

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

RENAL TRANSPLANTASYON HASTALARINDA
AVASKÜLER NEKROZ GELİŞİMİ VE ENOS POLİMORFİZMİ

UZMANLIK TEZİ
DR. TOLGA BAKIR

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. GALİP GÜZ

ANKARA ŞUBAT 2019

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

RENAL TRANSPLANTASYON HASTALARINDA
AVASKÜLER NEKROZ GELİŞİMİ VE ENOS POLİMORFİZMİ

UZMANLIK TEZİ
DR. TOLGA BAKIR

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. GALİP GÜZ

ANKARA ŞUBAT 2019



**Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı**

Adı ve Soyadı	Tolga BAKIR
Baba Adı	Mehmet
Doğum Yeri/Tarihi	Bilecik/18.09.1989
Diploma Tarihi / Diploma No	09.07.2013 / 000609
Mezun Olduğu Fakülte	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	İç Hastalıkları
İhtisas Süresi	Yıl: 4,5 Ay: 54
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

**UZMANLIK TEZİNİN ADI: RENAL TRANSPLANTASYON HASTALARINDA
AVASKÜLER NEKROZ GELİŞİMİ VE ENOS POLİMORFİZMİ**

JÜRİ KARARI: İç Hastalıkları Anabilim Dalında araştırma görevlisi doktor olarak çalışmakta olan Tolga BAKIR'ın " RENAL TRANSPLANTASYON HASTALARINDA AVASKÜLER NEKROZ GELİŞİMİ VE ENOS POLİMORFİZMİ " isimli tezi uzmanlık tezi olarak başarılı olarak kabul edilmiştir.

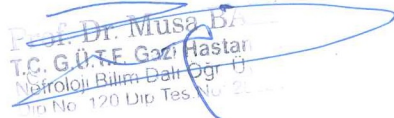
JÜRİ ÜYELERİ


BAŞKAN
T.C. G.Ü. F. Gazi Hastanesi
İÇ HASTALIKLARI D. NEFROLOJİ B. D.
Diploma No: 90-AA-121
Dip. Tes. No: 54860

Prof. Dr. Galip GÜZ

ÜYE

Prof. Dr. Musa BALI


Prof. Dr. Musa BALI
T.C. G.Ü. F. Gazi Hastanesi
Nefroloji Bilim Dalı Öğr. Üy.
Dip. No: 120 Dip. Tes. No: 54860

ÜYE

Doç. Dr. İbrahim YILDIRIM


Doç. Dr. İbrahim YILDIRIM
Dip. Tes. No: 1443-76521

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim sırasında ve tezimin tüm aşamalarında desteğini hiç esirgemeyen, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, meslek hayatında da her anlamda kendime örnek alacağım çok değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Galip GÜZ'e, yetişmeme bilgi ve deneyimleriyle katkıda bulunan, her daim bize yol gösteren, tüm değerli hocalarıma, güleryüzü ile bana her daim yardımcı olan Doç.Dr.Sevim GÖNEN'e, başasitanlığım esnasında daha da yakından tanıma fırsatı bulduğum Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Turgay Arınsoy'a, tezimin yapım aşamasında büyük yardımlarını gördüğüm, hiçbir desteğini benden esirgemeyen ve her yanına gidişimde sabırla bana güleryüz gösterip, herşeyin en doğrusunu anlatan Uzm. Dr. Berfu KORUCU,'ya ayrıca uzm.dr. Özant HELVACI ile Uzm.dr.Cengiz KARAÇİN'e, uzmanlık eğitimim süresince beraber çalışma şansına sahip olduğum, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, yaşamım boyunca varlıklarını yanımda hissettiğim, sevgi ve desteklerini benden hiç esirgemeyen çok sevgili annem Zeliha BAKIR'a, babam Mehmet BAKIR'a, ortopedi ihtisası yapmakta olan kardeşim Mustafa BAKIR'a, benimle birlikte tüm sıkıntılara göğüs geren hayat arkadaşım sevgili eşim Selin BAKIR'a ve küçük kızım İpek BAKIR'a...

Teşekkürler

Tolga BAKIR

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
TABLolar DİZİNİ	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ	1
1.1.RENAL TRANSPLANTASYON.....	2
1.1.1 Immunsupresif Rejimler	2
1.1.2.Immunsupresif İndüksiyon Rejimlerinde Kullanılan İlaçlar.....	2
1.1.3. Immunsupresif İdame Rejimlerinde Kullanılan İlaçlar.....	3
1.1.4.Kalsinörin inhibitörleri:.....	4
1.1.5 Antimetabolit ajanlar:	5
1.1.6 Glukokortikosteroidler	7
1.1.7 Glukokortikoidlerin Organ Bazında Yan Etkileri:	14
1.1.8 Osteonekroz:	18
1.1.9 Osteonekrozun Glukokortikoid Dışı Diğer Sebepleri	21
1.1.10 Osteonekrozun Klinik Bulguları:	24
1.1.11Osteonekrozda Görüntüleme Yöntemleri:	24
1.1.12 Osteonekrozda Tanı	27
1.1.13 Osteonekrozda Sınıflandırma.....	27
1.1.14 Osteoartritte Tedavi Seçenekleri	29
1.2 Nitrik Oksit	33
2. ÇALIŞMANIN AMACI:	34
3. MATERYAL & METOT.....	35

3.1 Hasta karakteristikleri	35
3.2 Teknik işlemler:	35
3.4 Böbrek nakil prosedürleri:	37
3.5 Immunsupresif terapi ve rejeksiyon tedavisi:	37
3.6 AVN nin tanısı ve tedavisi:	37
3.7 İstatistiksel metotlar:	38
4. SONUÇLAR:	39
4.1 Çalışma popülasyonu	39
4.2 AVN gelişimi açısından olası risk faktörlerinin analizi	39
4.3. AVN gelişimi açısından risk faktörü olabilecek labaratuvar değerlerinin analizi	41
4.4 AVN gelişimini öngörmeye kullanılabilecek bağımsız multivarite risk faktörlerinin analizi	43
5. TARTIŞMA:	44
KAYNAKLAR	47

KISALTMALAR

(6-MP)	:6-merkaptopurinin
(AP-1)	:Aktivatör protein-1
(AVN)	:Avasküler nekroz
(AZA)	:Azatioprin
(BT)	:Bilgisayarlı tomografi
(DM)	:Diyabet mellitus
EDRF	:(Endothelium-derived relaxing factor)
(ESWT)	:Elektrik stimülasyonu
(EC-MPS)	:Enterik- kaplı mikofenolat sodyum
(GI)	:Gastrointestinal
(GFR)	:Glomeruler filtrasyon hızı
[GRES](elementler)	:Glucocorticoid-responsive elements, glukokortikoid duyarlı elementler)
(HKHN)	:Hematopoetik kök hücre nakli
(HGPR)	:Hipoksantin guanin fosforibosiltransferaz
(HPA)	:Hipotalamik-hipofiz-adrenal
(HIV)	:Human immunodeficiency virus
(Ig)	:İmmünoglobulin
(IMP)	:İnosin monofosfat
(IGF-1)	:İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
(IL)	:İnterlökin
(c-Jun)	:Jun N-terminal kinazı
(ARCO)	:Kemik dolaşımını araştırma derneği
(BMD)	:Kemik mineral yoğunluğu
(KBH)	:Kronik böbrek hastalığı
(KBY)	:Kronik böbrek yetmezliği
(MHC)	:Major histocompatibility complex
(MRG)	:Manyetik rezonans görüntüleme
(mRNA)	:Mesajcı RNA
(MMF)	:Mikofenolat mofetil

(MPA)	:Mikofenolik asit
(MAPK)	:Mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz
(NK)	:Natural killer
(NO)	:Nitrik oksit
(RANK)	:Nükleer faktör kappa-B'nin reseptör aktivatörü
(RANKL)	:Nükleer faktör kappa-B'nin reseptör aktivatörünün ligandı
(NF-kB)	:Nükleer faktör-kappa-B
(PTH)	:Paratiroid hormon
(PKBH)	:Polikistik böbrek hastalığı
(COX)	:Siklooksijenaz
(SLE)	:Sistemik lupus eritematozus
(Th)	:T yardımcı
(KDIGO)	:The Kidney Disease: Improving Global Outcomes
(TKA)	:Total kalça artroplastisi
(TKP)	:Total kalça protezleri
(TNF)	:Tümör nekroz faktörü

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Glukokortikoid tedavisi sonrası gelişen başlıca yan etkiler:	14
Tablo 2: Glukokortikoidlerin Kemik Üzerindeki Etkisi	17
Tablo 3: AVN'nin etyolojik nedenleri	20
Tablo 4: Kullanılan primerler	35
Tablo 5: PCR koşulları.....	36
Tablo 6: Yeni nesil sekanslamadaki PCR koşulları	36
Tablo 7: Temel karakteristik özellikler	40
Tablo 8: Çalışma popülasyonumuzun labaratuvar değerleri.....	42
Tablo 9: AVN öngörmede kullanılacak bağımsız, prediktif faktörü belirlemek amaçlı yapılan multivariate cox regresyon analiz sonuçları	43

ÖZET

Kronik böbrek yetmezliği artan prevalansı ile birlikte dünya genelinde önemli bir sorundur. Son dönem böbrek yetmezliği sonrası renal transplantasyon yapılan hastalarda, posttransplantasyon dönemde bazı tıbbi sorunlar gelişebilmektedir. Bu sorunlardan bir tanesi de glukokortikoid kullanımına bağlı gelişen femur başı avasküler nekrozdur(AVN). Çeşitli travmatik ve atravmatik faktörler osteonekroz etiyolojisine katkıda bulunabilir. Bu faktörlerin bazıları için kesin bir etiyolojik rol belirlenmiştir, ancak risk faktörleri için durum böyle değildir. Glukokortikoidlerin kullanımı ve aşırı alkol alımı, atravmatik vakaların %80'inden fazlasında rol oynar. Osteonekrozun patogenezi ise tartışmalı bir alandır. Genetik yatkınlık, metabolik faktörler, vasküler hasar, artmış intraosseöz basınç ve mekanik stres intraosseöz kanlanmayı etkileyerek osteonekroza neden olabilir.

Nitrik oksit (NO) insan vücudundaki en önemli parakrin sinyal moleküllerden birisidir.

Trombin, bradikinin, tromboksan A₂, histamin, adenin nükleotitleri ve agregre trombositler NO salınımına neden olduğu gibi damar duvarının kesiye vazokonstrüksiyon cevabı sonrasında da dengelyici vazodilatatör olarak NO salınır. Vazoaktif özelliklerine ek olarak, nitrik oksit güçlü bir trombosit adhezyonu ve agregasyonu inhibitörüdür. NO in vazoaktif özellikleri kemik metabolizmasında da rol oynar, mekanik stimülasyon ve östrojen uyarımı sonrası osteoklastların inhibisyonu eNOS ile düzenlenir. Tüm bu nedenlerle NO sistemi osteonekrozisin önemli bir patogenetik yolağını oluşturmaktadır. Kemik hücrelerinde 3 ana nitrik oksit sentataz (eNOS, bNOS, and iNOS) vardır ki, eNOS osteoblastik hücrelerde predominanttır. Daha önceki çalışmalarda eNOS polimorfizminin idiopatik osteonekrozis gelişimi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 2002 ile 2019 yılları arasında takip edilmekte olan 218 tane renal transplantasyon yapılmış gönüllü araştırmaya dahil edildi. Semptomatik AVN bulguları olan vakaların pelvisleri manyetik rezonans(MRG) ile tanı aldı. AVN hastalarını risk faktörlerini ve klinik özelliklerini göz önünde bulundurarak değerlendirdik.

2002 ile 2019 arasında çalışmaya dahil edilen 218 hastanın izlemde 21'inde AVN gelişti(%9.6). Hastaların 135'i erkek, 83'ü kadındı. Erkeklerde 14'ünde (%9), kadınların ise 7'inde (%9) AVN görüldü. AVN görülenler ile görülmeyen grupta cinsiyet açısından belirgin bir fark saptanmadı($p=0.30$). NOS polimorfizmi ile AVN arasındaki ilişkiye bakıldığında AVN gelişen grupta NOS polimorfizmi 21 hastanın 16 sında saptanırken, AVN gelişmeyen grupta bu sayı 219 hastada 181 idi. Dolayısı ile NOS polimorfizm ile AVN gelişimi arasında bir ilişki bulunamadı($p=0.12$). Ayrıca cinsiyet, yaş, NOS polimorfizmi, diyaliz süresi, kümülatif glukokortikoid dozu, cni kullananlar/kullanmayanlar, mammalian Target of Rapamycin inhibitörleri(mTORi) kullananlar/kullanmayanlar arasında yapılan cox regresyon analizi ile sadece siklosporin ve sirolimusun bağımsız birer prediktif faktör olduğu gösterildi. Buna göre siklosporin kullanımı AVN gelişiminde HR:19[%95 güven aralığı 1,63-221 $p<0,2$] ile önemli bir bağımsız risk faktörü olduğu gözlemlendi. Aynı durum sirolimusda kullananlarda da söz konusu olup, bu bireylerin AVN gelişim riski HR:12,6[%95 güven aralığı ile 2,0-75,89 $p<0,006$] olarak saptandı ve sirolimus, bağımsız bir risk faktörü olarak tanımlandı.

Çalışmamız sonrasında eNOS polimorfizminin glukokortikoid kullanan hastalarda AVN yi arttırdığına dair bir ipucu bulamadık, öncesinde ancak siklosporin kullanan hastaların kalsinörin inhibitörleri(CNI) kullanmayanlara oranla 19 kat, sirolimus kullanan hastaların ise mTORi kullanmayanlara oranla AVN riskini 12 kat arttırdığı görüldü.

Anahtar kelimeler: Renal transplantasyon, T-786C NO polimorfizmi, glukokortikoid, avasküler nekroz, kalsinörin inhibitörleri, mTORi

SUMMARY

Along with the increasing prevalence of chronic renal failure is a major problem worldwide.

In patients undergoing renal transplantation after end stage renal failure, some medical problems may develop during the posttransplant period. One of these problems is avascular necrosis of the femoral head due to glucocorticoid use (AVN). Various traumatic and atraumatic factors may contribute to the etiology of osteonecrosis. A certain etiological role has been identified for some of these factors, but this is not current for risk factors. The use of glucocorticoids and excessive alcohol intake play a role in more than 80% of atraumatic cases. The pathogenesis of osteonecrosis is a controversial area. Genetic susceptibility, metabolic factors, vascular damage, increased intraosseous pressure and mechanical stress can cause osteonecrosis by affecting intraosseous blood supply.

Nitric oxide (NO) is one of the most important paracrine signaling molecules in the human body. Thrombin, bradykinin, thromboxane A₂, histamine, adenine nucleotides and aggregated platelets cause NO release, and the vasoconstriction response of the vessel wall is then released as a neutral vasodilator. In addition to its vasoactive properties, nitric oxide is a potent inhibitor of platelet adhesion and aggregation. Vasoactive properties of NO also play a role in bone metabolism, inhibition of osteoclasts after mechanical stimulation and estrogen stimulation is regulated by eNOS. For all these reasons, the NO system is an important pathogenetic pathway of osteonecrosis. Bone cells have 3 main nitric oxide synthetases (eNOS, bNOS, and iNOS), eNOS predominant in osteoblastic cells. Daha önceki çalışmalarda eNOS polimorfizminin idiopatik osteonekrozis gelişimi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir.

218 renal transplantation volunteers who were followed in Gazi University Faculty of Medicine between 2002 and 2019 were included in the study. The pelvis of the patients with symptomatic AVN findings were diagnosed with magnetic resonance imaging (MRI). We evaluated AVN patients by considering risk factors and clinical characteristics.

Among the 218 patients included in the study between 2002 and 2019, AVN developed in the follow-up of 21 patients (9.6%). 135 of the patients were male and 83 were female. AVN was seen in 14 males (9%) and 7 (9%) of females. There was no significant difference in gender in the group without AVN ($p=0.30$). NOS polymorphism was detected in 16 of 21 patients in the AVN group, while in AVN group this number was 181 in 219 patients.

Therefore, there was no relationship between NOS polymorphism and AVN development ($p= 0.12$). Cox regression analysis of sex, age, NOS polymorphism, dialysis duration, cumulative glucocorticoid dose, cnc users, mammalian Target of Rapamycin inhibitors (mTORi) and non-use cox regression analysis showed that only cyclosporine and sirolimus were independent predictive factors. Accordingly, cyclosporine use was observed to be an important independent risk factor in the development of AVN with HR: 19 [95% confidence interval 1.63-221 $p <0.2$]. The same situation was also observed in sirolimus users and the risk of development of AVN was determined as HR: 12.6 [95% confidence interval, 2.0-75.89 $p <0.006$] and sirolimus was defined as an independent risk factor.

In our study, we could not find a clue that the eNOS polymorphism increased AVN in patients using glucocorticoids, but patients who used cyclosporine increased the risk of AVN by 12 times compared to those who did not use calcineurin inhibitors (CNI) and 12 patients using sirolimus compared to non-mTORi patients.

Keywords: Renal transplantation, T-786C NO polymorphism, glucocorticoids, avascular necrosis, calcineurin inhibitors, mTORi

1. GİRİŞ

Kronik böbrek hastalığı (KBH) dünya genelinde olduğu gibi Türkiye’de de ciddi bir sağlık problemidir. ABD de 1973 yılında ortalama 10,000 KBH hastası kayıt altındayken, 2015 yılında bu sayı 703,243’e yükselmiştir [1, 2].

The Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) KBH’ı 2017 klavuzunda şöyle tanımlamıştır[3]:

- Glomeruler filtrasyon hızının(GFR) 3 aydan daha uzun süre $<60 \text{ mL/ min/1.73 m}^2$ nin altında olması veya

Aşağıdaki anormalliklerden bir veya daha fazlasının mevcudiyeti:

- İdrarda 30 mg/g albumuniri olması,
- Anormal idrar sedimentlerinin belirmesi,
- Tübüler hasara bağlı olarak elektrolit imbalansı gelişmesi,
- Biyopsi sonucu anormal böbrek histolojisinin saptanması,
- Görüntülemelerde böbrekte yapısal anormalliklerin saptanması
- Hastanın renal transplantasyon geçmişinin olması

Bu sebeple KDIGO ya göre, $\text{GFR} < 30$ altında düştüğünde hasta renal replasman tedavi seçenekleri açısından eğitilmelidir[4]. Hastaya, medikal olarak renal replasman tedavisinin sonuna geldiği söylenmeli, hemodiyaliz, peritonel diyalizi ve renal transplantasyon hakkında bilgi verilmeli, bu yöntemlerin avantajları ve dezavantajları anlatılmalıdır[5, 6].

GFR ’nin $<15 \text{ mL/dk /1.73 m}^2$ altında olması durumu ise kronik böbrek yetmezliğidir (KBY). Üremik semptomların ortaya çıkması durumunda veya $\text{GFR} < 10 \text{ mL/dk /1.73 m}^2$ olması durumunda, hastada semptom yoksa bile renal replasman tedavisine başlanabilir[7].

1.1.Renal Transplantasyon

Renal transplantasyon KBY de çoğu hasta tarafından tercih edilen başarılı bir tedavi yönetimidir[8, 9]. Başarılı bir nakil hayat kalitesini arttırdığı gibi, diyaliz ile karşılaştırıldığında da mortalite riskinde ciddi bir düşüş sağlar[10, 11]. Ancak renal allografta karşı oluşabilecek akut rejeksiyonu önleyebilmek adına tüm alıcılara immunsupresif tedavi verilmesi gerekmektedir. Bu immunsupresif tedavilerin yoğun kullanılmaya başlanması ile başta enfeksiyon, malignite ve kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere, bu hastalarda çeşitli hastalıklara karşı yeni yatkınlıklar oluşmaktadır. Bu sebeple renal allograft alıcılarını hayatının geri kalanında yakın takibe almak gerekmektedir.

1.1.1 Immunsupresif Rejimler

İmmünsüpresif ajanlar verilmeden bir böbreğin nakledilmesi, allograft reddi ve kaybıyla sonuçlanır. Bu sebeple renal transplantasyon sonrası, allografta karşı oluşabilecek akut rejeksiyonu önleyebilmek için tüm alıcılara immunsupresif rejimler uygulanır. Bu ajanları kullanım amaçlarına göre 3 başlık altında toplamak mümkündür:

- İndüksiyon tedavisi,
- İdame tedavisi,
- Akut rejeksiyon tedavisi

1.1.2.Immunsupresif İndüksiyon Rejimlerinde Kullanılan İlaçlar

Akut allograft rejeksiyon riskini azaltmak için renal transplantasyondan hemen sonra uygulanan yoğun immünosupresif tedavidir. Optimal profilaktik indüksiyon immünosüpresif tedavi tartışmalıdır ancak iki yol izlenebilir:

- Yüksek dozlarda geleneksel immunsupresif ajanların verilmesi

- Düşük dozlarda geleneksel immunsupresif ajanların, T-hücrelerine karşı oluşturulmuş monoklonal veya poliklonal antilenfosit antikorlar ile kombine verilmesi

Mevcut antikor tedavileri ise şunlardır[12-14]:

Anti-lenfosit antikorları: Hem monoklonal hem de poliklonal antikorları vardır. Poliklonal antikorlar, major histocompatibility complex (MHC) antijenleri dahil olmak üzere çok çeşitli insan T-hücresi yüzey antijenlerine karşı antikorlar içerir. Timoglobulin, tavşanlarda üretilen bir poliklonal immünosupresif ajandır (rATG). Başka bir poliklonal antilenfosit antikor olan Atgam ise saflaştırılmış bir gama globulin çözeltisidir. Atların, insan timositleri ile aşılması sonucu elde edilir. Alemtuzumab (Campath-1H) insanlaştırılmış bir anti-CD52 panlenfositik (hem B hem de T hücreleri) monoklonal antikorudur.

