



ARAŞTIRMA / RESEARCH

Sıçanlarda immünsupresyonsuz xenotransplantasyon uygulamasının etkililiği

Efficacy of xenotransplantation without immunosuppression in rats

Ebru Kanımdan^{ID}, Emrah Yücesan^{ID}, Beyza Göncü^{ID}, Burcu Özdemir^{ID}, Oğuz İdiz^{ID}, Yeliz Emine Ersoy^{ID}, Fahri Akbaş^{ID}, Erhan Ayşan^{ID}

Bezm-i Âlem Vakıf Üniversitesi, İstanbul, Turkey

Cukurova Medical Journal 2019;44(3):782-787.

Abstract

Purpose: The aim of this study was to transplant hyperplastic cells obtained from human parathyroid tissues into the rats without immunosuppression, and also evaluate the efficiency.

Materials and Methods: Present study, hyperplastic parathyroid tissues were obtained and cells were isolated from a 62-year-old male. Three male rats were used as recipients. Cells were obtained from human, transplanted into different anatomical locations of rats without immunosuppression. During the transplantation, cells were injected directly into the vena porta, vena cava and peripheral vena. Total parathormone (PTH) and serum calcium levels were measured before and after transplantation in terms of follow-up of transplantation success.

Results: Total PTH levels of rats, before transplantation were determined 1.4-4.2 pg/mL and throughout 45 days values were detected 6.2-17.1 pg/mL.

Conclusion: Peripheral circulation and vena porta transplantation was found more successful than vena cava. As a result, cell transplantation from the peripheral vein might be useful technique. In the future, new studies should be carried out by increasing the number of animals will be strengthen this research.

Keywords: Parathyroid hyperplasia, parathormone, xenotransplantation

Öz

Amaç: Çalışmamızın amacı, insan paratiroid dokularından izole edilen hiperplazik hücrelerin, sıçanlara immünsupresan verilmeden transplante edilerek transplantasyon verimliliğinin incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, paratiroid hiperplazi tanısıyla opere edilen 62 yaşında erkek hastadan izole edilen hiperplazik paratiroid hücreleri kullanıldı. Alıcı olarak üç adet erkek Sprague Dawley sıçan kullanıldı. İnsandan elde edilen hücreler sıçanlara immünsupresan uygulanmadan transplante edildi. Transplantasyon işlemi sırasında hücreler doğrudan sırasıyla, vena portaya, vena cavaya ve periferik vene enjekte edildi. Transplantasyon başarısının takibi açısından total parathormon (PTH) ve serum kalsiyum düzeyleri, transplantasyon öncesinde ve sonrasında ölçüldü.

Bulgular: Sıçanların transplantasyon öncesi total PTH düzeyleri 1,4-4,2 pg/mL aralığında, 45. gün değerleri ise 6,2-17,1 pg/mL aralığında tespit edildi.

Sonuç: Periferik dolaşımdan ve vena portadan yapılan transplantasyonun, vena cavaya göre daha başarılı olduğu belirlendi. Sonuç olarak nakil işleminde periferik venden hücre naklinin yararlı olabileceği düşünüldü. Sunduğumuz çalışmanın ilerleyen dönemlerde hayvan sayısı artırılarak tekrarlanması araştırmayı kuvvetlendirecektir.

Anahtar kelimeler: Paratiroid hiperplazisi, parathormon, xenotransplantasyon

GİRİŞ

Hipoparatiroidi, doğuştan ya da sonradan oluşabilen bir hastalıktır¹. Genellikle tiroidektomi sonrası görülen yaygın bir komplikasyondur ve tiroidektomi

operasyonu geçirmiş hastalar arasında geçiçi hipoparatiroidi görülme oranı %10-30 iken, KH görülme oranı %1-3'tür². Tiroidektomi sonrası görülen hipoparatiroidi genellikle, boyun diseksiyonu sırasındaki hasarlardan kaynaklanmaktadır¹. Serumdaki Ca²⁺ seviyesi, PTH

