

KALP TRANSPLANTASYONU SONRASI ENDOMYOKARDİAL BİYOPSİ İLE RESİPIENT HASTA TAKİBİ

Dr. Ömer Bayezid (*) • Doç. Dr. İbrahim Öztekin (**) • Dr. Mehmet Balkanay (*)
Dr. Nuri Çağlar (***) • Dr. Cevat Yakut (*)
Yrd. Doç. Dr. Ergün Uçmaklı (**) • Dr. Serhat Gürpınar (**)

ÖZET: Ortotopik kalp transplantasyonunda mortalite ve morbiditenin en önemli sebebi greft rejeksiyonudur. Perkutanöz endomyokardial biyopsi akut kardiyak rejeksiyonun tanısında en etkili ve emin bir metottür. 7 Eylül 1989 da Koşuyolu Kalp ve Araştırma hastanesinde başarılı bir Kalp transplantasyonu yapıldı. Transplantasyon sonrası resipient hastanın takibi için yapılan perkutanöz endomyokardial biyopsilerde, ilk 5 hasta içinde orta şiddette üç red atağı oluştu. Bunlar tedavi edildi. Son üç biyopside akut rejeksiyon bulgusuna rastlanmadı.

SUMMARY: The major cause of morbidity and mortality in the orthotopic cardiac transplant recipients is graft rejection. Percutaneous endomyocardial biopsy is the most efficient method for diagnosis of acute cardiac rejection, and has been proven to be an extremely safe procedure. A successful heart transplant was performed at Koşuyolu Heart and Research Hospital, İstanbul, on September 7, 1989. Percutaneous endomyocardial biopsies were performed for management of cardiac recipient following heart transplantation. Three rejection episodes occurred within the first 6 weeks of transplantation and all were moderate. All rejection were successfully treated. There was no acute rejection in the last three biopsies.

GİRİŞ

Kalp transplantasyonu, son dönem kalp yetmezliğinde uygulanan bir tedavi biçimi olarak kendini kabul ettirmiştir. Dünyadaki çeşitli merkezlerde yapılan ameliyat sayısı gün geçtikçe hızla artmaktadır. Uluslararası kalp transplantasyonu birliği 1988 raporlarına göre son 5 yılda 3223 kalp transplantasyonu ameliyatı gerçekleştirilmiştir (10,14,19,23). Son yıllarda immunosupressif tedavide büyük ilerlemeler kaydedilmiş olmakla birlikte rejeksiyon, transplantasyon sonrası karşılaşılan en önemli problemlerden birisi olarak değerini korumaktadır (1,8). Kalp transplantasyonu sonrası rejeksiyonun araştırılması, varsa zamanında tesbiti ve etkili tedavinin uygulanması hastayı hayatta tutacak kriterlerdir. bugün, rejeksiyonun ortaya konabilmesi için; intramyokardial pH değişikliği, EKG voltaj düşüklüğü, ekokardiografide duvar kalınlığı değişmesi radyoaktif olarak işaretlenmiş hücreler ve izotoplar, biyokimyasal, fonksiyonel ve immunolojik testler çok değerlidir. Bunların yanı sıra noninvaziv olan kesin belirleyici tanı yöntemleri de araştırılmaktadır. Fakat endomyokardial biyopsinin yerini alabilecek bir metot henüz uygulamaya girmiş değildir (2,3,5,9,18,21,22,24).

Bu yazımızda 7 Eylül 1989 günü Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesinde yapılan ortotopik kalp transplantasyonu olgusuna, 6 ay içinde 6 kez uygulanan endomyokardial biyopsilerle alınan 24 örneğe ait histopatolojik değerler tartışılacaktır.

(*) Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi Kardiyovasküler Cerrahi Kl.