IL-2 reseptör antagonistleri: T hücre proliferasyonunu indükleyen önemli bir otokrin büyüme faktörü olan IL-2, T hücresi aktivasyonunu kalsinörin aracılı stimülasyon ile gerçekleştirir. Bu yol ile yine kendisinin transkripsiyon, translasyon ve sekresyonunda rol oynar. Bu nedenle, diğer terapötik seçeneklerden biri de anti-IL-2 reseptör antikorlarının kullanılması sonucu, IL-2 aktivitesinin bloke edilmesidir. Tek IL-2 reseptör antikoru şu an itibari ile Basiliximab tır.

Anti-CD20 antikorları: Rituximab, CD20+ B hücrelerine karşı üretilmiş anti-CD20 monoklonal antikorudur. Daha çok HLA ve AB0- uyumsuz böbreklerde, antikor ilişkili rejeksiyonu önlemek için kullanılır.

1.1.3. Immunsupresif İdame Rejimlerinde Kullanılan İlaçlar

Akut rejeksiyon riski ortadan kalktıktan sonra da uzun dönemde immünosupresyonun seviyesi, enfeksiyon ve malignite gelişimini en aza indirmek için zamanla azaltılır. Böbrek transplantasyonunda henüz optimum bir immünosüpresif tedavi şeması bulunmamaktadır. Çeşitli kombinasyon rejimlerinde kullanılan başlıca immünsüpresif ajanlar ise şunlardır:

- Glukokortikosteroidler (ilk tercih oral prednizon),
- Azatioprin,
- Mikofenolat mofetil(MMF) ile enterik- kaplı mikofenolat sodyum(EC-MPS),
- Siklosporin,
- Takrolimus,
- Sirolimus,
- Everolimus,
- Belatacept [15-17]

Çoğu transplant merkezi, aşağıdaki ajanlarla oluşturulan üçlü immünsüpresyon idame rejimini kullanır[17].

- Bir tane kalsinörin inhibitörü (siklosporin veya takrolimus)
- Bir tane antimetabolit (azatioprin, MMF, EC-MPS)
- Prednizolon

Bu rejim, 2009 KDIGO’ nun renal transplantasyon için yayınladığı klavuz ile uyumludur[18]. Üçlü immünsüpresif tedavi ile bir yılda % 90’lık allograft sağkalımını ve % 20’lik akut rejeksiyon oranlarını gösteren randomize, kontrollü çalışmalar ve meta-analizler mevcuttur[19, 20].

1.1.4.Kalsinörin inhibitörleri:

Siklosporin ve takrolimus bu gruptadır. Siklosporin on bir aminoasidin oluşturduğu lipofilik siklik bir peptid iken, takrolimus makrolid grubundan bir antibiyotiktir. Her iki ilaç da mantarlardan izole edilmiş olup, hücre-aracılı ve humoral bağışıklık cevapları üzerinde benzer baskılayıcı etkilere sahiptir.

Her iki ilaç da, çoğu hücrede bulunan, bir çeşit sitoplazmik protein ailesine, yüksek afinite ile bağlanır. Siklosporinin, bu sitoplazmik protein ailesinden hedefi siklofilinler iken, takrolimusun hedefi FK-bağlanma proteinlerdir. Bağlanma sonrası oluşan ilaç reseptör kompleksi kalsiyum ve kalodulin bağımlı fosfataz olan

kalsinörünü selektif ve yarışmacı bir şekilde bağlar ve inhibe eder[21-24]. Bu işlem sonucu transkripsiyon faktörleri ailesinden NF-AT translokasyonu inhibe olur, böylelikle sitokin genlerinin transkripsiyonel aktivasyonu azaltılmış olur. Bu durum interleukin (IL) -2, tümör nekroz faktörü (TNF) -alfa, IL-3, IL-4, CD40L, granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör ve interferon gamanın azalması ile sonuçlanır[21, 22, 25, 26]. Sonuçta, T lenfositlerin proliferasyonu azalır.

Siklosporin ve takrolimus, esas olarak T yardımcı hücreleri üzerinde etkili olsa da, T süpresör ve T sitotoksik hücreleri üzerine de etki ederek inhibisyona neden olur. Siklosporin ayrıca TGF- β 'nın ekspresyonunu arttırarak, böbrek parankiminde fibrozise neden olur[27, 28]. Ayrıca diğer bazı immünosüpresif ajanların ve alkileyici ajanların aksine, siklosporinin ve takrolimusun klinik olarak anlamlı mielosüpresif aktivitesi yoktur[29]

Her iki ajanın yan etkileri hemen hemen benzerdir. Otoimmün bozuklukların tedavisinde kullanıldığında, yan etkilerin sıklığı ve şiddeti, transplant alıcılarında görülenlere oranla daha düşüktür. Bu gözlem, kullanılan daha düşük dozlar ve otoimmün bozukluğu olan hastalarda toksisite ortaya çıktığında ilacı azaltma veya ilacı bırakma seçeneği ile açıklanmaktadır; Bu seçenekler, transplant alıcılarında mevcut olmayabilir. Kalsinörin inhibitörlerinin yan etkileri arasında, nefrotoksiste, hipertansiyon, nörotoksisite, metabolik anormallikler, fırsatçı enfeksiyonların sayısında artış, malignensi riskinde artış, gastrointestinal sistem yan etkileri ve kozmetik yan etkiler sayılabilir[30-37].

2009 yılında yayınlanan KDIGO klavuzu renal transplantasyon sonrası, daha düşük akut rejeksiyon oranları ve benzer maliyet oranından dolayı takrolimusu önermektedir[18, 38, 39].

1.1.5 Antimetabolit ajanlar:

Antimetabolit ajanlar, nükleik asitlerin sentezini engelleyerek hem T hem de B lenfositlerinin proliferasyonunu inhibe eder. Mikofenolat mofetil (MMF) veya enterik kaplı mikofenolat sodyum (EC-MPS), Amerika Birleşik Devletleri'ndeki

böbrek transplant alıcılarının yüzde 90'ından fazlasında kullanılan antimetabolik ajandır; azatioprin nadiren kullanılır[40].

Bununla birlikte, MMF ve EC-MPS, azatioprine göre çok daha pahalıdır.

Mikofenolat Mofetil:

Mikofenolik asit (MPA) iki formülasyonda mevcuttur: Mikofenolat mofetil (MMF) ve enterik kaplı mikofenolat sodyum (EC-MPS). MMF, MPA'nın biyoyararlanımını iyileştirmek için geliştirilmiş bir ön ilaçtır. EC-MPS ise mide yerine ince bağırsakta MPA salınımını geciktirerek advers gastrointestinal (GI) etkilerini, özellikle ishali azaltma potansiyeline sahiptir. Her iki formülasyon da aktif metabolit MPA'ya hızla hidrolize edilir[41, 42].

Purin nükleotidlerinin, de novo sentezi, lenfosit proliferasyonunda önemli bir rol oynar. Çünkü inosin monofosfatın(IMP) guanosin monofosfatına dönüşümüne sebep olan IMP dehidrojenaz, lenfositlerdeki purin nükleotid sentezindeki hız sınırlayıcı adımı katalize eder. Bu enzimin diğer hücrelerde böyle bir rolü yoktur. İşte MPA da, IMP dehidrojenazı inhibe ederek B ve T hücrelerinin proliferasyonunun azalmasına buna bağlı olarak da antikor üretiminin azalmasına neden olur[43].

Gastrointestinal (GI) semptomlar ve doza bağlı kemik iliği baskılanması en sık görülen yan etkilerdir, ancak bu semptomlar genellikle doz ayarlamaları ile düzelir. En sık görülen yan etkiler ise gastrointestinal sistem yan etkileri, kemik iliği supresyonu, fırsatçı enfeksiyonlarda artış, progresif multifokal lökoensefalopati ve malignite riskinde artıştır[44-47].

Azatioprin:

Azatioprin (AZA), purin metabolizmasının antagonisti olup, DNA, RNA ve protein sentezini inhibe edebilen immunsupresif bir ajandır. Hücre içinde bulunan 6-merkaptopurinin(6-MP), hipoksantin guanin fosforibosiltransferaz (HGPRT) tarafından metabolizması sonrası, tiyoinosinik ve tioguanik asit üretilir. Bu bileşikler, hücre içi inosinik asit sentezini bastırır, böylece adenin ve guanin ribonükleotid üretiminde azalma olur[48, 49]. Hücre içi purin sentezindeki bu azalma, dolaşımdaki B ve T lenfositlerinin sayısında azalmaya neden olur[50, 51] ve bu durum azalmış

immunoglobulin sentezi ile azalmış IL-2 sekresyonu lehine sonuçlanır[52]. Azatioprin (AZA), IL-6 veya çözünür IL-2 reseptörünün serum seviyelerini azaltmaz[53]. Görüldüğü gibi AZA'nın hücre içi metabolitleri hem pürin metabolizmasının inhibisyonu hem de T-hücre apoptozunun indüklenmesine sebep olur, bu durum AZA'nın antineoplastik ve immunomodulator etkileri ile ilişkilidir[54].

AZA'nın sık görülen yan etkileri arasında gastrointestinal intolerans, kemik iliği supresyonu ve enfeksiyon bulunur. Ayrıca malignite riskinde artışın yanı sıra infertilite de görülebilir.

1.1.6 Glukokortikosteroidler

Glukokortikoidlerin immün sistem üzerine oldukça geniş bir inhibitör etkisi vardır. Bu sebeple inflamatuvar ve otoimmün bozuklukların akut belirtilerinin yönetilmesinde oldukça etkilidirler[55].

✓ Genel etki mekanizması

Glukokortikoidler hücre zarını pasif difüzyonla geçer ve hücre içi glukokortikoid reseptörüne bağlanır. İlacın bu reseptöre bağlanması sonrası oluşan kompleks, nükleusa translokasyon yaparak, spesifik DNA dizileri ile doğrudan etkileşime girer. Spesifik bu diziler glucocorticoid-responsive elements [GREs](glukokortikosteroid duyarlı elementler) ile diğer transkripsiyon faktörleridir.

Gen transkripsiyonu üzerine etkisi: İlaç reseptör kompleksi DNA üzerinde bazı genlerin transkripsiyonunu artırırken bazılarını azaltır. Glukokortikoidlerin antiinflamatuvar etkilerinin mekanizmaları aşağıda sıralanmıştır:

- İnterlökin(IL)-1 alfa ve IL-1 beta gibi proinflamatuvar genlerin promotor bölgelerine bağlanma ve bloke etme[56].
- I-kappa-B-alfa, IL-1 reseptör-II, lipokortin-1(annexin-1), IL-10, alfa-2-makroglobulin gibi anti-enflamatuvar gen ürünlerini kodlayan genlerin promotör dizilerine transkripsiyon artışı ve sekretuar lökosit proteaz inhibisyonu[57-59].

- İnflamatuvar sitokinlerin sentezini inhibe eder. Bu durum esas olarak proinflamatuvar mediyatörlerin transkripsiyonu için gerekli olan nükleer faktör-kappa-B (NF-kB) ve aktivatör protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerinin engellenmesi suretiyle elde edilir[57, 59-62]. Böylelikle, glukokortikoid kaynaklı mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) fosfataz 1 ekspresyonu artar ve hücre içi sinyallemeye katılan bazı proteinlerin defosforilasyonu gerçekleşir[62]. Bahsedilen bu proteinler Jun N-terminal kinazı (c-Jun ve AP-1 üretimine müdahale), hücre dışı sinyale bağlı kinaz 1-2 ve p38 MAPK dır. Glukokortikoidler, NF-kB'yi yakalayan ve dolayısıyla inaktive eden, protein yapısındaki I-kappa-B-alfa'nın sentezini artırır[57, 59].

Postransyonel aşamalara etkisi: Glukokortikoidler, gen transkripsiyonu üzerindeki etkilerine ek olarak, translasyon sonrası olayları etkileyerek inflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu da inhibe eder[62]. IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, tümör nekroz faktörü ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktörü kodlayan mesajcı RNA'nın (mRNA) stabilitesi glukokortikoidlerin varlığında azalır[63].

Glukokortikoidlerin gen transkripsiyonu üzerindeki etkilerinin sonuçları şunlardır:

- Anjioödemde bazı formlarında rol alan vazodilatatif bir peptid olan bradikinin'i yıkan, anjiyotensin-dönüştürücü enzim ve nötr-endopeptidaz enzimlerinin sentezini artırır[64].
- Fagositik hücrelerde enflamatuvar eikosanoitlerin üretimini baskılamak adına lipokortin-1 (annexin 1), makokortin ve / veya lipomodülinin sentezini indükler. Bu moleküllerin tamamı fosfolipaz A2 yi inhibe eder. Böylelikle hücre membran fosfolipidlerinden araşidonik asidin serbest kalması engellenmiş olur[65-69].
- Araşidonik asit yolağından üretilen siklooksijenaz(COX)-2 nin de sentezi baskılanır. Böylelikle COX-2 tarafından üretilen akut iltihabi olaylarda artan prostaglandinin sentezi ciddi oranda azalır[70]. Bu etki glukokortikoidlerin NF-kB transkripsiyonunu baskılamasından kaynaklanır. Glukokortikoidler COX-1'in sentezini etkilemiyor gibi görünmektedir.

Glukokortikoidlerin bazı immünolojik etkileri hedef genomik bölgelerin değişken afinitesine bağlı olarak doza bağımlıdır. Yüksek afiniteli genomik bölgeler, düşük konsantrasyonlardaki glukokortikoidlerden etkilenebilirken, bu konsantrasyon arttıķa etkilenen genlerin sayısı artabilir. Yüksek dozlu puls glukokortikoidlerin uygulanması, gen transkripsiyonunda genel nonspesifik bir bozulmaya yol açabilir. Yüksek dozda puls glukokortikoidler, hem lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonunu hem de hücre membranı boyunca kalsiyum akışını bozarak, lökosit agregasyonunu engeller[71, 72]. Her birey glukokortikoidlerin terapötik ve yan etkilerine karşı farklı duyarlılık gösterir.

✓ **Doz aralığı**

Çocuklarda prednizonun günde 1 mg / kg, yetişkinlerde ise günde 40 mg lık dozu, önemli toksisitelerin meydana gelmeye başladığı ortalama eşik değer olarak düşünülebilir.

Yüksek glukokortikoid dozlarının, kısa süre içerisinde hastalara verilmesi ile oluşan immünolojik değişiklikler bazı çalışmalarda gözlemlenmiştir. Bu çalışmalardan birinde in vitro olarak, mitojenlere lenfositlere verilen yaklaşık 1 gram intravenöz metilprednizolon, lenfosit proliferasyonunu maksimum şekilde baskılamıştır[73].

✓ **Immun hücreler üzerine etkisi**

a. Tam kan sayımı üzerine etkisi

Glukokortikoidlerin uygulanması, tam kan sayımı tablosunda bazı değişikliklere sebep olabilir:

- Bunlardan en çok bilineni n trofilinin eşlik ettiği l kositozdur. Nötrofili farklı yaş gruplarında, farklı şekilde görülebilir. Örneğin özellikle betametazon antenatal olarak maruz kalan yenidoğanlarda, tam kan sayımlarında bant yüzdesinde hafif bir artış gözlenebilir ancak erişkin hastalara glukokortikoid uygulanmasının ardından periferel kanında olgunlaşmamış nötrofillerin görülmesi oldukça nadirdir. Bu sebeple erişkin hastaların periferel kanında bantların veya diğer olgunlaşmamış nötrofillerin varlığı enfeksiyonun kanıtı olarak kabul edilebilir[74].

- Düşük dozlarda verilen glukokortikoidler, dolaşımdaki eozinofillerde dramatik bir azalmaya yol açabilir
- Nötrofillerdeki artıştan 1-2 saat önce monositlerde geçici küçük düşüşler olabilir[75]
- Glukokortikoidlerin dolaşımdaki lenfosit alt kümeleri üzerindeki etkileri değişken olmakla birlikte akut dönemde geçici lenfopeniler gelişebilir[76].
- Glukokortikoidlerin eritrosit ve trombosit sayıları üzerinde doğrudan bir etkisi yoktur, ancak kronik inflamasyonun bir sonucu olarak görülen anemi ve trombositozu tersine çevirebilir.

b. İmmun sistem hücre fonksiyonlarını değiştirmesi

Glukokortikoidlerin lökositlerin ve endotel hücrelerinin hücresel fonksiyonları üzerinde derin etkileri vardır, bu da lökositlerin vasküler endotele tutunma ve dolaşımdan çıkma yeteneğini azaltarak bir nötrofiliye yol açar. Böylelikle enflamatuvar yanıt baskılanır ve lökositlerin enfeksiyon /doku zedelenmesi alanlarına girişi engellenir.[76-78]

Glukokortikoidler hem lökosit hem de endotel hücrelerdeki adezyon moleküllerinin ekspresyonuna doğrudan etki eder. Örneğin, endotelial adezyonu arttıran IL-1 ve tümör nekroz faktörü(TNF) gibi sitokinlerin transkripsiyonunu inhibe etmesi endotelial adezyonda azalmaya sebep olur[79].

Nötrofiller:

Glukokortikoid tedavisinin nötrofil fonksiyonu üzerindeki ana etkisi, inflamasyon veya enfeksiyon bölgelerine migrasyonda bozulmadır. Vasküler yolla inflamasyon alanlarına nötrofil göçü ciddi şekilde bozulmaktadır. Bu durum, kemik iliğinden daha fazla nötrofil salınması ve nötrofil apoptozunun inhibisyonu ile birleştiğinde, dolaşımda nötrofil sayısının artması ile sonuçlanır[76, 80, 81]. Migrasyonun aksine, glukokortikoidlerin düşük dozları nötrofillerin fagositik veya bakterisidal aktivitelerini bozamaz ancak yüksek doz verildiğinde fagositik fonksiyonları inhibe edebilir[82-84].

Monosit ve Makrofajlar:

Glukokortikoidler, monosit/makrofaj türevi eikosanoidlerin ve inflamatuvar sitokinlerin (IL-1, TNF) üretimini azaltır, ayrıca makrofaj fagositik/mikrosidal işlevi inhibe eder[76, 77, 85, 86]. Retiküloendotelyal sistemle opsonize bakterilerin temizlenmesi azalır[87]. Makrofaj migrasyonunun inhibisyonu ve transkripsiyon için gerekli olan adezyon moleküllerinin ekspresyonunun azalması ile bu hücrelerin dolaşımdaki seviyelerinde hafif bir artış gözlemlenir, dokulardaki makrofajlar ve monositlerin birikiminde ise azalma olur[88, 89]. Makrofajlar tarafından HLA Class II antijen sunumu ve ekspresyonu, glukokortikoidlere yanıt olarak azaltılmıştır[90]. Bu etki, glukokortikoidlerin dendritik hücreler üzerindeki etkisiyle birleştiğinde, glukokortikoidlerin kazanılmış bağışıklık üzerindeki önemli etkisinden sorumlu olabilir.

Natural Killer Hücreleri:

Glukokortikoid uygulanmasının ardından dolaşımdaki natural killer (NK) hücrelerinin sayısında önemli bir değişiklik olmaz. Bununla birlikte, hidrokortizon uygulamasının lenfosit alt kümeleri üzerindeki akut etkilerini inceleyen bir çalışmada, olgun olmayan NK hücrelerinin sayısının azaldığı, olgun NK hücrelerinin ise sayısının arttığı görülmüştür. Özellikle, KIR3DL2, KLRC3, KLRD1 ve GPR56 dahil olmak üzere NK hücre aktivasyon genlerinin upregülasyonu, hidrokortizon infüzyonundan bir saat sonra ortaya çıkmaktadır[75, 91].

Lenfositler:

Glukokortikoidlerin uygulanmasından sonra 4 ile 6 saatte maksimuma ulaşan lenfopeni, 24 ile 48 saat arasında normalleşir. Bu durum çoğunlukla lenfositlerin kemik iliği, dalak, torakal kanal ve lenf nodlarına yeniden dağılımının sonucudur[76, 92]. T hücresi alt kümeleri üzerindeki etki değişken olsa da, T hücreleri B hücrelerinden daha fazla etkilenir.

