

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

164955

**BÖBREK TRANSPLANTASYONU YAPILAN HASTALARDA
TROMBOFİLİ GEN MUTASYONLARI VE AVASKÜLER NEKROZ
İLİŞKİSİ**

Dr. Yakup EKMEKÇİ

**NEFROLOJİ BİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Kenan KEVEN

ANKARA

2005

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emeği geçen, değerli yardım ve katkıları ile beni yönlendiren ve birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum hocalarım Nefroloji Bilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Oktay KARATAN, Nefroloji Bilim Dalı öğretim üyeleri Prof.Dr. Bülent ERBAY, Prof.Dr. Neval DUMAN, Prof.Dr. Kenan ATEŞ, Prof.Dr. Şehsuvar ERTÜRK ve Doç.Dr. Gökhan NERGİZOĞLU'na, tez konusunun seçiminden yazım aşamasına kadar her adımda yardım ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç.Dr. Kenan KEVEN'e, laboratuvar çalışmaları sırasında her konuda fikrini aldığım ve karşılaşılan problemlerde desteğini daima hissettiğim Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nejat AKAR ve Pediatrik Moleküler Patoloji ve Genetik Bilim Dalı Laboratuvar'ından Uzman Biyolog Yonca EĞİM'e, birlikte çalıştığımız dönemdeki desteklerinden dolayı Uz.Dr. Şule ŞENGÜL, Uz.Dr. Sim KUTLAY, Uz.Dr. Başol CANBAKAN ve Uz.Dr. İhsan ERGÜN'e, tez çalışması sırasındaki yardımları nedeni ile Nefroloji Bilim Dalı'nın tüm çalışanlarına ve vefakar hastalarımıza, hayatım boyunca hep yanımda olan fedakar aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Dr.Yakup EKMEKÇİ

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. Trombofili	4
2.2. Faktör V Leiden	5
2.3. Protrombin gen G20210A mutasyonu	6
3.GEREÇ VE YÖNTEM	7
3.1.Çalışma grubunun belirlenmesi	7
3.2.Genetik analiz	8
3.3.İstatistiksel değerlendirmeler	8
3.4.Etik kurul onayı	8
4.BULGULAR	9
4.1.İmmünoşüpresif tedavi ve avasküler nekroz ilişkisi	11
4.2.Faktör V Leiden ve protrombin gen mutasyonu avasküler nekroz ilişkisi	12
5.TARTIŞMA	14
6.SONUÇ	21
ÖZET	22
SUMMARY	24
KAYNAKLAR	26

1.GİRİŞ

Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda başlıca iki temel tedavi seçeneği mevcut olup, bunlar diyaliz (hemodiyaliz veya kalıcı periton diyalizi) ve renal transplantasyondur. Renal transplantasyon, halen tüm dünyada ideal tedavi seçeneği olarak kabul edilmektedir. Transplant hastalarının morbidite ve mortalite oranları diyaliz hastalarına göre daha düşüktür. Ayrıca maliyet açısından da belirgin avantaja sahiptir. Ancak her ne kadar renal transplantasyon daha iyi bir tedavi seçeneği olarak gözükse de, transplantasyon sonrasında ortaya çıkabilen komplikasyonlar bu avantajları ortadan kaldırmaktadır. Bu problemlerin en önemlilerinden birisi de avasküler nekrozdur.

Avasküler nekroz, transplantasyon hastalarında nadiren ortaya çıkabilen ancak geliştiğinde yaşam kalitesini önemli derecede bozan bir komplikasyondur. Bunun yanında tedavi ve takibe uyumu bozmakta, hastanede yatış süresini uzatmakta, maliyeti arttırmakta ve önemli oranda morbiditeye neden olmaktadır. Avasküler nekroz, sıklıkla femur başında ortaya çıkmakta ve etyolojisinde femur başını besleyen kapiller dolaşımında gelişen trombotik olaylar suçlanmaktadır.

Son dönemde yapılan çalışmalarda, avasküler nekroz etyopatogenezinde artmış koagülasyon eğilimi, diğer ileri sürülen risk faktörlerine ek olarak (steroid kullanımı, siklosporin kullanımı, vitamin D gen polimorfizmi, hiperparatiroidi) önemle üzerinde durulan bir konu olmuştur. İnsanlarda koagülasyon eğilimini arttırdığı gösterilen çeşitli genetik trombofilik risk faktörleri vardır. Bu risk faktörleri arasında önemli yer tutan iki tanesi ise, faktör V G1691A (Faktör V Leiden) mutasyonu ve protrombin G20210A mutasyonudur. Çeşitli olgu gruplarında avasküler nekroz ile bu iki gen mutasyonu arasındaki olası ilişkiyi irdeleyen çalışmalar olmakla birlikte, renal transplantasyon hastalarında henüz böyle bir araştırma, literatürde mevcut değildir. Biz de yürüttüğümüz bu çalışmada, renal transplantasyon hastalarında avasküler nekroz gelişiminde diğer risk faktörü olabilecek parametrelerle birlikte bu mutasyonların bir rolünün olup olamayacağını değerlendirmeyi amaçladık.

Bu çalışmanın ışığı altında, avasküler nekroza eğilim yaratabilecek risk faktörlerinin önceden bilinmesi, bazı önleyici tedavi yaklaşımlarını da beraberinde getirebilecektir. Eğer koagülasyona eğilim yaratan mutasyonlar avasküler nekroz için risk faktörü olarak ortaya çıkarsa, bu hastalar için renal transplant öncesinde önleyici yaklaşımlar söz konusu olabilecektir.

2.GENEL BİLGİLER

Renal transplantasyon son dönem böbrek yetmezliğinin en seçkin tedavisi olup, gerek yaşam süresini uzatmada, gerekse yaşam kalitesini arttırmada diğer renal replasman tedavisi seçeneklerinden daha üstündür. Ancak transplantasyon son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda tüm sorunların çözüm noktası olmayıp, birçok sorunuda beraberinde getirebilmektedir. Greft fonksiyonları normal olsa bile, daha önce mevcut olan kemik-mineral metabolizması bozuklukları devam edebilmekte ve ayrıca yeni ortaya çıkabilen iskelet ve kas sistemindeki bazı yapı ve fonksiyon bozuklukları morbidite ve mortalite üzerine önemli ölçüde etkili olabilmektedir. Bu problemlerin en önemlilerinden birisi de avasküler nekrozdur. Avasküler nekrozu olan transplantasyon hastalarında, hastanede yatış süresi uzamakta, tedaviye uyum bozulabilmekte ve bu da önemli sorunları beraberinde getirmektedir.

Avasküler nekroz; değişik yayınlarda aseptik nekroz, osteonekroz, iskemik kemik nekrozu, Legg-Calve-Perthes hastalığı ve osteokondritis dissekans olarak da adlandırılan bir iskelet sistemi hastalığı olup, ilk olarak 1934 yılında Phemister ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (1). Daha sonra 1950 yılında Boland ve arkadaşları uzun süre kortikosteroid tedavisi alan bir romatoid artrit olgusunda bu patolojiyi tespit ederek, günümüze kadar devam edecek olan “avasküler nekrozda kortikosteroidlerin rolü” tartışmasını başlatmışlardır (2). Renal transplantasyon hastalarında ilk avasküler nekroz olgusu ise 1964 yılında Starzl ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (3).

Etyolojik açıdan değerlendirildiğinde, avasküler nekroz primer (idiopatik) ve sekonder olarak başlıca iki gruba ayrılmaktadır. Primer avasküler nekroz olguların %15-20'sini oluşturmakta olup nedeni bilinmeyen hastalık grubunu ifade eder. Sekonder avasküler nekrozda ise bu patolojiye neden olduğu öne sürülen bazı risk faktörleri (travma, sistemik lupus eritematosus, orak hücreli anemi, ilaç kullanımı, Gaucher's hastalığı, barotravma ve radyasyon) mevcuttur.