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Ebru Kanımdan, Bezm-i Âlem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul, Turkey E-mail: ebrukanımdan@gmail.com

Geliş tarihi/Received: 21.11.2018 Kabul tarihi/Accepted: 31.12.2018 Çevrimiçi yayın/Published online: 05.09.2019

ve kalsitriol tarafından düzenlenir. Serumdaki serbest Ca^{+2} konsantrasyonunda meydana gelen değişiklikler, paratiroid hücreleri üzerindeki Ca^{+2} duyarlı reseptörler (CaSRs) tarafından algılanarak; Ca^{+2} seviyesi düştüğü zaman PTH salınımına, Ca^{+2} seviyesi arttığı zaman da PTH salınımının baskılanmasına neden olur¹. Paratiroid bezleri hasarlandığında, PTH'nin yeterli miktarda salınmaması sonucu klinik olarak nöromusküler hiperaktivite, hipokalsemi ve hiperfosfatemi ile karakterize bir durum ortaya çıkar³. Hipoparatiroidi endokrin hastalıklar içerisinde tedavisi en zor olan hastalıklardan biri olmasına rağmen, nadir olarak hayati tehlike oluşturmaktadır⁴.

Hastalığın tedavisinde, öncelikli olarak oral kalsiyum ve D vitamini takviyesi verilir. Ancak, uzun süreli ilaç kullanılması hastalığın ilerleyen dönemlerinde, nefrokalsinozis, ürolitiazis, gastrit gibi birçok komplikasyon oluşturma riskini artırdığı gibi hastaların hayat kalitesini de düşürmektedir⁵.—Bu sebeple, kalıcı hipoparatiroidinin tedavisi için, canlı veya kadavra donörden, hücre veya doku kullanılarak gerçekleştirilen transplantasyonlar alternatif tedavi yöntemleri olarak kullanılmaktadır. Bu durumda da nakil sırasında ve sonrasında uygulanan immüsupresanlar nedeniyle çeşitli yan etkiler ortaya çıkabilmektedir. Bu yan etkileri aşabilmek amacıyla, immüsupresyonsuz nakil denemeleri literatürde mevcuttur⁶. Çalışmamızın amacı, paratiroid naklinin gerçekleştirilmesi sırasında uygun verilmiş yerinin tespit edilmesidir. Sunulan çalışma, insandan elde edilen hücrelerin, sıçanlara immüsupresyonsuz bir şekilde transplante edilmesini ve sonuçların hem hayvanların klinik seyri hem de biyokimyasal parametreler açısından 45 gün boyunca takip edilmesini içermektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Komitesi'nin (2016/103) ve Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun (54022451-050.05.04) onayları ile Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Hasta seçimi ve dokudan paratiroid hücrelerinin izolasyonu

Çalışmamızda 62 yaşında paratiroid hiperplazisi tanısıyla opere edilen erkek hastanın dokuları kullanıldı. Bu amaçla hastadan ilk olarak bilgilendirilmiş gönüllü onam formu alındı.

Sonrasında, eksize edilen hiperplazik paratiroid dokuları eşit parçalara ayrılarak patoloji laboratuvarı ile transplantasyon laboratuvarına aynı anda ulaştırıldı. Transplantasyon laboratuvarına taşıma solüsyonu ile ulaştırılan dokulardan uygun yöntem yardımıyla hücre izolasyonu işlemi gerçekleştirildi ve hızlıca sonradan kullanılmak üzere hücreler donduruldu. Patoloji laboratuvarındaki dokuların hiperplazi tanıları onaylandıktan sonra, transplantasyon laboratuvarında önceden dondurulan hücreler çözülerek işleme hazır hale getirildi.

