

Kriyoprezerve Kalp Kapağı Üretim Süreci ve Homogreft Kapak Bankası Organizasyonu

Processing of Cryopreserve Heart Valve and Organisation of Homograft Valve Banking

Dr. Can VURAN,^a
Dr. Orçun ÜNAL,^b
Dr. Ahmet AKGÜL^b

^aKalp ve Damar Cerrahisi AD,
Başkent Üniversitesi İstanbul Uygulama
ve Araştırma Merkezi,

^bKalp ve Damar Cerrahisi Kliniği,
Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve
Araştırma Hastanesi, İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 07.05.2010
Kabul Tarihi/Accepted: 17.12.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Can VURAN
Başkent Üniversitesi İstanbul Uygulama
ve Araştırma Merkezi, İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
canvuran@hotmail.com

ÖZET Hufnagel tarafından implante edilmiş olan ilk mekanik protezin üzerinden yarım asır geçmesine rağmen, kapak cerrahisi hâlâ sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Kalp cerrahisindeki gelişmelere paralel olarak, kapak cerrahisi uygulamalarında da belirgin bir artış gözlenmiştir. Kapakların replasmanı için alternatifler arasında mekanik protezlerin yanında biyolojik kapaklar da yer almaktadır. Yaygın kullanılmış mekanik kapak protezlerinin dezavantajlarından kaçınmak amacıyla homogreft kalp kapaklarının kullanımında artış görülmektedir. Homogreft kapaklar, otogreftlere benzer şekilde doğala yakın forma sahip olmaları nedeni ile kapak cerrahisinde önemli yer tutarlar. Endokardit tedavisi için ilk seçilecek cerrahi girişim, homogreft implantasyonudur. Homogreftler; optimale yakın hemodinami sağlayabilmeleri, antikoagülan terapi gerektirmemeleri ve obstrüksiyon oluşturmamaları gibi avantajlarından dolayı, özellikle büyüme çağındaki hastalar için önemli bir alternatif oluşturmaktadır. Pediatrik kalp cerrahisi uygulamalarında da, özellikle sağ ventrikül çıkım yolu rekonstrüksiyonlarında homogreft kullanımının büyük yeri ve önemi vardır. Homogreft kalp kapakları taze greft hali yanında, antibiyotik sterilizasyonu veya kriyoprezervasyon sonrasında da kullanılabilir. Bunlara rağmen teminindeki güçlük nedeni ile klinik kullanımları sınırlı kalmaktadır. Edindiğimiz tecrübeler, homogreftlerin teminindeki güçlüğü, organ bağışi konusunda yapılacak bilgilendirmeler, personel eğitimi ve doku bankası uygulamalarının yaygınlaştırılması ile aşılabileceğini göstermektedir. Bu çalışmaya, homogreft kalp kapaklarının elde edilmesi, korunması, saklanması ve uygulama için hazırlanması süreci konu edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Dondurarak saklama; kalp kapağı protezi implantasyonu; doku bankaları

ABSTRACT Although it has been a half century since Hufnagel implanted the first mechanical prosthesis, valve surgery is still a problem for us. In parallel with improvements in cardiac surgery, there is an increase in number of valvular heart surgery. The alternatives for diseased valve replacement are mechanical prosthesis and biological valves. It is an increasing tendency to use homografts, in order to decrease the disadvantages associated with use of mechanical prosthesis. Homografts are important in the valve surgery with its almost nature form like the autografts. The first surgical interference to be chosen for the treatment of endocarditis is implantation of homograft. Homografts are good alternatives especially in the growing pediatric population, because of their near optimal hemodynamic performances and their advantages to need no anticoagulation. There is a great importance of the use of homograft in especially right ventricle outflow tract reconstructions in pediatric cardiac surgery. Homograft cardiac valves have been used either as fresh, antibiotic sterilized or cryopreserved. However its clinical use is severely restricted by its limited availability. From experiences point of view, the difficulties of providing the homografts can be passed over by information about donations, personal education and wide spreading the tissue bank applications. In this study, we describe how to obtain, prepare, protect and store a homograft heart valves for application.

Key Words: Cryopreservation; heart valve prosthesis implantation; tissue banks

ETİK DÜZENLEMELER¹⁻¹⁰

Viyana homogreft doku bankasının teknik standart ve uygulamaları için kaynak olarak, Avrupa Doku Bankası Derneği [European Association of Tissue Bank (EATB)]'nin kural ve uygulamaları alınmıştır. Buna göre, doku bankası kazanç gözetmeyen bir yapıda düzenlenmiş ve diğer merkezlerden gelen talepler karşılığında bir ücret talep edilmemiştir. Organ bağışçıları için genel anlamda hasta hakları geçerlidir. Tüm çalışmalar esnasında hasta bilgilerinin gizliliği ve mahremiyeti konusuna titizlikle uyulmuştur. Kullanılmayacak durumda veya ihtiyaç harici olan materyal gerekli dokümantasyonu yapılarak uygun şekilde toprağa verilmiştir.