Avasküler nekroz, klinik olarak eklemlerde ağrı, hareket kısıtlılığı ve eklem deformitesi ile karakterli bir tablo olup, erişkin hastalarda en çok femur başında görülmektedir. Ayrıca femur kondilleri, distal tibia, humerus başı, proksimal radius, proksimal ulna ve metakarpalarda tutulabilen eklemler arasındadır (4). Çocuklarda ise en sık tutulan eklem femur kondilleridir. Genellikle iki veya daha fazla eklemden görülür.

Renal transplantasyon hastalarında avasküler nekroz, olguların %90'ında transplantasyon sonrası ilk üç yıl içinde görülmekte, altı aydan önce ve beş yıldan sonra

nadiren ortaya çıkmaktadır (4). Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji BD'ında 1995 yılında yapılan bir çalışmada ise bu oran %6,2 olarak belirlenmiştir (5). Rakamlardaki bu değişkenlik, tanı kriterleri ve izlem süresindeki farklılıklara bağlanmaktadır. Ancak günümüzde, birçok transplantasyon merkezinde yapılan çalışmalarda, görülme sıklığında azalma olduğu belirtilmektedir. Bununda kemik-mineral metabolizması bozukluklarındaki yeni tedavi yaklaşımları, diyalizdeki teknolojik ilerlemeler ve kortikosteroid ihtiyacını azaltan çeşitli immünosüpresiflerin kullanımına bağlı olduğu ileri sürülmektedir.

Avasküler nekrozun histopatolojisindeki temel bulgu, subkondral bölgede lokalize kartilaj kemik nekrozudur. İlginç olarak, tutulan kemik bölgesine komşu eklemdeki kıkırdak dokusu canlı kalmaktadır (6).

Tanıda, klinik bulguların yanı sıra, radyolojik görüntüleme yöntemleride önemli yer tutmaktadır. Klasik kemik grafilerinde en önemli bulgu subkondral demineralizasyon ve epifizlerde güve yeniği manzarasıdır. Ancak bu görüntüler klinik belirtilerden aylar sonra, geç dönemde ortaya çıkmaktadır. Tanıda kullanılan diğer yöntemler kemik sintigrafisi, bilgisayarlı tomografi ve kemik içi basınç ölçümleri ile intraosseoz venografidir (7). Ancak günümüzde manyetik rezonans görüntüleme temel tanı aracı olmuştur. Yapılan çalışmalarda biyopsi ile tanının kontrol edildiği olgularda, manyetik rezonans ile doğru tanı oranı %96 olarak saptanmıştır. Bilgisayarlı tomografi ve kemik sintigrafisinde ise bu oran %54 ile %71 arasında değişmektedir (8).

Tedavide; özellikle tanının erken konulduğu olgularda, eklem 4-6 ay süre ile immobilizasyonu önerilmektedir. Ayrıca erken tanı alan bu tür olgularda, antikoagülan tedavinin olumlu katkıları olduğu belirtilmektedir (9). Ancak hastaların çoğu, tanı konulduğu dönemde, medikal tedavi şanslarını kaybetmiş durumdadırlar. Bu durumda total eklem protezinin etkili ve güvenilir bir tedavi seçeneği olduğu belirtilmektedir (10).

Avasküler nekrozun alkolizm, sistemik lupus eritematosus, hemoglobinopatiler, metabolik ve hormonal anomaliler (cushing sendromu, gut hastalığı), kortikosteroid ve immünosüpresif kullanımı, transplantasyon hastaları gibi birçok klinik tablo ve ilaç kullanımı ile birliktelik göstermesi, etyolojisinin multifaktöryel olduğu fikrini desteklemektedir (11). Renal transplantasyon hastalarında hangi faktörlerin avasküler nekroza neden olduğu veya hangi faktörlerin yatkınlığa yol açtığı, hala tam olarak bilinmemektedir. Bu faktörler tablo 2.1'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Renal transplantasyon hastalarında avasküler nekroz risk faktörleri.

Bu faktörlerle ilgili çok sayıda çalışma yapılmış olmasına karşın, halen net bir fikir birliği sağlanamamıştır. Etyolojisi ve risk faktörlerindeki bu bilinmezlikler nedeni ile avasküler nekroz, renal transplantasyon hastalarında halen önemli bir problem olarak devam etmektedir.

Avasküler nekroz etyolojisi konusundaki çelişkili yayınlar, bilinen nedenler dışında ve onlardan bağımsız olarak, bazı genetik faktörlerin de bu patolojide rol oynayabileceği fikrini akla getirmektedir. Günümüzde kabul edilen ortak görüş, birçok genetik unsurun burada rol oynadığı ve bunların çevresel faktörlerle etkileşim içinde olduğudur.

2.1.Trombofili

Trombofili, kan koagülasyon veya fibrinoliz sisteminde, kongenital veya sonradan ortaya çıkan bozukluklar sonrası, tromboz gelişimine yatkınlık olarak ifade edilebilir. Trombofiliye yol açan edinsel faktörler arasında immobilizasyon, cerrahi girişimler, travmalar, dolaşan antikoagülanlar (lupus antikoagülanı) ve maligniteler sayılabilir.

Trombofili terimi ilk olarak 1956 yılında Jordan ve Nandorff tarafından, 43 kişilik bir ailede yaygın tromboembolik olayların gösterilmesi sonrası kullanılmaya başlandı (12). 1965 yılında Egeberg ve arkadaşları antitrombin III (AT III) eksikliği olan ve trombotik eğilimi olan ilk aileyi tanımladı (13). Daha sonra yapılan çalışmalarla, serolojik olarak kanda gösterilebilen ve trombofilik olduğu kabul edilen çok sayıda faktör tespit edildi (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Trombofiliye yol açtığı serolojik olarak gösterilebilen bazı faktörler

- Protein C eksikliği
- Protein S eksikliği
- Antitrombin III eksikliği (AT III)
- Yüksek homosistein düzeyi
- Dolaşan antikoagülanlar (lupus antikoagülanı, antikardiyolipin antikorları)
- Aktive protein C direnci

1994 yılından itibaren koagülasyon sisteminde görevli bulunan faktörler ile ilgili yapılan genetik çalışmalarda ise, mevcudiyetlerinin trombofiliye yol açtığı gösterilen bazı mutasyonlar ve genetik polimorfizmler tespit edildi. Bu polimorfizm ve mutasyonların başlıcaları şunlardır;

- Protrombin gen G20210A mutasyonu
- Faktör V G1691A mutasyonu (faktör V Leiden)
- Metiltetrahidrofolatredüktaz (MTHFR) C677T polimorfizmi
- Plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) 4G/5G ve 4G/4G polimorfizmi

Bizim çalışmamızdaki olgu gruplarında protrombin gen ve faktör V Leiden mutasyonları değerlendirilmiştir.

2.2. Faktör V G1691A mutasyonu (Faktör V Leiden):

Fizyolojik pıhtılaşma kaskadı içerisinde, trombin-trombomodülün kompleksi endotelial yüzeye bağlandığı zaman protein C'yi aktive eder. Aktive protein C (APC), kofaktörü olan protein S ile birlikte faktör Va ve faktör VIIIa'yı inaktive ederek pıhtılaşma sürecinin kontrolsüz devamını engeller. Bazı insanlarda faktör V geninin 1691 no'lu loküsünde guanin yerine adenin gelmiştir. Bu anormal genetik yapıdaki faktör V, faktör V Leiden olarak adlandırılır ve aktive protein C bu faktöre sağlıklı bir şekilde bağlanamaz. Başka bir ifade ile aktive protein C'ye direnç mevcuttur. Dolayısıyla bu genetik mutasyonu taşıyan bireylerin pıhtılaşma sistemlerinin kontrolünde bir eksiklik ortaya çıkar.

2.3. Protrombin Gen G20210A mutasyonu:

Protrombini kodlayan genin 20210 lokusunda, guanin yerine adenin gelmesi sonucu, protrombinin yıkımında bir defekt oluşur ve protrombin düzeyi artar. Bu da koagülasyon eğiliminde artış ile kendisini gösterir.