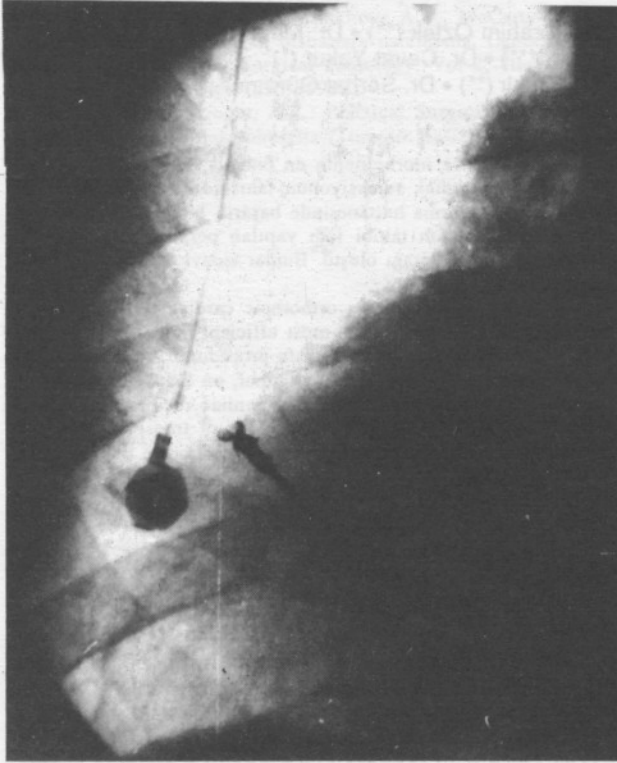
(**) GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı

(***) Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Kl.

OLGU VE METODLAR

59 yaşındaki hastamız A.K., nefes darlığı, halsizlik, eforla gelen göğüs ağrısı yakınmaları ile 30 Haziran 1989 tarihinde kardioloji kliniğine yatırıldı. İki sene önce myokard infarktüsü geçiren hasta, Ankara ve İstanbul'daki bazı merkezlerde zaman zaman yatarak tedavi görmüş. Birbuçuk aydır da sırtüstü yatamamakta imiş.

Fizik muayenede; tansiyon arteriel 110/60, nabız 90/dk. ritmik. Her iki akciğer kaide-



Resim 1: Sağ ventrikülden biyopsi sırasında, biptom'un durumu.

TABLO 1: Akut kardiyak rejeksiyonda Billingham sınıflaması

0. Normal biyopsi
1. Nadir interstisiyel veya perivasküler lenfositler
2. Endokardial ve/veya perikapiller lenfositik infiltrasyon (hafif akut rejeksiyon)
3. Interstisiyel lenfositik infiltrasyon, fokal myosit nekrozu, tek tük nötrofil (orta akut rejeksiyon)
4. Interstisiyel lenfositik infiltrasyon, yaygın myosit nekrozu, belirgin nötrofiller (şiddetli rejeksiyon)

Rezölüsyon dönemi rejeksiyon: Fokal myosit harabiyet bölgeleri, fibroblastlarda proliferasyon, bazı sahalarda küçük, pyroninofilik olmayan lenfositler.

Kronik rejeksiyon: Damarlarda intimal fibrosiz, interstisiyel plazma nücreleri, mononükleer hücreler ve eozinofiller.

TABLO 2: Hafif, orta ve şiddetli Akut Kardiak rejeksiyonda lokalizasyon ve histolojik bulgular.

Hafif	Kan damarları..... Eldotelde ödem Endokardium..... ödem Myositler..... Fibrüler seperasyon, perinukleer vakuolizasyon
Orta	İnterstisyum..... Hafif fibrinöz eksuda, tek tük lenfositler Kan damarları..... Küçük lenfositler ve büyük pyroninofilik mononükleer hücreler ile perivasküler infiltrasyon
Şiddetli	İnterstisyum..... Fibrinöz eksuda, selüler infiltrasyon Kan damarları..... Belirgin perivasküler hücre infiltrasyonu ve endotelial ödem Endokardium..... Polimorf nükleer lenfositlerin de bulunduğu yoğun hücre infiltrasyonu. Myositler..... Myositer lizis ve ilerleyici dejeneratif değişiklikler İnterstisyum..... Belirgin pelimorf nükleer hücre infiltrasyonu, hemen ve yoğun fibrinöz eksuda