B hücreleri ve Immunoglobulin seviyeleri: Glukokortikoidler dolaşımdaki B hücrelerinin sayısında belirgin akut değişikliklere neden olmaz[75]. Ancak uzamış glukokortikoid uygulamasıyla, T hücreleri kadar olmasa da dolaşımdaki B lenfositlerinin sayısında azalma olur[93]. Kısa süreli verilen orta-yüksek doz glukokortikoidlerle, immünoglobulin(Ig)G ve IgA seviyeleri, tedavinin ilk birkaç

haftasında yüzde 10 ila 20 oranında azalabilir, daha sonra haftalar ile aylar arasında normale döner. IgM seviyelerinin etkilendiği gösterilmemiştir[94-97]. B hücrelerinin terapötik (10nM) deksametazon konsantrasyonlarına in vitro maruz kalması, sitidin deaminaz ekspresyonuna sebep olur, bu durum immünoglobulin geninin somatik hipermutasyonunun birincil regülatörünü ve rekombinasyonunu inhibe eder[98]. Bu gözlem, glukokortikoidlerin IgM seviyeleri üzerinde belirtilen etkileri yokken, IgG ve IgA seviyeleri üzerindeki belirgin inhibitör etkilerini açıklayabilir. Glukokortikoidler ayrıca immünoglobulin katabolizmasını artırır[99]. Ayrıca glukokortikoidler B hücrelerinde IL-4 aracılığı ile Ig E düzeylerinde artışa da sebep olabilir. Uzun süreli glukokortikoid tedavisinin etkisi daha az incelenmiş olmasına rağmen, kronik glukokortikoid tedavisi gören hastaların bir kısmında hipogammaglobulinemi gelişebileceği öngörülmektedir [95, 100, 101].

T hücreleri: Düşük ile orta doz aralığında, glukokortikoidlerin T lenfosit alt kümeleri üzerinde pleomorfik etkileri vardır. Bazı T lenfosit alt kümeleri glukokortikoid uygulamasının ardından, dolaşımda bir miktar azalabilir; olgunlaşmamış naif CD4 + T hücreleri, olgun CD4 + efektör ve bellek alt kümeleri, T yardımcı (Th) 17+ T hücreleri ve CD8 + efektör T hücreleri bunlardan bazılarıdır. Hatta hidrokortizon uygulandıktan sonra, düşüş öncesi geçici bir yükselme bile olabilir[75, 102]. Dolaşımdaki T düzenleyici hücrelerin yüzdelerinin, intravenöz metilprednizolon veya prednizon ile tedavi edilen lupuslu ve sarkoidozlu hastalarda arttığı gösterilmiştir[102-104]. Daha yüksek dozlarda, glukokortikoidler T hücrelerinin hızlı bir şekilde tüketilmesini sağlar, buna sebep olan faktörler ise:

- Dolaşımdaki migrasyonun artması[76]
- T hücrelerinde İnterlökin (IL) -2 ve IL-2 sinyal yolağının inhibisyonu[105]
- Lenfoid dokulardan bozulmuş hücre salınımı[63]
- Apoptozisin indüklenmesidir[63, 106-110].

Glikokortikoidlerin Th1 sitokinlerinin ekspresyonu üzerindeki inhibitör etkisi daha büyük gibi görünse de, aktive T hücreleri tarafından hem Th1- hem de Th2'den türetilmiş sitokinlerin akut oluşumunu da inhibe eder.

Eozinofil: Glukokortikoidlerin gecikmiş tip hipersensitivite yanıtı üzerindeki etkisi değişkendir. Glukokortikoidler birincil olarak, iltihaplı hücrelerin reaksiyon bölgesine gidememesi nedeniyle kutanöz anerjiye neden olabilirler[111].

Glukokortikoidler, IL-5'in sentezini azaltarak eozinofil apoptosisine katkıda bulunur[81, 112]. Glukokortikoid uygulamasının ardından, dolaşımdaki eozinofil seviyeleri belirgin ve hızlı bir şekilde azalır[113]. Bu muhtemelen, CXC kemokin reseptörü 4'ün upregülasyonuna bağlı olarak, ekstrasvasküler dokularda eozinofillerin sekestrasyonu olmasına bağlıdır[114].

Mast hücreleri ve bazofiller: Glukokortikoidlerin in vitro olarak hem mast hücrelerini hem de sitokin üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Mast hücreleri tarafından enflamatuar sitokin üretiminin belirtilen inhibisyonu, diğer lökositler için tarif edildiği gibi gen transkripsiyonunun baskılanması ile ortaya çıkmaktadır[115-117].

Dendritik hücreler ve antijen sunumu: Glukokortikoidler, dolaşımdaki dendritik hücrelerinde belirgin bir azalmaya neden olur[118]. Bu etki glukokortikoidin CD34+ öncü hücreler ile CD14+ dendritik hücreler üzerindeki apoptozisi ile oluşmaktadır[119]. Native T hücrelerinin uyarılmasında dendritik hücrelerin antijen sunma fonksiyonu göz önüne alındığında, glukokortikoidlerle tedavi, yeni karşılaşılan antijenlere karşı bağışıklık gelişimini bozabilir.

✓ **Yan etkileri:**

Glukokortikoidler birçok inflamatuvar, alerjik, immünolojik ve malign hastalığın tedavisinde önemlidir ve glukokortikoidlerin toksisitesi, kronik inflamatuvar hastalık ile ilişkili iatrojenik hastalıkların en yaygın nedenlerinden birisidir. Pek çoğu endojen Cushing sendromundaki bulgulara benzeyen bu toksisitelerin tanınması, onların önlenmesinde ve yönetiminde değerlidir. Glukokortikoid kullanımına bağlı çok sayıda toksisite veya yan etki tanımlanmıştır (Tablo1)[120].

Tablo 1: Glukokortikoid tedavisi sonrası gelişen başlıca yan etkiler:

Dermatolojik	Metabolik ve Endokrin
Ciltte incelme, purpura ve/veya ekimoz	Hiperglisemi
Kilo almak	Hipotalamik-hipofizer-adrenal yetmezlik
Cushingoid görünüm	
Akne	Oftalmolojik
Hirsutizm	Posterior subkapsüler katarakt
Yüzde eritem	Yükselmiş intraoküler basınç/glokom
Stria	Eksoftalmus
Kardiyovasküler	Nöropsikiyatrik
Sıvı retansiyonu	Öfori
Hipertansiyon	Disöfori/depresyon
Erken aterosklerozis	Insomnia
Aritmiler	Akatizi
Serum lipoproteinlerinde artış	Mani/psikozis
	Pseudotumor serebri
Gastrointestinal	
Gastrit	Kemik ve Kas
Peptik ülser	Osteoporosis
Steatohepatit	Avasküler nekrozis
Viseral perforasyon	Miyopati
Hematolojik	Immun sistem
Lökositosis	Artmış enfeksiyon riski

Bununla birlikte, altta yatan hastalığın doğası, seyri ve eş zamanlı uygulanan diğer ilaçlar sebebiyle tüm bu yan etkilerin tek başına glukokortikoidlere atfedilmesi her zaman için doğru değildir. Yan etkilerin sıklığı ve ciddiyetinin yanı sıra, bu olumsuz etkilere yol açabilecek terapinin ilgili dozu ve süresini de ele alan çalışmaların sayısı oldukça fazladır.

1.1.7 Glukokortikoidlerin Organ Bazında Yan Etkileri:

Glukokortikoidlerin birçok organ üzerine yan etkileri vardır. Bu yan etkilerin şiddeti hayatı tehdit edebilen boyutlarda olabileceği gibi(fırsatçı ciddi enfeksiyonlar vs.) sadece görünüş üzerinde bir takım değişikliklerden de ibaret olabilir. Erken yaşta ortaya çıkan katarakt ve kemik mineral yoğunluğunda azalma gibi bazı yan etkiler ise acil müdahale gerekene kadar (Çökme kırığı ve cerrahi ekstrasyon gerektiren katarakt gibi) asemptomatik olabilir. Belirli yan etkilerin sıklığına ilişkin tahminler, çalışmadan çalışmaya değişebildiği gibi bu durum kısmen, tedavi edilen hastalığa ve kullanılan glukokortikoid tedavi rejimine de bağlıdır[121]. Katarakt, aterosklerotik

vasküler hastalıklar ve kemik üzerine olan etkileri (osteoporoz ve osteonekroz) haricinde, tüm glukokortikoid toksisiteleri glukokortikoid kesilmesi ile zaman içinde kısmen geri döner[122, 123].

Dermatolojik etkileri:

Glukokortikoidlerin daha düşük dozlarında bile dermatolojik yan etkiler görülebilir. Başlıca ciltte incelme ve ekimozlar, Cushingoid görünümü, akne, kilo alımı, hafif hirsutizm, yüz eritemi ve strialar bu yan etkilerden bazılarıdır[124, 125].

Oftalmolojik etkileri:

Glukokortikoid kullanan hastalarda doza bağlı olarak hem katarakt hem de glokom riski artar[125]. Ayrıca eksoftalmus ve seröz korioretinopati gibi yan etkiler de gelişebilir[126-130].

Kardiyovasküler etkileri:

Glukokortikoid kullanımı erken aterosklerotik hastalıklar, sıvı retansiyonu, hipertansiyon, aritmiler ve hiperlipidemi dahil olmak üzere çeşitli kardiyovasküler yan etkiler ile ilişkilendirilmiştir. Kardiyovasküler hastalık riski doz bağımlıdır ve düşük doz glukokortikoid tedavisi alan hastalarda bu yan etkiler ya hiç olmaz ya da düşük şiddette olabilir[131].

Gastrointestinal etkileri:

Glukokortikoid kullanımı gastrit, ülser oluşumu ve gastrointestinal kanama gibi olumsuz gastrointestinal etkiler için birer risk faktörüdür[132]. Bununla birlikte, glukokortikoidler ve NSAID'lerin kombinasyonu, gastrointestinal olayların insidansında sinerjistik bir artışla sonuçlanır. Örneğin bu konuyu ele alan metaanalizlerden birinde glukokortikoid kullanımı ile NSAID'leri tek başına kullanan hastalar karşılaştırılmış ve glukokortikoide ek olarak NSAID'leri de alan hastalarda gastrointestinal yan etki riskinin yaklaşık iki kat arttığı görülmüştür[133]. Başka bir metaanalizde ise NSAID'lerin glukokortikoidler ile birlikte kullanımı, gastrointestinal yan etki riskinde dört kat artışa neden olduğu görülmüştür[134]. Ek olarak glukokortikoid kullanımı ile üst gastrointestinal sistemde viseral perforasyon,

yağ embolisi ve hepatik steatoz sonrası siroz meydana gelebilir[135-139]. Glukokortikoidlerin akut pankreatite sebep olduğunu gösteren yayınlar da mevcuttur[140-142]. Ayrıca glukokortikoid kullanımının gastrointestinal semptomların maskelenmesine sebep olabilmesi nedeni ile böyle bir durumda, divertiküler apsenin doğrudan perforasyonla bulgu verebileceği unutulmamalıdır[137].

Metabolik ve endokrinolojik etkileri:

- Hiperglisemi, glukokortikoid kullanımı sonrası ortaya çıkabilir[143, 144].
- Hipotalamik-hipofiz-adrenal aks supresyonu:

Ekzojen glukokortikoidlerin uygulanması hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) aksı baskılayabilir. Bu tür hastalarda glukokortikoidlerin ani ve hızlı bir şekilde bırakılması/kesilmesi, adrenal yetmezlik belirtilerine sebep olabilir[145].

Nöropsikiyatrik etkileri:

Glukokortikoidler, doza ve tedavi süresine bağlı olarak çeşitli psikiyatrik ve bilişsel semptomları indükler[146]. Çoğu hastada, bu semptomlar hafif ve geri dönüşlüdür, ancak duygusal değişkenlik, hipomani, mani, depresyon, psikoz, deliryum, konfüzyon, oryantasyon bozukluğu (yaşlı hastalarda daha yaygın) ve hafıza eksikliği gibi bilişsel fonksiyonlarda değişiklikler meydana gelebilir[147, 148]. Uykudaki bozukluklar, özellikle normal günlük kortizol üretim düzenini etkileyebilecek şekilde verilen bölünmüş dozlarda veya akşam dozlarında bildirilmektedir. Akatizi (motor huzursuzluk) yaygın bir glukokortikoid yan etkisidir. Geçmişte nöropsikiyatrik hastalık öyküsü olanlarda glukokortikoid tedavisi sonrası nöropsikiyatrik bozukluk gelişme riski daha fazladır[148].

Kas ve kemik sistemi üzerine etkileri:

- **Myopati:**

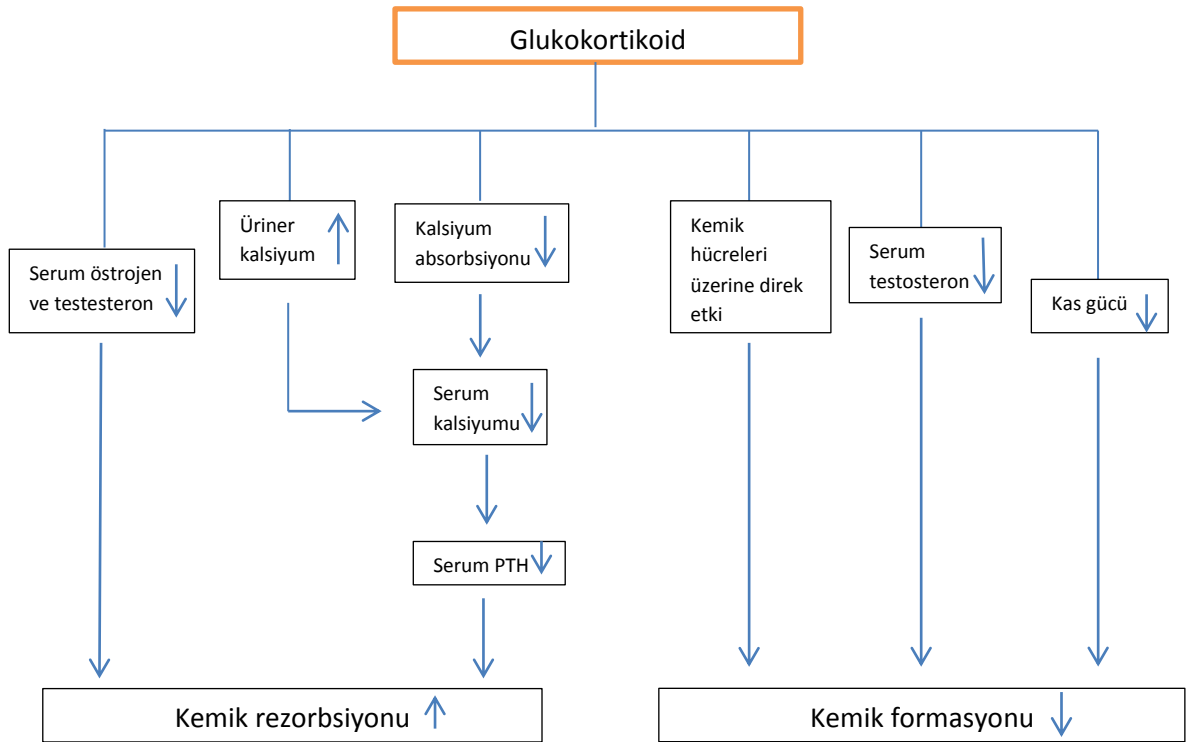
Myopati, glukokortikoid tedavisinin nadir görülen bir komplikasyonudur. Hem üst hem alt ekstremitelerde ağrısız, proksimal motor güçsüzlüğü şeklinde görülür. Risk, yaşlı hastalarda, kanser hastalarında ve tedaviye başlamadan önce negatif azot dengesi olanlarda artmıştır[149]. Glukokortikoidler, glukoneogenez yolağındaki amino asit metabolizmasına etki ederek iskelet kası üzerine doğrudan katabolik etki yapar[150]. Bazı deneysel modellerde glukokortikoid tedavisi insülin benzeri

büyüme faktörü-1 (IGF-1) sinyal yolağını etkileyerek miyosit apoptozisinin artmasına neden olduğu gösterilmiştir[151]. Glukokortikoid ilişkili miyopati, 10 mg/gün prednizon veya eşdeğerinden daha az doz ile tedavi edilen hastalarda gözlenmemiştir. Ancak doz arttıkça miyopati gelişme olasılığı artar[152].

- **Osteoporoz:**

Glukokortikoid tedavisi, kullanımının ilk birkaç ayında belirgin kemik kaybına sebep olabilir. Ek olarak, glukokortikoidler kırık riskini artırır ve kırıklar menopoz sonrası osteoporozda olduğundan daha yüksek kemik mineral yoğunluğu (BMD) değerlerinde meydana gelir. Prednizon veya eşdeğeri günlük 2,5 - 7,5 mg kadar düşük dozlarda kırık riski rapor edilmiştir[153]. Glukokortikoid fazlalığının kemik üzerindeki zararlı etkileri osteoblastlar, osteositler ve osteoklastlar üzerindeki doğrudan etkilerden kaynaklanır. Glukokortikoidler kemik rezorpsiyonunu artırır ve yeni kemik oluşumunu azaltır[154, 155] (Tablo-2)

Tablo 2: Glukokortikoidlerin Kemik Üzerindeki Etkisi



Kemik kaybı riski en çok glukokortikoid kullanımının ilk birkaç ayında belirgindir, ardından sürekli kullanmaya devam edildiğinde yavaş ama sabit kemik kaybı görülür[155]. Tiroksin veya sürekli paratiroid hormon (PTH) yükselmesi gibi kemik kaybını artıran ajanların çoğu, kemik rezorpsiyonunu hızlandırdığı gibi daha az oranda da yeni kemik oluşumunu hızlandırır[156]. Glukokortikoidler ise yeni kemik oluşumunu engellerken rezorpsiyonu hızlandırdığından, kullanımları ile erken hızlı kemik kaybı yaşanır[156, 157]. Ancak kronik kullanımda osteoklast aracılı kemik rezorpsiyonu da yavaşlar, bu durumda iskeletteki predominant patoloji kemik oluşumunun baskılı olduğu durağan haldir[158-160].

Glukokortikoidler, diğer hedef dokularda olduğu gibi kemiklerde de gen ekspresyonu üzerindeki etkilerini, sitoplazmik glukokortikoid tip 2 reseptörleri aracılığıyla gösterirler[161]. Yetişkin kemiğinde fonksiyonel glukokortikoid reseptörleri preosteoblast/stromal hücrelerde ve osteoblastlarda bulunurken, osteoklastlarda bulunmaz[162, 163]. Glukokortikoidler, osteoklastogenez için gerekli olan nükleer faktör kappa-B'nin reseptör aktivatörünün(RANK) üretimini uyararak, bir osteoklast inhibitörü olan osteoprotegerin sentezini baskılar, bu durum osteoklast proliferasyonuna sebep olur. Yüksek glukokortikoid seviyeleri ayrıca preosteoblast/stromal hücreler tarafından RANK ligand (RANKL) sentezini uyararak, osteoklast farklılaşmasını ve net kemik rezorpsiyonunu neden olur[163]. Ek olarak, glukokortikoidler, androjenlerin ve östrojenlerin salgılanmasını azaltarak kemik rezorpsiyonunu arttırır[164-167]. Glukokortikoidler ayrıca D vitamini aracılığı ile duodenumdaki kalsiyum kanallarının ekspresyonunu azaltır ve bağırsak kalsiyum emilimini azaltır[156, 168-170]. Glukokortikoidler renal kalsiyum reabsorbsiyonunu da azaltarak kalsiyum atılımını arttırır[169, 171, 172]. İki durum da serum PTH'sinde bir artışa ve ardından kemik rezorpsiyonunun artmasına neden olur.

1.1.8 Osteonekroz:

Aseptik nekroz, avasküler nekroz (AVN), atravmatik nekroz ve iskemik nekroz olarak da bilinen osteonekroz; terapötik müdahalelerle ilişkili olan patolojik bir süreçtir. Kemik vaskülaritesinde oluşan bir hasar osteonekroz gelişimine sebep olabildiği gibi (örn., Femur boynu kırılması) kemik veya ilik elemanlarının doğrudan

hasarı da (örn. Radyasyon, disbarizm veya keson hastalığı) osteonekrozla sonuçlanabilir. Bununla birlikte, birçok hastada, bu hastalığın geliştiği mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır[173].

Kemiğin vasküler yapısında oluşan yetersizlik durumu, kemik iliği enfarktüsüne yol açar ve nihai mekanik yetersizlik, önerilen etiyolojilerin çoğunda ortak görünmektedir. Bu süreç ilerleyicidir ve hastaların çoğunda birkaç ay ila iki yıllık bir süreç içerisinde ciddi eklem yıkımı gerçekleşir [174, 175].

Osteonekrozun tam prevalansı bilinmemektedir ancak Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) her yıl yeni tanı konulan 20.000 ile 30.000 hasta olduğu tahmin edilmekte olup, dünya çapında bu sayının daha da fazla olduğu düşünülmektedir[176]. ABD'deki total kalça protezlerinin(TKP) yaklaşık %10'unda altta yatan osteonekroz mevcuttur[177]. Erkek-kadın oranı, eşlik eden komorbiditelere bağlı olarak değişir. Örneğin, alkol ile ilişkili osteonekroz erkeklerde daha yaygınken, sistemik lupus eritematozus (SLE) ile ilişkili osteonekroz kadınlarda daha yaygındır. Teşhis sırasındaki ortalama yaş komorbiditelere de bağlıdır, ancak tipik olarak 50 yıldan daha azdır[178].

Çeşitli travmatik ve atravmatik faktörler osteonekroz etiyolojisine katkıda bulunabilir. Bu faktörlerin bazıları için kesin bir etiyolojik rol belirlenmiştir, ancak risk faktörleri için durum böyle değildir[179]. Glukokortikoidlerin kullanımı ve aşırı alkol alımı, atravmatik vakaların %80'inden fazlasında rol oynar[180].