Yapılan çok sayıda çalışmada rakamlar bazı değişiklikler göstermekle birlikte, sağlıklı populasyonda faktör V Leiden'in prevalansı %2-5, protrombin gen mutasyonunun prevalansı ise %2-3 arasında değişmektedir. Gerek faktör V Leiden, gerekse protrombin gen G20210A mutasyonunu taşıyan bireylerde venöz tromboz eğiliminin arttığını gösteren çok sayıda çalışma vardır (14,15,16,17,18).

Avasküler nekroz etyolojisinde rol oynadığı düşünülen en önemli faktörlerden biriside artmış koagülasyon eğilimidir. Buradaki temel öngörü, trombofilik ve koagülasyon eğilimi artmış hastalarda, kemik dokudaki venöz drenajın fibrin tıkaçlarıyla engellenmesidir. Venöz drenajın bozulması intramedullar venöz hipertansiyona, bu da arteriyal perfüzyonda azalma ve iskemiye yol açmaktadır. Hayvan modellerinde, femur başının venöz drenajı bozularak femur başı avasküler nekrozu oluşturulabilmiştir (19). Avasküler nekrozlu hastaların kemik biyopsi incelemelerinin tamamında, az veya çok venöz staz, sinüzoidal dilatasyon, eritrosit agregatları ve fibrin tıkaçları gösterilebilmiştir (20,21,22). Trombofili-avasküler nekroz ilişkisini güçlendiren bir önemli bulguda, avasküler nekrozlu hastalarda erken dönemde verilen antikoagülan (heparin veya oral antikoagülan) tedavinin, hastalık progresyonunu durdurması ve protez gerektiren cerrahi girişim ihtiyacını azaltmasıdır (23,24,25,26,27,28).

Normal populasyonda avasküler nekroz-trombofili ilişkisini gösteren çok sayıda çalışma olmasına karşın, renal transplantasyon hastalarında bu ilişkiyi gösteren bir araştırma halen literatürde mevcut değildir. Transplantasyon hastalarında önemli bir morbidite nedeni olan avasküler nekrozda, yatınlığa yol açabilecek genetik bir takım risk faktörlerinin önceden bilinmesi, erken uygulanabilecek bazı önleyici tedavi yaklaşımlarını gündeme getirmesi nedeni ile oldukça önem kazanmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma grubunun belirlenmesi:

Çalışmaya, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı Transplantasyon Polikliniği takibi altında olan ve 1993-2004 yılları arasında böbrek nakli yapılan 243 hasta içerisinde avasküler nekroz tanısı alan toplam 19 renal transplantasyon hastası dahil edildi. Avasküler nekroz tanısında klinik bulgular ve radyolojik görüntüleme yöntemleri (direk grafi, manyetik rezonans) temel alındı. Ardından, herbir avasküler nekroz hastasının transplantasyon tarihinden bir önce ve bir sonra transplantasyon yapılmış olgulardan oluşan toplam 38 kişilik kontrol grubu oluşturuldu. Araştırmaya katılan tüm hastalar bilgilendirilerek onay formları alındı. Avasküler nekrozlu renal transplant hastaları, transplantasyon tarihi ile avasküler nekroz tanı tarihi arasındaki süre içerisinde, aşağıda belirtilen parametreler ile değerlendirildi. Kontrol grubu olguları ise, kendilerine karşılık gelen herbir avasküler nekroz hastasının izlem süresi ile eş zamanlı olarak, belirlenen parametreler aracılığı ile değerlendirildi.

Değerlendirme ve izlemde kullanılan parametreler:

- Yaş ve cinsiyet
- Böbrek yetmezliğinin etyolojisi
- Diyaliz süresi ve tipi
- Greft böbreğin kaynağı (canlı veya kadavra)
- Missmatch sayısı
- Posttransplant hospitalizasyon süresi
- Transplantasyon sonrası ilk 3 ay süresince alınan total steroid ve siklosporin dozu (mg/kg)
- İzlem süresince alınan total steroid ve siklosporin dozu (mg/kg)
- Takrolimus kullanımı
- Akut rejeksiyon ve uygulanan pulse steroid sayısı
- Ko-morbid durumlar (hipertansiyon, diyabetes mellitus)
- Biyokimyasal parametreler (0., 1., 3., 6., 12. ay ve ardından yıllık ölçümler)
(Serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz, kreatinin, hematokrit, trigliserit, kolesterol düzeyi ve trombosit sayısı).

3.2. Genetik analiz

Genomik DNA, EDTA' lı tüpe alınmış 10 ml periferik kandan fenol-kloroform yöntemi ile ekstrakte edildi. Daha sonra DNA örneklerinden polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerçekleştirildi. Uygun primerler kullanılarak elde edilen PCR ürünü, MnII ve HindIII enzimleri ile kesildi ve Faktör V G1691A ile Protrombin gen G20210A mutasyonları saptandı.

Primer dizilimi:

Protrombin gen: PRT(F) 5'TCT AGA AAC AGT TGC CTG GC-3'

PRT(R) 5'-ATA GCA CTG GGA GCA TTG AAG C-3'

Faktör V Leiden: FVL(F) 5'-TCA GGC AGG AAC AAC ACC AT-3'

FVL(R) 5'-GGT TAC TTC AAG GAC AAA ATA CCT GTA AAG CT-3'

3.3. İstatistiksel değerlendirmeler

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS 11.5 versiyon paket programı kullanılarak yapıldı. Çalışmada kullanılan değişkenler ortalama \pm standart sapma şeklinde tanımlandı. Değişkenler arasındaki farklılıkların saptanması için student-t testi kullanıldı. Nominal değişkenler arası farklılıklar ise chi-square testi ile belirlendi. Avasküler nekrozun bağımsız değişkenlerini belirlemek için lojistik regresyon analizi kullanıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.4. Etik kurul:

Çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'na sunulmuş olup; 12.9.2005 tarih ve 76-1979 karar numarası ile onay almıştır.

4.BULGULAR

1993-2004 yılları arasında merkezimizde toplam 243 böbrek nakli yapılmış olup (Canlı: 201, kadavra: 42), 19 hastada avasküler nekroz gelişmiştir. Avasküler nekroz prevalansı %7.8 olarak tespit edildi. Çalışmaya alınan avasküler nekrozlu 19 hastanın yaş ortalaması $37,8 \pm 9,7$ yıl (24 -55 yıl) olarak saptandı. Transplantasyon ile avasküler nekroz tanı tarihi arasındaki süre ortalama olarak $20,6 \pm 12,9$ ay (6-60 ay) şeklinde tespit edildi. Bu olguların 3'ü kadın (%15,8), 16'sı erkek (%84,2) hasta olup, 3 hastada kadavra böbreği, 16 hastada ise canlı donör kullanılmıştı. Otuzsekiz kişiden oluşan kontrol grubunda ise yaş ortalaması $34,2 \pm 9,3$ yıl (17-55 yıl) olup, 6 (%15,8) kadın ve 32 (%84,2) erkek hastadan oluşuyordu. Bu hastaların 32'sinde canlı, 6'sında ise kadavra böbreği kullanılmıştı. Transplantasyon öncesi dönemde avasküler nekrozlu hastaların 18'i hemodiyaliz, 1'i kronik periton diyalizi programında iken, kontrol grubunda 31 hasta hemodiyaliz, 7 hasta periton diyalizi programında idi. Ortalama diyaliz süresi, avasküler nekrozlu hasta grubunda $18,2 \pm 20,0$ ay, kontrol grubunda ise $18,0 \pm 18,5$ ay olarak tespit edildi. Posttransplant izlem döneminde avasküler nekrozlu hastaların 11'inde hipertansiyon varken, sadece 1 hastada diyabetes mellitus mevcuttu. Kontrol grubunda ise 32 olguda hipertansiyon, 3 olguda diyabetes mellitus tanısı vardı. Her iki olgu grubu arasında belirttiğimiz parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi ($p > 0,05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 Çalışmada değerlendirilen olguların demografik özellikleri

