

Periferik kan mononükleer hücrelerin primer paratiroid dokusu hücreleri ile ko-kültürünün verimliliği

Efficiency of co-cultured peripheral blood mononuclear cells with primary parathyroid tissue cells

Sevde Hasanoglu¹ , Beyza Göncü¹ , Emrah Yücesan² 

ÖZ

Organ yetmezliğinde, nakil öncesi uygulanan immün testler ekonomik anlamda maliyetli ve uzman ekip gözetiminde uygulanan hassas testlerdir. Uygulaması görece daha kolay olan in vitro ko-kültür modelleri ile daha ekonomik ve uygulama kolaylığı olan bir yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Kalıcı hipoparatiroidi hastalarına ait periferik kan mononükleer hücreleri (n=4) ile iki farklı donöre ait paratiroid hücrelerinin ayrı bir bariyer olmadan ve bariyer kullanılarak ko-kültüre edilmesiyle bir model oluşturulmuştur. Parathormon ve hücre sayım takibi 24 ve 72. saatlerde gerçekleştirilmiştir. İki ayrı paratiroid hücre grubunda parathormon seviyesi anlamlı şekilde artarken, hücre sayısı anlamlı şekilde her iki grupta da azalmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise ayrı bir bariyer kullanıldığı ve kullanılmadığı her iki durumda da periferik kan mononükleer hücreleri yabancı paratiroid hücrelerine karşı anlamlı bir değişim göstermemiştir. Bu çalışmada uygulanan ko-kültür modeli, manipülasyonu diğer hassas testlere göre daha kolaydır. Temelde, nakil sağ kalımının öngörülmesi sürecinin daha az maliyetle belirlenebilmesi için gerçekleştirilmiştir. Fakat uygulanan iki ayrı ko-kültür modeli hem ayrı bir bariyer eşliğinde hem de ayrı bir bariyer olmadan paratiroid hücreleri ve PKMH için anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. İlerleyen çalışmalarda daha hassas testlerin uygulanarak sağ kalım öngörülmesi için farklı yöntemlerin denenmesi hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: PKMH, primer doku hücreleri, paratiroid, ko-kültür

ABSTRACT

In organ failure, pre-transplant immunoassays are cost-effective and sensitive tests performed under the supervision of a specialist team. The aim of this study is to develop a more economical and easy to handle method that is relatively easy to perform in vitro with co-culture models. Peripheral blood mononuclear cells from permanent hypoparathyroidism patients (n=4) were co-cultured with parathyroid cells of two different donors both with and without a barrier. Parathormone and cell counting were determined at 24 and 72 hours of cultivation. Parathormone levels were significantly increased in two separate parathyroid cell groups, whereas the cell number was significantly decreased in both groups. Peripheral blood mononuclear cells did not show a significant change against foreign parathyroid cells in both co-culture groups with barriers and without barriers when compared with the control group. In this study, the co-culture model, which is easier to manipulate than other sensitive tests, was performed. Basically, in order to determine the process of predicting the survival of the transplant which was carried out at a lower cost. However, the two separate co-culture models did not create a significant difference for parathyroid cells and peripheral blood mononuclear cells both in the presence of a barrier and without a barrier. In future studies, different methods should be used to experience prediction of survival by performing more sensitive tests.

Keywords: PBMC, primary tissue cells, parathyroid, co-culture

Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi, ¹Deneyel Uygulama ve Araştırma Merkezi, ²Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID: S.H. 0000-0003-2378-1535;
B.G. 0000-0001-6026-8218;
E.Y. 0000-0003-4512-8764

Sorumlu yazar/Corresponding author:
Emrah Yücesan, Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi,
¹Deneyel Uygulama ve Araştırma Merkezi,
İstanbul, Türkiye
E-posta: emrahyucesan@yahoo.com

Başvuru/Submitted: 31.12.2019
Kabul/Accepted: 10.02.2020

Atıf/Citation: Hasanoglu S, Goncu B, Yucesan E. Efficiency of co-cultured peripheral blood mononuclear cells with primary parathyroid tissue cells. Sağlık Bilimlerinde İleri Araştırmalar Dergisi 2020; 3(1): 5-12.
<https://doi.org/10.26650/JARHS2020-668235>

