etkisini mikroskop ile yakından takip, bir sonraki etapta nasıl bir adım atılacağına dair hekime ışık tutacaktır. Aktüel olarak biyopsi materyali üzerinde immunohistokimyasal teknik yardımı ile tesbit edilen adezyon proteinleri ekspresyonunun (ICAM-1, VCAM-1, ELAM ve ICAM-3 gibi), rejeksiyonun çeşitli evrelerinde anlamlı olarak dalgalandıkları gösterilmiştir. Bu son aşama ile biyopsi materyelinde histopatolojik bulgular yerleşmeden önce muhtemel bir rejeksiyondan haberdar olunabilecektir(21,22,23).

KAYNAKLAR

1. Rosai J. Cardiovascular system: In: Ackerman's Surgical Pathology, 8 th ed./Juan Rosai. Mosby-Year Book, Inc. 1996
2. Desruennes M, Cabrol A, Cabrol C. Le dépistage du rejet aigu du greffon cardiaque apres transplantation cardiaque. Mis J Cardiol, 8: 255-258, 1988.
3. Cox JM, Jacot-des-Combes E. Place de la biopsie endomyocardique dans la transplantation cardiaque. Med et Hyg, 47:394-398, 1989.
4. Losman JG, McDonald J, Levine HD et al. The variation of the electrocardiographic voltage during the day in normal adult subjects. Heart Transplantation, 1:39, 1981.
5. Laurent F, Brin P, Aubry P et al. Transplantation cardiaque: detection non invasive du rejet par echocardiographie. Arch Mal Coeur, 13:1434-1442, 1984.
6. Canby RC, Evanotchk WT, Barrett LV et al. Monitoring the bioenergetics of cardiac allograft rejection using in vivo P-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. J Am Coll Cardiol, 9:1067-1074, 1987.
7. Billingham ME, Hathaniel RB, Hammond ME et al. A working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart and lung rejection. Heart rejection group. Heart Transplant, 9:587-593, 1990.
8. Billingham ME. Diagnosis of cardiac rejection by endomyocardial biopsy. Heart Transplant, 1:25-30, 1981.
9. Chomette G, Aurio M, Delcourt A et al. Human cardiac transplants. Diagnosis of dejection by endomyocardial biopsy causes of death (about 30 autopsies). Virchows arch, (A) 407:293-307, 1985.
10. Gokel JM, Reichart B, Struck E. Human cardiac transplantation: Evaluation of morphological changes in serial endomyocardial biopsies. Pathol Res Pract, 178:354-364, 1985.
11. Pomerance A, Stovin P. Heart transplant pathology: the British experience. J Clin Pathol 38:146-159, 1985.
12. Kennitz J, Cohert T, Schaefer H et al. A classification of cardiac allograft rejection. A modification of the classification by Billingham. Am J Surg Pathol, 11:503-515, 1987.
13. Myles JL, Reattiff NB, Mc Mahon JT et al. Reversibility of myocyte injury in moderate and severe acute rejection in cyclosporine treated cardiac transplant patients. Arch Pathol Lab Med, 111:947-952, 1987.
14. Schnitt SJ, Ciano PS, Schoen FJ. Quantitation of Lymphocytes in endomyocardial biopsies: use and limitations of antibodies to leukocyte common antigen. Hum Pathol, 18:796-800, 1987.
15. Mc Allister HA, Schnee MJM, Radovancevic B et al. A system for grading cardiac allograft rejection. Texas Heart Institute J, 1:1-3, 1986.
16. Orriss DE. Serial serum C-reactive protein levels as an indicator of infection in cardiac transplant patients. Med Lab Sci, 45:116-120, 1988.
17. Darracott-Cankovic S, Wheeldon D, Cory-Pearce R et al. Biopsy assessment of fifty hearts during transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg, 93:95-102, 1987.
18. Graham AR, Paplanus SH. Fluorescence of damaged myocardium in endomyocardial biopsy specimen for the evaluation of cardiac transplantation. Hum Pathol, 16:1110-1114, 1985.
19. Billingham ME. Cardiac transplant atherosclerosis. Transplant Proc, 19 (supp 5): 19-25, 1987.
20. Nishimura T, Sada M, Sasaki H et al. Assessment of severity of cardiac rejection in heterotopic heart transplantation using indium-111 antimony and magnetic resonance imaging. Cardiovasc Res, 22:108-112, 1988.
21. Briscoe DM, Yeung AC, Schoen EL et al. Predictive value of inducible endothelial cell adhesion molecule expression for acute rejection of human cardiac allografts. Transplantation, 59:204-211, 1995.
22. Herskowitz A, Mayne A. E, Willoughby S.B, et al. Patterns of myocardial cell adhesion molecule expression in human endomyocardial biopsies after cardiac transplantation. Am J Pathol. 145:1082-1094, 1994.
23. Diebold Berger S, Karpuz V, Baldovinos CA et al. Expression des molecules d'adhesion ICAM-1, VCAM-1, ELAM, ICAM-3 et de l'interleukine-8 dans biopsies myocardiques apres transplantation cardiaque. (Abst.) Schweiz Med Wochensh, 126:1799-1810, 1996.