ORGAN ALINIMI¹⁻¹⁰

Kalp çıkarıldıktan sonra soğuk izotonik veya ringer laktat solüsyonu içerisinde birkaç kez yıkanır ve kapak lojlarındaki koagüllerin uzaklaştırıldığından emin olunur. Organ alınımı esnasında, hastanın yüksek doz ile heparinize edilmesi yararlıdır. Kalp çıkartıldıktan sonra soğuk solüsyon içerisine konularak 3 katlı kese şeklinde paketlenir ve buzlu bir soğuk tutucu kap içerisinde muhafaza edilir.

Muhafaza kapları "Homogreft için kalp" yazılı etiket ile işaretlenir ve organın kaynağı olan kişiye ait dokümanlar eklenir. Bahsedilenler hem domino kalpler (kalp nakli olan hastalardan kaynaklı) hem de kadavra ve transplantasyon için kullanılmayan bağış organlar için geçerlidir.

KALP KAPAĞI BANKASININ ORGANİZASYONU¹⁻¹⁰

MEDİKAL DİREKTÖR

Medikal direktör, kapak bankasının yöneticisidir. Kapakların preparasyonundan, saklanmasına, transportundan deneysel amaçla kullanılmasına kadar her türlü işlemin organizasyonunda; personel ve maddi konularda karar alınmasında sorumluluk sahibi olan kişidir.

Medikal direktörün sorumluluk sahasına, hizmet kalitesinin kontrol ve emniyeti ile bilimsel açıdan personel eğitimi de girmektedir.

Medikal direktörün ana görevleri arasında, diğer doku bankası yöneticileri ile irtibat halinde olmak da yer alır. Avrupa Kalp Kapak Standartları grubu, kongrelerdeki çalışma grupları ile bilgi alışverişini sağlamalıdır. Bunun sayesinde yeni bilgi ve gelişmelere ulaşarak preparasyon, dondurma, saklama ve implantasyon ile ilgili yeni teknik ve gelişmelere ulaşılabilir.

SORUMLULUK

Medikal direktörün bahsedilen görevleri yanında; doku bankası ile ilgili her çalışanın EATB kurallarına göre hareket etmesini sağlama sorumluluğu mevcuttur.

KALİTE KONTROLÜ (HİZMET EMNİYETİ)

Medikal direktör, hizmet emniyetini oluşturacak programı oluşturmakla görevlidir. Bu programın kapsamında kapağın preparasyonundan başlayıp azot tankında saklanmasına ve hatta başka merkezlere nakline dek tüm aşamaların kayıt altına alınması gerekmektedir.

Kliniğimizdeki program EATB kuralları doğrultusunda olup, bununla birlikte "Bio Implant Service (BIS)" kural ve gözetimine tabi şekilde işlemektedir.

PREPARASYON ORTAMI VE TEKNİK ŞARTNAMELER

İnsan kaynaklı kalp kapakları, ameliyathane ortamında ve steril şartlarda prepare edilmektedir. Bu durum temizlik sınıflamasında 1.000 durumunu göstermektedir. Esasen amaçlanan; preparasyonun, temizlik standardı olarak 10.000'e uyan laminar hava akımı olan ortamda gerçekleştirilmesidir. Kalp kapaklarının preparasyonu ve paketlenmesi mutlak surette ayrı çalışma alanlarında gerçekleştirilmelidir.

Azot tankı içerisinde bekletilen kriyoprezerve edilmiş kapak greftleri kilit altında olan bir odada saklanmakta olup, bu sayede sadece izin ve yetki sahibi personelin greftler ile temas sağlaması amaçlanmıştır.

Teknik şartnameler EATB ile eş güdümlü düzenlenmiş olup, sürekli bilgi alışverişi sayesinde yeniliklere açık halde tutulmuştur.

STANDART OPERASYON KRİTERLERİ¹⁻¹⁰

BİRİNCİL RED KRİTERLERİ

Potansiyel Organ Bağışçısı İçin Birincil Red Kriterleri Septisemi, ağır enfeksiyon, neoplazma, hipertrofik obstrüktif kardiyomyopati, ventrikül çıkım yolunu etkileyen doğumsal kalp hastalıkları, anamnezde sifiliz olması, hipofiz hormonu kullanılması, Jakop-Kreutzfeld hastalığı, nöronal transplantasyon geçirmiş olanlar, santral sinir sistemi (SSS) hastalıkları, otoimmün ve sistemik kollajen hastalıkları, uzun süre sistemik kortikosteroid tedavisi görenler, ölüm nedeni belirsiz olanlar, enfektif endokardit hikâyesi, romatizmal kalp hastalığı hikâyesi

Yaş Sınırları Açısından Red Kriterleri

Aortal homogreft için 60 yaş ve üzeri,

Pulmoner homogreft için 65 yaş ve üzeri

(Pulmoner greftler için kabul gören yaş kriterinin daha yüksek olması, pulmoner dolaşımdaki kan basıncının düşük olması nedeni ile kapaktaki yıpranmanın daha az olmasındandır).