GİRİŞ

Organ nakli, 20. yüzyılın ikinci yarısında tıp alanında görülen en önemli gelişmelere sahne olan disiplinler arası bir araştırma alanıdır. Nakil, çoğu durumda son dönem organ yetmezliği için tek ve etkili tedavi olmaya devam etmektedir. Yüksek kaliteli ve etkili organların temini, nakil için her zaman en önemli adım olmuştur (1). Organları veya dokuları bir insandan diğerine nakletme girişimleri 1967 yılında insan majör histo-kompetabilite kompleksinin (MHC) keşfedilmesine kadar uzun yıllar boyunca başarısız olmuştur. MHC antijenleri için verici ve alıcı eşleşmesinin greft kabulü üzerinde anlamlı pozitif etkisi olduğu gösterilmiştir. Greftlerin toleransı veya rejeksiyonunda immün sistemin; antikorlar, antijen sunan hücreler, yardımcı ve sitotoksik T hücreleri, immün hücre yüzey molekülleri ve sitokinler gibi farklı bileşenlerinin rolleri açıklığa kavuşturulmuştur (2). Rejeksiyon, allotransplantasyonun temel problemlerinden biridir. Nakledilen doku ve organların uzun süre hayatta kalması ve işlevi, transplantın insan lökosit antijeni (HLA) ekspresyon eden antijen sunan hücrelerden yoksun olmasına bağlıdır (3). Günümüzde gelişen teknoloji sayesinde alıcı ile verici arasında HLA doku tiplendirme testleri, panel reaktif antikor (PRA) taraması, sanal çaprazlama (lenfosit *crossmatch* CXM) testleri, komplemana bağlı sitotoksikite (mikrolenfositotoksikite *crossmatch*-CDC-CXM), tek HLA molekülleri ile kaplanmış solid faz testi (*single antigen bead*-SAB), donör spesifik antikor (DSA) tarama testi gibi birçok immünolojik test kullanılabilmektedir (4). Bu testlerin uygulanması için periferik kandan elde edilen DNA, serum örnekleri ve izole edilen periferik kan mononükleer hücreler (PKMH) kullanılmaktadır. Özellikle PKMH lenfosit, monosit veya makrofaj gibi çekirdeğe sahip bir kan hücresi olması nedeniyle, bu tarz çalışmalarda en uygun hücre tipidir. Bu kan hücreleri immün sistemde enfeksiyonla savaşmak için kritik bir bileşendir. PKMH'ler bağışıklık sistemine seçici yanıtlar verir ve insan vücudundaki ana immün sistem hücreleridir (5).

Kalıcı Hipoparatiroidizm (KH), düşük kalsiyum ve düşük parathormon (PTH) seviyeleri ile karakterize bir hastalıktır. KH'nin en yaygın sebebi tiroit cerrahisi sırasında paratiroid bezlerinin alınması ya da kanlanmasıdır (6). KH'de en sık görülen komplikasyonlar ise: zayıflık, kas fonksiyon kaybı, miyozit, fasiit, katarakt dışı malformasyonları ve nefropatidir. KH tedavisinde D vitamini ve oral kalsiyum takviyesi standart semptomatik tedavi yöntemleridir. Fakat bu takviyelerin uzun süre kullanılması, hastanın üzerinde birçok yan etkisi vardır (7). Paratiroid allotransplantasyonu (PA) ise alternatif ve hastalığı tedavi edici tek yöntem olarak görülmektedir (8). PA; hücre tipi PA ve doku tipi PA olarak ikiye sınıflandırılmaktadır. Fakat her iki yöntemde olumlu ve olumsuz yönleri vardır. Doku tipi PA daha az ekipman gerektirir ve uygulanması kolaydır ancak uzun süreli immünsüpresif tedavi gerektirir. Hücre tipi PA ise yararlı olmasıyla birlikte hücrelerin dondurulma ve çözülme işlemi nedeniyle hücre canlılığının sürdürülmesi zordur (7). Transplantasyonda reddi neden olan dokunun taşıdığı immünolojik belirteçlerin kültür ortamında manipülasyonu ve HLA ekspresyonu az hücrelerin seçimi kullanılan farklı tekniklerdir. KH nadiren hayatı tehlikeye sebep olan bir durum olduğundan, tedavi aşamasında immünsüpresif uygulanması tercih edilmez (8). Tüm bu alternatif süreçlere rağmen, günümüzde hipoparatiroidizm tedavisine yönelik standart bir yaklaşım bulunmamaktadır (6).

PA'da, immün testlerle paralel olacak şekilde daha ekonomik, pratik ve kolay uygulanabilir bir yöntem ülkemizin ekonomik gerçekliğinde gereklilik arz etmektedir. Bu gereklilikten yola çıkarak çalışmamızda dört KH hastasına ait PKMH'leri ile iki farklı donöre ait paratiroid hücresinin ko-kültüre edilmesiyle bir model oluşturulmuştur. Önerdiğimiz model ile, henüz nakil işlemi gerçekleştirmediğimiz hastalardan elde edilecek PKMH'ler kullanarak, naklin olası sağkalımını ön görmeyi hedeflemekteyiz. Bu sayede ilerleyen dönemde nakil başarısının doğrudan artırılmasını hedeflemekteyiz.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Yerel Girişimsel Olmayan Etik Kurul'dan (Onay numarası: 71306642-050.01.04) onay

alındıktan sonra, gerekli onam formlarının temini sonrasında yapılmıştır ve protokollerin tümü Helsinki Deklarasyonunun etik kurallarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Örneklem: Çalışmada donör grubu olarak nakil sürecinde hali hazırda tarafımızda bulunan sekonder hiperparatiroidi tanılı iki hastaya ait paratiroid dokusu kullanılmıştır. Alıcı grubu için ise kalıcı hipoparatiroidi tanılı (en az >3 yıldır kalıcı hipoparatiroidi tanılı) dört adet hastaya ait kan örnekleri kullanılmıştır. Periferik kan örnekleri heparinli tüplere 10 ml olmak üzere toplanmıştır.