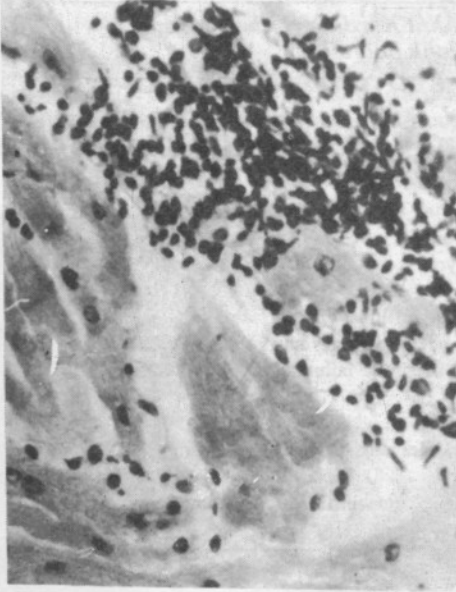
sinde krepitan raller vardı. Oskültasyonla apekte 2/6 pansistolik üfürüm mevcuttu. EKG. de eski inferior myokard infarktüsü, sol ventrikül hipertrofisi, anterolateral iskemi bulguları mevcuttu. Telegrafide kardiotorasik oran artmış olarak görüldü.

Koroner anjiyografide, üç damarda koroner arter hastalığı saptandı. Sol ventrikülografi, sol ventrikül kavitesi geniş, segment hareketleri diffuz olarak ileri derecede hipokinetik, septum akinetik olarak değerlendirildi. Sol ventrikül diastol sonu basıncı 35 mmHg. olarak bulundu. İnoperabl olarak değerlendirilen hasta transplantasyon programına alındı. Uzun bir bekleme döneminden sonra Haydarpaşa Numune Hastanesinden uygun bir donör bulundu. 7 Eylül 1989 günü yapılan operasyonda klasik ortotopik transplantasyon metodu uygulandı. Postoperatif dönemde önemli bir problemle karşılaşılma. İmmunosupressif protokolumuz cyclosporin, azothioprin ve düşük doz steroid ile ameliyatın ilk üç günü antithymosit globulin'den oluştu.

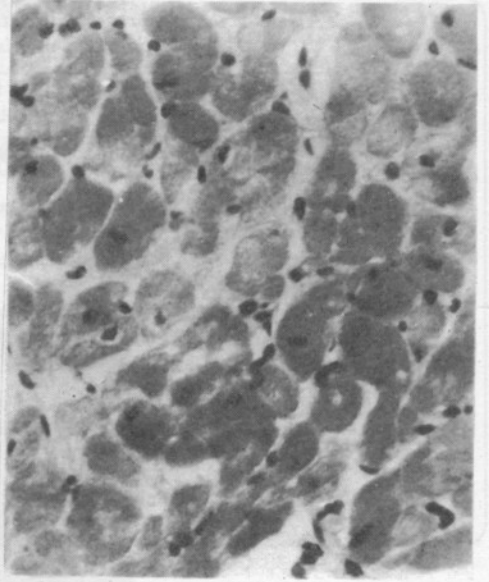
İlk endomyokardial biyopsi, ameliyatı takiben 9.uncu günde yapıldı. Bunu üçüncü, beşinci, dokuzuncu, onikinci hafta ve beşinci ayın sonunda yapılan biyopsiler izledi. Sağ ventriküler endomyokardial biyopsiler perkütan transvenöz teknik ve lokal anestezi ile, sağ internal juguler ven yolu ile, hemodinami laboratuvarında radyoskopi altında yapıldı. Hasta trendelenburg pozisyonunda başı mümkün olduğu kadar sola çevrilerek boyandı ve steril olarak örtüldü. İnternal juguler vene girildikten sonra biyopsiler, 9 F Cordis sheath içinden geçirilen Yacoub model GE Cardiac biptome ile inerventriküler septum ve sağ ventrikülden alındı (Resim 1). İşlemler sırasında trombüs oluşumunu önlemek üzere, heparinli sıvı drip olarak verildi. İşlem sonrası kanama, hematoma veya pnömotoraks gibi herhangi bir komplikasyona rastlanmadı. Her sefer üç veya beş kez tekrarlanan biyopsi alımı işleminde elde edilen örnekler % 80'lik alkolde tesbit edildi. Parafin bloklama için do-ku takibi uygulandı ve her biyopsinin ayrı olarak monte edildiği blokta 3-4 mikron kalınlıkta kesitler elde edildi. Bütün kesitlere Hematoxylin-Eosin (HE), Masson Trichrome (MT), Van Gieson (VG), Methyl Green Pyronine (MGP) ve Phosphotungstic Acid Hematoxylin (PTAH) boyaları yapıldı.