Dokudan gerçekleştirilen hücre izolasyon protokolü basamakları sırasıyla; taşıma solüsyonu içerisindeki dokunun, taşıma solüsyonundan uzaklaştırılmasıyla başlandı ve daha sonra bu doku, parçalanma işleminin yapılacağı petriye alındı. Petri ile doku arasına, istenmeyen fibroblast hücrelerinin geçmemesi için demir tel süzgeç konuldu. Dokunun üzerine steril bir pastör pipet yardımı ile, %5 FBS (Fetal Bovin Serum) içeren 1X'lik PBS (Fosfat Tamponlu Tuz) karışımı ile hazırlanan buffer 1 solüsyonu eklendi ve 2 ml'lik şırınga yardımı ile mekanik kuvvet uygulanarak doku ezildi. Ezilen doku parçalarının ve buffer 1 solüsyonunun olduğu karışım, 70 µm'lik filtrelerden geçirilerek 15 ml'lik steril falkona aktarıldı. Üzerine 300 ul DNase eklendikten sonra, oda sıcaklığında, 2000 rpm'de 7 dakika (dk) santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrasında falkondaki üst faz uzaklaştırıldı ve dip kısımdaki pellet üzerine 1000 ul FBS ve 300 ul DNase eklendi. Pipet yardımıyla karıştırılan süspansiyon hücreden, 20 ul hücre analiz tüpüne alındıktan sonra, üzerine 380 ul hücre analiz reagentından eklendi ve 5 dk inkübe edilip, MUSE Hücre Analiz Cihazında (Merck Millipore, Germany) hücre canlılığı ve hücre sayısı tespit edildi (Şekil 1).Yeni bir 1,5 ml tüp içerisine, 200 ul DMSO ve 500 ul FBS eklendi. Hazırlanan bu solüsyon paratiroid hücre süspansiyonunun bulunduğu 15 ml'lik falkona alındı. Daha sonra, paratiroid hücrelerini içeren bu solüsyon steril bir kriyo tüp içerisine kondu ve -80 °C'de sonraki işleme kadar saklandı.

Dondurulmuş paratiroid hücrelerinin çözdürülmesi

Uygun koşulda saklanan, kriyo tüp içerisindeki paratiroid hücrelerinin transplantasyon öncesi, 37 °C su banyosu içerisinde 1 dk yavaşça çalkalanarak çözülmesi sağlandı. Çözünen hücreler flaklara alındı ve açılan hücre miktarına göre McCoy's besiyeri eklendikten sonra inkübatöre (37 °C, %5

CO₂) alındı ve bir gün kültüre edildi. Kültürdeki hücreler 15 ml'lik falkon içerisine alındı ve 1800 rpm'de 10 dk santrifüj yapıldı. Üst faz atıldı ve pellet üzerine 10 ml SF (serum fizyolojik) eklenerek tekrar 1800 rpm'de 10 dk santrifüj yapıldı. Üst faz uzaklaştırıldı ve pellet üzerine 1 ml SF konuldu ve pipet yardımıyla karıştırılan çözelti homojen hale getirildi.

Xenotransplantasyon protokolü

Çalışmada, dört adet erkek Sprague Dawley (400-460 gr. 15 aylık) sıçan kullanıldı. Sıçanlar, deney süresince, ayrı kafeslerde tutuldu. Opere edilen hayvanlar, uygun sıcaklık ve nem koşullarında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsü olacak şekilde izlendi. Beslenmeleri ve su gereksinimleri ad libitum olarak sağlandı.

Transplantasyon öncesi PTH ve Ca⁺² seviyeleri üç sıçan için de ölçüldü. Sonrasında 1. grup olarak adlandırılan sıçana, kuyruk veninden, (15x10⁶ hücre/mL) insan paratiroid hücresi verildi.

2. ve 3. gruplarda gerçekleştirilen cerrahi prosedür, transplantasyon işleminin uygulanma yeri dışında birebir aynıdır. 4. grup ise kontrol olarak değerlendirildi. 4. gruba kuyruk veninden 1 ml insülin enjektörü ile serum fizyolojik verildi. Transplantasyon yapılan sıçanlara, 5 mg/kg ksilazin hidroklorür ve 35 mg/kg ketamin hidroklorür kullanılarak intraperitoneal enjeksiyon ile anestezi uygulandı. Xenotransplantasyon işlemi 2. sıçana vena cava inferiora, 3. sıçana ise vena portaya olacak şekilde uygulandı. Önceden hazırlanan paratiroid hücreleri (15x10⁶ hücre/mL), 1 ml insülin enjektörü ile enjekte edildi. Transplantasyon sonrası 1.ve 3. grubun PTH ve Ca⁺² değerleri 45 gün süresince izleme tabii tutuldu.