PKMH izolasyonu: 10 ml heparinli tüpe alınmış kanlar 1:1 oranında fosfat tamponlu salin ile dilüe edilmiştir. Ardından 1:3 (fikol+ tam kan) oranında fikol üzerine yavaşça eklenerek oda sıcaklığında 2500 rpm'de 25 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjden sonra hücreler gradient farkına göre ayrılmış, fikol ile plazma arasındaki ara fazda yer alan ince bir tabaka halindeki PKMH'ler mikropipetle temiz bir tüpe aktarılmıştır. İki kez PBS ile oda sıcaklığında 1800 rpm'de beş dakika santrifüjlenerek yıkanmıştır. Son yıkamanın ardından üst faz dökülerek altta kalan pellet kısmı RPMI kültür medyumuna ile homojen hale getirilmiştir.

Paratiroid Hücre İzolasyonu: 0,3 gram ağırlığındaki paratiroid dokularından hücre izolasyonu Göncü ve arkadaşlarının (9) tarif ettiği şekilde enzimatik olarak gerçekleştirilmiştir.

Ko-Kültür: Paratiroid dokusundan izole edilen donör grubuna ait hücrelerden kuyu başı $1,5 \times 10^6$

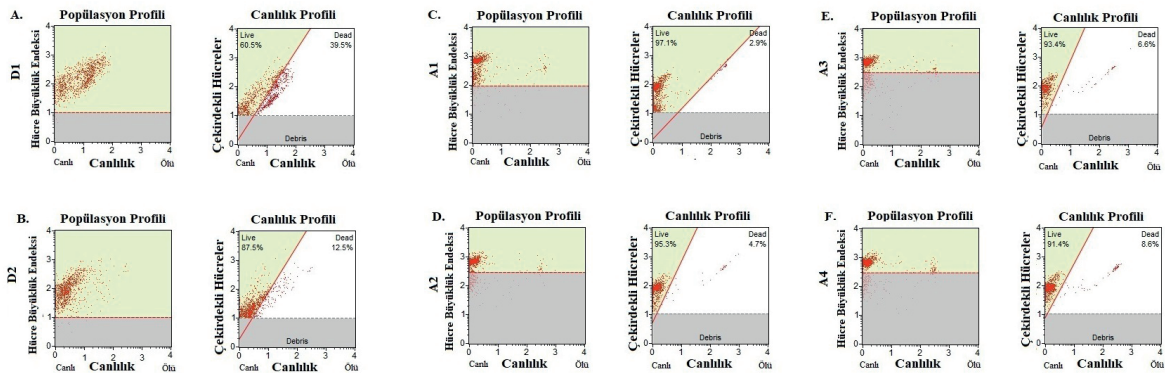
hücre olmak üzere RPMI (%10 FBS, %1 P/S, %1 NEAA) medyum kullanılarak 48 kuyulu plaka içine ekilmiştir. Plakanın kuyu içerisindeki ayırıcı bölmesine ise alıcı grubuna ait izole edilen PKMH'ler ekilmiştir. Ayırıcı bariyerde, hücreler aynı medyum ortamını paylaşmakta fakat fiziksel olarak ayrı bölmelerde bulunmaktadır. Aynı düzenek diğer deney grubu için ayırıcı bölme/bariyer olmadan gerçekleştirilmiştir. Kültür her iki deney grubu için de 37°C 'de %5 CO_2 içeren inkübatörde 30 rpm'de orbital çalkalayıcı üzerinde dört gün boyunca devam ettirilmiştir.

Ko-kültür ve bir arada kültüre edilen tüm gruplar için kontrol grubu olarak; paratiroid hücreleri ayrı bir kuyuda aynı zaman aralıkları için tek başına kültüre edilmiştir.

Hücre sayımı ve Parathormon ölçümü: Kültür süresince 24. ve 72. saatlerde paratiroid hücresi ve PKMH sayımı 20 kat dilüsyon ile Muse hücre analiz cihazında (Merck Millipore, Germany) yapılmıştır. Aynı zamanda 24. ve 72. saatlerde PTH ölçümleri PTH EIA kit (RayBiotechInc., GA, USA) protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü Mark Microplate Absorbance Reader (Bio-Rad, USA) kullanılarak yapılmıştır.