GÖRECELİ RED KRİTERLERİ

Toraks bölgesinde ağır travma, intrakardiyak enjeksiyonlar ve benzeri perforasyon tarzlı kalp bölgesindeki yaralanmalar, açık kalp masajı, enfeksiyöz etiyoloji düşündüren kalp hastalıkları, geçirilmiş kapak operasyonu.

SEROLOJİK TESTLER

TPHA, VDRL (Rutin olarak uygulanmamaktadır), "human T-cell lymphotropic virus (HIV)" I ve HIV II antikor (ELISA), "human T-cell lymphotropic virus (HTLV)" HTLV-I, HB_sAg, HB_cAg, hepatit C virüsü (HCV) antikor, "cytomegalovirus (CMV)" antikor, kan grubu ve Rh faktörü, *Chlamydia*, *Coxiella* ve enterovirüs varlığı kontrol edilir.

GELİŞME ÇAĞINDAKİLER İÇİN RET KRİTERLERİ

Erişkinler İçin Geçerli Olan Ret Kriterlerine Sahip Olanlar HIV virüsü taşıyan annelerin çocukları (Sadece HIV enfeksiyonunun var olmadığı tam anlamı ile kanıtlanmış olanlar ile 18 aydan büyük ve son 12 ayda emzirilmemiş çocuklarda HIV antikor tes-

tinde, anamnez ve fizik muayenede hiçbir suretle HIV enfeksiyonu belirtisi olmaması durumunda kullanılabilir).

ZAMAN LİMİTLERİ¹⁻¹⁰

SICAK İSKEMİ ZAMANI

Asistoli, diğer bir deyişle, aortun kleplendiği an ile kalbin soğuk transplant solüsyonu içine konduğu zaman aralığıdır. Bu dönem 48 saatle sınırlanmış olsa bile, bu durum sadece organ kaynağının ölüm zamanından sonra ilk 6-8 saat içerisinde soğutulabildiği durumlar için geçerlidir. Bunun sağlanamaması halinde sınır 12 saattir.

SOĞUK İSKEMİ ZAMANI

Kalbin soğuk transplant çözültisine (ringer laktat, izotonik) yerleştirilmesi ile sterilizasyonun başlaması arasındaki zaman aralığı olup, 48 saati aşmamalıdır.

DEZENFEKSİYON ZAMANI

Kapakların antibiyotikli çözelti içerisinde +4 °C'de saklandığı zaman aralığı olup, 24 ± 4 saat'tir.

TOTAL İSKEMİ ZAMANI

Asistoli ile antibiyotikli solüsyon uygulaması arasındaki zaman sürecidir. Sıcak ve soğuk iskemi zamanlarının toplamına denk düşse bile, 72 saati geçmesi tavsiye edilmemektedir.

"NON-HEART BEATING DONORS" (KADAVRA KALPLERİ)¹⁻¹⁰

Bu tarz kapaklar ölümü takiben alınmışlardır. Bu yolla elde edilen greftlerin emniyeti açısından önemli nokta, vücudun mümkün olan en kısa sürede soğutulması ve bu sayede muhtemel otoliz reaksiyonlarının mümkün olan en az düzeye indirgenmesinin sağlanmasıdır.

"HEART BEATING DONORS"¹⁻¹⁰

Bu kapakçıklar kalp transplantasyonu sürecinde çikartılmış olan kalplerden elde edilmekte olup, "Domino Kalp" adını almaktadırlar. Homogreftlerin bir diğer kaynağı da transplantasyon amacıyla alındığı halde, çeşitli nedenler sonucu kullanılmamış olan bağış organlardır.

AORT VE PULMONER GREFTLERİN PREPARASYONU¹⁻¹⁰

Preparasyon organ alınımını takiben 24 saat içerisinde gerçekleştirilmelidir. Steril şartlara sahip masa hazırlandıktan sonra iki eldiven takılmış olarak 3 katlı kese ambalaj içerisindeki organ, ilk iki kese yardımıyla sıyrıldıktan sonra steril haldeki son kat ambalajı ile preparasyon masasına alınır. Son torbanın makas ile kesilmesi sonrasında kalp bir preparasyon tasına konur ve ambalaj ile dış kat olan eldiven çıkartılıp uzaklaştırılır ve preparasyona başlanır.