Osteonekrozun patogenezi tartışmalı bir alandır. Genetik yatkınlık, metabolik faktörler, vasküler hasar, artmış intraosseöz basınç ve mekanik stres intraosseöz kanlanmayı etkileyerek osteonekroza neden olabilir[177, 180, 181]. Bunlar dışında neoplastik bozukluklar (özellikle hematolojik ve lenfoid maligniteler) metastatik kanser ile koagülopati durumları diğer potansiyel etiyolojilerdir (Tablo 3).

Tablo 3: AVN'nin etyolojik nedenleri

Travmatik
Femoral boyun kırığı
Çıkık veya kırıklı çıkık
Minor travma
Nontravmatik
Glukokortikoid tedavisi, nadiren kortizol hipersekresyonu
Alkol kullanımı
Orak hücre anemisi
Caisson (dibarizm) hastalığı
Sistemik Lupus Eritematozus
Gaucher hastalığı
Kronik böbrek yetmezliği
Pankreatit
Gebelik
Hiperlipidemi
Radyasyon
Organ transplantasyonu
Intravasküler koagülasyon
Tromboflebit
Sigara
Hiperürisemi/gut
Human immunodeficiency virüs(HIV)
Idiyopatik

Genel olarak, intraosseöz vasküler akımın kesildiği kabul edilir; sonrasında komşu doku hiperemik bir hal alır, bu durum önce demineralizasyona neden olur sonrasında ise, trabeküler incelmeye ile çökmeye neden olur. Bu aşamalar büyük ölçüde asemptomatik olduğundan son aşamaya kadar bulgu vermeyebilir[177, 180, 181].

Çok sayıda çalışma, glukokortikoidlerin osteonekroz gelişimine sebep olduğunu göstermiştir. Bir çalışmada %21-37'lik bir insidansı olduğu gösterilmiştir[182]. Her ne kadar osteonekrozun patogenezi bilinmese de, önerilmiş olan birkaç mekanizma vardır. Glukokortikoid ile ilişkili osteonekrozun olası bir mekanizması olarak, dolaşımdaki lipidlerin intraosseöz vasküler yapılar içinde oluşturduğu mikroembolizasyonlar suçlanmıştır [183]. Önerilmiş bir diğer mekanizma ise, kemik iliğindeki adiposit dokunun büyüklüğünde ve sayısında artış olması sonucu, eklemlerin dışbükey kemik iliği bölgesinde venöz çıkışın tıkanmasıdır[184]. Bir başka teori ise, glukokortikoidlerin venöz endotel hücrelerinde değişime neden olması, venöz akımda durgunluğa yol açması, artmış intraosseöz basıncın nekroza yol açmasıdır[185].

Uzun süreli yüksek doz glukokortikoidler ile tedavi edilen hastalarda osteonekroz gelişme riski en yüksektir, ancak bu hastalar genellikle birden fazla risk faktörlerine sahiptir. Bununla birlikte; adrenal yetmezlik için fizyolojik dozda günlük glukokortikoid replasmanı alan hastalarda da %2,4 oranında osteonekroz gelişebileceği gözlenmiştir__[186]. Kısa süreli kullanımda bu duruma pek rastlanılmamaktadır. İlk glukokortikoid dozunun, toplam doz veya tedavi süresinden daha önemli olabileceğini de öne süren çalışmalar vardır[187]. Ancak prednizon dozlarını 15-20 mg/günden daha az alan hastalarda riskin %3'den düşük olduğu da gösterilmiştir[188, 189].

1.1.9 Osteonekrozun Glukokortikoid Dışı Diğer Sebepleri

Alkol:

Aşırı alkol kullanımı ile osteonekroz gelişimi arasındaki ilişki uzun süredir bilinmektedir. Yağ embolisi, adiposit hipertrofisi, venöz staz ve artmış kortizol düzeyleri bu durumun gelişmesindeki etiyolojik faktörlerdir. Alkoliklerin yalnızca küçük bir yüzdesinde osteonekroz gelişirken, osteonekroz hastalarının% 31'inde alkol, ilişkili bir risk faktörü olarak görülmektedir[190-192].

Sistemik Lupus Eritematozus

Sistemik lupus eritematozus (SLE) hastalarında % 3 ila 30 oranında osteonekroz bildirilmiştir[187, 193]. Glukokortikoid almış SLE'li hastalar en fazla risk altındadır, ancak bu tedavinin yokluğunda da ara sıra vakalar bildirilmiştir[187, 193, 194]. Osteonekroz sıklıkla SLE'li hastalarda glukokortikoid tedavisinin başlamasından kısa bir süre sonra gelişir. SLE'de osteonekroz için diğer risk faktörleri ise; 20mg/günden daha fazla düzenli prednizon kullanımı, Raynaud fenomeni ve hiperlipidemidir[195]. SLE hastalarındaki potansiyel rollerine ek olarak, antifosfolipid antikorlarının artmış osteonekroz riski ile ilişkili olabileceğini gösteren yayınlar olduğu gibi aksini iddaa eden yayınlarda mevcuttur[178, 196, 197].

Travma:

Kemik ve ilişkili eklemlerde gerçekleşen fraktür veya dislokasyon, etkilenen bölgeyi besleyen ekstraosseöz vasküler yapılara zarar verebilir. Örneğin femur boynunun subkapital bölgesindeki kırıklar femur başı beslenmesini bozabilir ve ciddi iskemi, kemik nekrozu riski taşır. Bilekte ise skafoid ve lunat kırıklarında artmış osteonekroz riski vardır[198].

Orak hücreli hemoglobinopatiler:

Osteonekroz, kemik iliği hiperplazisi gibi çeşitli mekanizmalar nedeniyle homozigot orak hücre hastalığı olanlarda yaygındır. Etkilenen hastaların yaklaşık %50'si 35 yaşına kadar osteonekroz geliştirir[199, 200].

Gaucher hastalığı:

Gaucher hastalığı kalıtsal (otozomal resesif) bir glukoserebrosit metabolizması bozukluğudur, bu da kemik iliği içinde serebrosid dolu hücrelerin birikmesine neden

olur. Bu işlem vasküler yapıların sıkışmasına ve ardından da osteonekroz gelişimine yol açar. Gaucher hastalarının %60'ında osteonekroz bildirilmiştir[201].

Caisson hastalığı:

Caisson hastalığında özellikle dalgıçlarda görülür, su altında artan basınç, arteriyolları tıkayabilen ve osteonekroza neden olabilecek azot kabarcıklarının oluşumuna yol açabilir. Semptomatik osteonekroz maruziyetten yıllar sonra gelişebilir; maruz kalma sayısı, derinlik ve basınç büyüklüğü önemli risk faktörleridir[202].

Akut Lenfoblastik Lösemi:

Çocuklar arasında lösemi tedavsinin en yaygın komplikasyonlarından biri osteonekrozdur[203].

Organ Transplantasyonu:

Osteonekroz, böbrek nakli sonrası oldukça önemli bir kas-iskelet sistemi komplikasyonudur. Genellikle multifokal olup etkilenen hastaların % 50 ila 70'inde birden fazla eklemden görülür. Önceki çalışmalar nakil sonrası üç yıl içinde yaklaşık % 15'lik bir insidansı olduğunu göstermiştir; ancak kalsinörün inhibitörlerinin kullanılmasının ardından, glukokortikoid dozlarındaki azalmadan dolayı risk daha da düşük bulunmuştur[204, 205]. Osteonekroz, hematopoetik kök hücre nakli (HKHN) gibi diğer nakil tipleri ile de ortaya çıkabilir. Nakil sonrası graft-versus-host hastalığının yanı sıra glukokortikoidlerin süresi ve kümülatif dozu, bu komplikasyonun gelişimi için risk faktörleridir. Allojenik HKHN alıcıları arasında osteonekroz riski, donörün ve alıcının cinsiyetinin yanı sıra HKHN endikasyonu doğuran primer hastalığa da bağlı olabilir. Kadın donör kadın alıcı en yüksek riske sahip grup olup, bu hastalarda yaklaşık %40 oranında osteonekrozis görülebilmektedir[206, 207].

1.1.10 Osteonekrozun Klinik Bulguları:

Osteonekrozun erken teşhisi, çökme kırıklarını ve eklem replasman ihtiyacını önleyebilir. Ancak, çoğu hastada osteonekroz geç bulgu verir. Bu nedenle, bilinen veya olası risk faktörleri taşıyan hastalarda, özellikle de yüksek doz glukokortikoid kullanımı varsa, her daim şüphe içerisinde bulunulmalıdır.

Osteonekroz genellikle anterolateral femur boynunda görülür, ancak femur kondillerini, humerus boynunu, proksimal tibiayı, omurgayı ve el ile ayağın küçük kemiklerini de etkileyebilir. Birçok hastada kalça, diz ve omuz tutulumu olmaktadır tanı anında bilateral tutulumla sıkça saptanır. Diz, omuz veya diğer kalça dışı eklem osteonekrozu ile başvuran hastalarda, kalça hem klinik olarak hem de görüntüleme ile değerlendirilmelidir[181].

Ağrı: Osteonekrozun en sık görülen semptomu ağrıdır. Femur başında tutulum olan hastalarda en çok kasık ağrısı, ardından da uyluk ve kalça ağrısı görülür. Ağrı, harekete bağlı olarak veya ağırlık taşımak ile artabilir. İstirahat ağrısı, hastaların yaklaşık üçte ikisinde, gece ağrısı ise üçte birinde görülür[175, 208].

Asemptomatik hastalar: Osteonekrozlu hastaların küçük bir kısmı asemptomatiktir; böyle durumlarda tanı genellikle tesadüfidir. Asemptomatik osteonekroz radyografik veya manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile bulgu verse de bu dönemde tanı koymanın terapötik katkıları belirsizdir[208].

Fiziksel bulguları: Osteonekrozun fiziksel bulguları genellikle nonspesifiktir. Kalça tutulumu olan hastalarda ağrı, başta iç rotasyon ve abduksiyon olmak üzere, hareket açıklığında kısıtlama yapabilir. Alt ekstremitede tutulum olması durumunda hastalarda topallayarak yürüme göze çarpabilir[180].

1.1.11 Osteonekrozda Görüntüleme Yöntemleri:

Osteonekrozun radyografi radyonüklid taramaları ve MRG'deki özellikleri tanısal olarak yardımcıdır. Bu yöntemler ayrıca sınıflandırma ve evreleme sistemleri için de temel oluşturur.

Radyografi:

Femur başı şüpheli osteonekrozu için değerlendirme ön-arka ve kurbağa bacağı lateral filmleriyle başlamalıdır. Lateral filmler, subkondral anormalliklerin sıklıkla görüldüğü femur başının üst kısmını değerlendirmek için gereklidir. Düz radyografi osteonekroz semptomları başladıktan sonra aylarca normal kalabilir; en erken bulguları ise hafif dansite değişiklikleri olup, hastalık ilerledikçe skleroz ve kistler oluşabilir.

Osteonekrozun patognomonik bulgusu hilal işaretidir (subkondral radyoaktiflik) ve bu bulgu subkondral kollapsın kanıtıdır. Daha sonraki aşamalarda ise, küresellik kaybı veya femur başının çökmesi görülür. Bu durum asetabulumdaki eklem boşluğunun daralması ve dejeneratif değişiklikler ile sonuçlanır. Meydana gelen bu değişiklikleri düz grafide görmek mümkün olabilir[209].

Radyonüklid kemik taraması:

Osteonekroz tanısında, Teknesyum-99m kemik taraması, risk faktörü olmayan, radyografileri negatif olan ancak tek taraflı semptomları olan şüpheli hastalar için kullanılmaktadır. Nekrotik dokuları içeren kemik yapısı ile reaktif kemiğin birleşme yerinde artmış bir kemik döngüsü bulunmaktadır. Böylelikle tutulum soğuk alanı çevreler ki bu görünüme ‘‘çörek işareti’’ denir[210].

Bir çalışmada, omuz, kalça, diz veya ayak bileği osteonekrozundan şüphelenilen 48 hastaya radyonüklid kemik taraması yapılmış ve bu yöntem ile MRG karşılaştırılmış, histolojik olarak doğrulanmış osteonekrozun tanısında radyonüklid kemik taramasının MRG'ye göre (% 56'ya karşı yüzde 100) daha az duyarlı olduğu gözlemlenmiştir[211]. Ayrıca erken evre lezyonlu hastalarda duyarlılığın en az olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, osteonekrozun teşhisi veya taraması için kemik taraması tercih edilmemektedir.

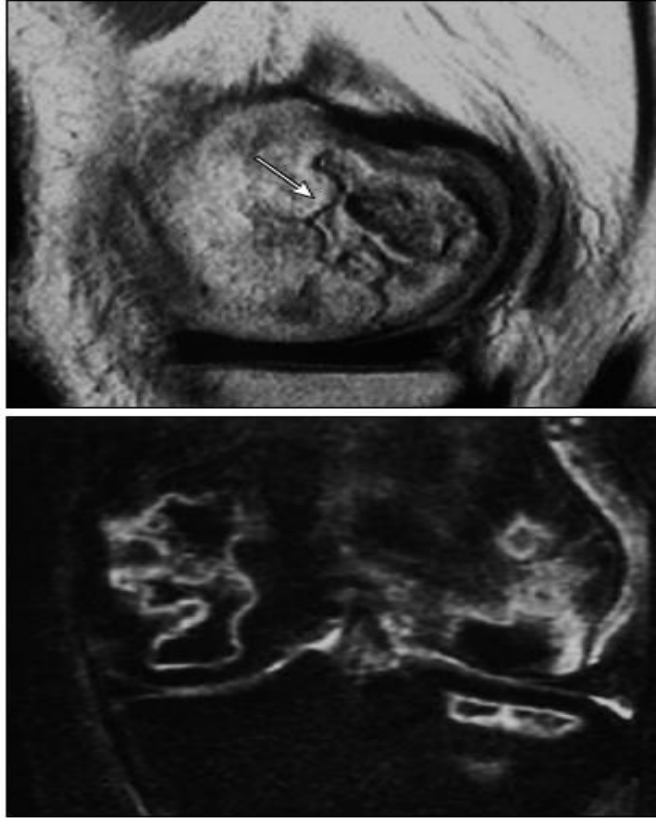
Manyetik rezonans görüntüleme:

MRG'nin sensitivitesi hem radyografiden hem de radyonüklid kemik taramasından daha duyarlıdır[181, 210, 211].

Diğer yöntemlere göre osteonekroza daha erken dönemlerinde tanı koyabilmesi MRG'ye önemli bir üstünlük sağlar. Osteonekroz MRG' de şu bulguları verebilir:

- Fokal lezyonlar T1 ağırlıklı görüntülerde iyi sınırlı görülür ve görünümü homojen değildir.
- Görülebilecek ilk bulgu, normal ve iskemik kemiğin ayrılmasını temsil eden tek yoğunluklu bir çizgidir (düşük yoğunluklu sinyal).
- T2 ağırlıklı görüntülerde hipervasküler granülasyon dokusunu temsil eden ikinci bir yüksek yoğunluklu çizgi belirir; bu patognomonik “çift çizgi” işaretidir[212].

Resim 1: MRG de osteonekroz görünümü



Inflamatuvar bağırsak hastalığı nedeni ile prednizon kullanan genç bir kızın MRG si. Hastada femoral kondil çökmeksizin gelişen osteonekroz mevcut(Üst panel MRG’de dizin sagittal proton yoğunluğu; hipervasküler granülasyon dokusunu temsil eden osteonekrozun patognomonik olduğu serpantini “çift çizgi işaretini” (çevrede konsantrik yüksek ve düşük sinyal; bkz. ok işareti) gösterir. (Alt panel) Koronal inversiyon iyileşme görüntüsü (yağ doygunluğu MRG sekansı) yine, sinyal yoğunluğunun azaldığı serpantini, intramedüller paternini göstermektedir[213].

MRG, eskiden erken evre osteonekrozda tanısal olarak kullanılan kemik iliği basınç ölçümü, venografi ve kemik biyopsisinin yerini almıştır. Bununla birlikte, MRG bulgularının yorumlanmasında, özellikle asemptomatik hastalarda dikkatli olunmalıdır. Örneğin bir çalışmada, kalça ağrısı olmayan ve kalça düz grafisi negatif olan sistemik lupus eritematozuslu (SLE) 23 glukokortikoid tedavisi alan hasta değerlendirilmiştir[214]. Üç yıllık süre zarfında, başlangıçta anormal MRG'si olan sekiz hastanın sadece ikisinde konvansiyonel kalça grafileri ile saptanabilen bir lezyon geliştiği gözlenmiştir. Dolayısıyla tek başına anormal MRG bulgularına dayandırılan cerrahi tedavi, semptomların yokluğunda, bazı hastaların gereksiz yere opere edilmesine neden olabilir. Bu yüzden tedavi hiçbir zaman yalnızca bir görüntüleme çalışmasına dayandırılmamalıdır. Lezyonun büyüklüğü, lezyonun yeri, hastanın yaşı, genel sağlık durumu ve varsa semptomları da tedavi kararlarını etkilemelidir[215].

1.1.12 Osteonekrozda Tanı

Semptomatik bir hastada MRG veya radyografik görüntüleme bulguları osteonekrozla uyumlu ise, diğer ağrı ve kemik anormallik nedenleri muhtemel değilse veya bunlar uygun testlerle dışlandıysa, klinik tanı konulur. Kontrast madde içermeyen MRG, semptomatik ve asemptomatik hastalarda, özellikle erken dönem hastalıkta, tanı için altın standarttır[216, 217].

1.1.13 Osteonekrozda Sınıflandırma

Osteonekrozun evrelemesinde kullanılan sınıflandırma sistemleri patolojik bulgulara veya görüntülemeye dayandırılmıştır.

Patolojik Sınıflama:

Patolojik bulgular etiyolojiden bağımsız olarak tüm osteonekroz vakalarında benzerdir. 1970'lerin başında patolojik amaçlar için yararlı olan bir sınıflandırma şeması önerilmiştir, ancak yıllar içerisinde bu evreleme sisteminin hastalığın radyografik evresi veya semptomlar ile korele olmadığı görülmüştür[209]:

- Tip 1:

Nekrotik, interstisyel ödem veya nadiren görülen köpük hücreleri ile kemik iliğine sınırlı plazma stazı

- Tip 2:

Nekrotik doku ile dolu medüller boşluklar

- Tip 3:

Trabeküler nekroz ile ilişkili kemik iliği nekrozu, lakunaların %100'ü boştur

- Tip 4

Yoğun medüller fibrozis içeren komple nekroz doku ve nekrotik trabeküllerde yeni kemik oluşumu

Tüm patolojik tipler alınan patolojik örneklemeğe bağılı olarak tek bir preparatta da görülebilir.

Klinik Sınıflama

Bilgisayarlı tomografi (BT) ve MRG gibi yeni görüntüleme yöntemlerinin kullanılması sonrası, lezyonların tutulum miktarının da ölçülebiliyor olması, yeni sınıflama yöntemlerini ortaya çıkmasına yol açmıştır. Ayrıca, çeşitli tedavilerin prognozunda lezyonun büyüklüğünün ve boyutunun önemi de kabul edilmiştir[218]. Kemik dolaşımını araştırma derneği (ARCO) evreleme sistemi, klinik deneyler doğrultusunda tedavi stratejilerine standardizasyon kazandırmak amacıyla geliştirilmiştir[180, 209, 219]. Bu aşamalandırma sistemine daha sonra modifiye edilerek erken ve geç evre 3 dahil edilmiştir[220].

Tutulum yeri ve tutulum kapsamı harfler ile ifade edilmiştir; buna göre biyopside osteonekrotik, kistik değişiklikler olması durumunda, bu pozitiflik % 15 kadar ise (A), % 15 – 30 arasında ise (B), >% 30'dan fazla olması ise (C) olması kararlaştırılmıştır. Görüntülemeye ise lezyonunun tutulum yerinin lokal medial olması (A), santral olması (B), laterallerde olması ise (C) olarak sınıflandırılmıştır.

Buna göre:

- Evre 0

Tüm teşhis çalışmaları normaldir ve sadece histoloji ile teşhis edilir.

- Evre 1

Düz radyografiler ve BT osteonekroz açısından normal; sintigrafi veya MRG osteonekroz açısından pozitif

- Evre 2

Radyografiler pozitif, ancak A, B veya C tutulumu ve A, B veya C konumu dahil olmak üzere çökme vb yok (hilal işareti yok)

- Erken Evre 3

Femur başı eklem yüzeyinin grafisinde düzleşme ve hilal işareti. Çökme yok. Yer (A, B, C)_ve tutulumun kapsamı (A, B, C)

- Geç Evre 3

Radyografide çökme ve/veya femur başı eklem yüzeyinin düzleşmesi. Yer (A, B, C) ve tutulumun kapsamı (A, B, C).

- Evre 4

Düz grafide asetabular tutulum ve/veya diğer eklem aralıklarında daralma ile birlikte osteoartrit bulgusu olması.