SONUÇLAR

Donör grubundan; Donör 1 (D1)'e ait olan dokudan % 60,5 canlılık oranıyla 24×10^6 hücre, Donör 2 (D2)'ye ait olan dokudan ise %87,5 canlılık oranıyla 23×10^6



Şekil 1. Donör ve alıcı grubundan izole edilen hücrelerin popülasyon profilleri ve canlılık yüzdeleri. A. D1'e ait paratiroid hücreleri, B. D2'ye ait paratiroid hücreleri, C. A1'e ait PKMH'ler, D. A2'ye ait PKMH'ler, E. A3'e ait PKMH'ler, F. A4'e ait PKMH'ler. (D1: Donör 1, D2: Donör 2, A1:Alıcı 1, A2: Alıcı 2, A3: Alıcı 3, A4: Alıcı 4, PKMH: Periferik kan mononükleer hücreler).

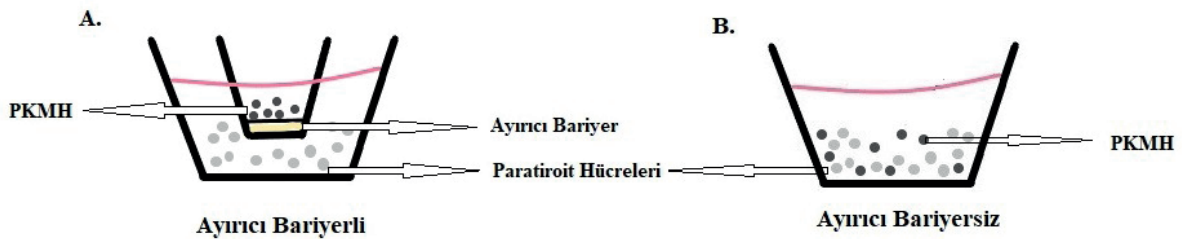
hücre izole edilmiştir. İzole edilen PKMH'lerine ait Alıcı 1 (A1) için %93,4 canlılıkta 14×10^6 hücre, Alıcı 2 (A2) için %96 canlılıkta 12×10^6 hücre, Alıcı 3 (A3) için %89,9 canlılıkta 7×10^6 ve Alıcı 4 (A4) için %91,2 canlılıkta $9,7 \times 10^6$ sayıda hücre elde edilmiştir (Şekil 1).

Paratiroid dokusundan izole edilen donör grubuna ait hücrelerden 3×10^6 hücre/kuyu başı olmak üzere 48 kuyulu plaka içine ekilmiştir. Ayrılcı bölme olmadan, aynı kuyu içerisine alıcı grubuna ait izole edilen $1,5 \times 10^6$ sayıda PKMH ekilmiştir. Ko-kültür gruplarına ait şematik gösterimi Şekil 2'de verilmiştir. Paratiroid hücreleri ve bu hücreler ile ko-kültüre edilen PKMH'ne ait PTH ölçümleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Kontrol grubu olarak kullanılan paratiroid hücre kültür grubu; D1'e ait paratiroid hücre sayısı 24. saat için $0,81 \times 10^6$ (%59,7 canlılık) ve 72. saat için $0,49 \times 10^6$ (%72,1 canlılık) belirlenmiştir. Aynı şekilde, D2'ye ait paratiroid hücre sayısı 24. saat için $2,82 \times 10^6$ (%99,3 canlılık) ve 72. saat için $0,89 \times 10^6$ (%97,4 canlılık) olarak belirlenmiştir.

Ayrılcı bölme olmadan; paratiroid hücreleri ile beraber kültüre alınan PKMH hücrelerinin ko-kültürü

24 ve 72. saat takip edilerek, bu sonuçlara ait canlılık profili değişimi Şekil 3'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir. Aynı gruplardan, aynı zaman aralıkları süresince PTH ölçümü tamamlanmış ve Tablo-1'de verilmiştir. Ko-kültür aşamasının ilk kısmı olan herhangi bir ayrılcı bariyer olmadan, bir arada kültüre edilen PKMH ve paratiroid hücrelerinin; PTH seviyelerinin kültür süresinde anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir (D1 ile ko-kültüre edilen dört alıcı için $p=0,0036$ ve D2 ile ko-kültüre edilen dört alıcı için $p=0,0141$), aynı şekilde; hücre sayılarının da anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiştir ($p=0,0004$ ve $p=0,0382$ sırasıyla).