	Avasküler nekroz (19)	Kontrol (38)	p
Yaş (yıl)	37.8±9.7	34.2±9.3	0.17
Cinsiyet (K/E)	3/16	6/32	0.63
Donör (kadavra/canlı)	3/16	6/32	0.63
Hemodiyaliz/periton diyalizi	18/1	31/7	0.17
Diyaliz süresi (ay)	18.2±20.0	18.0±18.5	0.96
Posttransplant izlem süresi (ay)	20.6±12.9	20.6±12.7	0.99

Gerek avasküler nekroz, gerekse kontrol grubu hastalarının önemli bir kısmında böbrek yetmezliğinin etyolojisi bilinmiyordu. Etiyolojisi saptanabilenler arasında ise, avasküler nekrozlu hasta grubunda en önemli böbrek yetmezliği nedeni kronik glomerulonefrit iken (4 hasta), kontrol grubunda kronik tubulointerstisyel nefrit (9 hasta) birinci sırayı alıyordu. İki hasta grubu arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 Hastalarımızda SDBY'nin etyolojik sebepleri

	Avasküler nekroz	Kontrol
	No(%)	No(%)
Kronik tubulointerstisyel nefrit	3(15.8)	9(23.7)
Kronik glomerulonefrit	4(21.1)	6(21.1)
Hereditör	1(5.3)	-
Amiloidoz	-	1(2.6)
Polikistik böbrek hastalığı	2(10.5)	1(2.6)
Bilinmiyor	9(47.4)	21(55.3)

Avasküler nekrozlu hasta grubunda ortalama kalsiyum düzeyi 9.3 ± 0.6 mg/dl, ortalama inorganik fosfor düzeyi 3.5 ± 0.6 mg/dl, ortalama kreatinin düzeyi 1.49 ± 0.51 mg/dl olarak saptandı. Belirttiğimiz biyokimyasal veriler açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi ($p>0.05$). Hematokrit düzeyi, trombosit sayısı ve lipit parametreleri açısından iki grup karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 4.3). Parathormon düzeyi, dosya kayıtlarında yeterli veri olmadığından değerlendirmeye alınamadı.

Avasküler nekrozlu hastaların 5'inde (%26.3) akut rejeksiyon atağı mevcutken, kontrol grubunda bu rakam 11 (%28.9) olarak tespit edildi. Yine avasküler nekrozlu hasta grubunda postransplant ortalama hospitalizasyon süresi 24.1 ± 9.9 gün iken, kontrol grubunda 25.6 ± 11.9 gündü. Mevcut parametreler açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi. Gruplar HLA uyumu açısından (ortalama mismatch sayısı) karşılaştırıldığında, yine anlamlı bir fark tespit edilemedi (Tablo 4.4).

Tablo 4.3 Çalışma hastalarında değerlendirmeye alınan biyokimyasal parametreler.

	Avasküler nekroz (19)	Kontrol (38)	p
Kalsiyum (mg/dl)	9.3±0.6	9.2±0.5	0.75
Fosfor (mg/dl)	3.5±0.6	3.8±1.1	0.74
Alkalin fosfataz (IU/L)	93.36±42.4	89.61±36.1	0.74
Kreatinin (mg/dl)	1.49±0.51	1.55±0.64	0.19
Hematokrit (%)	36.7±3.9	35.2±3.9	0.20
Trombosit sayısı (mm³)	219433±52680	245008±48217	0.10
Trigliserit (mg/dl)	194.8±72.4	185±68.7	0.65
Kolesterol (mg/dl)	208.8±35.2	199.8±29.1	0.36

Tablo 4.4 Olgu gruplarının akut rejeksiyon, posttransplant hospitalizasyon süresi ve HLA uyumu açısından karşılaştırılması.

	Avasküler nekroz (19)	Kontrol (38)	p
HLA uyumu (ortalama mismatch sayısı)	1.5±1.4	1.8±1.1	0.45
Akut rejeksiyon atağı geçiren hasta sayısı	5(%26.3)	11(%28.9)	0.51
Posttransplant ortalama hospitalizasyon süresi (gün)	24.1±9.9	25.6±11.9	0.65

4.1. İmmünoşüpresif tedavi-avasküler nekroz ilişkisi:

Avasküler nekroz grubunda 2, kontrol grubunda 6 hasta takrolimus kullanıyordu. Gerek takrolimus kullanan hasta sayısı, gerekse takrolimus dozu açısından iki grup arasında anlamlı fark görülmedi. Gruplar arasında uygulanan ortalama pulse steroid sayısı açısından da anlamlı fark mevcut değildi (AVN: 0.4±0.7; Kontrol: 0.2±0.6). Avasküler nekroz etyolojisinde suçlanan en önemli iki risk faktörü, kullanılan steroid dozu ve siklosporin (CsA) dozudur. Gerek posttransplant ilk 3 ay, gerekse izlem süresi boyunca alınan total steroid ve total CsA dozu (mg/kg) açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi (Tablo 4.5).

Tablo 4.5 Olgu gruplarının immünosupresif tedavi açısından karşılaştırılması.

	Avasküler nekroz (19)	Kontrol (38)	p
Pulse steroid sayısı	0.4±0.7	0.2±0.6	0.77
İlk 3 ay steroid dozu (mg/kg)	80.8±30.1	73.6±19.8	0.28
Total steroid dozu (mg/kg)	137.4±54.6	138.8±55.4	0.92
İlk 3 ay CsA dozu (mg/kg)	347.3±169.3	416.1±227.1	0.25
Total CsA dozu (mg/kg)	1461.7±1052.8	1755±997.6	0.31
Tacrolimus-hasta sayısı	2 (%10.5)	6 (%15.8)	0.70

4.2. Faktör V G1691A (Faktör V Leiden) ve Protrombin gen G20210A mutasyonu-avasküler nekroz ilişkisi:

Avasküler nekrozlu hasta grubunda 6 (%31.6), kontrol grubunda ise 3 (%7.9) hastada Faktör V Leiden mutasyonu tespit edildi. İki grup arasındaki bu fark, istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.04$). Protrombin gen mutasyonu açısından değerlendirildiğinde ise; avasküler nekroz grubunda 2 hastada (%10.5) mutasyon saptanırken, kontrol grubunda mutasyon tespit edilemedi. Bu açıdan iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi. Mevcut iki trombofilik gen mutasyonundan herhangi birisine (faktör V Leiden veya protrombin gen) sahip olan bireyler açısından karşılaştırma yapıldığında ise; avasküler nekroz grubunda 8 (%42.1) hastada trombofili gen mutasyonu saptanırken, kontrol grubunda bu rakam 3 (%7.9) olarak saptandı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.004$)(Tablo 4.6). Avasküler nekrozun bağımsız değişkenlerini belirlemek için lojistik regresyon analizi yapıldığında ve modele avasküler nekroz gelişimini etkileyecek faktörler alındığında, trombofili gen mutasyon varlığı avasküler nekroz gelişimi için tek bağımsız değişken olarak saptandı ($p=0.007$, 95% C.I=2.03-85.1).

Tablo 4.6 Trombofilik gen mutasyonu-avasküler nekroz ilişkisi

	Avasküler nekroz (19)	Kontrol (38)	p
	No(%)	No(%)	
Faktör V Leiden	6(31.6)	3(7.9)	0.04
Protrombin G20210A	2(10.5)	0	0.10
Faktör V Leiden veya Protrombin G20210A	8(42.1)	3(7.9)	0.004

5.TARTIŞMA

Avasküler nekroz renal transplantasyon hastalarında önemli bir morbidite nedenidir. Tanı çoğunlukla hastalığın ileri safhalarında konulabilmekte olup, olguların önemli bir kısmında cerrahi tedavi tek seçenek olarak kalmaktadır. Avasküler nekrozun erken tanısındaki zorluklar nedeni ile etyolojisinin ve buna bağlı olarak da risk faktörlerinin belirlenmesi oldukça önemli bir unsur teşkil etmektedir. Ancak etyoloji ve risk faktörlerinin halen net olarak ortaya konulamaması nedeniyle etkin bir önleyici tedavi ve yaklaşım bulunmamaktadır.