İlk aşamada atriyal kalıntılar temizlenir ve ön mitral kapakçığın bağları kesilir. Kalp “scalpel” vasıtasıyla orta hattan ikiye ayrılır ve apeks uzaklaştırılır. Bu hali ile kalbe operasyon masasında sabit konum verilebilecek imkân kazanılmıştır. Sonraki işlem aort ve pulmonal arterin birbirinden serbestleştirilmesidir. Sağ ve sol koroner arterler, çıkış yerlerinin en az 5 mm distalinden bağlanır ve kesilir. Aort ve pulmonal arasındaki serbestleştirilen bölge, septum kaslarına dek derinleştirilmelidir.

Bir sonraki aşamada, sağ ventrikül ön duvarında pulmonal kapağın 2 cm altına kadar uzatılan bir kesi yapılır. Bu sayede sağlanan açık görüş ile pulmonal kapağın 5-10 mm altından sirküler olarak ilerletilen bir kesi yapılır. Atriyumda yapılmış olan kesi, triküspidal kapak ve sağ ventrikülde yapılmış olan kesiler vasıtasıyla pulmonal kapağın geri kalan bağlantıları kolaylıkla serbestleştirilir ve çıkartılabilir. Pulmonal kapak anulusu altında mutlak surette 5-10 mm'lik kas kitlesi bulunmalıdır.

Bir sonraki safhada arka mitral kapakçığın bağlantıları eksizyon ile serbestleştirilir. Septumun hemen yanından uzatılan kesi ile aort kapağının 2 cm altına ulaşılır. Aort kapağı dikkatli bir şekilde kalp tabanından serbestleştirilir. Kapak cismi altında en az 4 mm'lik kas kitlesi kalması gerekmektedir. Ön mitral kapakçık, aort bağlantısı nedeni ile tamamen bırakılır. Sol atriyumla yapışık olan noktalar dikkatli bir şekilde serbestlenirken; bu bölgede yer alan ve nonkoroner ile sağ kommissür arasındaki aşırı ince ve hassas duvara çok dikkat edilmelidir.

Çıkartılmış kapaklar üzerindeki adventisya dokusuna dokunulmamalıdır. Sadece yağ dokusundan oluşmuş topaklar temizlenebilir.

GREFT ÇAPININ ÖLÇÜLMESİ

Kapak büyüklüğünün tespiti, preparasyon seti içerisinde yer alan kapak ölçüm seti ile kapak halkası ölçülerek sağlanır. İsteğe bağlı olarak Hegar çubukları da kullanılabilen olup, kapak halkasında genişlemeye sebep olabileceği kanısı ile tarafımızca kullanılmamıştır.

Kardiyomiyopatisi olan olgularda kalp ile birlikte sıklıkla kapak tabanında da genişleme olduğundan, aort çapının da ölçülmesi yararlıdır. Prepare edilmiş olan her greft için halka ölçümü yanında, damar çapı ve uzunluk ölçülerinin de tespiti yapılmıştır.

GREFT İÇİN KAÇAK KONTROLÜ

Greft, iki penset yardımı ile uçlarından açılmış halde sıvı içerisine daldırılıp dolması sağlandıktan sonra yukarı kaldırılır. Bu sayede kapak morfolojisinin rahatlıkla takibi yanında sızma ve kaçak varlığı da tespit edilebilir.

Uygulanan diğer metot ise kapağın ters yüz edilerek kapakçıkların direkt görüş altında ve bir penset vasıtasıyla kontrolünün yapılmasıdır.

ENFEKSİYON KONTROLÜ İÇİN UYGULANAN TETKİKLER

Preparasyon esnasında aerob ve anaerob doku numuneleri alınır. Bunlara küçük miyokard parçacıkları ilave edilmesi faydalıdır.

HOMOĞREFTLERİN KALİTE SINIFLANMASI

BIS'nin 10 kademeli kalite kodlama sistemi kullanılmış olup, ilk grupta yer alan 5 kademe implantasyona uygun olarak değerlendirilmişken, ikinci gruptakilerden yararlanılmamıştır.

İmplantasyona Uygun Greft Kriterleri

Kod 1:

Mükemmel greft.

Kod 2:

*Damar duvarı veya kapak tabanında minimal aterom plak,

*Kapak tabanında ve kapakçıklarda minimal fibröz oluşum,

*Küçük bir fenestrasyon.

Kod 3:

- *Damar duvarında az da olsa aterom plak,
- * Kapak tabanında 1/3'ten az oranda aterom plak,
- * Kapak tabanında 1/3'ten az oranda fibröz oluşum,
- * Fenestrasyonlar.

Kod 4

- * Damar duvarında aterom plaklar,
- * Kapak tabanında 2/3'ten az oranda aterom plak,
- * Kapak tabanında 2/3'ten az oranda fibröz oluşum,
- * Fenestrasyonlar.

Kod 5

- *Damar duvarında yaygın aterom plaklar veya kapağın bazal kısmında yapışıklıklar,
- * Kapak bazal bağlantı bölümünde yaygın fibrotik oluşum,
- * Damar duvarında noktasal kalsifikasyonlar,
- * Fenestrasyonlar,
- * Kommissürlerde yapışıklık olması.