Ayrılcı bölme kullanılarak gerçekleştirilen ko-kültür aşamasında 24 ve 72. saat popülasyon profilleri ve canlılık yüzdeleri değişimi Şekil 4'te ayrıntılı olarak gösterilmiştir. PTH salınımının her grup için kültür sürecinde anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir (D1 ile ko-kültüre edilen dört alıcı için $p=0,0124$ ve D2 ile ko-kültüre edilen dört alıcı için $p=0,0011$). Filtre üzerinde kalan PKMH'ler filtre üzerinden alınmadığı için ayrı olarak sayılamamıştır. Bununla birlikte, hücre sayım sonuçları değerlendirildiğinde,

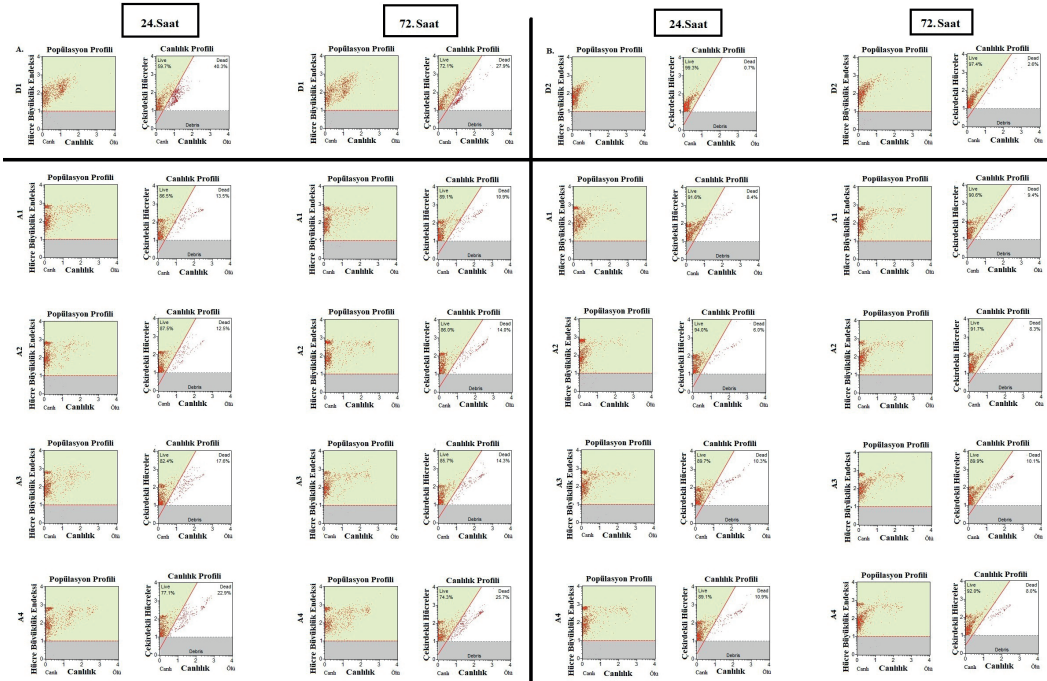


Şekil 2. Uygulanan ko-kültür modelinin şematik gösterimi. A. Ayrılcı bariyer ile birlikte ko-kültür modeli. B. Ayrılcı bariyer olmadan ko-kültür modeli.

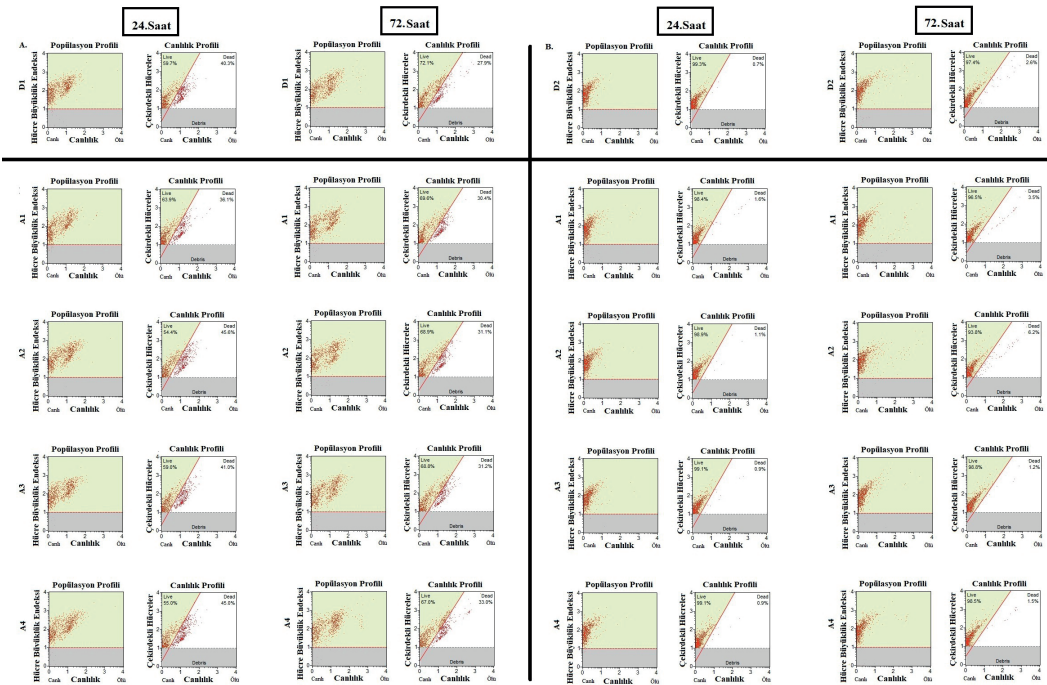
Tablo 1. Dokudan izole edilen paratiroid hücreleri tek başına ve bu hücreler ile beraber ko-kültüre edilen (ayrılcı bariyerli ve ayrılcı bir bariyer olmadan) PKMH'lere ait PTH ölçümleri (ng/ml)