Kortikosteroidlerin avasküler nekrozda önemli bir risk faktörü olduğu uzun yıllar kabul görmüştür. Uzun süreli steroid tedavisinin kullanıldığı çeşitli durumlarda (otoimmün hastalıklar, transplantasyon vb.) avasküler nekrozun sık görülmesi bu görüşü desteklemektedir (6,29). Ancak kortikosteroidlerin hangi doz ve sürede bu patolojiye neden olduğu tartışmalı olup, sonuçlar çelişkilidir. Bizim çalışmamızda da steroid dozu ve kullanım süresi açısından avasküler nekrozlu olgular arasında önemli farklılıklar mevcuttu (Doz: min; 65 mg/kg-max; 209 mg/kg. Süre: min 6 ay-max: 60 ay). Bunun yanında steroidlerin avasküler nekrozda risk faktörü olmadığını belirten çalışmalarda mevcuttur (30). Her ne kadar kortikosteroid kullanımı avasküler nekroz gelişimi için bir risk faktörü olarak kabul edilse de, benzer doz kullanan hastaların bir kısmında avasküler nekroz gelişirken, bir kısmında gelişmemesinin nedeni net olarak ortaya konulamamaktadır. Bu nedenle kortikosteroidlerin, tam olarak belirlenemeyen bazı risk faktörlerine sahip olan bireylerde, avasküler nekroz geliştirme potansiyelini tetikledikleri ileri sürülmektedir. Steroidlerin; subkondral arteriollerde yağ embolizmi, hiperkoagülabilitate, kemik iliğindeki yağ hücrelerinde hipertrofi sonucu artmış kemik içi basıncı ve osteopeni-osteoporoz sonucu, yük taşıyan kemik bölgelerinde ortaya çıkan mikrofraktürler ve dolaşım bozukluğu ile avasküler nekroza neden olduğu ileri sürülmektedir.

Çeşitli hayvan deneylerinde, yüksek dozda steroid uygulamalarının, subkondral arteriollerde yağ embolizmine neden olduğu gösterilmiştir (7). Aynı bulgu insanlarda da gösterilmiş olup, Fisher ve ark'nın bir çalışmasında uzun süreli steroid tedavisi almış 20 avasküler nekrozlu hastanın 12'sinin kemik biyopsisinde, arteriollerde yağ embolizmi tespit edilmiştir (31). Ancak bunun gösterilemediği çalışmalarda mevcuttur (32). Patton ve ark'ı ise; avasküler nekroz gelişen renal transplantasyon hastalarının %44'ünde pretransplant osteopeni varlığı nedeni ile steroid-avasküler nekroz ilişkisi konusunda osteopeninin önemini vurgulamışlardır (33). Steroidlerin avasküler nekroz gelişiminde önemli bir risk faktörü

olduğu fikrinden yola çıkarak, düşük doz steroid kullanım rejimleri gündeme gelmiştir. Khwaja ve ark'nın çalışmasında, indüksiyon olarak thymoglobulin alan ve steroid tedavisi erken dönemde kesilen 349 renal transplantasyon hastası 3 yıl süre ile izlenmiştir. Takip döneminin sonunda sadece 9 hastada avasküler nekroz geliştiği görülmüştür (34). Düşük doz ve yüksek doz steroid rejimlerinin karşılaştırıldığı Asano ve ark'nın çalışmasında ise, düşük doz steroid tedavisi alan renal transplantasyon hastalarında, avasküler nekroz görülme sıklığının azaldığı tespit edilmiştir (35).

Kemik dokusundaki kan akımı, sert bir kanal içinde ilerleyen esnek ince bir tüp gibidir. Bu nedenle, Starling direnç kanunlarına göre, kanal içindeki her türlü basınç artışı, kan akımını azaltır ve sonuç olarak doku iskemisi gelişir (7). Yapılan birçok hayvan deneyinde, kortikosteroidlerin kemik içi basıncını arttırıcı etkisi gösterilebilmiştir (36). Ancak avasküler nekroz ile kortikosteroidlerin ilişkisini araştıran hayvan çalışmalarının hiçbirisinde deneysel olarak avasküler nekroz oluşturmak mümkün olamamıştır. Bu da steroidlerin iskelet sistemi üzerinde, bilinen etki mekanizmalarından farklı bir yol ile avasküler nekroza neden olduğunu düşündürmektedir.

Avasküler nekroz ile ilgili risk faktörlerini araştıran çalışmaların çoğunda yaş, cinsiyet ve transplantasyon öncesi diyaliz süresinin avasküler nekroz etyolojisinde rol oynamadığı belirtilmiştir (7,33,37). Bizim çalışmamızda da, bu saydığımız parametreler açısından, iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Transplantasyon hastalarında akut rejeksiyon gelişiminin avasküler nekroz için risk unsuru olduğunu belirten çok sayıda çalışma vardır (33,38). Bu çalışmalarda, akut rejeksiyon nedeni ile yüksek doz ve parenteral uygulanan kortikosteroidlerin, total doza çok etki etmese de, vücut sıvılarındaki steroid düzeylerinde ani yükselmelere neden olarak risk oluşturabileceği ileri sürülmektedir. Ancak bu tam olarak kanıtlanamamıştır. Avasküler nekrozda hiperkoagülabilité ve trombofilinin rolünden daha önce söz etmiştik. Bu iki faktörün akut rejeksiyon (özellikle vasküler rejeksiyon) etyopatogenezinde de rol oynadığı öne sürülmektedir. Böbrek hastalarında trombofili; venöz tromboz, mikrovasküler oklüzyon veya akut rejeksiyon şeklinde manifest hale geçerek greft kaybına neden olur. Akut vasküler rejeksiyonda vasküler yapılarda mikrotrombüs oluşumu, fibrin agregasyonu ve oklüziv glomerulitis önemli histopatolojik bulgulardır. Bunlar aynı zamanda hiperkoagülabilité ve trombofilininde önemli göstergeleridir. Trombofilik bireylerde artmış trombin, lenfosit aktivasyonunu ve dolayısıyla hücrel-hümorale immüniteyi uyarmaktadır. Ayrıca , trombin vasküler düz kas hücresi ve endotel hücresi içinde mitojendir. Heidenreich ve ark'nın çalışmasında, 195 renal transplantasyon hastasının faktör V G1691A ve protrombin gen

G20210A mutasyonları taranmış ve bu hastalar prospektif olarak izlenmiştir. İlk 90 gündeki akut rejeksiyon oranı, faktör V Leiden mutasyonlu hastalarda %68, protrombin gen G20210A mutasyonu olan hastalarda ise %67 olarak saptanmıştır. Bu oran, mutasyonsuz olgularda %35 olarak tespit edilmiştir (39). Benzer sonuçlar veren başka çalışmalarda mevcuttur (40,41). Bizim çalışmamızda, akut rejeksiyon açısından her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Daha yüksek olgu sayılı araştırmalar, avasküler nekroz-trombofili-akut rejeksiyon denklemini çözmede önemli yararlar sağlayacaktır.