İmplantasyona Uygun Olmayan Greft Kriterleri**Kod 6**

Damar duvarında ve/veya kapak üzerinde geniş aterom plak ve/veya klasifikasyonlar.

Kod 7

Greft organ alınımı esnasında implante edilemeyecek derecede zarar görmüş.

Kod 8

Greft preparasyon esnasında implante edilemeyecek derecede zarar görmüş.

Kod 9

Greftte implantasyon için uygun olmayacak derecede yetmezlik bulunması.

Kod 10

Greftte, implantasyon için uygun olmayan anatomik sorunlar bulunması (örneğin; biküspit aort kapağı).

Genel Morfolojik Ret Kriterleri

Kapak üzerinde veya bazal birleşim yerinde kalsifikasyon bulunması,

Fenestrasyonların kapağın Lunula dışı bölgesinde olması veya serbest alanın 1/3'ünden fazlasını kaplaması,

Orta seviyede peteşi varlığı (Damar duvarındaki yaygın olmayan kesi ve yırtıklar kabul edilebilir, ancak ilave dokümantasyonları yapılmalıdır).

Antibiyotik ile Dekontaminasyon (Soğuk Sterilizasyon)

Son yıllar içerisinde yoğun araştırmalara konu olsa da, henüz ideal antibiyotik kokteyline ulaşamamıştır. Bu uygulamanın hem morfolojik hem de mekanik etkileşim sonucu, elastik ve kollajen bantlarda değişim oluşturduğu bilinmektedir.

Bakteri spektrumu ve direnç özelliklerinin sürekli değişen bir yapıda olması nedeni ile antibiyotik rejiminin sürekli kontrol edilmesi, değerlendirilmesi ve gerektiğinde değiştirilmesi gereklidir. Uygulamalar BIS ile uyumlu olarak sürdürülmüştür.

Greftin antibiyotik kokteyli ile dekontaminasyonu "Heart-Beating" donörler için aort klemp zamanından ve "Non Heart-Beating" donörler için ölüm zamanından en geç 26 saat sonrasında gerçekleştirilmiştir.

Antibiyotik bileşimi: Siprofloksasin 0.3 mg/L, amikasin 1.2 mg/L, metronidazol 1.2 mg/L, Vankomisin 1.2 mg/L, flusitozin 3.0 mg/L.

Homogreftin Antibiyotik Karışımı ile İnkübasyonu

Greft; RPMI adı verilen glutamin taşıyıcı solüsyonu ile uygun oranda antibiyotik karışımından oluşan 100 mL'lik çözelti içerisinde beraberine 3-5 mm'lik miyokard parçacıkları eklenmiş bir steril kap içerisinde 4-10 °C ısılarında 24 ± 2 saat muhafaza edilir.

Steril kap üzerine greftin büyüklüğü, tarih ve kayıt sıra numarası yazılmalı ve tekrar bir steril torba ile sarılıp bağlanmalıdır.

Prepare edilen kalbin kalan kısmı histolojik tetkikinin yapılması ve daha sonra gömülmesini belirten dokümantasyon eşliğinde patolojiye gönderilir.

KRİYOPREZERVASYON¹⁻¹⁰

Uygulamada dondurma emniyeti için %20'lik dimetilsülfoksit (DMSO) ile RPMI karışımı kullanılmıştır. Bu yöntem Avrupa'daki belli başlı doku bankaları yanında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde de kullanılmaktadır.

Karışım 180 mL RPMI solüsyonu ve 20 mL DMSO'dan oluşmaktadır. Bu madde ile dondurma işleminin başlangıcında oluşması muhtemel hücre içi kristalleşme ve dolayısıyla hücre hasarının önüne geçilmektedir.

PAKETLEME¹⁻¹⁰

Greft, antibiyotik ile dekontaminasyon süresini takiben steril şartlar altında dondurmaya uygun ambalaj içine nakledilir. Uygulamalarda Gambro firmasının Hemofreeze ambalajları kullanılmıştır. Steril kutudan çıkartılan greftten aerob ve anaerob kültürlerin alınmasını takiben uygun şekilde ayrılmış ambalaj içerisine yerleştirilir, üzerine hazırlanmış olan dondurma emniyet çözeltisinden 60-70 mL ilave edilip, özel kaynak makinesi vasıtasıyla ambalajın ağzı vakum tarzında kapatılır. Bu kapama işlemi 3 hat halinde olmalıdır. Greft daha sonra paketi ile ikinci emniyet ambalajı ile tekrar paketlenir. Paketleme sonrası önceden hazırlanmış olan dokümantasyon etiketi yapıştırılır. DMSO'nun sitotoksik etkisi dolayısıyla greftle oda ısısındaki teması mümkün olduğunca kısa olmalı ve bir an önce dondurma işlemine tabi tutulmalıdır.