BULGULAR

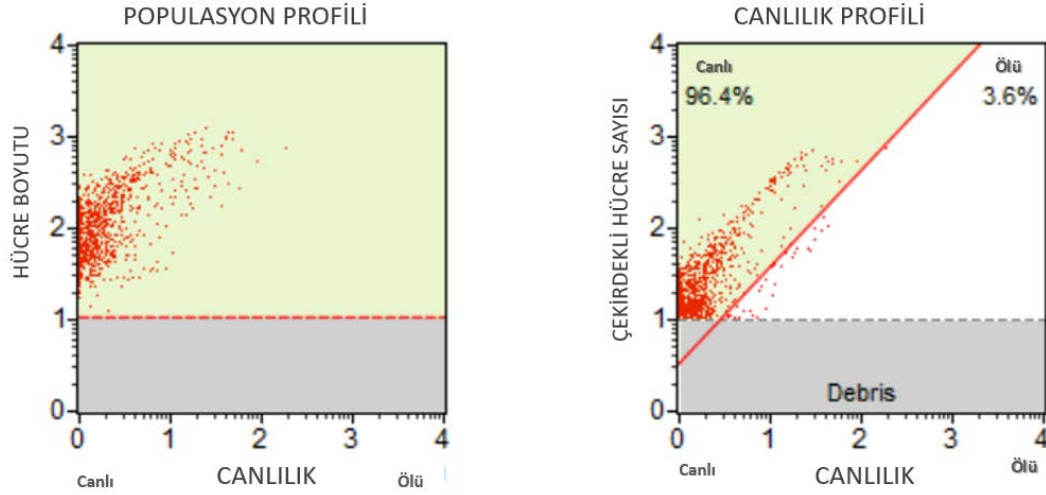
Deney sırasında vena cavadan transplantasyon işlemi uygulanan sıçan, çalışmanın 12. gününde ex. oldu. Yapılan otopside organlarda majör patolojik bir bulgu gözlenmedi. Ayrıca, 12. gündeki veri incelendiğinde, PTH düzeyinin 0,2 pg/ml olduğu tespit edildi. 1. grup olarak adlandırılan ve transplantasyon işleminin periferik kuyruk veninden gerçekleştirildiği durumda pre-op PTH değeri 1,4 pg/ml iken deneyin sonlandırıldığı 45. günde bu değer 6,2 olarak belirlendi. 3. grup olarak

adlandırılan ve transplantasyonun vena portaya yapıldığı durumda pre-op PTH değeri 4,2 iken deney sonunda bu değer 17,1'e yükseldiği tespit edildi. Kontrol grubu olarak değerlendirilen 4. gruba ait PTH ve Ca⁺² değerleri biyokimyasal olarak referans değerlerin altında kaldığından tespit edilemedi. Deney öncesinde ve sırasında gerçekleştirilen PTH ve serum Ca⁺² değerleri Tablo 1'de ayrıntılı olarak verildi.

TARTIŞMA

KH; hastaların günlük yaşam kalitesini etkileyen ve yaşam boyu ilaç kullanımını gerektiren klinik durumdur. Bu hastalarda ilaç kullanımı, genellikle ilk tercih edilen tedavi yaklaşımıdır. Ancak bu yaklaşım palyatif ve uzun dönemde ilaç kullanımına bağlı pek çok yan etki ortaya çıkarabilir. Bu sorunu aşmak için önerilen alternatif yöntemlerin en yararlısı paratiroid allotransplantasyonudur. PA, ilk olarak 1975 senesinde Wells ve arkadaşları tarafından başarıyla uygulanmıştır⁷. PA, KH'nin kesin tedavisini sağlayabilir. PA başlıca iki şekilde uygulanabilir: hücre tipi PA ve doku tipi PA uygulaması. Her iki uygulamanın da avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Hücre tipi PA uygulaması, doğrudan hücre enjeksiyonu, kriyoprezervasyon ve kültüre etme gibi değişik yöntemler ile gerçekleştirilebilir. Paratiroid dokularının hücre haline getirilmesi ve sonrasında doğrudan kas içine enjekte edilmesi, uygulanan ilk yöntemdir⁸. Bu yöntem, hızlı bir şekilde uygulanabilmekte ve hasta için en az travmaya neden olmaktadır. Ancak verilen hücrelerin alıcının immün sistemi tarafından reddedilmemesi için yaşam boyu immünsupresan kullanımı gerekmektedir⁹.