1.1.14 Osteoartritte Tedavi Seçenekleri

Osteonekroz tedavisi, ortopedik literatürdeki en tartışmalı konulardan birisidir. Tedavinin amacı, doğal eklemi mümkün olduğunca uzun süre korumaktır. Üç ana tedavi yaklaşımı vardır:

- Nonoperatif yaklaşım
- Eklem korunduğu tedavi modaliteleri
- Eklem replasmanı

Nonoperatif yaklaşım:

Kalça veya diz osteonekrozu için ameliyat dışı tedavi, genellikle hastalığın ilerlemesini durdurmak için etkisizdir. Ameliyat dışı tedavi, yatak istirahati, koltuk değnekli kısmi ağırlık taşıma, tolere edilen kadar ağırlık taşıma, farmakolojik ajanların yanı sıra analjeziklerin kullanımını içerir. Çalışmalar, tek başına operasyon dışı tedavinin hastaların sadece %20'sinde yeterli klinik sonuçlar alındığını göstermektedir[212, 221].

- **Farmakolojik ajanlar:**

Femur başı osteonekrozunun tedavisi için bisfosfonatlar, statinler, antikoagülanlar ve vazodilatörler dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik ajanlar denenmiştir[222, 223]. Bulguların bazıları ümit verici olsa da, rutin kullanım önerilmeden önce bu ajanların etkinliğini belirlemek adına ek çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu ajanların kullanımı için gerekçe, osteonekrozun tespit edilen patofizyolojiye yönelik olmalıdır. Örneğin, pıhtılaşma bozukluğundan kaynaklı osteonekrozu olan bir hasta, antikoagülasyondan fayda görebilir. Ek olarak bu ajanlar genellikle pre-kollaps durumdaki lezyonlar ile küçük lezyonlara karşı etkilidirler.

- **Bifosfonatlar:** Nekrotik kemiğin rezorpsiyonun bifosfonatlarla yavaşlatılması, majör eklemlerin osteonekrozu tedavisinde faydalı olabilir, ancak kanıtlar karışıktır. Ayrıca çene nekrozu gibi önemli bir yan etkisinin olması tedirgin edicidir[224].

Kontrolsüz bir çalışmada üç yıl boyunca 294 hastaya (395 kalçaya) alendronat (10 mg/gün) uygulanmış ve ortalama dört yıllık takipten sonra, sadece 31 vakada total kalça artroplastisi (TKA) gerekmiş. Ayrıca bu hastalarda, ağrı ve klinik fonksiyonda iyileşme olmuş, femur başı kollaps oranında da azalma saptanmış. Buna karşılık, osteonekrozu olan hastaların oral alendronat veya plasebo aldığı iki yıllık randomize bir çalışmada ise iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamış[224]. Bifosfonat alan hastaların 32'sinden 21'i radyolojik olarak ilerlemiş, 4 hastaya total kalça protezi (THR)

yapılmış. Plasebo grubunda ise 32 hastanın 21'inde osteonekroz saptanmış ve ilerlemiş 5 hastaya total kalça protezi (THR) uygulanmış.

- **Vazodilatatörler:** Bir prostasiklin analogu olan Iloprost'un, intraosseöz hipertansiyonu azalttığı ve osteonekrotik lezyonun iskemik bölgesine kan akışını arttırdığı düşünülmektedir[225].
- **Statinler:** Lipid düşürücü ajanlar, kemik iliği pluripotent kök hücrelerinin yağ hücrelerine farklılaşmasını azalttığı ve buna bağlı olarak intraosseöz basıncı düşürerek osteonekrozu önlediği düşünülmektedir[222].
- **Antikoagülanlar:** Warfarin veya enoxaparin gibi antikoagülanlar, muhtemelen trombofili ile ilgili bir patoloji düşünüldüğünde osteonekrozu önlemek amaçlı kullanılabilir[226, 227].
- **Diğer nonoperatif modaliteler:**
Elektrik stimülasyonu(ESWT) ve hiperbarik oksijen de, erken evre osteonekrozu olan hastalarda tedavide sınırlı başarı ile kullanılmaktadır. Hiperbarik oksijen tedavisinin neovaskülarizasyonu uyarak kemik iyileşmesini sağladığı düşünülmektedir. ESWT de ise gönderilen elektromanyetik dalgaların, kemiği mekanik olarak uyarak osteogenezi arttırdığı düşünülmektedir[228, 229].

Eklemin korunduğu tedavi modaliteleri:

- **Dekompresyon:**
Çekirdek dekompresyonu başlangıçta kemik iliği basıncını ölçmek ve biyopsi örneklerini elde etmek için tanı aracı olarak kullanılmaktaydı. Ancak işlem sonrası hastaların ağrısında azalma olabilmektedir[230].
- **Vasküler fibular greft:**

Vaskülarize fibüler greftleme 1990'lı yıllarda yalnızca subkondral kemiğe yapısal destek sağlamanın yanı sıra bir mezenkimal kök hücre kaynağı ve nekrotik dokuya vasküler bir tedarik sağlayan yaklaşım olarak popüler hale getirilmiştir[231].

- **Nonvaskülarize kemik greft:**

Vaskülerize olmayan kemik grefti de değişken başarı oranlarına sahip olup çok sayıda çalışmada kullanılmıştır[232, 233].

- **Hücre bazlı terapi:**

Osteonekroz tedavisinde hücre bazlı tedaviye de ilgi artmaktadır. Dekompresyona oranla kemik sağ kalımını gösteren çalışmalar ile birlikte daha popüler hale gelmeye başlamıştır[234-236]. Hem otolog hem de allojenik kemik iliği hücrelerine yönelik araştırmalara hala devam edilmektedir, bu alanda daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır.

- **Osteotomi:**

Osteotomi, osteonekrozu tedavi etmek için eklem koruyucu bir teknik olarak da kullanılmıştır. Bu prosedürün amacı, nekroz alanını asetabulumun esas yük binen alanından uzağa taşımak ve ağırlık kaldırma kuvvetlerinin sağlıklı kemikler tarafından desteklendiği diğer eklem kıkırdakları bölgelerine dağıtmaktır. Çekirdek dekompresyonu ve osteotomi erken hastalıkta benzer etkinliğe sahip olabilir, ancak tanı anında femur başının çökmesine kadar ilerleyen durumlarda intertrokanterik osteotomi tercih edilebilir.[180].

-

Total Eklem Replasmanı:

Osteonekroz tedavisinde en çok tutulan femur boynuna yönelik olarak yapılan TKP alanında gün geçtikçe daha güzel sonuçlar alınmaktadır. Geçmişteki çalışmalara nazaran TKP de başarı oranı 3 ile 4 kat arasında artış göstermiştir[237, 238].

1.2 Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO) insan vücudundaki en önemli parakrin sinyal moleküllerden birisidir[239]. Damar duvarında, NO; EDRF (endothelium-derived relaxing factor) yolağı ile kalsiyum-agonist uyarıma sekonder salınır[240]. Trombin, bradikinin, tromboksan A2, histamin, adenin nükleotitleri ve agrege trombositler NO salınımına neden olduğu gibi damar duvarının kesiye vazokonstrüksiyon cevabı sonrasında da dengelyici vazodilatatör olarak NO salınır. Vazoaktif özelliklerine ek olarak, nitrik oksit güçlü bir trombosit adhezyonu ve agregasyonu inhibitörüdür[241]. NO in vazoaktif özellikleri kemik metabolizmasında da rol oynar, mekanik stimülasyon ve östrojen uyarımı sonrası osteoklastların inhibisyonu eNOS ile düzenlenir [242].

Tüm bu nedenlerle NO sistemi osteonekrozisin önemli bir patogenetik yolağını oluşturmaktadır. Kemik hücrelerinde 3 ana nitrik oksit sentataz (eNOS, bNOS, and iNOS) vardır ki, eNOS osteoblastik hücrelerde predominanttır[243]. Daha önceki çalışmalarda eNOS polimorfizminin idiopatik osteonekrozis gelişimi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir[244].

2. ÇALIŞMANIN AMACI:

Glukokortikoid kullanımı ile avasküler nekroz arasında bir ilişki olduğunu aşıkardır. Ayrıca önemli bir vazodilatatör ve antiagregan olan NO in genetik açıdan defektinin avasküler nekroza ekstra bir yatkınlık oluşturabileceğini düşünmekteyiz. Daha önce Azarpira ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada T-786C geni polimorfizmi ile NO sentezinde azalma olduğu gösterildi ve buna bağlı olarak renal transplantasyon yapılmış hastalarda, bu polimorfizmin AVN'ye yatkınlık oluşturduğu bulundu[245] Dolayısı ile araştırmamızda renal transplantasyon sonrası glukokortikoid kullanımına bağlı oluşan aseptik nekrozisin T-786C eNOS polimorfizmi ile bir ilişkisi olabileceğini düşünmekteyiz. Böyle bir ilişki bulmamız durumunda glukokortikoid kullanımına bağlı osteonekrozise yatkın olan bireyler önceden belirlenebilecek ve bu bireylerde daha az riskli protokoller hazırlanabilecektir. Bu doğrultuda oluşturulacak yeni protokoller ile de renal transplantasyon yapılmış olan bireylerde daha az morbidite/mortalite gelişmesine katkıda bulunabiliriz.

3. MATERYAL & METOT

3.1 Hasta karakteristikleri

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 2002 ile 2019 yılları arasında takip edilmekte olan 218 tane renal transplantasyon yapılmış gönüllü araştırmaya dahil edildi. 170 kişiye canlıdan transplantasyon yapılmışken, 49 kişiye de kadavradan transplatasyon yapıldı. Toplam 218 hastanın 21 inde AVN gelişti. Risk faktörlerini belirlerken hastalarda renal allograftının seyri, enfektif komplikasyonları, komorbiditeleri, rejeksiyonları göz önüne alındı. Hastanın immunsupresyon tedavileri, başlangıç terapileri kaydedildi. Hastalar allograft kaybı yaşayana kadar, ölümlerine kadar veya son kontrollerine geldikleri tarihe kadar takibe devam edildi.

3.2 Teknik işlemler:

Magnetik boncuk yöntemi kullanan otomatize bir sistem ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışılacak polimorfizm için bir çift PCR primeri tasarlanmıştır. Primerler kullanılarak PCR sonucunda elde edilecek amplikonların, indeksleme PCR'ı sayesinde direkt olarak dizilenebilmesi için primerlerin 5' uçlarına uygun diziler eklenmiştir. Kullanılan primerler şöyledir (Tablo 4):

Tablo 4: Kullanılan primerler

NOS3_786_m_F	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGTGCCTGGAGAGTGCTGGTGTACC
NOS3_786_m_R	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGGGGACACAAAAGAGCAGGAAGC

Çalışılacak polimorfizm bölgelerinin PCR ile amplifikasyonu, yeni nesil sekanslamaya uygun olarak tasarlanan primerler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR koşulları şu şekildedir (Tablo 5):

Tablo 5: PCR koşulları

İçerik	Reaksiyon Başına Miktar (µl)
dH ₂ O	15
5x Tampon (Thermo Inc.)	5
dNTP karışımı, her biri 10mM	0,5
İleri Primer (5 µM)	1
Geri Primer (5 µM)	1
PhireII HS DNA Polimeraz (Thermo Inc.)	0,5
Kalıp DNA (20-50 ng/µl)	2
Toplam	25

Reaksiyon sonuçları % 2 lik agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir.

Her bir örnek için farklı bir set primer çifti kullanılarak örnekler hem indekslenmiş hem de yeni nesil sekanslamaya uygun hale getirilmiştir. Bu aşamada kalıp olarak ilk PCR da elde edilen ürünlerin karışımı kullanılmıştır. PCR koşulları şu şekildedir (Tablo 6):

Tablo 6: Yeni nesil sekanslamadaki PCR koşulları

İçerik	Reaksiyon Başına Miktar (µl)
dH ₂ O	17
5x Tampon (Bioline Inc.)	5
İleri Primer (5 µM)	1
Geri Primer (5 µM)	1
MyTaq DNA Polimeraz (Bioline Inc.)	0,5
Kalıp DNA (PCR ürünü)	0,5
Toplam	25

Reaksiyon sonuçları % 2 lik agaroz jel elektroforezi ile görüntülenmiştir.

Her bir örnek için elde edilen PCR ürünleri, reaksiyon verimliliği göz önünde bulundurularak, her bir örneğin yaklaşık eşit oranda temsil edileceği şekilde karıştırılmıştır. Oluşturulan PCR havuzu, uygun bir metot ile saflaştırılmıştır. Saflaştırılan PCR havuzu spektrofotometre yardımı ile ölçülmüştür İndeksleme

PCR'ı yapıldığı için ayrıca örnek hazırlama kiti kullanılmamıştır; ölçülen saflaştırılmış ürün uygun bir şekilde seyreltilererk direkt olarak yüklenmiştir. IGV 2.3 yazılımı kullanılarak, örneklerin analizi yapılmıştır.

3.4 Böbrek nakil prosedürleri:

Böbrekler alıcının sağ veya sol iliak fossasına konuldu ve iliak arterler ile anastomoz yapıldı.

3.5 Immunsupresif terapi ve rejeksiyon tedavisi:

Primer immunsupresyon tedavisi bir kalsinörin inhibitörü(takrolimus veya siklosporin), bir antimetabolit mikofenolat mofetil(MMF), sodyum mikofenolat veya azatioprin (AZA); glukokortikoid şeklinde 3lü rejim ile verildi. Takrolmus başlangıç dozu 0,15 mg/kg/gün ve düzeyi ilk 6 ay 8-10ng/mL olarak, sonraki dönemde ise 5-7ng/mL olarak ayarlandı. MMF in başlangıç dozu 2gr/gündü. Intravenöz metilprednizolon dozu, nakil öncesi 500mg, nakil sonrası ise 1.gün 250mg, 2.gün 125mgdır. Oral metilprednizolon ise nakil sonrası 10.günden sonra 10mg/gün, 6.aydan sonra 5mg/gün olarak verildi. Bütün nakiller indüksiyon terapisi esnasında IL-2 reseptör antagonisti(basiliximab) veya lenfosit azaltıcı ajan(anti-timosit globülin).

3.6 AVN nin tanısı ve tedavisi:

Semptomatik AVN bulguları olan vakaların pelvisleri MRG ile tanı aldı. Tanı sonrası cerrahi gereken hastalara ortopedi tarafından total kalça protezi uygunlandı. Bu hastalar uzun dönemde protez kaybı, protezin enfeksiyöz komplikasyonu, kırıklar, tekrarlayan ardışık cerrahi gerektiren durumlar gibi potansiyel komplikasyonlar açısından takip edildi, görüntüleme gerekmesi durumunda direkt grafi, BT veya MRG kullanıldı.

3.7 İstatistiksel metotlar:

Çalışmanın sayısal değerleri ortalama ve standart sapma veya ortanca aralık, kategorik veriler, sıklık ve yüzde ile gösterildi. Normal olarak dağıtılan veriler için; Student's Testi iki grup arasında karşılaştırma yapmak için kullanıldı ve post-hoc analizi ile ANOVA testi ikiden fazla grup için kullanıldı. Anormal dağılımlı veriler için Kruskal-Wallis testi yapıldı. Düşük AVN oluşumunu öngören değişkenleri tanımlamak için Cox regresyon kullanıldı. P değerinin 0.05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm istatistiksel analizler kişisel bilgisayarlar için Statistical Package for Social Science (SPSS, Chicago, IL, ABD), versiyon 21.0 kullanılarak yapıldı.

4. SONUÇLAR:

4.1 Çalışma popülasyonu

2002 ile 2019 arasında çalışmaya dahil edilen 218 hastanın izlemde 21'inde AVN gelişti(%9.6). 135'i erkek, 83'ü kadın iken erkeklerin 14'ünde, kadınların ise 7'sinde AVN gelişti. Bu hastaların 178'ine canlıdan nakil yapılmışken, 40'ına kadavradan nakil yapıldı. Canlıdan nakil olanların 15'inde AVN gelişirken, kadavradan nakil olanlarda bu sayı 6'ydı. AVN+ grupta ortalama yaş 39(24-62) iken, AVN – grupta 38(18-80) idi. Çalışma popülasyonuna baktığımızda ise 44 glomerulonefrit hastası, 38 postrenal KBY hastası, 13 polikistik böbrek hastalığı (PKBH), 12 diyabet mellitus(DM) hastası dahil edildi. Ayrıca bilinmeyen nedenlerle KBY olan 93 hastanın yanı sıra, HT, FMF gibi KBY sebeplerinin sınıflandırıldığı 16 hasta vardı.

4.2 AVN gelişimi açısından olası risk faktörlerinin analizi

Avasküler nekroz grubunda 21, AVN geliştirmeyen grupta ise 197 hasta mevcuttu. Hastaların 135'i erkek, 83'ü kadındı. Erkeklerde 14'ünde (%9), kadınların ise 7'inde (%9) AVN görüldü. AVN görülenler ile görülmeyen grupta cinsiyet açısından belirgin bir fark saptanmadı. ($p=0.30$). Avasküler nekrozlu hastaların ortalama yaşı 39(24-62), kontrol grubunun ise 38(18-80) idi ($p=0.67$). Pretransplantasyon dönemindeki primer hastalıklar AVN riski açısından değerlendirildi. 44 glomerulonefrit hastasından 5'inde (%11.3), 38 postrenal KBY hastasının 4'ünde (%10.5) AVN saptandı. HT, FMF gibi KBY sebeplerinin sınıflandırıldığı "Diğer grubu"ndaki 16 hastadan sadece 1'inde(%6.2) AVN gelişti. Polikistik böbrek hastalığına bağlı KBY, sonrasında renal transplantasyon olan 13 hastada ise AVN tespit edilmedi. Bilinmeyen sebepler sonucu KBY olup renal transplantasyona giden 93 hastanın ise 11'inde (%11.8) AVN saptandı. Primer hastalık ile AVN arasında herhangi bir ilişki tespit edilmedi ($p=0.15$). AVN olan grupta 8 hasta preemptif nakil, 13 hasta ise diyaliz sonrası nakil olmuş($p>0.05$) AVN olan grupta ise 57 hasta preemptif nakil, 140 hasta diyaliz sonrası nakil olmuş($p>0.05$). AVN olan grupta canlıdan nakil olan kişi sayısı 15 iken, kadavradan nakil olan kişi sayısı

6'dır($p>0.05$). Buna karşılık AVN olmayan grupta canlıdan nakil olan 163 kişi varken, kadavradan nakil olan 34 kişi vardır($p>0.05$).

NOS polimorfizmi ile AVN arasındaki ilişkiye bakıldığında AVN gelişen grupta NOS polimorfizmi 21 hastanın 16'sında saptanırken, AVN gelişmeyen grupta bu sayı 219 hastada 181 idi. Dolayısı ile NOS polimorfizm ile AVN gelişimi arasında bir ilişki bulunamadı($p=0.12$).

Tablo 7: Temel karakteristik özellikler

	AVN (+) n:	AVN (-) n:	P:
Cinsiyet (E/K)	14/7	121/76	0,30
Yaş(yıl)	39(24-62)	38(18-80)	0,67
Primer Hastalıklara göre kişilerin dağılımı	GN: 5(44) PKBH : 0(13) Postrenal: 4(38) DM:0(12) Diğer:1(16) Sebebi Bilinmeyen:11(93)	GN:39(44) PKBH :13(13) Postrenal:34(38) DM:12(12) Diğer:15(16) Sebebi Bilinmeyen:82(93)	0,15
Preemptif nakil olan kişi sayısı	8	57	0,14
Diyaliz sonrası nakil olan kişi sayısı	13	140	0,82
Canlıdan nakil olan kişi sayısı	15	163	0,12
Kadavra nakil olan kişi sayısı	6	34	
NOS Polimorfizmi (Wild/Heterozigot-Homozigot)	NOS wild: 5 NOS mut: 16	NOS wild: 28 NOS mut: 181	0,12
Takrolimus kullanan kişi sayısı	13	152	0,79
Siklosporin kullanan kişi sayısı	6	26	0,59
mTORi kullanan kişi sayısı	4	26	0,45

AVN:Avasküler Nekroz, E:Erkek, K:Kadın, GN: Glomerulonefrit, PKBH:Polikistik böbrek hastalığı, Postrenal: Postrenal akut böbrek yetmezliği sonrası kronik böbrek yetmezliğine ilerleyen durumlar, DM:Diabetes mellitus, Diğer HT, FMF

4.3. AVN gelişimi açısından risk faktörü olabilecek labaratuvar değerlerinin analizi

Hastaların transplantasyon sonrası 1. Ve 5. Yıl labaratuvar değerleri de çalışıldı (Tablo 8). Nakil sonrası 1. Yıl kreatin değerleri karşılaştırıldı, AVN+ grupta $1,2(\pm 0,3)$ mg/dl ile AVN- grupta $1,2(\pm 0,7)$ mg/dl saptandı(p:0,43). Nakil sonrası 5.yıl kreatin değerleri de karşılaştırıldı, AVN+ grupta $1,3(\pm 0,5)$ mg/dl iken AVN – grupta $1,2(\pm 0,5)$ mg/dl saptandı(p:0,47). Nakil sonrası 1.yıl P değerleri AVN+ grupta $3,1(\pm 0,5)$ mg/dl, AVN- grupta $3,2(\pm 0,6)$ mg/dl idi(p:0,50). Nakil sonrası 5. Yıl P değerlerinde ise AVN grubu $3,1(\pm 0,6)$ mg/dl, AVN- grup $3,2(\pm 0,5)$ mg/dl saptandı(p:0,64). Ayrıca hastaların PTH düzeyi de örneklendi, nakil sonrası 1.yıl PTH düzeyi AVN+ lerde $61(25-317)$ pg/ml iken, AVN- lerde $62(21-1200)$ pg/ml (p:0,30) ölçüldü. Nakil sonrası 5. Yılda ise AVN+lerde PTH: $77(20-518)$ pg/ml, AVN- lerde ise $63(26,5-980)$ pg/ml (p:0,28) saptandı. Nakil sonrası D3 vitamininin mukayesesinde ise 1.yılda AVN+lerde $22(11-54)$ ug/l olan değer, AVN- lerde ise $18(5-68)$ ug/l idi(p:0,09). 5. Yıla bakıldığında ise AVN+ lerde $18(9-70)$ ug/l olan D3 Vitamini, AVN- lerde ise $17,3(2,5-87)$ ug/l (p:0,28) bulunmuştur. Bir diğer parametre ALP, 1.yılda AVN+ olan grupta $84,5(4,6-138)$ U/L iken, AVN- grupta $87(4-146)$ U/L ölçüldü(p:0,36). 5.yılda ise gruplar arasındaki farka bakıldığında AVN+ grupta $87(4-146)$ U/L olan ALP değeri, AVN- lerde ise $86(33-356)$ U/L idi(p:0,73). 1.yılda bakılan Mg değeri her iki grupta da aynıydı: $1,7(\pm 0,1)$ mg/dl (p:0,12), 5.yılda da aynıydı ve ortalama $1,7(\pm 0,2)$ mg/dl (p:0,12). Hastaların TG değerleri karşılaştırdı, 1.yılda AVN+ lerde $131(64-329)$ mg/dl saptanan değer, AVN- lerde de $131(50-691)$ mg/dl idi (p:0,64). 5. Yılda ise AVN+ lerin TG i $131(50-691)$ mg/dl, AVN- lerin ise $123(46-540)$ mg/dl idi (p:0,65). LDL değerlerine bakıldığında, 1. Yıl LDL değeri AVN+ olan grupta $100(48-156)$ mg/dl iken, AVN- grupta $108(51-176)$ mg/dl saptandı (p:0,50). 5. Yıl LDL de ise AVN+ ler $103(50-153)$ mg/dl iken, AVN- ler $110(26-212)$ mg/dl idi (p:0,97). 1.yılda bakılan Hb değeri AVN+ grupta ortalama $12,1(\pm 1,5)$ g/dl, AVN- grupta $12,8(\pm 2,2)$ g/dl (p:0,03), 5 yılda bakılan ise AVN+ grupta ortalama $12,8(\pm 1,6)$ g/dl iken AVN- grupta $13,4(\pm 1,9)$ (p:0,27) ölçüldü. Kümülatif glukokortikoid dozu ile olan ilişkisi de değerlendirildi, AVN + olan grupta $20,365(3000-76250)$ gr steoid alınmışken, AVN – olan grupta bu sayı $16650(2600-81440)$ gr olarak tespit edildi ancak anlamlı kabul edilmedi (p:0,83).