Hazırlanan preparatlar Billingham Klasifikasyonuna göre yorumlandı. Akut kardiak rejeksiyonda Billingham klasifikasyonu Tablo 1'de, Rejeksiyonun tipine ve lokalizasyonuna göre histolojik bulgular ise Tablo II'de özetlenmiştir.

Transplantasyonun ilk 6 haftası içinde üç rejeksiyon epizodu oluştu. Bunların üçü de



Resim 2: Interstisyel yoğun iltihabi infiltrasyon ve myosit nekrozu (H.E. x200).



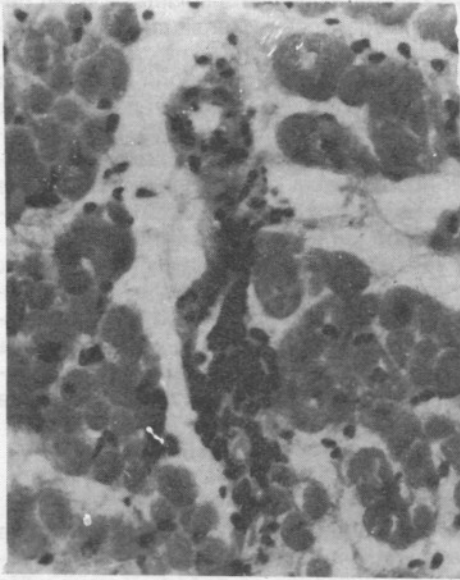
Resim 3: Myositlerde mikrovakuoller, fibrillerde dağılma ve karyolizis (H.E. x200).

orta derece red bulguları gösteriyordu. İlk endomyokardial biyopsi, ameliyatı takiben 9.üncü günde yapıldı. Alınan 4 örnekten ikisinde HE boyası ile interstisyumu dolduran yoğun, odaklar ve serpintiler halinde lenfositik infiltrasyon, bunula birlikte yer yer nötrofil polimarf nüveli lökositler görülmekteydi. İnfiltrasyonun yoğun olduğu kısımlarda kas hücreleri parçalanmış, striasyon kaybolmuş ve iki alanda nekroz gelişmişti. PTAH ile bazı alanlarda kas hücrelerinin parçalanarak ortadan kalktığı, yerini kırmızıya yakın boyanmış bağ dokusunun aldığı odaklar bulundu (Resim 2). Bazı kesitler veya bazı alanlar ise normaldi.

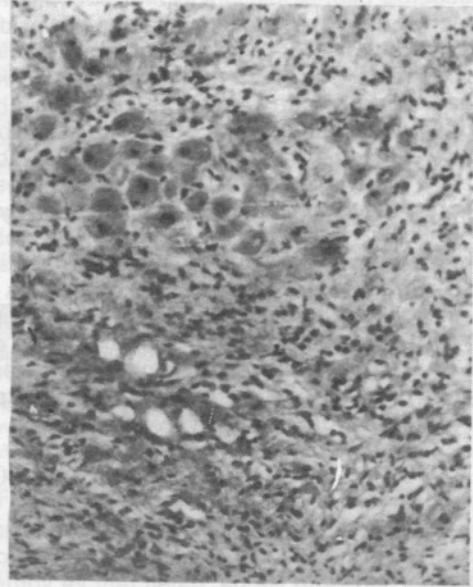
Transplantasyonun 3.ncü haftasında yapılan ikinci endomyokardial biyopsi örneklerinde bazı, myositlerin stoplazmalarında vakuolizasyon, nukleuslarında da lizis izlenmekte idi (Resim 3). Orta derecede perivasküler ve interstisyel mononükleer hücre infiltrasyonu bulunmakta idi. Myositlerde minimal dejeneratif değişiklikler vardı. Damar duvarlarında hafif bir hiyalini kalınlaşma, bazı damarlarda da endotelial proliferasyonlar görüldü (Resim 4). MGP boyası ile damar çevresi ve interstisyumda bulunan iltihabi infiltrasyon içinde stoplazmaları kırmızıya boyanmış pironinofilik hücreler de izlendi.