Renal transplantasyon hastalarında steroid dışı immünosupresifler ile avasküler nekroz ilişkisi tartışmalıdır. Bu konuda üzerinde en çok durulan ve suçlanan grup, kalsinörinlerdir. Aslında siklosporin kullanıma girdikten sonra avasküler nekroz insidansının azaldığı genel olarak kabul gören bir fikirdir (42,43). Bunun en önemli nedeninin de, siklosporine bağlı olarak steroid ihtiyacındaki azalma olduğu belirtilmektedir. Takrolimusun kullanıma girmesi ile birlikte, bu iki ilacın karşılaştırıldığı çalışmalar yayınlanmaya başlamıştır. Bazı araştırmalar, takrolimus ile kıyaslandığında CsA kullanımının daha riskli olduğunu belirtirken (44,45); diğer araştırmalar siklosporine ait böyle bir risk artışının olmadığını belirtmişlerdir (46,47). İmmünosupresif ilaç türü ile avasküler nekroz riski arasındaki ilişkiyi gösteren en önemli çalışmalardan biriside, Abbott ve ark'ı tarafından USRDS (U.S. Renal Data System) verileri kullanılarak yapılan ve 27.772 renal transplant hastasını kapsayan araştırmadır (48). Bu araştırmada CsA alanlarda avasküler nekroz oranı %2.9, takrolimus alanlarda ise %1.4 olarak saptanmıştır. Ayrıca, CsA alan hastalarda sirolimus kullanımının avasküler nekroz riskini daha da arttırdığı görülürken, takrolimus alan olgularda böyle bir etki görülmemiştir. Yine mevcut araştırmada, kadın cinsiyet, SLE, periton diyalizi ve birden fazla transplantasyon risk faktörü olarak saptanmıştır. Ancak bu çalışmanın en önemli eksikliği, kümülatif steroid dozunun dikkate alınmamasıdır. Benzer bir çalışma 2003 yılında Sakai ve ark'ı tarafından yapılmıştır (44). Burada da CsA ile takrolimus karşılaştırılmış ve CsA alanlarda avasküler nekroz riskinin arttığı belirtilmiştir. Ancak bu araştırmada, CsA grubunda akut rejeksiyon ve bağlantılı olarak total steroid dozunun yüksek olması eleştirilmiştir. Benzer sonuçlar veren başka çalışmalarda vardır (49). Sakai'nin çalışmasında yaş, cinsiyet, diyaliz süresi ve tipi, mismatch sayısı ve primer hastalığın avasküler nekroz için risk faktörü olmadığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu parametreler açısından her iki hasta grubu arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. CsA'nın hangi mekanizma ile avasküler nekroz riskini arttırdığı tam olarak bilinmemektedir. Ancak artmış koagülasyon eğiliminin önemli rolü olduğu düşünülmektedir (50,51). CsA ve sirolimusun trombotik mikroanjyopati oluşumunu arttırdığı, çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (52,53). CsA ve sirolimusun hiperlipidemi

eğilimini arttırmasında önemli bir noktadır (54,55). Hiperlipideminin avasküler nekroz için bir risk olabileceği daha önceki çalışmalarla gösterilmiştir (56). Steroid kullanımı da hiperlipidemi yapabilir ve hiperlipideminin, kemikte kan akımını azaltan fibrin trombüsleri ve yağ embolilerine neden olduğu gösterilmiştir (57). Bu fikirden yola çıkarak planlanan ve steroid kullanan hastalarda statin tedavisinin avasküler nekroz riskini azalttığını ifade eden çalışmalar vardır (58). Bizim çalışmamızda posttransplant ilk 3 ay ve total steroid ve CsA dozları her iki hasta grubunda benzerdi. Ayrıca lipit profili açısından da anlamlı bir farklılık mevcut değildi.

Avasküler nekrozda suçlanan bir diğer risk faktörü ise greft disfonksiyonudur. Brazil ve ark'nın çalışmasında, posttransplant 3. ve 12. aylardaki kreatinin düzeyleri avasküler nekrozlu hastalarda daha yüksek bulunmuştur (10). Yukarıda bahsedilen Abbott ve ark'ına ait çalışmada ise greft disfonksiyonu risk faktörü olarak tespit edilmemiştir (48).

Serum kalsiyum ve fosfor düzeyleri açısından ise oldukça çelişkili yayınlar vardır. Potter ve ark'nın çalışmasında avasküler nekrozlu transplant hastalarında, fosfor düzeyleri daha düşük saptanmıştır (59). Ancak bunu doğrulamayan çalışmalarda vardır (30). Bunun yanında posttransplant hiperkalseminin avasküler nekroz için faktörü olduğunu belirten araştırmalarda varolmakla birlikte (60); bu fikirde çok fazla destek bulmamıştır. Hiperkalseminin önemini vurgulayan çalışmaların çoğunda parathormon düzeyinin yüksekliğide vurgulanmaktadır. Bizim çalışmamızda, veriler yeterli olmadığından parathormon düzeyi ile ilgili değerlendirme yapılamadı. Serum kalsiyum ve fosfor düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, bizim araştırmamızda olgu grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Avasküler nekroz etyolojisinde, yukarıda bahsettiğimiz risk faktörleri (steroid ve kalsinörin kullanımı, greft disfonksiyonu, kalsiyum, fosfor ve parathormon düzeyi) üzerinde en çok durulan parametrelerdir. Bunun yanında, üzerinde çalışılmış daha çok sayıda risk faktörü vardır. Bazı araştırmacılar, kadavra böbreği kullanılarak yapılan transplantasyonlarda avasküler nekrozun daha fazla görüldüğünü belirtirken (61), çoğu araştırmacı bunun önemli olmadığını belirtmektedir (10,62). Bazı yayınlarda pretransplant diyaliz türü ve süresi suçlanırken, diğer araştırmalarda bu parametrelerin risk teşkil etmediği belirtilmektedir (48,63). Diğer taraftan az sayıda araştırmacı, avasküler nekrozlu transplant hastalarında alkalin fosfataz düzeyinin daha yüksek olduğunu belirtirken (64), geniş olgu sayılı diğer araştırmalar bunu doğrulamamıştır (48). Bizim araştırmamızda, saydığımız bu parametreler açısından (greft kaynağı, diyaliz türü ve süresi, alkalin fosfataz düzeyi), hasta grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Son 50 yıldır avasküler nekrozun etyolojisi konusunda yapılmış çok sayıda çalışmaya rağmen, halen günümüzde net bir fikir birliği sağlanamamıştır. Bu nedenle, bilinen klasik risk faktörleri dışında, olası bazı nedenler üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Genetik faktörler (örn: vitamin D reseptör gen polimorfizmi) bunlardan birisidir (65).

Avasküler nekrozlu hastaların kemik biyopsi preparatlarında, vasküler yatakta, eritrosit agregatları ve fibrin tıkaçlarının saptanması, etyolojide artmış trombofili eğilimini gündeme getirmiştir (20,21,22). Trombofili ile avasküler nekroz ilişkisini gösteren çok sayıda çalışma vardır. Bu çalışmaların çoğu çocuk yaş grubunda yapılmıştır. Ayrıca orak hücreli anemi ve çeşitli nedenlerle steroid tedavisi alan hasta gruplarında da yapılmış araştırmalar vardır. Trombofili eğilimi, bu çalışmaların çoğunda serolojik yöntemlerle (protein C ve S düzeyi, antitrombin III düzeyi, lupus antikoagülanı ve antikardiyolipin antikor düzeyi, homosistein düzeyi) belirlenmiştir. Son 10 yılda, trombofiliye eğilim yarattığı gösterilen bazı genetik mutasyonların (faktör V Leiden, protrombin gen G20210A) saptanması ile birlikte, çalışmalar bu yöne kaymıştır. Çeşitli hasta gruplarında, avasküler nekroz ile genetik trombofili ilişkisini gösteren çalışmalar yapılmıştır. Ancak transplantasyon hastalarında, bu türde bir çalışma halen mevcut değildir.