Tablo 8: Çalışma popülasyonumuzun labaratuvar değerleri

	AVN (+):	AVN (-):	P:
Nakil sonrası 1.yıl kreatin değeri (mg/dl) ortalama (SD)	1,2(±0,3)	1,2(±0,7)	0,43
Nakil sonrası 5.yıl kreatin değeri (mg/dl) ortalama (SD)	1,3(±0,5)	1,2(±0,5)	0,47
Nakil sonrası 1.yıl P değeri (mg/dl) ortalama (SD)	3,1(±0,5)	3,2(±0,6)	0,50
Nakil sonrası 5.yıl P değeri(mg/dl) ortalama (SD)	3,1(±0,6)	3,2(±0,5)	0,64
Nakil sonrası 1.yıl PTH değeri (pg/ml) ortanca değer (min-max)	61(25-317)	62(21-1200)	0,3
Nakil sonrası 5.yıl PTH değeri (pg/ml) ortanca değer (min-max)	77(20-518)	63(26,5-980)	0,8
Nakil sonrası 1.yıl kolekalsiferol değeri (ug/l) ortanca değer (min-max)	22(11-54)	18(5-68)	0,09
Nakil sonrası 5.yıl kolekalsiferol değeri (ug/l) ortanca değer (min-max)	18(9-70)	17,3(2,5-87)	0,28
Nakil sonrası 1.yıl ALP değeri (U/L) ortanca değer (min-max)	84,5(4,6-138)	87(4-146)	0,36
Nakil sonrası 5.yıl ALP değeri ortanca değer (min-max) (U/L)	87(4-146)	86(33-356)	0,73
Nakil sonrası 1.yıl Mg değeri (mg/dl) ortalama (SD)	1,7(±0,1)	1,7(±0,1)	0,12
Nakil sonrası 5.yıl Mg değeri (mg/dl) ortalama (SD)	1,7(±0,2)	1,7(±0,2)	0,12
Nakil sonrası 1.yıl TG değeri (mg/dl) ortanca değer (min-max)	131(64-329)	131(50-691)	0,64
Nakil sonrası 5.yıl TG değeri (mg/dl) ortanca değer (min-max)	142(67-531)	123(46-540)	0,65
Nakil sonrası 1.yıl LDL değeri (mg/dl) ortanca değer (min-max)	100(48-156)	108(51-176)	0,50
Nakil sonrası 5.yıl LDL değeri (mg/dl) ortanca değer (min-max)	103(50-153)	110(26-212)	0,97
Nakil sonrası 1.yıl Hb değeri (g/dl) ortalama (SD)	12,1(±1,5)	12,8(±2,2)	0,30
Nakil sonrası 5.yıl Hb değeri (g/dl) ortalama (SD)	12,8(±1,6)	13,4(±1,9)	0,27
Nakil sonrası Kümülatif Steroid Dozu (gr) ortanca değer (min-max)	20,365(3000-76250)	16,650(2600-81440)	0,83

P: Fosfor, PTH: Parathormon, ALP: Alkalen fosfataz, Mg: Magnezyum, TG: Triglicerid, LDL: Düşük dansiteli lipoprotein, Hb: Hemoglobin

4.4 AVN gelişimini öngörmeye kullanılabilecek bağımsız multivariyete risk faktörlerinin analizi

Avasküler nekrozu öngörmeye kullanılabilecek bağımsız, prediktif faktörü belirlemek amaçlı yapılan multivariyete cox regresyon analiz sonuçları Tablo 9’da gösterilmiştir. Buna göre cinsiyet, yaş, NOS polimorfizmi, diyaliz süresi, kümülatif glukokortikoid dozu, cni kullananlar/kullanmayanlar, mTORi kullananlar/kullanmayanlar arasında yapılan multivariyete cox regresyon analizi ile sadece siklosporin ve sirolimusun bağımsız birer prediktif faktör olduğu gösterilmiştir. Siklosporin kullanımı AVN gelişiminde HR:19[%95 güven aralığı 1,63-221 p<0,2] ile önemli bir bağımsız risk faktörü olduğu gözlemlendi. Aynı durum sirolimusta kullananlarda da söz konusu, bu bireylerin AVN gelişim riski HR:12,6[%95 güven aralığı ile 2,0-75,89 p<0,006] olduğu görüldü.

Tablo 9: AVN öngörmeye kullanılabilecek bağımsız, prediktif faktörü belirlemek amaçlı yapılan multivariyete cox regresyon analiz sonuçları

	HR	Alt limit	Üst limit	P
Cinsiyet	3,2	0,89	12	0,07
Yaş	0,9	0,93	1	0,26
NOS wild (CC)				0,40
NOS heterozigot (CT)	0,5	0,14	1,84	0,30
NOS homozigot (TT)	1	0,32	10,14	0,95
Diyaliz süresi (yıl)	1	0,9	1,2	0,4
Kümülatif glukokortikoid dozu	1	1	1	0,05
Cni almayanlar				0,05
Takrolimus	9,6	0,96	96,45	0,05
Siklosporin	19	1,63	221,28	0,01
mTORi almayanlar				0,02
Everolimus	0	0	0	0,98
Sirolimus	12,6	2,0	75,89	0,006

5. TARTIŞMA:

Renal transplantasyon günümüz dünyasında yaygın bir şekilde uygulanmaktadır. AVN de bu önemli komplikasyonlardan biri olarak göze çarpmaktadır, özellikle nakil sonrası kullanılan glukokortikoidlerin dozunun bu duruma önemli bir katkı yaptığı bilinmektedir. H.Hedri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada renal transplantasyon sonrası AVN gelişme oranı %4,6 dolaylarında bulunmuşken[246], Kerachian ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu oran %38'lere kadar yükselmiştir. Bizim çalışmamızda ise renal transplantasyon sonrası AVN sıklığı %9'dur[247]. Prevelans aralığının bu kadar geniş aralıklı saptanmasının sebebi, altta yatan hastalıklar, kullanılan glukokortikoidin doz/süresi ile ilişkili olabileceği gibi, CNI bazlı immunsupresyon rejimlerinin son yıllarda daha yaygın kullanılması ve artan görüntüleme yöntemleri olabilir.

Çalışmamızda renal transplantasyon sonrası sirolimus alanlarda, everolimus alanlara ve hic mTORi tedavisi almayanlara göre artmış bir AVN riski saptanmıştır. Aynı bulgu Ayman F. Refaie ve arkadaşlarının da çalışmalarında gösterdiği gibi sirolimuslu rejim alan renal transplantasyonlu hastalarda AVN sıklığının artması ile örtüşmüştür[248]. Benzer sonuçlar Sunil arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada da elde edilmiş olup, artmış AVN riski, sirolimus tarafından indüklenen lipit profilinin kemik iliği üzerindeki suprese edici etkisine bağlanmıştır[249]. Bizim çalışmamızda everolimus kullanan hasta sayısı toplam 13 olup tüm çalışmamızın %5'i kadardır.

Kuroda T ve arkadaşlarının SLE'li hastalarda hipertriglisedemi ile AVN ilişkisini inceledikleri bir çalışmada, glukokortikoid tedavisi öncesi veya sonrasında hipertrigliseridemi ile sessiz başlangıçlı osteonekroz riskinin arttığını gösterilmiştir[250]. Çalışmamızda AVN ile hipertrigliseridemi arasında bir ilişki saptanamamıştır. Ancak bunun sebebi, Kuroda T ve arkadaşlarının asemptomatik hastalara da MR çekmesi olabilir.

AVN gelişimi ile renal transplantasyona sebep olan primer böbrek hastalıkları arasında herhangi bir ilişki saptanmadı, benzer bulgular Thomas Schachtner ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da gösterilmiştir[251]. Çalışmamızda ayrıca AVN gelişimi ile yaş/cinsiyet arasında da bir ilişki bulunamamıştır. Benzer durum H.Hedri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da gösterilmiştir[246].

Renal transplantasyon sonrası AVN gelişimine sebep olan en önemli neden glukokortikoid bazlı immunsupresyon rejimleridir. Yayınlanan bir derlemede de gösterildiği gibi uzun süreli glukokortikoid kullanan hastaların %9'u ile %40'ında AVN geliştiği bildirilmiştir. Ancak renal transplantasyonlu hastalarda akut rejeksiyon nedeniyle kısa süreli ama yüksek doz verilen glukokortikoid tedavisi de AVN riskini arttırdığı bildirilmiştir.[252]. Özellikle son dönemde CNi lerin immunsupresif rejimlerde kullanılmaya başlanması ile birlikte, glukokortikoid dozunun azatılması, kullanım süresinin kısılması nedeni ile AVN insidansında hafif bir düşüş yaşanmıştır[253]. Literatürdeki çoğu çalışmada kümülatif glukokortikoid dozu ile AVN arasında bir ilişki olduğu ortaya konmuş olsa da [246, 254], bu çalışmada, kümülatif glukokortikoid dozu ile AVN arasında bir ilişki gözlenmemiştir.

Çalışmamızda siklosporinin takrolimusa göre AVN riskini daha fazla arttırdığı gösterilmiştir. Önceki çalışmalar, siklosporinin, osteoklastlar üzerindeki doğrudan etkisi ile daha yüksek kemik kaybına neden olabileceğini ve takrolimusa kıyasla daha yüksek kemik dönüşümüne yol açabileceğini göstermektedir. Bu etkiler büyük ihtimalle siklosporinin osteoblast farklılaşmasında bozulma meydana getirerek proliferasyonda düşüş, apoptozda artış sonrası oluşmaktadır[255-258].

Birçok raporda transplantasyon sonrası kemik hastalığının sebebinin ağırlıklı olarak glukokortikoid kullanımı olduğu gösterilmiştir fakat bazı verilerde bunun sebebinin diyaliz sırasında kemik metabolizmasındaki değişiklikler olduğu da (hiperparatiroidi, adinamik kemik hastalığı, osteomalazi ve mix kemik hastalığı) belirtilmiştir[205, 259]. Bu kemik lezyonlarının, nispeten normal böbrek fonksiyonuna sahip hastalarda gözlemlenmesi ve sıklıkla serum paratiroid hormonu (PTH) seviyelerinden bağımsız olarak gözlemlenmesi ilginçtir. Bizim çalışmamızda AVN gelişen grup ile gelişmeyen grup arasında PTH ile kolekalsiferol düzeylerinde anlamlı bir değişiklik yaşanmamıştır.

eNOS polimorfizminin daha önce AVN ile ilişkili olabileceği bazı çalışmalarda gösterilmişti. Charles J. Glueck ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, , eNOS T-786c polimorfizminin, bazı hastalarda idiyopatik osteonekroz için tek başına risk faktörü olduğunu ve özellikle sigara, trombofili ve hipofibrinoliz gibi durumlarla birlikteliği durumunda ise sinerjistik bir etki gösterebileceği gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada

renal transplantasyonlu hastalar çalışma dışı bırakılmıştır[244]. Kyung-Hoi Koo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise eNOS intron-4'de 27 baz çiftinin polimorfizm gösterdiği mutasyon sonrası, idiyopatik osteonekrozun anlamlı bir şekilde arttığı gösterilmiş olup aynı bulgular sekonder osteonekrozda bulunamamıştır[260]. Literatürde daha önce renal transplantasyon yapılmış hastalarda, NO polimorfizmi ile glukokortikoid kullanımının bir arada işlendiği bir çalışma yoktur. Bu çalışmada eNOS polimorfizmi AVN gelişimi açısından bir risk faktörü olmadığı gibi, glukokortikoid dozu ile enos polimorfizmi ve AVN gelişimi arasında bir ilişki de bulunamadı.

Özetle, çalışmamız sonrasında eNOS polimorfizminin glukokortikoid kullanan hastalarda AVN yi arttırdığına dair bir ipucu bulamadık, öncesinde ancak siklosporin kullanan hastaların CNI kullanmayanlara oranla 19 kat, sirolimus kullanan hastaların ise mTORi kullanmayanlara oranla AVN riskini 12 kat arttırdığı görüldü. Daha yeni çalışmalar ile bu verilerin doğrulanmaya ve geliştirilmeye ihtiyacı vardır. Böylelikle daha farklı, AVN insidansını daha da azaltabilecek immunsupresif rejimler ilerde hazırlanabilir.

KAYNAKLAR

1. Renal, D.U., *System (USRDS) 2010. Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States*. Bethesda, Md: National Institutes of Health, national Institute of Diabetes and Digestion Kidney Disease. 2010.
2. Collins, A.J., et al., *United States Renal Data System public health surveillance of chronic kidney disease and end-stage renal disease*. Kidney international supplements, 2015. **5**(1): p. 2-7.
3. Andrassy, K.M., *Comments on 'KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease'*. Kidney international, 2013. **84**(3): p. 622-623.
4. Kopple, J.D., *National kidney foundation K/DOQI clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure*. American journal of kidney diseases, 2001. **37**(1): p. S66-S70.
5. Gómez, C.G., et al., *Validity of a standard information protocol provided to end-stage renal disease patients and its effect on treatment selection*. Peritoneal dialysis international, 1999. **19**(5): p. 471-477.
6. Adequacy, H., *Clinical practice guidelines for hemodialysis adequacy, update 2006*. Am J Kidney Dis, 2006. **48**(1): p. S2-S90.
7. Tattersall, J., et al., *When to start dialysis: updated guidance following publication of the Initiating Dialysis Early and Late (IDEAL) study*. 2011, Oxford University Press.
8. Pascual, M., et al., *Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation*. New England Journal of Medicine, 2002. **346**(8): p. 580-590.
9. Wolfe, R.A., et al., *Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant*. New England Journal of Medicine, 1999. **341**(23): p. 1725-1730.
10. Schnuelle, P., et al., *Impact of renal cadaveric transplantation on survival in end-stage renal failure: evidence for reduced mortality risk compared with hemodialysis during long-term follow-up*. Journal of the American Society of Nephrology, 1998. **9**(11): p. 2135-2141.
11. Ojo, A.O., et al., *Comparative mortality risks of chronic dialysis and cadaveric transplantation in black end-stage renal disease patients*. American journal of kidney diseases, 1994. **24**(1): p. 59-64.

12. Szczech, L.A., J.A. Berlin, and H.I. Feldman, *The effect of antilymphocyte induction therapy on renal allograft survival: a meta-analysis of individual patient-level data*. Annals of internal medicine, 1998. **128**(10): p. 817-826.
13. Vincenti, F., et al., *Interleukin-2-receptor blockade with daclizumab to prevent acute rejection in renal transplantation*. New England Journal of Medicine, 1998. **338**(3): p. 161-165.
14. Starzl, T.E., et al., *Tolerogenic immunosuppression for organ transplantation*. The Lancet, 2003. **361**(9368): p. 1502-1510.
15. Denton, M.D., C.C. Magee, and M.H. Sayegh, *Immunosuppressive strategies in transplantation*. The Lancet, 1999. **353**(9158): p. 1083-1091.
16. Wong, W., et al., *2005 immunosuppressive strategies in kidney transplantation: which role for the calcineurin inhibitors?* Transplantation, 2005. **80**(3): p. 289-296.
17. Fishman, J.A., *Infection in solid-organ transplant recipients*. New England Journal of Medicine, 2007. **357**(25): p. 2601-2614.
18. Disease, K., *Improving global outcomes (KDIGO) transplant work group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients*. Am J Transplant, 2009. **9**(3): p. 1-155.
19. Lebranchu, Y., et al., *Immunoprophylaxis with basiliximab compared with antithymocyte globulin in renal transplant patients receiving MMF-containing triple therapy*. American Journal of Transplantation, 2002. **2**(1): p. 48-56.
20. Johnson, C., et al., *Randomized Trial Of Tacrolimus (prograf) In Combination With Azathioprine Or Mycophenolate Mofetil Versus Cyclosporine (neoral) With Mycophenolate Mofetil After Cadaveric Kidney Transplantation*^{1, 2}. Transplantation, 2000. **69**(5): p. 834-841.
21. Wiederrecht, G., et al., *The mechanism of action of FK-506 and cyclosporin A*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1993. **696**(1): p. 9-19.
22. Schreiber, S.L. and G.R. Crabtree, *The mechanism of action of cyclosporin A and FK506*. Immunology today, 1992. **13**(4): p. 136-142.
23. Kahan, B.D., *Cyclosporine*. New England Journal of Medicine, 1989. **321**(25): p. 1725-1738.
24. Jacobson, P., et al., *Tacrolimus: a new agent for the prevention of graft-versus-host disease in hematopoietic stem cell transplantation*. Bone Marrow Transplantation, 1998. **22**(3): p. 217.

25. Mochizuki, M., et al., *A clinical trial of FK506 in refractory uveitis*. American journal of ophthalmology, 1993. **115**(6): p. 763-769.
26. Jegasothy, B.V., et al., *Tacrolimus (FK 506)—a new therapeutic agent for severe recalcitrant psoriasis*. Archives of dermatology, 1992. **128**(6): p. 781.
27. Shin, G.-T., et al., *In vivo expression of transforming growth factor- β 1 in humans: stimulation by cyclosporine1*. Transplantation, 1998. **65**(3): p. 313-318.
28. Slattery, C., et al., *Cyclosporine A-induced renal fibrosis: a role for epithelial-mesenchymal transition*. The American journal of pathology, 2005. **167**(2): p. 395-407.
29. ISHIDA, Y., H. MATSUDA, and K. KIDA, *Effect of cyclosporin A on human bone marrow granulocyte-macrophage progenitors with anti-cancer agents*. Pediatrics International, 1995. **37**(5): p. 610-613.
30. Group, E.F.M.L.S., *Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection*. The Lancet, 1994. **344**(8920): p. 423-428.
31. Group, U.M.F.L.S., *A comparison of tacrolimus (FK 506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation*. New England Journal of Medicine, 1994. **331**(17): p. 1110-1115.
32. Schwartz, R., et al., *Cyclosporine neurotoxicity and its relationship to hypertensive encephalopathy: CT and MR findings in 16 cases*. AJR. American journal of roentgenology, 1995. **165**(3): p. 627-631.
33. Alessiani, M., et al. *Adverse effects of FK 506 overdosage after liver transplantation. in Transplantation proceedings*. 1993. NIH Public Access.
34. Wijdicks, E.F., R.H. Wiesner, and R.A. Krom, *Neurotoxicity in liver transplant recipients with cyclosporine immunosuppression*. Neurology, 1995. **45**(11): p. 1962-1964.
35. THI ÉBAUD, D., et al., *Cyclosporine induces high bone turnover and may contribute to bone loss after heart transplantation*. European journal of clinical investigation, 1996. **26**(7): p. 549-555.
36. Dongari, A., H.T. McDonnell, and R.P. Langlais, *Drug-induced gingival overgrowth*. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, 1993. **76**(4): p. 543-548.
37. Cutolo, M., et al., *Testosterone metabolism and cyclosporin A treatment in rheumatoid arthritis*. British journal of rheumatology, 1997. **36**(4): p. 433-439.