Transplantasyonun 36.ncü günü yapılan üçüncü biyopsi örneklerinde mikrovakuolizasyon, striasyon kaybı, karyolizis ve sitolisiz gösteren hücreler ve az miktarda lenfosit infiltrasyonuna rastlandı. Myositlerin yerini fibrosit ve fibroblastlardan zengin bir bağ dokusu almıştı. Bu genç fibroblastların proliferasyonu, akut rejeksiyonun resolusiyon dönemini düşündürdü (Resim 5). Daha sonra yapılan son üç biyopside de bazı kesitlerde belli belirsiz bir bağ dokusu artımı ve interstisyumda tek tük lenfositler dışında önemli bir akut histopatolojik değişiklik gözlenmedi.

Tüm değerlendirmelerde her biyopsi grubunda daima en ağır tabloyu gösteren örnek ön planda tutuldu.



Resim 4: Perivasküler lenfositik infiltrasyon (H.E. x200).



Resim 5: Dejenere alanlarda sonradan gelişen fibrozis (H.E. x100).

TARTIŞMA

Sağ ventrikülden endomyokardial biyopsi yapılması fikri 1962 de düşünülmüşse de (20), ilk kez 1970 de Caves tarafından uygulanmış (5,6,7), daha sonra bu teknik Mason tarafından modifiye edilmiştir (17). Endomyokardial biyopsi oldukça emin bir usul olup, bugüne kadar önemli bir komplikasyonu bildirilmemiştir (6,17).

Alınan endomyokardial biyopsi örneklerinin Hematoxylin-Eosin'de başka özel boyalar ile değerlendirilmesi, rejeksiyon tanısının doğrulanması ve tiplendirilmesinde yardımcı olmaktadır. MGP ile immunolojik olarak stimüle olmuş lenfositlerin sitoplazması boyanır. Pyroninofilik hücrelerinin görülmesi rejeksiyon tanısını doğrularsa da MGP, nonspesifik RNA içeren herhangi bir hücreyi de boyayabilir. Bunlar özellikle genç fibroblastlar ve plazma hücreleridir. Rejeksiyonun iyileşme döneminde yer yer rezidüel lenfositler veya olgunlaşmamış fibroblastlardan ibaret olan Pironinofilik hücreler görülebilir.

MT ve VG bağ dokusu gelişimini, yine MT ve PTAH boyaları ise özellikle fibrozisi değerlendirme ve nekroza uğramış myositleri ayırmada kullanır (18).

En önemli immunosupresif ajan olan Cyclosporin-A'nın 1980 de kullanmaya başlanması ile birlikte rejeksiyona bağlı mortalite ve morbitide önemli ölçüde azalmışsa da önlenilebilir değildir. Stanford grubu Cyclosporin kullanan hastalardaki rejeksiyon oranını % 80 olarak bildirmiştir (16). Pittsburgh'da ise hasta başına görülen rejeksiyon sıklığı 3,6 olarak hesaplanmıştır (12). Cyclosporin'in kullanılması ile rejeksiyonun morfolojik görüntüsünde değişiklikler ortaya çıkmıştır (13,22). Myosit nekrozu ve hemorajik alanlar daha yaygın olarak görülmektedir. Ayrıca birçok yazar vasküler veya arterioller inflamasyon bulguları bildirmiştir (13,15,25).