Avasküler nekroz ile genetik trombofili ilişkisini gösteren en önemli ve geniş olgu sayılı çalışmalardan birisi 2004 yılında Balasa ve ark'ı tarafından yapılmıştır (66). 72 avasküler nekrozlu hasta ve 197 kişilik kontrol grubundan oluşan bu araştırmada, hasta grubunda faktör V Leiden mutasyonu %11 oranında görülürken, kontrol grubunda bu oran %4 olarak saptanmıştır (p=0.023). Protrombin gen mutasyonu açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (avasküler nekroz: %4 , kontrol: %4). Benzer bir sonuç Arruda ve ark'nın çalışmasında da saptanmıştır. 61 avasküler nekrozlu olguda faktör V Leiden görülme oranı %4.9 olarak tespit edilmiştir (kontrol: %0.7). Bu çalışmada da protrombin gen mutasyonu açısından iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Glueck ve ark'i, 46 avasküler nekrozlu hastanın %50'inde, serolojik testlerle trombofili eğilimi (aktive protein C direnci, düşük protein C düzeyi) saptadılar (67). Ancak bu çalışma, çok yüksek bulunan "%50" rakamı ve kontrol grubunun azlığı (30 hasta) nedeni ile eleştiri almıştır. Eldridge ve ark'ı avasküler nekrozlu hastalarda protein C ve S düzeylerini düşük bulmuşlardır (68). Yılmaz ve ark'ı tarafından Ege Tıp Fakültesi Pediatri Kliniğinde yapılan çalışmada ise avasküler nekrozlu hastalarda, protein C ve antitrombin III düzeyleri düşük, aktive protein C direnci ise yüksek bulunmuştur (69). Başka bir araştırmada ise, genetik ve serolojik trombofilik parametreler açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamakla birlikte,

faktör V Leiden mutasyonunu homozigot olarak taşıyan bireylerde, avasküler nekroz seyri daha agresif bir süreç izlemiştir (70).

Trombofilinin avasküler nekroz için risk faktörü olmadığını ileri süren çalışmalarda mevcuttur. Gallistl ve ark'ı, protein C direnci, protein C-S ve antitrombin III düzeyleri açısından değerlendirdikleri avasküler nekrozlu hastalarda anlamlı bir sonuç alamamışlardır (71). 139 avasküler nekrozlu hastanın değerlendirildiği başka bir çalışmada ise; trombofili göstergesi olarak aktive protein C direnci, protein C, protein S ve antitrombin III düzeyini içeren serolojik parametreler kullanılmış ve gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (72). Protein C ve S düzeyi ile faktör V Leiden ve protrombin gen mutasyonlarının değerlendirildiği Hayek ve ark'na ait çalışmada, saydığımız parametreler açısından hasta ile kontrol grubu arasında belirgin bir fark tespit edilmemiştir (73). Benzer sonuçlar veren başka çalışmalarda mevcuttur (74,75).

Avasküler nekroz etyolojisinde trombofilinin olası rolünü ileri süren çalışmaların ışığı altında, bu hastalarda antikoagülan tedavilerin kullanımı gündeme gelmiştir. Glueck ve ark'ı 36 avasküler nekrozlu olguya 12 hafta süre ile düşük molekül ağırlıklı heparin vermiş ve takip etmiştir. Heparin tedavisi alan özellikle erken evre hastalarda, progresyonda yavaşlama ve total kalça protezi ihtiyacında azalma tespit edilmiştir (23). Benzer sonuçlar veren başka çalışmalarda mevcuttur (28).

Renal transplantasyon hastalarında önemli bir morbidite nedeni olan avasküler nekrozun etyopatogeneziyle ilgili tartışmalar günümüzde halen devam etmektedir. Aynı medikal tedaviyi alan ve benzer klasik risk faktörlerine sahip transplantasyon hastalarının, sadece bir bölümünde bu problemin ortaya çıkması, bilinen risk faktörleri dışında bazı etkenlerin burada rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Genetik yatkınlık bu soruların cevabı olabilir. Belki de; avasküler nekroz için yatkınlık yaratan bazı genetik özellikleri taşıyan bireyler, belirli çevresel faktörlerin ve hastalıkların etkisiyle (steroid veya alkol kullanımı, orak hücreli anemi), bu problemle karşılaşmaktadır.

Trombofili, avasküler nekroz oluşumunda rol oynadığı düşünülen risk faktörlerinden birisi olup, renal transplantasyon hastalarında avasküler nekroz ile ilişkisini gösteren bir çalışma mevcut değildir. Bizde yaptığımız çalışmada bu ilişkiyi göstermeyi hedefledik. Araştırmamızın sonucunda, faktör V G1691A mutasyonu ve herhangi bir trombofilik gen mutasyonu varlığı ile avasküler nekroz gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptadık. Çalışmamızda eksik sayılacak noktalardan birisi olgu sayısının azlığı olup, renal transplantasyon hastalarında yapılmış daha geniş vaka sayılı çalışmalar, avasküler nekroz-trombofili ilişkisini ortaya koymada oldukça yararlı olacaktır. Bunun yanında, avasküler

nekroz için risk faktörleri arasında sayılan parathormon düzeyi ve osteopeni varlığı, bizim çalışmamızda, değerlendirilen parametreler arasında değildi. Ayrıca trombofilinin serolojik göstergeleri olan protein C-S ve antitrombin III düzeyleri ile aktive protein C direnci çalışmamızda değerlendirilmemiş olup, son on yılda üzerinde daha çok durulan genetik trombofilik mutasyonlar temel değişken olarak kabul edilmiştir. Eksikliklerine rağmen, literatürde bu türde bir çalışmanın olmaması, daha sonraki araştırmalara ışık tutmak açısından yararlı olacaktır. Avasküler nekroza eğilim yaratan genetik faktörlerin önceden bilinmesi, önleyici bazı yaklaşımları da beraberinde getirecektir. Örneğin; riskli transplantasyon hastalarında düşük doz steroid veya kalsinörin rejimleri tercih edilebilecek, yine bu tür hastalarda daha etkin doz antiagregan veya antikoagulan tedavi gündeme gelebilecektir.



6.SONUÇ

Çalışmamızda avasküler nekrozlu hastalar ile kontrol grubu arasında yaş, cinsiyet, donör türü, diyaliz türü, diyaliz süresi ve son dönem böbrek yetmezliği etyolojisi gibi demografik özellikler açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Değerlendirmeye alınan biyokimyasal parametreler açısından da (kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz, kreatinin, hematokrit, trombosit sayısı) her iki grup benzer özellikler taşıyordu. Avasküler nekroz için risk faktörü olduğu öne sürülen serum kolesterol ve trigliserit düzeylerinin ortalamaları karşılaştırıldığında, her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Grupları oluşturan transplantasyon hastalarının doku grubu uyumları benzer olup, önemli bir komplikasyon olan akut rejeksiyon açısından da anlamlı bir fark yoktu.

Steroid ve kalsinörin grubu ilaçlar avasküler nekroz için risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Çalışmaya dahil edilen tüm olguların posttransplant ilk 3 ay ve takip süresi boyunca aldığı total steroid ve CsA dozları “mg/kg” şeklinde belirlendi. Bu değişkenler açısından iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Trombofili gen mutasyonları açısından değerlendirildiğinde; faktör V Leiden, avasküler nekroz grubunda 6 (%31.6), kontrol grubunda ise 3 (%7.9) olguda saptandı. Her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.04$). Protrombin gen G20210A mutasyonu, avasküler nekroz grubunda 2 (%10.5) olguda görülürken, kontrol grubunda mevcut değildi. İki grup arasında bu mutasyon açısından anlamlı bir fark yoktu. Herhangi bir trombofilik gen mutasyonunu (faktör V Leiden veya protrombin gen G20210A) taşıyan bireyler açısından gruplar karşılaştırıldığında ise; trombofili gen mutasyonu, avasküler nekroz grubunda 8 (%42.1) hasta, kontrol grubunda ise 3 (%7.9) hastada müsbet saptandı. Bu parametre açısından her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0.007$. 95% C.I=2.03-85.1).