Kriyoprezervasyon işlemi, greft ambalajının; "Ice Cube" adı verilen özel cihaz içerisinde sıvı azot ile muamele edilerek, otomatik olarak standart bir ısı şeması doğrultusunda dondurulmasıdır.

İşlemin sonlanması takiben -45 °C'ye gelmiş olan greft 20 dakika kadar cihaz içinde bekletildikten sonra -177 °C'lik sıvı azotunda belirlenmiş olan rafına yerleştirilir.

HOMOĞREFTİN ÇÖZÜNDÜRÜLMESİ¹⁻¹⁰

-177 °C ısıdaki sıvı azot tankından çıkartılan greft, ince bir cam parçası gibi darbe ve sıkışmalara hassas bir yapıda olduğundan zarar görebilir. İm-

plantasyon için gerekli olan 37 °C'lik vücut ısısına getirilmesi gerekli ise de -210 °C'lik ısı farkının hızlı bir şekilde giderildiği durumlarda kapakta "Crack" denilen çatlak ve yırtıklar oluşabilmekte ve bu da greftin kullanılmamasına yol açabilmektedir.

Cerrahi uygulamaya hazır hale getirmek amacıyla bir uygulama planı oluşturulmuştur. Buna göre ilk planda kuru buz içeren bir kaba alınan greft, buradaki -80°C'lik ısıda 20-30 dakika kadar bekletilir.

Standart ısıtma sürecinin kalan kısmı için gerekli malzemeler:

RPMI 500 mL, 1 adet makas, 50 mL'lik enjektör, 3 adet 250 mL'lik steril kap, 2 adet steril penset, 2 adet steril makas.

UYGULAMA¹⁻¹⁰

1. Steril izotonik solüsyonu birinci kaba; RPMI solüsyonu ikinci kaba konur. Üçüncü kap boş bırakılır;
2. Ambalajın dış kısmı steril makas ile kesilerek iç kısım steril bir penset ile dışarı alınır;
3. Steril iç ambalaj birinci kaptaki oda ısısındaki izotonik içerisine konur;
4. Gerektiğinde sıvı ilavesi yapılarak yavaş hareketlerle bütün kristal tanecikleri kaybolana dek hareket ettirilir. Homogreft yumuşamaya başlayınca DMSO'nun oda ısısındaki toksik etkisi nedeni ile dışarı alınır;
5. Steril diğer makas ile iç ambalaj açıldıktan sonra greft ve içeriği boş olan ikinci kaba nakledilir;
6. Enjektör ile üçüncü kaptan alınan 25 mL RPMI ikinci kaba ilave edilir. Bir dakika süre ile greft dikkatli bir şekilde hareket ettirilir;
7. İkinci kaptaki sıvı uzaklaştırılır;
8. Greft üzerine üçüncü kaptan alınan 100 mL RPMI solüsyonu konur ve 1 dakika sallanır;
9. Greft, implantasyon safhasına kadar kalacağı üçüncü kaba nakledilir;

10. İmplantasyon öncesi aerob ve anaerob doku incelemeleri için örnek alınmalıdır. Greft ambalajındaki solüsyon da bakteriyolojik inceleme için yollanabilir.

HOMOGREFTLERİN İHTİYAÇ HALİNDE NAKLEDİLME KRİTERLERİ¹⁻¹⁰

Özellikle acil cerrahi müdahale gerektiren durumlarda kalp merkezleri arasında yardımlaşma amaçlı greft alışverişi imkânı tanınmaktadır. Yollanacak veya alınacak greftler için EATB kriterlerine uyulmuştur.

Greft nakil paketinin standart içeriği:

1. Standart koruyucu solüsyon içerisinde kriyoprezerve edilmiş greft,
2. 4 °C ısıda saklanmış olan RPMI,
3. Grefte ait dokümanlar,
4. Alıcının bilgileri,
5. Çözündürme planı.

Greft, -80 °C soğukluktaki kuru buz içerisinde nakledilir. Bu işlem için öngörülen zaman 48 saat olup, kutudan alınıp -80 °C 'lik bir derin dondurucuda bir hafta süre ile saklanabilir. Nakledilen greftin tekrardan -170 °C'lik azot tankına konması önerilmemektedir.

SONUÇLAR

Homogreft bankasının faaliyette olduğu dönemde, yaş grubu 7 gün-79 yıl değişen ve ortalama yaşı 32 olan 146 kişilik hasta grubundan 20'sine aortik, 126'sına pulmoner homogreft implantasyonu yapılmıştır. Kullanılan homogreftlerin 68 (%46.5)'i klinik bünyesindeki homogreft doku bankasından karşılanmış iken, çoğunluğunu küçük ebatlı greftlerin teşkil ettiği (%47.7'si 20 mm ve daha küçük çaplı) 78 (%53.5) homogreft klinik dışından temin edilebilmiştir.