Optimal hasta bakımının sağlanması için endomyokardial biyopsilerin yorumu, dikkat ve deneyim gerektirmektedir. Histopatolojik yorumlamada, yanıltma, aslında subjektif ve

değersiz olan bir oluşum için fazladan tedaviye zemin hazırlar. Transplantasyondan hemen sonra alınan endomyokardial biyopside karşılaşılabilecek iskemik miyofibril nekrozu, orta veya şiddetli rejeksiyon gibi değerlendirilebilir. Cyclosporin almakta olan hastalarda rejeksiyon varsa yorumcular arasındaki farklılık nedeni ile Cyclosporin almakta olan hastalarda hemen tedaviyi gerektirmeyen hafif rejeksiyon yerine, tedaviyi zorunlu kılan orta derecede rejeksiyon tanısı ortaya çıkabilir. Cyclosporin alan hastalarda, iki hafta veya daha sonra perimyositik fibrozis görülebilir (4). Myositler, kollagen fibriller ile çevrilmişlerdir. Burada görülen interstisyel lenfositik hücreler akut rejeksiyon lenfoblastlarına göre daha küçüktürler. Endomyokardial biyopsi ile triküspit valvden alınan bir örnek fibrozis doku ve gevşek myxoid dokuyu içerebilir. Bunu yanlış olarak skar sahası gibi yorumlamamalıdır. Ayrıca eski biyopsi alanından, yeniden biyopsi alma olasılığı % 12 olarak bildirilmiştir (11). Burada mikroskopik olarak endokardium ile devam eden myokardial fibrozis bölgesi bir bütünlük gösterir ve lenfositik infiltrasyon yoktur. Diğer bir sorun rejeksiyon ile endomyokardial infeksiyonun ayırt edilmesidir. Cytomegalovirus ve Toxoplazma Gondii yoğun myokardial inflamasyona neden olurlar. Bu ileri derecede rejeksiyon gibi değerlendirilebilir. Aynı zamanda böyle enfeksiyonla rejeksiyonun birlikte olma durumu da söz konusudur (13,22).

SONUÇ

Son yıllarda rejeksiyonun tanımlanmasında çok sayıda biyokimyasal, fonksiyonel ve immunolojik testlerin yanı sıra manyetik rezonans ve diğer noninvaziv yöntemlerin geliştirilmesi sürmekte ise de, halen tanı ve yorumlamada kullanılan en değerli ve uzun yıllar önemini koruyacak olan yöntem, perkütan endomyokardial biyopsidir.

KAYNAKLAR

1. Bieber C.P., Hunt S.A., Schwinn D.A. et al. Complications in long term survivors of cardiac transplantation. *Transplant. Proc.*, 13: 207-211, (1981).
2. Billingham M.E.: Diagnosis of cardiac rejection by endomyocardial biopsy. *J. Heart Transplant*, 1: 25-30, (1982).
3. Billingham M.E., Caves P.K., Dong E.Jr.: Diagnosis of canine orthotopic cardiac allograft rejection by trans venous endomyocardial biopsy. *Transplant Proc.* 5: 741, (1973).
4. Bolman R.M., Cance C., Spray T. et al. : The changing face of cardiac transplantation: The Washington University Program 1985-1987. *Ann. Thorac. Surg.* 45: 192-197, (1988).
5. Caves P.K., Billingham M.E., Schulz W.P.: Transvenous biopsy from canine orthotopic heart allografts. *Am. Heart J.*, 85: 525, (1973).
6. Caves P.K., Schulz W.P., Dong E.Jr.: A new instrument for transvenous cardiac biopsy. *Am. J. Cardiol.*, 33: 264, (1974).
7. Caves P.K., Stinson E.B., Graham A.F., Billingham M.E., Grehl T.M., Shumway N.E.: Percutaneous transvenous endomyocardial biopsy. *JAMA*, 225: 288-289, (1973).
8. Dawkins K.J., Oldershaw P.J., Billingham M.E. et al.: Changes in diastolic function as a noninvasive marker of cardiac allograft rejection. *Heart Transplant*, 3: 287-294, (1984).
9. Fowles R.E., Mason J.W.: Endomyocardial biopsy. *Ann. Internal Med.* 97: 885-894, (1982).
10. Fragomeni L.S., Kaye M.P.: The registry of the international society for heart transplantation: Fifth official report 1988. *J. Heart Transplant*, 7: 249-253, (1989).
11. Gokel J.M., Reichart B., Struck E.: Human cardiac transplantation: Evaluation of morphological changes in serial endomyocardial biopsies. *Pathol. Res. Proct.* 178: 354-364, (1985).
12. Griffith B.P., Hardesty R.L., Deeb G.M., et al: Cardiac transplantation with cyclosporin a and prednisone. *Ann. Surg.* 196: 234-329, (1982).
13. Hammond E.H., Yowell R.L., Nunoda S., Menlove R.L., Renlund D.G., Bristo M.E., Gay W.A., Jones K.W., O'connell J.B.: Vascular (Humoral) rejection in heart transplantation: Pathologic observations and clinical implications. *J. Heart Transplant*, 8: 430-443, (1989).
14. Hakim M., Wreghitt T.G., English T.A.H., Stovin P.G.I., Cory-Pearce R., Wallwork J.: Signifi-