Sadece D1	24. saat	2,26		16,2		24. saat	Sadece D2
	72. saat	4,01		20,6		72. saat	
		Ayrılcı Bariyerli	Ayrılcı Bariyersiz	Ayrılcı Bariyerli	Ayrılcı Bariyersiz		
A1/D1	24. saat	2,63	2,75	17,9	18,2	24. saat	A1/D2
	72. saat	4,25	5,11	22,0	26,1	72. saat	
A2/D1	24. saat	2,69	2,68	15,8	18,2	24. saat	A2/D2
	72. saat	3,67	4,10	18,3	23,8	72. saat	
A3/D1	24. saat	2,58	2,73	15,6	14,4	24. saat	A3/D2
	72. saat	3,68	3,85	21,9	17,3	72. saat	
A4/D1	24. saat	2,61	3,66	14,9	14,4	24. saat	A4/D2
	72. saat	2,68	3,78	22,7	22,3	72. saat	

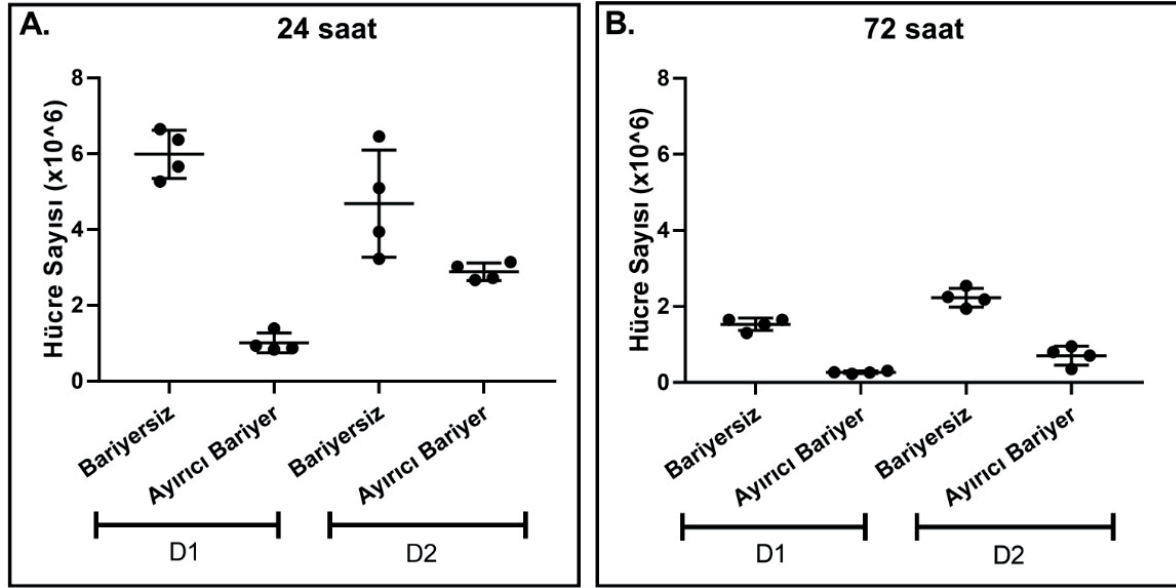
D1: Donör 1, D2: Donör 2, A1: Alıcı 1, A2: Alıcı 2, A3: Alıcı 3, A4: Alıcı 4



Şekil 3. Donör grubuna ait paratiroid hücreleri ile alıcı grubuna PKMH'lerin ayırıcı bariyer olmadan ko-kültürü sırasında 24 ve 72. saatteki popülasyon profilleri ve canlılık yüzdeleri. A. D1'e ait kontrol grubu hücreleri ve D1 ile dört farklı alıcıya ait PKMH'lerin ko-kültürü, B. D2'ye ait kontrol grubu hücreleri ve D2 ile dört farklı alıcıya ait PKMH'lerin ko-kültürü. (D1: Donör 1, D2: Donör 2, A1: Alıcı 1, A2: Alıcı 2, A3: Alıcı 3, A4: Alıcı 4, PKMH: Periferik kan mononükleer hücreler).