Homogreftlerin implantasyon endikasyonlarında; 58 olgu ile Ross operasyonları, 60 olgu ile sağ ventrikül çıkım yolu rekonstrüksiyonları ve 14 olgu ile endokarditler ön planda yer almaktadır.

İzlemlerde 3 (%6.8) olguda erken mortalite saptanmıştır. Bu hastalardan 2.sinde endikasyon

protez endokarditi iken, diğerinde "truncus arteriosus"tur. Ortalama 38 aylık izlem sürelerinde reoperasyondan yoksunluk %95.2 olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

Hufnagel tarafından implante edilmiş olan ilk mekanik protezin üzerinden yarım asırlık bir zaman geçmiş olmasına ve tıptaki ilerlemelere rağmen, kapak cerrahisi hâlâ bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.^{1,2} Homogreftler doğala yakın formu ile kapak cerrahisinde önemli bir yer tutmaktadır. Günümüzde organ bağışlarında ve organ nakillerindeki artışa paralel olarak yararlanılabilir. Homogreft sayısında artış sağlanmakla birlikte; konjenital kalp cerrahisi uygulamalarının artmasına paralel olarak özellikle sağ ventrikül çıkım yolu tamirleri ve ayrıca endokarditin cerrahi tedavisinde kullanılan homogreftler nedeni ile artan talep karşılanamamaktadır.³⁻⁶ Endokardit tedavisinde, pediatrik kalp cerrahisi uygulamalarında özellikle sağ ventrikül çıkım yolu rekonstrüksiyonlarında homogreft kullanımı ilk seçenekler arasındadır.²⁻⁵ Homogreftler için önemli dezavantaj, elde edilme güçlüğü dolayısıyla sık kullanılmaması ve cerrahi tecrübenin tam anlamı ile edinilememesidir. Taze greft hali dışında, çeşitli konservasyon tekniklerinden sonra da kullanılabilen homogreftler için en sık uygulanan konservasyon metodu kriyoprezervasyondur.^{3,6} Doku bankamız kapsamında kullanılan DMSO çözeltisinde ön dondurma işlemi ile yapılan ıslak kriyoprezervasyon tekniği yanında kuru prezervasyon gibi alternatif kriyoprezervasyon yöntemleri uygulayan doku bankaları da bulunmaktadır.^{3,6} Doku bankamız bünyesinde antibiyotik sterilizasyon fazı EATB uygulamalarına paralel olarak 4-10 °C'de 24 saatlik süreçte gerçekleştirilmiştir. Literatürde, oda ısısı 37 °C aralığında uygulamayla üreme potansiyelinin daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.⁷ Homogreft doku bankalarında aort, pulmoner ve mitral kapaklar yanında vasküler homogreftler de üretilebilmektedir. Kliniğimizdeki cerrahi girişimlerin ağırlığını doğumsal kalp hastalıkları teşkil ettiği için kalpten sadece aort ve pulmoner kapaklar greft olarak hazırlanmış, mitral

kapak çıkartılmamıştır. Damar cerrahisi kliniğinden gelen talep üzerine sadece 3 adet inen aort grefti taze greft ve kriyoprezerve olarak hazırlanmıştır. Literatürde vasküler homogreftlerden özellikle enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde yararlanıldığı bildirilmiştir.⁸

Bağışlanan organların seçim kriterlerinin dikkatli posedürlerle takip edilmesi ve organ alımını yapan ekiplerle işbirliğinde olunması kullanıma uygun greftlerin sayı ve kalitesinde artış sağlayabilecektir. Ulusal ve bölgesel homogreft bankalarının yaygınlaştırılması sayesinde de artan kullanım ve cerrahi tecrübenin kullanımına paralel olarak, uygulamalar sonucu oluşması muhtemel cerrahi halardan kolaylıkla kaçınılabilmektedir.^{4,9}

Doku bankamıza ve nakil için uygun olmayan kalplerin hemen tümü klinik bünyesinde görevli ekip tarafından alınmakta ve getirilmekte idi. İşleme alınan organlarda uygunsuzluk nedenleri arasında en sık rastlanan durumlar, kapağa bitişik kesi yapılması ve kapakçıklarda cerrahi yaralanmalar olarak karşımıza çıkmıştır. Doku bankamızın organizasyonu sürecinde organ alımlarından sorumlu olan ve her yıl değişen organ nakil asistanları ve organ nakli koordinatörleri ile ortak çalışma sonucunda organın daha dikkatli preparasyon ve muhafaza edilmesiyle özellikle organ nakli yapılan hastalardan üretilen greftlerin sayı ve kalitelerinde artış sağlanmıştır. Organ nakli koordinasyon sistemi ile il ve ülke yönetiminin düzenli iletişimi sayesinde nakil zincirinde zaman açısından kısıtlama yaşanmamış ve 4 yıllık zaman içerisinde, kliniğe ulaşan organlardan soğutucu kaptaki olumsuzluktan kaynaklanan ve sekreteryanın unutulması sonucu değerlendirilememiş 2 organ harici tümü işleme alınmıştır. İşleme alınan kalpler nakil için gelip uygun bulunmayanlar ve nakil olan hastadan çıkanlar olduğu için tam heparinizasyonu sağlanmış bir dolaşımdan çıkarılmış durumdadırlar ve üzerinde pıhtı görülmesi çok nadir bir durumdur. Di-seksiyon öncesinde ve sırasında kapaklar serum

fizyolojik ile yıkanmış ve ilave heparin kullanılmamıştır.