İmmünsupresif ilaçların, yararlarının yanı sıra uzun süreli kullanımda vücudun immün sistemini olumsuz yönde etkilemeleri, kullanımlarını sınırlandırmaktadır¹⁰. Bir diğer hücre tipi PA olan kriyoprezervasyon ve kültüre etme işleminin, ilaç kullanımından daha verimli olduğu gösterilmiştir^{11,12}. Literatürde, özellikle kültüre etme sayesinde, alıcı tarafından geliştirilmesi olası immün yanıtın kaçınıldığı bildirilmiş ancak bu durumda da dondurup çözme prosedürü sonucunda hücre canlılığının devamlılığını sağlamanın güçleştiğinden bahsedilmiştir. Bu yöntemdeki başarı oranının oldukça değişkenlik göstermesi de ayrı bir handikap oluşturmaktadır¹³.



Şekil 1. İnsan dokusundan izole edilen paratiroid hücrelerinin popülasyon profili ve canlılık sonuçları

Tablo 1. İnsan paratiroid nakli yapılan sıçanların, günlere göre total PTH ve serum Ca⁺² sonuçları. PTH: Parathormon, NA: Veri yok.

Gün	1.grup		2.grup		3.grup	
	PTH (pg/ml)	Ca+2 (mg/dl)	PTH (pg/ml)	Ca+2 (mg/dl)	PTH (pg/ml)	Ca+2 (mg/dl)
Pre-op	1,4	9,9	1,4	10,4	4,2	10,4
Post-op 2	16,1	10,3	0,7	8,9	3,3	10,0
Post-op 5	1,7	10,4	8,5	9,8	7,1	10,4
Post-op 10	16,2	10,4	0,2	9,9	15,3	10,6
Post-op 15	2,2	10,4	NA	NA	7,6	10,2
Post-op 20	0,9	10,5	NA	NA	3,7	10,9
Post-op 30	1,8	10,4	NA	NA	8,6	10,3
Post-op 35	5,3	10,4	NA	NA	2,5	10,0
Post-op 45	6,2	10,8	NA	NA	17,1	10,7

Bir diğer PA tipi olan doğrudan doku transplantasyonu, hücre tipi PA ile karşılaştırıldığında daha az ekipman gerektirir ve uygulaması görece kolaydır, ancak burada da yine yaşam boyu immünsupresyon uygulanması sonucu yukarıda bahsedilen olası yan etkiler karşımıza çıkmaktadır¹⁴. 2007 yılında, Nawrot ve arkadaşları yaptıkları bir dizi paratiroid allotransplantasyonu sonrasında da elde ettikleri verilerde, nakilden bir yıl sonra (18-20 ay), nakil başarısının immün sebeplerden dolayı düştüğünün ve bu sonucunda kliniğe yansıdığı rapor edilmiştir⁶. Bu sorunu aşmak için doku kültürü teknikleri ile transplante edilecek dokunun immünojenitesinin zayıflatılması üzerinde çalışılmaktadır¹⁵. Doku nakli, dondurulmuş dokudan veya kadavradan gerçekleştirilen transplantasyon

şeklinde ikiye ayrılır. Dondurulmuş paratiroid dokularının kullanılmasının en büyük avantajı, istenildiği takdirde dokulara erişim imkanının olmasıdır ancak bu yöntemin dezavantajı dokuları dondurup çözme işlemi sırasında, hücre sayısında ve canlılığında kayıp olmasıdır^{8,11}. Bu nedenle dondurulmuş dokularla gerçekleştirilen transplantasyon başarısı, taze paratiroid doku nakline göre daha düşüktür¹⁶. Ayrıca doku transplantasyon sonuçlarına göre başarı oranı oldukça heterojendir⁸.