Şekil 4. Donör grubuna ait paratiroid hücreleri ile alıcı grubuna ait PKMH'lerin ayırıcı bariyer ile birlikte ko-kültürü sırasında 24 ve 72. saat popülasyon profilleri ve canlılık yüzdeleri. A. D1'e ait kontrol grubu hücreleri ve D1 ile dört farklı alıcıya ait PKMH'lerin ko-kültürü, B. D2'ye ait kontrol grubu hücreleri ve D2 ile dört farklı alıcıya ait PKMH'lerin ko-kültürü. (D1: Donör 1, D2: Donör 2, A1: Alıcı 1, A2: Alıcı 2, A3: Alıcı 3, A4: Alıcı 4, PKMH: Periferik kan mononükleer hücreler).



Şekil 5. Donör grubuna ait paratiroid hücreleri ile alıcı grubuna ait PKMH'lerin ayırıcı bariyer ile birlikte ve ayırıcı bariyer olmadan ko-kültürü sırasındaki hücre sayıları. A. 24.saate ait hücre sayıları, B. 72.saate ait hücre sayıları. (D1: Donör 1, D2: Donör 2, PKMH: Periferik kan mononükleer hücreler).

aynı kültür medyum ortamını paylaşan paratiroid hücrelerinin kültür sürecinde anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiştir (D1 ile ko-kültüre edilen dört alıcı için $p=0,0096$ ve D2 ile ko-kültüre edilen dört alıcı için $p<0,0001$) (Şekil 5).

TARTIŞMA

Paratiroid naklinde bugüne kadar birçok klinik seri raporlanmıştır bunların çok bir kısmında immünolojik parametreler değerlendirilerek raporlanmıştır. Bugüne kadar literatürde bildirilen en uzun süreli nakil verisi Alfrey ve ark. 1992'de yaptıkları nakle aittir. Bu nakilde böbrek nakliyle eş zamanlı olarak paratiroid naklide yapılmış ve ağır immünsüpresif ilaçlarla hasta 13 yıl boyunca takip edilmiştir. Bu nakilde gerçekleştirilen immünolojik testler üç alel uyumu (HLA-A, -B ve -DR) ve lenfosit-CXM negatif olarak gerçekleştirilmiştir (10). Paratiroid nakli ile ilgili en geniş immünolojik tarama testi kriterleri 2019 yılında Yücesan ve ark. tarafından gerçekleştirilmiş olup; negatif PRA, negatif lenfosit-CXM ve negatif mikrolenfositotoksiste testi ile gerçekleştirilen nakildir (11). Paratiroid nakli ile ilgili literatürdeki immünolojik kriterler halen standardize edilmemiştir. Fakat her nakil birimi kendi kriterler ve takip parametrelerini belirleme konu-

sunda karar alma yetkisine sahiptir (7). Bununla birlikte, lenfosit CXM ve mikrolenfositotoksiste gibi testler için hem alıcı hem de donörün aynı anda kan vermesi gerekmektedir. Ayrıca bu testlerin yapılabilmesi için uzman personel ve gerekli teknik koşullarının sağlanması için uzman bir merkez gereksinimi vardır (4). Aynı anda kan verme işlemi, organizasyon süreçlerinin gerçekleştirilmesi ve takibi açısından zorluk oluşturmaktadır. Bu testlerin zorlukları sebebiyle farklı test yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Son 20 yılda *in vitro* kültür sistemlerindeki birçok yenilik; farklı testlerin, farklı ko-kültür modellerinin ve farklı indükleyicilerin kullanılmasına olanak sağlamıştır. Günümüzde birçok doku tipi için optimize edilmiş hücre izolasyon ve kültür modelleri bulunmakla birlikte, aynı süreç paratiroid hücre izolasyonu içinde tamamlanmıştır (9,12). Paratiroid hücreleri için literatürde daha önce bildirilen herhangi bir ko-kültür modeli bulunmamaktadır.

Bu çalışmada izlenen yaklaşım; görece kolay ve nakil sağ kalımının öngörülmesi sürecinin daha az maliyetle belirlenebilmesi için gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda ko-kültür modeli hem ayırıcı bir bariyer eşliğinde hem de ayırıcı bir bariyer olmadan paratiroid hücreleri ve PKMH için kullanı-

mıştır. Ayırıcı bariyer olmadan direkt temas mantığından hareketle, PKMH hücreleri yabancı paratiroid hücrelerine karşı hem PTH hem de hücre sayısı/canlılık gibi değişkenler açısından anlamlı bir etki göstermemiştir. Ayırıcı bariyer ile denenen ko-kültür modelinde aynı kültür medyum ortamını paylaşan hücrelerin yine PTH, hücre sayısı/canlılığı gibi parametrelerde anlamlı farklılık oluşturmamıştır. Kontrol grubuna kıyasla iki ko-kültür modelinde de paratiroid hücreleri kültür süresince sayıca azalarak ve PTH salınımı ise artarak devam etmiştir.