- cance of donor transmitted disease in cardiac transplantation. J. Heart Transplant, 4: 302-306, (1985).
15. Herskowitz A., Soule L.M., Uedak et al.: Anterior vasculitis on endomyocardial biopsy: A histologic predictor of poor outcome and cyclosporin treated heart transplant recipients. J. Heart Transplant, 6: 127-136, (1987).
 16. Jameison S.W., Oyer P., Baldwin J. et al.: Heart transplantation for end-stage ischemic heart disease. The Stanford experience. Heart Transplant, 3: 224-227, (1984).
 17. Mason J.W.: Techniques for right ana left ventricular endomyocardial biopsy. Ann. Journ. of Cardiology, 41: 887-892, (1987).
 18. Myerowitz P.D., Gilbert E.: Heart transplantation. Futura Publishing Company, Mount Kisco, NY. p: 219-238, (1987).
 19. Pomerance A., Stovin P.G.I.: Heart transplantation: The British experience. J. Clin. Pathol, 38: 146-159, (1985).
 20. Sakakibara S., Konno S.: Endomyocardial biopsy. Jpn. Heart J, 3: 537, (1962).
 21. Schuurman H.J., Meyling F.H.J.G., Wijngaard P.L.J., Meulen A.V.D., Slootweg P.J., Jambroes G.: Lymphocyte status in endomyocardial biopsies and blood after heart transplantation. Journal of Pathology, 159: 197-203, (1989).
 22. Sibley R.K., Olivari M.T., Bolman R.M., Ring W.S.: Endomyocardial biopsy in the cardiac allograft recipient. A review of 570 biopsies. Ann. Surg, 203 (2): 177-187, (1986).
 23. Smith S.H., Kirklin J.K., Geer J.C., et al.: Arteritis and cardiac rejection after transplantation. Am. J. Cardiol, 59: 1171-1173, (1987).
 24. Takach T.J., Glassman L.R., Rodrigues E.K., Falcone J.T., Ferrans V.J., Clark R.E.: Acute rejection after cardiac transplantation: Detection by interstitial myocardial PH. Ann. Thorac. Surg, 42: 619-626, (1986).
 25. Yowell R.L., Hammond E.H., Bristow et al.: Acute vascular rejection involving the major coronary arteries of a cardiac allograft. J. Heart Transplant, 7: 191-197, (1988).

TABLO II: Yavaş gelişim

Yıl	%
10-15	5.5
16-20	5.5
21-25	5.5
26-30	5.5
31-35	5.5
36-40	5.5
41-45	5.5
46-50	5.5
51-55	5.5
56-60	5.5
61-65	5.5
66-70	5.5
71-75	5.5
76-80	5.5
81-85	5.5
86-90	5.5
91-95	5.5
96-100	5.5

Yıl	%
10-15	5.5
16-20	5.5
21-25	5.5
26-30	5.5
31-35	5.5
36-40	5.5
41-45	5.5
46-50	5.5
51-55	5.5
56-60	5.5
61-65	5.5
66-70	5.5
71-75	5.5
76-80	5.5
81-85	5.5
86-90	5.5
91-95	5.5
96-100	5.5