1979 ile 2014 yılları arasında yapılan çalışmalar, dondurulmuş dokularla gerçekleştirilen paratiroid ototransplantasyonunun, başarısının ortalama %70 olduğunu göstermiştir¹⁷. Bununla birlikte, klinik çalışmalarda elde edilen diğer verilerin analizi sonucunda, dondurulmuş doku kullanılarak yapılan

ototransplantasyonda, 24 aydan uzun süre dondurulan dokularda, nakil başarısının olumsuz yönde etkilendiği de belirtilmiştir¹¹. Dondurulmuş hücrelerin kullanılmasını gerektiren paratiroid ototransplantasyonu her zaman gerçekleştirilememektedir, bu da araştırmacıları alternatif yöntemlere yöneltmiştir⁸. Bu yöntemlerin en radikal uygulaması, xenotransplantasyondur. Xenotransplantasyon uygulamaları başta domuz kullanılarak gerçekleştirilen kalp kapakçığı ve pankreas adacık hücre nakilleri olmak üzere¹⁸, kombine ağır immün yetmezliği (SCID) olan farelere insan myositlerinin nakli¹⁹, insan enterik sinir sistemini çalışmak amacıyla farelerin abdomenlerine uygulanan nakil işlemi²⁰ ya da insan kemik iliği hücrelerinin fonksiyonlarını araştırmak amacıyla kullanılan fare modelleri²¹ gibi pek çok alanda uygulama imkanı bulmuştur. Ancak bu uygulama alanları arasında literatürde paratiroid hücrelerine spesifik olan çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır.

Bahsedilen çalışmalarda xenotransplantasyon işleminin uygulanabilir olduğu belirtilmiştir ancak sunduğumuz çalışmadan farklı olarak incelenen model organizmalar sırasıyla, tavşan ve faredir²². Çalışmamız bu haliyle orijinaldir ve literatürde bir ilktir. Çalışmamızda izlem süresinin 45 gün ile sınırlandırılmış olması, literatürde bildirildiği haliyle insanda bir yıla karşılık gelen sürenin sıçanlarda 17,4 güne karşılık geliyor olması ve bu haliyle 45 günlük sürenin yaklaşık iki buçuk yıla karşılık geliyor olmasındadır²³. 1. ve 3. grup hayvanlardan 45 gün boyunca 2. grup hayvandan ise ilk 12 günde elde edilen PTH değerlerindeki dalgalanmalar hormonlarda görülen ve pulsatif salınımına bağlı olan²⁴ değişimler nedeniyle meydana gelmiş olabilir ancak bu durum genel profil ortalamasını etkilememektedir. Hormonlarda görülen ve sirkadiyen ritimle de ilişkili olan bu farklılıkları aşabilmek için hayvanların tümünden öğleden (12:00) önce ölçüm amacıyla kan alınmıştır, ancak saatler arasında meydana gelen ufak sapmalar sonuçlarımızdaki dalgalanmayı açıklayabilir. İlave olarak literatürde, Ca⁺² seviyesinin de gece ve gündüz saatlerinde farklılık gösterdiği; sürekli karanlıkta tutulan deneklerde Ca⁺² seviyesinin sabit kaldığı, aydınlıkta tutulan deneklerde bu sabitliğin gözlenmediği tespit edilmiştir²⁵. Aynı çalışmada gündüz ve gece Ca⁺² değerlerinin de farklı olacağı bildirildiğinden, çalışmamızda veriler arasında tutarlılık olması açısından Ca⁺² değerlerinin ölçümü de PTH ölçümü gibi öğleden önce ve aynı zamanda alınan materyal ile gerçekleştirilmiştir²⁵. Ancak, 1. ve