Paratiroid hücrelerinin direkt temasla dahi yabancı PKMH'lerinde negatif bir etki oluşturmaması ve aktive edici etki göstermemesi, bu ko-kültür modeli ile nakil öngörüsünü değil fakat olası immünolojik ret yanıtının aksini gösterdiği göz önünde bulundurulmadır. PKMH hücrelerinin farklı aktive edici ajanlarla ko-kültür öncesi hazırlanmış olması çalışmanın kısıtlılığı olmasına rağmen temel hedef daha ekonomik bir öngörü belirlenmesidir. İlerleyen çalışmalarda, alıcı-donör kısıtlılıklarının aşılması için daha spesifik ko-kültür modellerinin oluşturulması hedeflenmektedir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım-E.Y.; Veri Toplama- S.H.; Veri Analizi/Yorumlama-S.H., B.G.; Yazı Taslağı-S.H., B.G.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi-E.Y., B.G.; Son Onay ve Sorumluluk- E.Y., S.H., B.G.; Malzeme ve Teknik Destek-S.H.; Süpervizyon- E.Y.

Author Contributions: Conception/Design of Study- E.Y.; Data Acquisition- S.H.; Data Analysis/ Interpretation- S.H., B.G.; Drafting Manuscript- S.H., B.G.; Critical Revision of Manuscript- E.Y., B.G.; Final Approval and Accountability- E.Y., S.H., B.G.; Technical or Material Support- S.H.; Supervision- E.Y.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Yerel Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'dan alınmıştır. (No: 71306642-050.01.04)

Ethics Committee Approval: This study was approved by the Local Non-Interventional Ethics Committee. (No: 71306642-050.01.04)

Bilgilendirilmiş Onam: Katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Informed Consent: Written consent was obtained from the participants.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support.

KAYNAKLAR

1. Guibert EE, Petrenko AY, Balaban CL, Somov AY, Rodriguez JV, Fuller BJ. Organ Preservation: Current Concepts and New Strategies for the Next Decade. *Transfus Med Hemother*. 2011; 38(2):125-42.
2. Chinen J, Buckley RH. Transplantation immunology: solid organ and bone marrow. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2):S324-35.
3. Nawrot I, Woźniewicz B, Tołłoczko T et al. Allograft transplantation of cultured parathyroid progenitor cells without immunosuppression: clinical results. *Transplantation*. 2007 27;83(6):734-40.
4. Ayşan ME, Göncü B, Yücesan E. Paratiroid nakli immünolojisi. Gürol AO, editör. *Kök Hücre ve Transplantasyon İmmünolojisi*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri. 2019;31-8.
5. Pourahmad J, Salimi A. Isolated Human Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC), a Cost Effective Tool for Predicting Immunosuppressive Effects of Drugs and Xenobiotics. *Iran J Pharm Res*. 2015;14(4):979.
6. Pekkolay Z, Kılınc F, Soylu H et al. Alternative treatment of resistant hypoparathyroidism by intermittent infusion of teriparatide using an insulin pump: A case report. *Turk J Phys Med Rehabil*. 2019;65(2):198-201.
7. Yücesan E, Goncu B, Basoglu H et al. Fresh tissue parathyroid allotransplantation with short-term immunosuppression: 1-year follow-up. *Clin Transplant*. 2017;31(11):1-4.

8. Cabane P, Gac P, Amat J et al. Allotransplant of microencapsulated parathyroid tissue in severe postsurgical hypoparathyroidism: a case report. *Transplant Proc.* 2009;41(9):3879-83.
9. Goncu B, Yucesan E, Ozdemir B, Basoglu H, Kandas NO, Akbas F, Aysan E. A New Transport Solution for Parathyroid Allotransplantation: Effects on Cell Viability and Calcium-Sensing Receptors. *Biopreserv Biobank.* 2018;16(4):278-84.
10. Alfrey EJ, Perloff LJ, Asplund MW, et al. Normocalcemia thirteen years after successful parathyroid allografting in a recipient of a renal transplant. *Surgery.* 1992;111(2):234-6.
11. Yucesan E, Goncu B, Ozdemir B, Idiz O, Ersoy YE, Aysan E. Importance of HLA typing, PRA and DSA tests for successful parathyroid allotransplantation. *Immunobiology.* 2019;224(4):485-9.
12. Bjorklund P, Hellman P. Culture of parathyroid cells. *Methods Mol Biol.* 2012;806:43-53.