38. Webster, A.C., et al., *Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data*. Bmj, 2005. **331**(7520): p. 810.
39. Hardinger, K.L., et al., *A randomized, prospective, pharmacoeconomic trial of tacrolimus versus cyclosporine in combination with thymoglobulin in renal transplant recipients*. Transplantation, 2005. **80**(1): p. 41-46.
40. Gielis, E., et al., *Cell-free DNA: An upcoming biomarker in transplantation*. American Journal of Transplantation, 2015. **15**(10): p. 2541-2551.
41. Lipsky, J.J., *Mycophenolate mofetil*. The Lancet, 1996. **348**(9038): p. 1357-1359.
42. Lee, R.-A. and S. Gabardi, *Current trends in immunosuppressive therapies for renal transplant recipients*. American Journal of Health-System Pharmacy, 2012. **69**(22): p. 1961-1975.
43. McMurray, R.W. and V. Harisdangkul, *Mycophenolate mofetil: selective T cell inhibition*. The American journal of the medical sciences, 2002. **323**(4): p. 194-196.
44. Oz, H.S. and W.T. Hughes, *Novel anti-Pneumocystis carinii effects of the immunosuppressant mycophenolate mofetil in contrast to provocative effects of tacrolimus, sirolimus, and dexamethasone*. Journal of Infectious Diseases, 1997. **175**(4): p. 901-904.
45. Husain, S. and N. Singh, *The impact of novel immunosuppressive agents on infections in organ transplant recipients and the interactions of these agents with antimicrobials*. Clinical infectious diseases, 2002. **35**(1): p. 53-61.
46. Keown, P., et al., *A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation*. Transplantation, 1996. **61**(7): p. 1029-1037.
47. Sarmiento, J.M., et al., *Mycophenolate mofetil increases cytomegalovirus invasive organ disease in renal transplant patients*. Clinical transplantation, 2000. **14**(2): p. 136-138.
48. Elion, G.B., *The purine path to chemotherapy*. Science, 1989. **244**(4900): p. 41-47.
49. Belmont, M., *Pharmacology and side effects of azathioprine when used in rheumatic diseases*. Waltham: UpToDate, 2015.
50. Dixon, J.S. and D.E. Furst, *Second-line agents in the treatment of rheumatic diseases*. 1991: Informa HealthCare.

51. Trotter, J., G. Rodey, and H. Gebel, *Azathioprine decreases suppressor T cells in patients with multiple sclerosis*. The New England journal of medicine, 1982. **306**(6): p. 365.
52. Bacon, P.A. and M. Salmon, *Modes of action of second-line agents*. Scandinavian Journal of Rheumatology, 1987. **16**(sup64): p. 17-24.
53. Crilly, A., et al., *The effect of azathioprine on serum levels of interleukin 6 and soluble interleukin 2 receptor*. Scandinavian journal of rheumatology, 1994. **23**(2): p. 87-91.
54. Nyhan, W.L., et al., *Effects of azathioprine in a disorder of uric acid metabolism and cerebral function*. The Journal of pediatrics, 1968. **72**(1): p. 111-118.
55. Chatham, W. and R. Kimberly, *Treatment of lupus with corticosteroids*. Lupus, 2001. **10**(3): p. 140-147.
56. ZHANG, G., L. ZHANG, and G.W. DUFF, *A negative regulatory region containing a glucocorticosteroid response element (nGRE) in the human interleukin-1 β gene*. DNA and cell biology, 1997. **16**(2): p. 145-152.
57. Scheinman, R.I., et al., *Role of transcriptional activation of I κ B α in mediation of immunosuppression by glucocorticoids*. Science, 1995. **270**(5234): p. 283-286.
58. Almawi, W.Y., et al., *Regulation of cytokine and cytokine receptor expression by glucocorticoids*. Journal of Leukocyte Biology, 1996. **60**(5): p. 563-572.
59. Auphan, N., et al., *Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF- κ B activity through induction of I κ B synthesis*. Science, 1995. **270**(5234): p. 286-290.
60. Göttlicher, M., S. Heck, and P. Herrlich, *Transcriptional cross-talk, the second mode of steroid hormone receptor action*. Journal of Molecular Medicine, 1998. **76**(7): p. 480-489.
61. Shaulian, E. and M. Karin, *AP-1 in cell proliferation and survival*. Oncogene, 2001. **20**(19): p. 2390.
62. Rhen, T. and J.A. Cidlowski, *Antiinflammatory action of glucocorticoids—new mechanisms for old drugs*. New England Journal of Medicine, 2005. **353**(16): p. 1711-1723.
63. McKinley, L., et al., *TH17 cells mediate steroid-resistant airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mice*. The Journal of Immunology, 2008. **181**(6): p. 4089-4097.

64. Borson, D. and D. Gruenert, *Glucocorticoids induce neutral endopeptidase in transformed human tracheal epithelial cells*. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 1991. **260**(2): p. L83-L89.
65. Flower, R. and G. Blackwell, *Anti-inflammatory steroids induce biosynthesis of a phospholipase A2 inhibitor which prevents prostaglandin generation*. Nature, 1979. **278**(5703): p. 456.
66. Blackwell, G.J., et al., *Macro cortin: a polypeptide causing the anti-phospholipase effect of glucocorticoids*. Nature, 1980. **287**(5778): p. 147.
67. Hirata, F., et al., *A phospholipase A2 inhibitory protein in rabbit neutrophils induced by glucocorticoids*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1980. **77**(5): p. 2533-2536.
68. Kim, S.-W., et al., *Inhibition of cytosolic phospholipase A2 by annexin-I: specific interaction model and mapping of the interaction site*. Journal of Biological Chemistry, 2001.
69. Lew, W., J. Oppenheim, and K. Matsushima, *Analysis of the suppression of IL-1 alpha and IL-1 beta production in human peripheral blood mononuclear adherent cells by a glucocorticoid hormone*. The Journal of Immunology, 1988. **140**(6): p. 1895-1902.
70. Chen, C.-C., et al., *TNF- α -induced cyclooxygenase-2 expression in human lung epithelial cells: involvement of the phospholipase C- γ 2, protein kinase C- α , tyrosine kinase, NF- κ B-inducing kinase, and I- κ B kinase 1/2 pathway*. The Journal of Immunology, 2000. **165**(5): p. 2719-2728.
71. Hammerschmidt, D.E., et al., *Corticosteroids inhibit complement-induced granulocyte aggregation. A possible mechanism for their efficacy in shock states*. The Journal of clinical investigation, 1979. **63**(4): p. 798-803.
72. Youssef, P., et al., *Pulse methylprednisolone in rheumatoid arthritis: effects on peripheral blood and synovial fluid neutrophil surface phenotype*. The Journal of rheumatology, 1995. **22**(11): p. 2065-2071.
73. LEENDERT C PAU, L., et al., *EFFECT OF CORTICOSTEROIDS ON THE HUMAN IMMUNE RESPONSE: SUPPRESSION OF MITOGEN-INDUCED LYMPHOCYTE PROLIFERATION BY "PULSE" METHYLPREDNISOLON*, E. Transplantation, 1978. **26**(4): p. 266-270.
74. Shoenfeld, Y., et al., *Prednisone-induced leukocytosis: influence of dosage, method and duration of administration on the degree of leukocytosis*. The American journal of medicine, 1981. **71**(5): p. 773-778.

75. Olnes, M.J., et al., *Effects of systemically administered hydrocortisone on the human immunome*. Scientific reports, 2016. **6**: p. 23002.
76. Fauci, A.S., D.C. Dale, and J.E. Balow, *Glucocorticosteroid therapy: mechanisms of action and clinical considerations*. Annals of Internal Medicine, 1976. **84**(3): p. 304-315.
77. Boumpas, D.T., et al., *Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates*. Annals of internal medicine, 1993. **119**(12): p. 1198-1208.
78. Fauci, A.S., et al., *Mechanisms of corticosteroid action on lymphocyte subpopulations: VI. Lack of correlation between glucocorticosteroid receptors and the differential effects of glucocorticosteroids on T-cell subpopulations*. Cellular immunology, 1980. **49**(1): p. 43-50.
79. Duncan, G.S., et al., *Genetic evidence for functional redundancy of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1): CD31-deficient mice reveal PECAM-1-dependent and PECAM-1-independent functions*. The Journal of Immunology, 1999. **162**(5): p. 3022-3030.
80. Cox, G., *Glucocorticoid treatment inhibits apoptosis in human neutrophils. Separation of survival and activation outcomes*. The Journal of Immunology, 1995. **154**(9): p. 4719-4725.
81. Meagher, L.C., et al., *Opposing effects of glucocorticoids on the rate of apoptosis in neutrophilic and eosinophilic granulocytes*. The Journal of Immunology, 1996. **156**(11): p. 4422-4428.
82. Schleimer, R.P., et al., *An assessment of the effects of glucocorticoids on degranulation, chemotaxis, binding to vascular endothelium and formation of leukotriene B₄ by purified human neutrophils*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 1989. **250**(2): p. 598-605.
83. Jones, C.J., K.J. Morris, and M.I. Jayson, *Prednisolone inhibits phagocytosis by polymorphonuclear leucocytes via steroid receptor mediated events*. Annals of the rheumatic diseases, 1983. **42**(1): p. 56.
84. Herzer, P. and E.-M. Lemmel, *Inhibition of granulocyte function by prednisolone and non-steroid anti-inflammatory drugs. Quantitative evaluation with NBT test and its correlation with phagocytosis*. Immunobiology, 1980. **157**(1): p. 78-88.
85. Rinehart, J.J., et al., *Effects of corticosteroid therapy on human monocyte function*. New England Journal of Medicine, 1975. **292**(5): p. 236-241.

86. Rinehart, J.J., et al., *Effects of corticosteroids on human monocyte function*. The Journal of clinical investigation, 1974. **54**(6): p. 1337-1343.
87. Atkinson, J.P. and M.M. Frank, *Complement-independent clearance of IgG-sensitized erythrocytes: inhibition by cortisone*. Blood, 1974. **44**(5): p. 629-637.
88. Gerlag, D.M., et al., *Effects of oral prednisolone on biomarkers in synovial tissue and clinical improvement in rheumatoid arthritis*. Arthritis & Rheumatism, 2004. **50**(12): p. 3783-3791.
89. Balow, J.E. and A.S. Rosenthal, *Glucocorticoid suppression of macrophage migration inhibitory factor*. Journal of Experimental Medicine, 1973. **137**(4): p. 1031-1041.
90. Gerrard, T.L., et al., *Hydrocortisone-mediated inhibition of monocyte antigen presentation: dissociation of inhibitory effect and expression of DR antigens*. Cellular immunology, 1984. **85**(2): p. 330-339.
91. Eddy, J.L., et al., *Glucocorticoids regulate natural killer cell function epigenetically*. Cellular immunology, 2014. **290**(1): p. 120-130.
92. Fan, P., et al., *Effect of corticosteroids on the human immune response: comparison of one and three daily 1 gm intravenous pulses of methylprednisolone*. The Journal of laboratory and clinical medicine, 1978. **91**(4): p. 625-634.
93. Slade, J.D. and B. Hepburn, *Prednisone-induced alterations of circulating human lymphocyte subsets*. The Journal of laboratory and clinical medicine, 1983. **101**(3): p. 479-487.
94. Settupane, G.A., R. Pudupakkam, and J.H. McGowan, *Corticosteroid effect on immunoglobulins*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1978. **62**(3): p. 162-166.
95. Lack, G., H.D. Ochs, and E.W. Gelfand, *Humoral immunity in steroid-dependent children with asthma and hypogammaglobulinemia*. The Journal of pediatrics, 1996. **129**(6): p. 898-903.
96. Posey, W.C., et al., *The effects of acute corticosteroid therapy for asthma on serum immunoglobulin levels*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1978. **62**(6): p. 340-348.
97. Fedor, M.E. and A. Rubinstein, *Effects of long-term low-dose corticosteroid therapy on humoral immunity*. Annals of Allergy, Asthma & Immunology, 2006. **97**(1): p. 113-116.
98. Olsen, N.J., et al., *Direct effects of HP Acthar Gel® on human B lymphocyte activation in vitro*. Arthritis research & therapy, 2015. **17**(1): p. 300.

99. LEVY, A.L. and T.A. Waldmann, *The effect of hydrocortisone on immunoglobulin metabolism*. The Journal of clinical investigation, 1970. **49**(9): p. 1679-1684.
100. Hamilos, D., et al., *Hypogammaglobulinemia in asthmatic patients*. Annals of allergy, 1992. **68**(6): p. 472-481.
101. Berger, W., et al., *Immunoglobulin levels in children with chronic severe asthma*. Annals of allergy, 1978. **41**(2): p. 67.
102. Haynes, B.F. and A.S. Fauci, *The differential effect of in vivo hydrocortisone on the kinetics of subpopulations of human peripheral blood thymus-derived lymphocytes*. The Journal of clinical investigation, 1978. **61**(3): p. 703-707.
103. Mathian, A., et al., *Regulatory T cell responses to high-dose methylprednisolone in active systemic lupus erythematosus*. PLoS one, 2015. **10**(12): p. e0143689.
104. Huang, H., et al., *Imbalance between Th17 and regulatory T-Cells in sarcoidosis*. International journal of molecular sciences, 2013. **14**(11): p. 21463-21473.
105. Paliogianni, F., et al., *Novel mechanism for inhibition of human T cells by glucocorticoids. Glucocorticoids inhibit signal transduction through IL-2 receptor*. The Journal of Immunology, 1993. **151**(8): p. 4081-4089.
106. Hanson, J., et al., *Computed tomography appearance of the thymus and anterior mediastinum in active Cushing's syndrome*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 1999. **84**(2): p. 602-605.
107. Cohen, J.J. and R. Duke, *Glucocorticoid activation of a calcium-dependent endonuclease in thymocyte nuclei leads to cell death*. The Journal of Immunology, 1984. **132**(1): p. 38-42.
108. Lanza, L., et al., *Prednisone increases apoptosis in in vitro activated human peripheral blood T lymphocytes*. Clinical & Experimental Immunology, 1996. **103**(3): p. 482-490.
109. Webster, J.C., et al., *Dexamethasone and tumor necrosis factor- α act together to induce the cellular inhibitor of apoptosis-2 gene and prevent apoptosis in a variety of cell types*. Endocrinology, 2002. **143**(10): p. 3866-3874.
110. Ramesh, R., et al., *Pro-inflammatory human Th17 cells selectively express P-glycoprotein and are refractory to glucocorticoids*. Journal of Experimental Medicine, 2014. **211**(1): p. 89-104.
111. BOVORNKITTI, S., et al., *Reversion and reconversion rate of tuberculin skin reactions in correction with the use of prednisone*. Diseases of the Chest, 1960. **38**: p. 51-55.

112. Wallen, N., et al., *Glucocorticoids inhibit cytokine-mediated eosinophil survival*. The Journal of Immunology, 1991. **147**(10): p. 3490-3495.
113. Andersen, V., F. Bro-Rasmussen, and K. Hougaard, *Autoradiographic studies of eosinophil kinetics: effects of cortisol*. Cell Proliferation, 1969. **2**(2): p. 139-146.
114. Nagase, H., et al., *Glucocorticoids preferentially upregulate functional CXCR4 expression in eosinophils*. Journal of allergy and clinical immunology, 2000. **106**(6): p. 1132-1139.
115. Andrade, M.V., T. Hiragun, and M.A. Beaven, *Dexamethasone suppresses antigen-induced activation of phosphatidylinositol 3-kinase and downstream responses in mast cells*. The Journal of Immunology, 2004. **172**(12): p. 7254-7262.
116. Nakamura, R., et al., *Gene expression profiling of dexamethasone-treated RBL-2H3 cells: induction of anti-inflammatory molecules*. Immunology letters, 2005. **98**(2): p. 272-279.
117. Park, S.-K. and M.A. Beaven, *Mechanism of upregulation of the inhibitory regulator, src-like adaptor protein (SLAP), by glucocorticoids in mast cells*. Molecular immunology, 2009. **46**(3): p. 492-497.
118. Shodell, M., K. Shah, and F. Siegal, *Circulating human plasmacytoid dendritic cells are highly sensitive to corticosteroid administration*. Lupus, 2003. **12**(3): p. 222-230.
119. Woltman, A.M., et al., *Corticosteroids prevent generation of CD34+-derived dermal dendritic cells but do not inhibit Langerhans cell development*. The Journal of Immunology, 2002. **168**(12): p. 6181-6188.
120. Fardet, L., et al., *Corticosteroid-induced clinical adverse events: frequency, risk factors and patient's opinion*. British Journal of Dermatology, 2007. **157**(1): p. 142-148.
121. Hoes, J., et al., *Adverse events of low-to medium-dose oral glucocorticoids in inflammatory diseases: a meta-analysis*. Annals of the rheumatic diseases, 2009. **68**(12): p. 1833-1838.
122. Reid, I.R., *Glucocorticoid osteoporosis--mechanisms and management*. European Journal of Endocrinology, 1997. **137**(3): p. 209-217.
123. Moghadam-Kia, S. and V.P. Werth, *Prevention and treatment of systemic glucocorticoid side effects*. International journal of dermatology, 2010. **49**(3): p. 239-248.
124. Huscher, D., et al., *Dose-related patterns of glucocorticoid-induced side effects*. Annals of the rheumatic diseases, 2009. **68**(7): p. 1119-1124.

125. Da Silva, J.A., et al., *Safety of low dose glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis: published evidence and prospective trial data*. Annals of the rheumatic diseases, 2006. **65**(3): p. 285-293.
126. Saag, K.G. and D.E. Furst, *Major side effects of systemic glucocorticoids*. 2013.
127. Renfro, L. and J.S. Snow, *Ocular effects of topical and systemic steroids*. Dermatologic clinics, 1992. **10**(3): p. 505-512.
128. Nijs, E.D., P. Brabant, and J.D. Laey, *The adverse effects of corticosteroids in central serous chorioretinopathy*. Bulletin de la Société belge d'ophtalmologie, 2003. **289**: p. 35-44.
129. Imamura, Y., et al., *Enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in central serous chorioretinopathy*. Retina, 2009. **29**(10): p. 1469-1473.
130. Karadimas, P., A. Kapetanios, and E.A. Bouzas, *Central Serous Chorioretinopathy After Local Application of Glucocorticoids for Skin Disorders*. Archives of Ophthalmology, 2004. **122**(5): p. 784-786.
131. Wei, L., T.M. MacDonald, and B.R. Walker, *Taking glucocorticoids by prescription is associated with subsequent cardiovascular disease*. Annals of internal medicine, 2004. **141**(10): p. 764-770.
132. Rodríguez, L.A.G. and S. Hernández-Díaz, *The risk of upper gastrointestinal complications associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs, glucocorticoids, acetaminophen, and combinations of these agents*. Arthritis Research & Therapy, 2001. **3**(2): p. 98.
133. Gabriel, S.E., L. Jaakkimainen, and C. Bombardier, *Risk for serious gastrointestinal complications related to use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a meta-analysis*. Annals of internal medicine, 1991. **115**(10): p. 787-796.
134. Piper, J.M., et al., *Corticosteroid use and peptic ulcer disease: role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs*. Annals of internal medicine, 1991. **114**(9): p. 735-740.
135. Glenn, F. and W.R. Grafe Jr, *Surgical complications of adrenal steroid therapy*. Annals of surgery, 1967. **165**(6): p. 1023.
136. Sterioff, S., M.B. Orringer, and J.L. Cameron, *Colon perforations associated with steroid therapy*. Surgery, 1974. **75**(1): p. 56-58.
137. Mpofu, S., et al., *Steroids, non-steroidal anti-inflammatory drugs, and sigmoid diverticular abscess perforation in rheumatic conditions*. Annals of the rheumatic diseases, 2004. **63**(5): p. 588-590.

138. Jones Jr, J.P., E.P. Engleman, and J.S. Najarian, *Systemic fat embolism after renal homotransplantation and treatment with corticosteroids*. New England Journal of Medicine, 1965. **273**(27): p. 1453-1458.
139. Hill, L.W., *Certain aspects of allergy in children: a critical review of the recent literature*. New England Journal of Medicine, 1961. **265**(24): p. 1194-1200.
140. Carone, F.A. and A.A. Liebow, *Acute pancreatic lesions in patients treated with ACTH and adrenal corticoids*. New England Journal of Medicine, 1957. **257**(15): p. 690-697.
141. Chrousos, G.A., et al., *Side effects of glucocorticoid treatment: experience of the Optic Neuritis Treatment Trial*. Jama, 1993. **269**(16): p. 2110-2112.
142. Sadr-Azodi, O., et al., *Association of oral glucocorticoid use with an increased risk of acute pancreatitis: a population-based nested case-control study*. JAMA internal medicine, 2013. **173**(6): p. 444-449.
143. Olefsky, J.M. and G. Kimmerling, *Effects of glucocorticoids on carbohydrate metabolism*. The American journal of the medical sciences, 1976. **271**(2): p. 202-210.
144. Gurwitz, J.H., et al., *Glucocorticoids and the risk for initiation of hypoglycemic therapy*. Archives of internal medicine, 1994. **154**(1): p. 97-101.
145. Volkmann, E.R., et al., *We still don't know how to taper glucocorticoids in rheumatoid arthritis, and we can do better*. 2013, The Journal of Rheumatology.
146. Wolkowitz, O.M., et al., *Glucocorticoids: mood, memory, and mechanisms*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2009. **1179**(1): p. 19-40.
147. Brown, E.S. and P.A. Chandler, *Mood and cognitive changes during systemic corticosteroid therapy*. Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry, 2001. **3**(1): p. 17.
148. Fardet, L., I. Petersen, and I. Nazareth, *Suicidal behavior and severe neuropsychiatric disorders following glucocorticoid therapy in primary care*. American Journal of Psychiatry, 2012. **169**(5): p. 491-497.
149. Afifi, A., *Steroid myopathy. Clinical, histologic and cytologic observation*. Johns Hopkins Medical Journal, 1968. **123**: p. 158-173.
150. Batchelor, T., et al., *Steroid myopathy in cancer patients*. Neurology, 1997. **48**(5): p. 1234-1238.