3. gruplarda görülen yaklaşık dört kat artış bunlardan bağımsız olarak yadsınamayacak düzeydedir. Çalışmamız kullanılan model organizma açısından ilktir, ayrıca nakil sonrası rejeksiyonun en sık görülmesinin beklendiği xenotransplantasyon gibi bir işlemden bile anlamlı sonuçların elde edilebilmesi önemli bir bulgudur. Model olarak kullandığımız organizma ile gerçekleştirilmiş benzer araştırmaların çok sınırlı sayıda olması çalışmamızın kısıtlılığı olarak değerlendirilebilir. İlerleyen dönemde hayvan sayısı artırılarak çalışmanın tekrarlanması bulgularımızı kuvvetlendirecektir.

45 günlük izlem sonuçlarının yer aldığı çalışmamızdan elde edilen ilk bulgulara göre, xenotransplantasyon gibi nakil başarısının yüksek olmasının beklenmediği ve üstelik immüsupresyon uygulanmayan hayvanlarda, nakil işleminin uygulanmayan bölgeye göre başarı şansının değişken olduğu ve denenen bölgelerden en verimli sonucun önce periferik venden sonra ise vena porta'dan yapılan uygulamadan elde edildiği gösterilmiştir. Sonraki çalışmalarda hayvan sayısı ve gruplarının genişletilmesiyle elde ettiğimiz bulguların doğrulanması gerekmektedir.

Yazar Katkıları: Çalışma konsepti/Tasarımı: EA, EY, EK, BG, BÖ, Oİ, FA, YEE; Veri toplama: EY, EK, BÖ; Veri analizi ve yorumlama: EK, EY; Yazı taslağı: EK, EY; İçeriğin eleştirel incelenmesi: EK, EY, EA; Son onay ve sorumluluk: EK, EY, BG, BÖ, Oİ, YEE, FA, EA; Teknik ve malzeme desteği: EA, YEE; Süpervizyon: -; Fon sağlama (mevcut ise): yok.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Desteği: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Teşekkür: Bu çalışmada, deney hayvanları laboratuvarındaki desteklerinden dolayı Veteriner Hekim Mert ÇELİKTE'ne ve Tıbbi Biyolog Önder HÜSEYİNBAŞ'a teşekkür ederiz.

Author Contributions: Concept/Design : EA, EY, EK, BG, BÖ, Oİ, FA, YEE; Data acquisition: EY, EK, BÖ; Data analysis and interpretation: EK, EY; Drafting manuscript: EY; Critical revision of manuscript: EK, EY, EA; Final approval and accountability: EK, EY, BG, BÖ, Oİ, YEE, FA, EA; Technical or material support: EA, YEE; Supervision: -; Securing funding (if available): n/a.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support

Acknowledgement: We would like to thank Veterinary Surgeon Mert ÇELİKTE'N and Medical Biologist Önder HÜSEYİNBAŞ for their support in the laboratory of experimental animals.

KAYNAKLAR

1. Shoback D. Clinical practice. Hypoparathyroidism. N Engl J Med. 2008;359:391-403.
2. Leem TH, Volpi E, Eisele DW (editors). Non-neural complications of thyroid and parathyroid surgery. In: Randolph GE. Surgery of the thyroid and parathyroid, 2nd ed., Philadelphia: Elsevier Saunders. 2013;446-542.