Yapısı ve özellikleri itibariyle homogreftlerin yapay alternatifi olarak niteleyebileceğimiz stentsiz kapak protezleri temin edilme kolaylıklarına rağmen yüksek maliyet dezavantajı taşımaktadırlar. Fizyolojik karakterleri ve hemodinamik avantajları açısından homogreftler, özellikle endokardit hastalığının cerrahi tedavisinde ve gelişim çağındaki hastalarda ideal bir kapak protez materyali olarak kendini göstermektedir.^{4,5}

ABD’de yapılmış olan çalışmalar, günümüzde yaklaşık 6-7 bin liraya temin edilebilen ticari homogreftlere yapılacak olan harcamalardan klinik bünyelerinde oluşturulabilecek doku bankaları sayesinde önemli derecede tasarruf edilebileceğini göstermektedir.¹⁰ Ülkemizde ise sağlık mevzuatı nedeni ile bu alandaki işlemler faturalandırılmamakta ve bu, homogreft üretimi yapan kliniklerin karşısına ürettikleri greftlerin maliyetini karşılayamama sorunu olarak çıkmaktadır.

Türkiye’de organ nakli konusundaki ilerlemelere nazaran doku bankacılığı halen yetersiz durumdadır. Sağlık çalışanlarınca dahi pek bilinmemese de, 3-9 Kasım haftasını “Organ Nakli Haftası” olarak kabul etmiş olan ülkemizde, organ nakline paralel olarak doku bankacılığı ile ilgili bilgilendirme ve koordinasyon çalışmalarına önem vermek suretiyle ülkemizdeki doku bankası sayısının artırılabilceğini, artan sayı ve kurumlar arası işbirliği sayesinde de bu konudaki standardizasyon ve kalitenin artacağını düşünmekteyiz.

Homogreft bankası medikal direktörü olarak edindiğimiz tecrübeler; homogreftlerin teminindeki güçlüğü, organ bağışi konusunda yapılacak bilgilendirmeler, personel eğitimi, çalışanların devamlılık ve iletişiminin sağlanması, ulusal koordinasyon kurullarının oluşturulması ve doku bankası uygulamalarının yaygınlaştırılması ile aşılabilineceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Weisel RD, Ikonomidis JS. The results of cardiac valve procedures. *Curr Opin Cardiol* 1993;8(2):237-43.
2. Horstkotte D. Prognose und typische komplikationen nach Herzklappen ersatz. In: Horstkotte D, Loogen F, eds. *Erworbene Herzklappenfehler*. 1st ed. Munchen, Wien Baltimore: Urban & Schwarzenberg; 1987. p. 308-30.
3. Odell JA, Gillmer D, Whitton ID, Vythilingum SP, Vauher EA. Calcification of tissue valves in children: Occurrence in porcine and bovine pericardial bioprosthetic valves. In: Bodner E, Yacoub M, eds. *Biologic and Bioprosthetic Valves*. 1st ed. New York, NY: Yorke Medical. Books; 1986. p.259-70.
4. Tuna IC, Orszulak TA, Schaff HV. Results of homograft aortic valve replacement for active endocarditis. *Ann Thorac Surg* 1990;49(4): 619-24.
5. Berry BE, Ritter DB, Wallace RB. Cardiac valve replacement in children. *J Thor Cardiovasc Surg* 1974;68(5):705-10.
6. Parker R, Hunt C. European Association of Tissue Banks for cryopreserved cardiovascular tissue banking. *Cell Tissue Bank* 2000; 1(3):241-5.
7. Germain M, Thibault L, Jacques A. Heart valve allograft decontamination with antibiotics: impact of the temperature of incubation on efficacy. *Cell Tissue Bank*. 2010;11(2):197-204.
8. Chiesa R, Astore D, Piccolo G. Fresh and cryopreserved arterial homografts in the treatment of prosthetic graft infections: experience of the Italian Collaborative Vascular Homograft Group. *Ann Vasc Surg* 1998;12(5):457-62.
9. Edime T. [Organ and tissue transplantations: results and recommended strategies in Turkey.] *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2004; 24(3):261-6.
10. Lever CG, Ross DB, Page LK. Cost-effectiveness and efficacy of an on-site homograft heart-valve bank. *Can J Surg* 1995;38(6):492-6.