151. Singleton, J.R., B.L. Baker, and A. Thorburn, *Dexamethasone inhibits insulin-like growth factor signaling and potentiates myoblast apoptosis*. Endocrinology, 2000. **141**(8): p. 2945-2950.
152. Bowyer, S.L., M.P. LaMothe, and J.R. Hollister, *Steroid myopathy: incidence and detection in a population with asthma*. Journal of allergy and clinical immunology, 1985. **76**(2): p. 234-242.
153. Van Staa, T., H. Leufkens, and C. Cooper, *The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis*. Osteoporosis international, 2002. **13**(10): p. 777-787.
154. Manolagas, S.C. and R.S. Weinstein, *New developments in the pathogenesis and treatment of steroid-induced osteoporosis*. Journal of Bone and Mineral Research, 1999. **14**(7): p. 1061-1066.
155. Canalis, E., et al., *Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy*. Osteoporosis International, 2007. **18**(10): p. 1319-1328.
156. Mosekilde, L. and F. Melsen, *A tetracycline-based histomorphometric evaluation of bone resorption and bone turnover in hyperthyroidism and hyperparathyroidism*. Acta Medica Scandinavica, 1978. **204**(1-6): p. 97-102.
157. Gennari, C. and B. Imbimbo, *Effects of prednisone and deflazacort on vertebral bone mass*. Calcified tissue international, 1985. **37**(6): p. 592-593.
158. Lukert, B.P. and L.G. Raisz, *Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathogenesis and management*. Annals of internal medicine, 1990. **112**(5): p. 352-364.
159. Cohen, S., et al., *Risedronate therapy prevents corticosteroid-induced bone loss: a twelve-month, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study*. Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology, 1999. **42**(11): p. 2309-2318.
160. Reid, D.M., et al., *Efficacy and safety of daily risedronate in the treatment of corticosteroid-induced osteoporosis in men and women: a randomized trial*. Journal of Bone and Mineral Research, 2000. **15**(6): p. 1006-1013.
161. FELDMAN, D., et al., *Cytoplasmic glucocorticoid binding proteins in bone cells*. Endocrinology, 1975. **96**(1): p. 29-36.
162. Abu, E.O., et al., *The localization of the functional glucocorticoid receptor α in human bone*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2000. **85**(2): p. 883-889.

163. Khosla, S., *Minireview: The opg/rankl/rank system*. Endocrinology, 2001. **142**(12): p. 5050-5055.
164. MacADAMS, M.R., R.H. White, and B.E. Chipps, *Reduction of serum testosterone levels during chronic glucocorticoid therapy*. Annals of internal medicine, 1986. **104**(5): p. 648-651.
165. Crilly, R., et al., *Hormonal status in normal, osteoporotic and corticosteroid-treated postmenopausal women*. Journal of the Royal Society of Medicine, 1978. **71**(10): p. 733-736.
166. Weinstein, R.S., et al., *Promotion of osteoclast survival and antagonism of bisphosphonate-induced osteoclast apoptosis by glucocorticoids*. The Journal of clinical investigation, 2002. **109**(8): p. 1041-1048.
167. Odell, W.D., *Testosterone treatment of men treated with glucocorticoids*. Archives of internal medicine, 1996. **156**(11): p. 1133-1134.
168. HAHN, T.J., L.R. HALSTEAD, and D.T. BARAN, *Effects of short term glucocorticoid administration on intestinal calcium absorption and circulating vitamin D metabolite concentrations in man*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 1981. **52**(1): p. 111-115.
169. Wajchenberg, B.L., et al., *Effect of dexamethasone on calcium metabolism and ⁴⁷Ca kinetics in normal subjects*. Acta endocrinologica, 1969. **61**(1): p. 173-192.
170. Huybers, S., et al., *Prednisolone-induced Ca²⁺ malabsorption is caused by diminished expression of the epithelial Ca²⁺ channel TRPV6*. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 2007. **292**(1): p. G92-G97.
171. Nielsen, H., et al., *The effects of high-dose glucocorticoid administration on serum bone gamma carboxyglutamic acid-containing protein, serum alkaline phosphatase and vitamin D metabolites in normal subjects*. Bone and mineral, 1988. **4**(1): p. 105-113.
172. Suzuki, Y., et al., *Importance of increased urinary calcium excretion in the development of secondary hyperparathyroidism of patients under glucocorticoid therapy*. Metabolism-Clinical and Experimental, 1983. **32**(2): p. 151-156.
173. Lee, M.S., et al., *Non-traumatic osteonecrosis of the femoral head-from clinical to bench*. Chang Gung Med J, 2010. **33**(4): p. 351-360.
174. Rajpura, A., A.C. Wright, and T.N. Board, *Medical management of osteonecrosis of the hip: a review*. Hip International, 2011. **21**(4): p. 385-392.

175. Mont, M.A., L.C. Jones, and D.S. Hungerford, *Nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: ten years later*. JBJS, 2006. **88**(5): p. 1117-1132.
176. Moya-Angeler, J., et al., *Current concepts on osteonecrosis of the femoral head*. World journal of orthopedics, 2015. **6**(8): p. 590.
177. Mankin, H.J., *Nontraumatic necrosis of bone (osteonecrosis)*. New England Journal of Medicine, 1992. **326**(22): p. 1473-1479.
178. Mont, M.A., et al., *Risk factors for osteonecrosis in systemic lupus erythematosus*. The Journal of rheumatology, 1997. **24**(4): p. 654-662.
179. Shah, K.N., et al., *Pathophysiology and risk factors for osteonecrosis*. Current reviews in musculoskeletal medicine, 2015. **8**(3): p. 201-209.
180. Mont, M.A. and D.S. Hungerford, *Current concepts review. Non-traumatic avascular necrosis of the femoral head*. JBJS, 1995. **77**(3): p. 459-474.
181. Chang, C.C., A. Greenspan, and M.E. Gershwin. *Osteonecrosis: current perspectives on pathogenesis and treatment*. in *Seminars in arthritis and rheumatism*. 1993. Elsevier.
182. Shigemura, T., et al., *Incidence of osteonecrosis associated with corticosteroid therapy among different underlying diseases: prospective MRI study*. Rheumatology, 2011. **50**(11): p. 2023-2028.
183. Jones, J.J., *Fat embolism and osteonecrosis*. The Orthopedic Clinics of North America, 1985. **16**(4): p. 595-633.
184. SoLoMoN, L., *Idiopathic necrosis of the femoral head: pathogenesis and treatment*. Canadian journal of surgery. Journal canadien de chirurgie, 1981. **24**(6): p. 573-578.
185. Nishimura, T., et al., *Histopathologic study of veins in steroid treated rabbits*. Clinical orthopaedics and related research, 1997(334): p. 37-42.
186. Vreden, S., et al., *Aseptic bone necrosis in patients on glucocorticoid replacement therapy*. The Netherlands journal of medicine, 1991. **39**(3-4): p. 153-157.
187. Abeles, M., J.D. Urman, and N.F. Rothfield, *Aseptic necrosis of bone in systemic lupus erythematosus: relationship to corticosteroid therapy*. Archives of Internal Medicine, 1978. **138**(5): p. 750-754.
188. Dilisio, M.F., *Osteonecrosis following short-term, low-dose oral corticosteroids: a population-based study of 24 million patients*. Orthopedics, 2014. **37**(7): p. e631-e636.

189. Zizic, T.M., et al., *Corticosteroid therapy associated with ischemic necrosis of bone in systemic lupus erythematosus*. The American journal of medicine, 1985. **79**(5): p. 596-604.
190. Matsuo, K., et al., *Influence of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status on idiopathic osteonecrosis of the femoral head*. Clinical orthopaedics and related research, 1988(234): p. 115-123.
191. Fukushima, W., et al., *Nationwide epidemiologic survey of idiopathic osteonecrosis of the femoral head*. Clinical Orthopaedics and Related Research®, 2010. **468**(10): p. 2715-2724.
192. Shigemura, T., et al., *The incidence of alcohol-associated osteonecrosis of the knee is lower than the incidence of steroid-associated osteonecrosis of the knee: an MRI study*. Rheumatology, 2011. **51**(4): p. 701-706.
193. Dimant, J., et al., *Computer analysis of factors influencing the appearance of aseptic necrosis in patients with SLE*. The Journal of rheumatology, 1978. **5**(2): p. 136-141.
194. Sugano, N., et al., *Prognostication of osteonecrosis of the femoral head in patients with systemic lupus erythematosus by magnetic resonance imaging*. Clinical orthopaedics and related research, 1994(305): p. 190-199.
195. Aranow, C., et al., *Clinically occult avascular necrosis of the hip in systemic lupus erythematosus*. The Journal of rheumatology, 1997. **24**(12): p. 2318-2322.
196. Asherson, R., et al., *Avascular necrosis of bone and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus*. The Journal of rheumatology, 1993. **20**(2): p. 284-288.
197. Mok, M., V. Farewell, and D. Isenberg, *Risk factors for avascular necrosis of bone in patients with systemic lupus erythematosus: is there a role for antiphospholipid antibodies?* Annals of the rheumatic diseases, 2000. **59**(6): p. 462-467.
198. Phemister, D.B., *Treatment of the necrotic head of the femur in adults*. JBJS, 1949. **31**(1): p. 55-66.
199. Milner, P.F., et al., *Sickle cell disease as a cause of osteonecrosis of the femoral head*. New England Journal of Medicine, 1991. **325**(21): p. 1476-1481.
200. Hhawker, H., et al., *Haematological factors associated with avascular necrosis of the femoral head in homozygous sickle cell disease*. British journal of haematology, 1982. **50**(1): p. 29-34.
201. Goldblatt, J., S. Sacks, and P. Beighton, *The orthopedic aspects of Gaucher disease*. Clinical orthopaedics and related research, 1978(137): p. 208-214.

202. Jones, G., *Dysbaric osteonecrosis (caisson disease of bone): are active oxygen species and the endocrine system responsible, and can control of the production of free radicals and their reaction products confer protection?* Free radical research communications, 1987. **4**(3): p. 139-147.
203. Kunstreich, M., et al., *Osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia.* Haematologica, 2016. **101**(11): p. 1295-1305.
204. Ibels, L.S., et al., *Aseptic necrosis of bone following renal transplantation: experience in 194 transplant recipients and review of the literature.* Medicine, 1978. **57**(1): p. 25-46.
205. Weisinger, J.R., et al., *Bone disease after renal transplantation.* Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 2006. **1**(6): p. 1300-1313.
206. Tauchmanová, L., et al., *Avascular necrosis in long-term survivors after allogeneic or autologous stem cell transplantation: A single center experience and a review.* Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society, 2003. **97**(10): p. 2453-2461.
207. Schulte, C.M. and D.W. Beelen, *Avascular osteonecrosis after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation: diagnosis and gender matter.* Transplantation, 2004. **78**(7): p. 1055-1063.
208. Mont, M.A., et al., *The natural history of untreated asymptomatic osteonecrosis of the femoral head: a systematic literature review.* JBJS, 2010. **92**(12): p. 2165-2170.
209. Jones, L.C. and M.A. Mont, *Osteonecrosis (avascular necrosis of bone).* UpToDate (www.uptodate.com), 2012.
210. Dumont, M., S. Danais, and R. Taillefer, *"Doughnut" sign in avascular necrosis of the bone.* Clinical nuclear medicine, 1984. **9**(1): p. 44.
211. Mont, M.A., et al., *Bone scanning of limited value for diagnosis of symptomatic oligofocal and multifocal osteonecrosis.* The Journal of rheumatology, 2008. **35**(8): p. 1629-1634.
212. Mont, M.A., J.J. Carbone, and A.C. Fairbank, *Core decompression versus nonoperative management for osteonecrosis of the hip.* Clinical Orthopaedics and Related Research®, 1996. **324**: p. 169-178.
213. Guerra, J.J. and M.E. Steinberg, *Distinguishing transient osteoporosis from avascular necrosis of the hip.* J Bone Joint Surg Am, 1995. **77**(4): p. 616-24.

214. Nagasawa, K., et al., *Imaging study on the mode of development and changes in avascular necrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus: long-term observations*. Rheumatology, 1994. **33**(4): p. 343-347.
215. Hungerford, D.S. and L.C. Jones, *Asymptomatic osteonecrosis: should it be treated?* Clinical Orthopaedics and Related Research®, 2004. **429**: p. 124-130.
216. Etienne, G., M.A. Mont, and P.S. Ragland, *The diagnosis and treatment of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head*. Instructional course lectures, 2004. **53**: p. 67-85.
217. Amanatullah, D.F., E.J. Strauss, and P.E. Di Cesare, *Current management options for osteonecrosis of the femoral head: part 1, diagnosis and nonoperative management*. Am J Orthop (Belle Mead NJ), 2011. **40**(9): p. E186-92.
218. Steinberg, M.E., et al., *Does lesion size affect the outcome in avascular necrosis?* Clinical orthopaedics and related research, 1999(367): p. 262-271.
219. Stulberg, B.N., et al., *Uncemented total hip arthroplasty in osteonecrosis: a 2-to 10-year evaluation*. Clinical orthopaedics and related research, 1997(334): p. 116-123.
220. Gardeniers, J., A. Gosling-Gardeniers, and W. Rijnen, *The ARCO staging system: generation and evolution since 1991*, in *Osteonecrosis*. 2014, Springer. p. 215-218.
221. Jones, L.C., et al., *Procoagulants and osteonecrosis*. The Journal of rheumatology, 2003. **30**(4): p. 783-791.
222. Pritchett, J.W., *Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids*. Clinical Orthopaedics and Related Research®, 2001. **386**: p. 173-178.
223. Glueck, C.J., et al., *Anticoagulant therapy for osteonecrosis associated with heritable hypofibrinolysis and thrombophilia*. Expert opinion on investigational drugs, 2001. **10**(7): p. 1309-1316.
224. Gupta, S., et al., *Bisphosphonates related osteonecrosis of the jaw*. National journal of maxillofacial surgery, 2013. **4**(2): p. 151.
225. Claßen, T., et al., *Long-term clinical results after iloprost treatment for bone marrow edema and avascular necrosis*. Orthopedic reviews, 2016. **8**(1).
226. Nagasawa, K., et al., *Prevention of steroid-induced osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus by anti-coagulant*. Lupus, 2006. **15**(6): p. 354-357.
227. Glueck, C.J., et al., *Enoxaparin prevents progression of stages I and II osteonecrosis of the hip*. Clinical Orthopaedics and Related Research (1976-2007), 2005. **435**: p. 164-170.

228. Wang, C.-J., et al., *Treatment for osteonecrosis of the femoral head: comparison of extracorporeal shock waves with core decompression and bone-grafting*. JBJS, 2005. **87**(11): p. 2380-2387.
229. Wang, C.-J., et al., *Dosage effects of extracorporeal shockwave therapy in early hip necrosis*. International journal of surgery, 2016. **35**: p. 179-186.
230. Stulberg, B.N., et al., *Osteonecrosis of the femoral head. A prospective randomized treatment protocol*. Clinical orthopaedics and related research, 1991(268): p. 140-151.
231. Urbaniak, J.R., et al., *Treatment of osteonecrosis of the femoral head with free vascularized fibular grafting. A long-term follow-up study of one hundred and three hips*. JBJS, 1995. **77**(5): p. 681-694.
232. Keizer, S., et al., *Treatment of avascular necrosis of the hip by a non-vascularised cortical graft*. The Journal of bone and joint surgery. British volume, 2006. **88**(4): p. 460-466.
233. Seyler, T.M., et al., *Nonvascularized bone grafting defers joint arthroplasty in hip osteonecrosis*. Clinical orthopaedics and related research, 2008. **466**(5): p. 1125-1132.
234. Gangji, V., et al., *Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow cells: a pilot study*. JBJS, 2004. **86**(6): p. 1153-1160.
235. Hernigou, P. and F. Beaujean, *Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting*. Clinical Orthopaedics and Related Research®, 2002. **405**: p. 14-23.
236. Hernigou, P., et al., *Stem cell therapy for the treatment of hip osteonecrosis: a 30-year review of progress*. Clinics in orthopedic surgery, 2016. **8**(1): p. 1-8.
237. Saito, S., et al., *Long-term results of total hip arthroplasty for osteonecrosis of the femoral head. A comparison with osteoarthritis*. Clinical orthopaedics and related research, 1989(244): p. 198-207.
238. Ritter, M.A. and J.B. Meding, *A comparison of osteonecrosis and osteoarthritis patients following total hip arthroplasty. A long-term follow-up study*. Clinical orthopaedics and related research, 1986(206): p. 139-146.
239. Kone, B.C. and C. Baylis, *Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney*. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 1997. **272**(5): p. F561-F578.
240. Lane, P. and S.S. Gross. *Cell signaling by nitric oxide*. in *Seminars in nephrology*. 1999.

241. Radomski, M.W., R. Palmer, and S. Moncada, *The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide*. British journal of pharmacology, 1987. **92**(3): p. 639-646.
242. Loveridge, N., et al., *Patterns of osteocytic endothelial nitric oxide synthase expression in the femoral neck cortex: differences between cases of intracapsular hip fracture and controls*. Bone, 2002. **30**(6): p. 866-871.
243. Fox, S. and J. Chow, *Nitric oxide synthase expression in bone cells*. Bone, 1998. **23**(1): p. 1-6.
244. Glueck, C.J., et al., *Association between the T-786C eNOS polymorphism and idiopathic osteonecrosis of the head of the femur*. JBJS, 2007. **89**(11): p. 2460-2468.
245. Azarpira, N., et al., *Endothelial nitric oxide synthase gene T-786C polymorphism in renal transplant recipients*. International journal of organ transplantation medicine, 2011. **2**(2): p. 87.
246. Hedri, H., et al. *Avascular osteonecrosis after renal transplantation*. in *Transplantation proceedings*. 2007. Elsevier.
247. Kerachian, M.A., C. Séguin, and E.J. Harvey, *Glucocorticoids in osteonecrosis of the femoral head: a new understanding of the mechanisms of action*. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, 2009. **114**(3-5): p. 121-128.
248. Refaie, A.F., et al., *Avascular bone necrosis of the femoral head after renal transplantation: Is it avoidable?* African Journal of Nephrology, 2010. **14**(1): p. 35-39.
249. Bhandari, S. and J. Eris, *Premature osteonecrosis and sirolimus treatment in renal transplantation*. Bmj, 2001. **323**(7314): p. 665.
250. Kuroda, T., et al., *High triglyceride is a risk factor for silent osteonecrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus*. Clinical rheumatology, 2015. **34**(12): p. 2071-2077.
251. Schachtner, T., N.M. Otto, and P. Reinke, *Cyclosporine use and male gender are independent determinants of avascular necrosis after kidney transplantation: a cohort study*. Nephrology Dialysis Transplantation, 2018.
252. Weinstein, R.S., *Glucocorticoid-induced osteonecrosis*. Endocrine, 2012. **41**(2): p. 183-190.
253. Heaf, J.G., *Bone disease after renal transplantation*. Transplantation, 2003. **75**(3): p. 315-325.

254. Weinstein, R.S., R.W. Nicholas, and S.C. Manolagas, *Apoptosis of osteocytes in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the hip*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2000. **85**(8): p. 2907-2912.
255. Bozkaya, G., et al. *Impact of calcineurin inhibitors on bone metabolism in primary kidney transplant patients*. in *Transplantation proceedings*. 2008. Elsevier.
256. Moreira, R.O., et al., *Cyclosporine A, but not tacrolimus, is associated with impaired proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells in vitro*. Medical Science Monitor, 2009. **15**(3): p. BR65-BR70.
257. Wada, C., et al., *High-turnover osteoporosis is induced by cyclosporin A in rats*. Journal of bone and mineral metabolism, 2006. **24**(3): p. 199-205.
258. Inoue, T., et al., *Lesser reduction in bone mineral density by the immunosuppressant, FK506, compared with cyclosporine in rats*. Transplantation, 2000. **70**(5): p. 774-779.
259. Julian, B.A., et al., *Rapid loss of vertebral mineral density after renal transplantation*. New England Journal of Medicine, 1991. **325**(8): p. 544-550.
260. Koo, K.H., et al., *Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in patients with nontraumatic femoral head osteonecrosis*. Journal of orthopaedic research, 2006. **24**(8): p. 1722-1728.