3. Agha A, Scherer MN, Moser C, Karrasch T, Girlich C, Eder F et al. A case study to living donor parathyroid allotransplantation for therapy-refractory postsurgical persistent hypoparathyroidism in a nontransplant recipient - three year results. *BMC Surg.* 2016;3:16:51.
4. Brandi ML, Bilezikian JP, Shoback D, Bouillon R, Clarke BL, et al. Management of Hypoparathyroidism: Summary Statement and Guidelines. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101:2273-83
5. Groth C, Hammond WS, Iwatsuki S, Popovtzer M, Cascardo S, Halgrimson C, et al. Survival of a homologous parathyroid implant in an immunosuppressed patient. *Lancet.* 1973;19:1082-5.
6. Nawrot I, Wozniewicz B, Tolloczko T, Sawicki A, Gorski A, Chudzinski W et al. Allotransplantation of cultured parathyroid progenitor cells without immunosuppression:clinical results. *Transplantation.* 2007;83:734-40.
7. Wells SA JR, Gunnells JC, Shelburne JD, Schneider AB, Sherwood LM. Transplantation of parathyroid glands in man: clinical indications and results. *Surgery.* 1975;78:34-44.
8. McHenry CR, Stenger DB, Calandro NK. The effect of cryopreservation on parathyroid cell viability and function. *Am J Surg.* 1997;174:481.
9. Groth C, Hammond WS, Iwatsuki S, Popovtzer M, Cascardo S, Halgrimson C, et al. Survival of a homologous parathyroid implant in an immunosuppressed patient. *Lancet.* 1973;19:1082-5.
10. Kayaalp OS. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe, Taş Yayınevi. 2005.
11. Guerrero MA, Evans DB, Lee JE, Bao R, Bereket A, Gantela S, et al. Viability of cryopreserved parathyroid tissue: when is continued storage versus disposal indicated. *World J Surg.* 2008;32:836-9.
12. Aysan E, Kilic U, Gok O, Altug B, Ercan C, Kesgin Toka C, et al. Parathyroid Allotransplant for Persistent Hypocalcaemia: A new technique involving short-term culture. *Exp Clin Transplant.* 2016;14:238-41.
13. Aysan E, Altug B, Ercan C, Kesgin Toka C, Idiz UO, Muslumanoglu M. Parathyroid allotransplant with a new technique: A prospective clinical trial. *Exp Clin Transplant.* 2016;14:431-5.
14. Decker GA, Stark JH, Botha JR, Margolius LP, Decker G. Allotransplantation of parathyroid cells. *Lancet.* 1995;14:124.
15. Sollinger HW, Macke E, Cook K, Belzer FO. Allotransplantation of human parathyroid tissue without immunosuppression. *Transplantation.* 1983;36:599-602.
16. Herrera M, Grant C, van Heerden JA, Fitzpatrick LA. Parathyroid autotransplantation. *Arch Surg.* 1992;127:825-30.
17. Liu HG, Chen ZC, Zhang XH, Yang K. A case study to replantation with cryopreserved parathyroid for permanent hypoparathyroidism. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8:4611-9.
18. Burlak C. Literature Update Xenotransplantation literature update, November– December 2014. *Xenotransplantation.* 2015;22:80-3.
19. Praud C, Vauchez K, Zongo P, Vilquin JT. Modelling human myoblasts survival upon xenotransplantation into immunodeficient mouse muscle. *Exp Cell Res.* 2018;364:217-23.
20. Nagy N, Marsiano N, Bruckner RS, Scharl M, Gutnick MJ, Yagel S et al. Xenotransplantation of human intestine into mouse abdomen or subcutaneous tissue: Novel platforms for the study of the human enteric nervous system. *J Neurogastroenterol Motil.* 2018;30(3).
21. Abarrategi A, Mian SA, Passaro D, Rouault-Pierre K, Grey W et al. Modeling the human bone marrow niche in mice: From host bone marrow engraftment to bioengineering approaches. *J Exp Med.* 2018;215:729-43.
22. Aysan E, Düzköylü Y, Can İ, Büyükpınarbaşı N. Xenotransplantation of human cryopreserved parathyroid tissue isolated from parathyroidadenomas to normocalcemic rabbits. *Turk J Surg.* 2017;33:91-5.
23. Quinn R. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? *Nutrition* 2005;21:775-7.
24. Schmitt CP, HommeM, Schaefer F. Structural organization and biological relevance of oscillatory parathyroid hormone secretion. *Pediatr Nephrol.* 2005;20:346-51.
25. Colwell CS. Circadian modulation of calcium levels in cells in the suprachiasmatic nucleus. *Eur J Neurosci.* 2000;12:571-6.