ÖZET

Böbrek Transplantasyonu Yapılan Hastalarda Trombofili Gen Mutasyonları ve Avasküler Nekroz İlişkisi

Avasküler nekroz renal transplantasyon hastalarında nadir görülen, ancak hastaları oldukça olumsuz şekilde etkileyen bir komplikasyondur. Etyopatogenezinde, kemiğin mikrovasküler yapısında oluşan tromboz ve ona bağlı dolaşım bozukluğu suçlansa da, total kortikosteroid dozu, kalsinörin inhibitörleri ve kemik metabolizmasındaki bozukluklarında neden olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, risk faktörlerinin belirlenmesi için patofizyolojik araştırmalara ihtiyaç vardır. Son dönemde, çeşitli hasta gruplarında (SLE, orak hücreli anemi) yapılan çalışmalarda, yeni bulunan trombofili gen mutasyon tiplerinin sıklığı ile avasküler nekroz arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Bizde bu çalışmalardan yola çıkarak, kendi avasküler nekrozlu transplantasyon hasta grubumuzda, protrombin gen G20210A mutasyonu ve faktör V G1691A mutasyonunun bir risk faktörü teşkil edip etmediğini göstermeyi hedefledik. Riskli olguların önceden tahmin edilebilmesi, bu hastalar için koruyucu önlemlerin alınabilmesini sağlayacaktır. Bu nedenle, kendi takibimizde olan renal transplantasyon hastaları içerisinde, avasküler nekrozu olan (19 hasta) ve olmayan (kontrol grubu-38 kişi) olguların trombofili gen mutasyonlarının tesbitine dayanan bu çalışmayı planladık. Çalışmaya alınan hastalar yaş, cinsiyet renal allogreft tipi (canlı veya kadavra), diyaliz tipi ve süresi, primer hastalık, laboratuvar parametreleri (kalsiyum, fosfor, alkalin fosfataz, hematokrit, trombosit sayısı, kolesterol ve trigliserit düzeyi), akut rejeksiyon varlığı, immunosupresif tedavi, kümülatif steroid ve siklosporin dozu gibi değişkenler açısından değerlendirildi. Saydığımız bu parametreler açısından iki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Genetik parametre olarak her iki hasta grubunda faktör V G1691A ve protrombin gen G20210A mutasyonu analiz edildi. Avasküler nekrozlu hasta grubunda 6 (%31.6), kontrol grubunda ise 3 (%7.9) hastada faktör V Leiden saptandı. Protrombin gen G20210A mutasyonu, avasküler nekroz grubunda 2 hastada saptanırken, kontrol grubunda hiçbir olguda tespit edilmedi. Çalışmaya dahil edilen hiçbir olguda homozigot mutasyon saptanmadı. Faktör V Leiden açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p=0.04$). Herhangi bir trombofilik gen mutasyonunu taşıyan (faktör V Leiden veya protrombin gen G20210A) bireyler açısından değerlendirildiğinde; avasküler nekrozlu

8(%42.1) olguda trombofili gen mutasyonu varken, kontrol grubunda bu rakam 3(%7.9) olarak saptandı. Bu değişken açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0.007$. 95% C.I=2.03-85.1).

Sonuç olarak; trombofili gen mutasyonu, avasküler nekrozlu transplant hastalarında, kontrol grubuna göre daha yüksek oranda saptandı. Bu nedenle, analiz ettiğimiz mutasyonların, avasküler nekroz etyolojisinde rol oynayabileceği düşünöldü. Ancak bu genetik defektin, tek başına avasküler nekroza yol açtığını söylemek, çok doğru değildir. Muhtemelen; genetik yatkınlığı olan bireylerde, araya giren diğer risk faktörleri bu patolojinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Avasküler nekrozlu olgularda, riskli bireylerin önceden tahmin edilebilmesi, koruyucu önlemlerin alınabilmesini de beraberinde getirecektir.

Anahtar Sözcükler: Renal transplantasyon, avasküler nekroz, faktör V Leiden, protrombin gene G20210A mutasyonu, trombofili.

SUMMARY

Thrombophilia Gene Mutations and Avascular Necrosis In Kidney Allograft Recipients

Avascular necrosis (AVN) of the femoral heads is a rare debilitating complication after kidney transplantation. Although, circulatory impairment of the bone secondary to thrombosis in the microcirculation has been suggested as a mechanism, total corticosteroid dose, calcineurin inhibitors and impaired bone metabolism have been found to be associated with AVN in kidney allograft recipients. Regarding these, more pathophysiological research are needed to clarify which patients are at risk and which of them are not. Recently, newly discovered thrombophilia gene mutations have been found to be associated with AVN in patients with various diseases such as SLE and sickle cell disease. In this respect, we aimed to study the frequency of the prothrombin gene G20210A mutation and Factor V Leiden G1691A mutation in our patients with AVN to evaluate whether these mutations can be causative factor for development of AVN in kidney allograft recipients. 19 patients with postrenal transplant avascular necrosis and 38 patients without avascular necrosis were selected. Clinical information was collected gender, age, type of renal allograft (living or cadaveric), duration and type of dialysis, primary reason for transplantation, laboratory parameters (calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, hematocrit value, platelets count, cholesterol and triglycerides level), presence of acute rejection, kind of immunosuppressant used after the renal transplantation and cumulative doses of cyclosporine and steroid administration. No significant difference was observed in these parameters between the patients who developed avascular necrosis and those who did not. A total of 19 patients with avascular necrosis and 38 patients without avascular necrosis were genotyped for the factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations. We found 6 (%31.6) heterozygote factor V Leiden mutations and 2 (%10.5) heterozygote prothrombin G20210A mutations in the patients with avascular necrosis. 2 factor V Leiden mutations were detected in control group and no prothrombin G20210A mutations was found in this group. No patients homozygous for either mutation were detected. Statistically significant difference was found in the factor V Leiden mutations between the patients with avascular necrosis and control ($p=0.04$). In the patients with avascular necrosis, 8 patients (%42.1) were identified as carriers of the factor V Leiden or prothrombin G20210A mutations (Control group: 2 (%7.9)). Statistically

significant difference was found in the patients who carrier of the any thrombophilic mutation between the patients with avascular necrosis and control ($p=0.004$).

In conclusion; thrombophilic gene mutations were more common in the patients with avascular necrosis than it was in the control. These mutations might play a certain role in the etiopathogenesis of avascular necrosis. But this genetic defect itself is not necessarily enough to cause the disease. These mutations seems to be merely a predisposing condition and certainly requires other precipitating factors to provoke the entite process.

Key Words: Kidney transplantation, avascular necrosis, factor V Leiden, prothrombine gene G20210A mutation, thrombophilia.



KAYNAKLAR

1. Pierides A.M, Simpson W, Sainsby D, Alvare F. Avascular necrosis of bone following renal transplantation. *Quarterly Journal of Medicine, New Series*, XLIV, 1975;175:459-80.
2. Boland EW, Headly NE. Management of rheumatoid arthritis with smaller (maintenance) doses of cortisone acetate. *JAMA* 1950; 144: 365-71.
3. Starzl PE, Marchioro TL, Porter KA, Moore CA. Renal homotransplantation. Late function and complication. *Annals of Internal Medicine* 1964; 61: 470-8.
4. Meakin CJ, Hopson CN, Roy First M. Avascular necrosis of bone following renal transplantation. *International Journal of Artificial Organs* 1985; 8(1): 19-20.
5. Ateş K, Ertürk Ş, Erbay B, Duman N, Kayataş M, Nergizoğlu G, Karatan O, Ertuğ AE. Böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda avasküler nekroz gelişimini etkileyen faktörler. 12. Ulusal Böbrek Hastalıkları, Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi. Abant, 1995.
6. Bruce AJ, Quarles LD, Kurt MW. Musculoskeletal complications after renal transplantation: Pathogenesis and treatment. *American Journal of Kidney Diseases* 1992; 19(2): 99-120.
7. Nixon JE. Early diagnosis and treatment of steroid induced avascular necrosis of bone. *British Medical Journal* 1984; 288: 741-44.
8. Oxford Textbook Of Clinical Nephrology. Second Edition, Vol: 3; 1726-28.
9. Glueck CJ, Freiberg R, Tracy T, Stroop D, Wang P. Thrombophilia and hypofibrinolysis. Pathophysiologies of osteonecrosis. *Clinical Orthopedics And Related Research* 1997; 334: 43-56.
10. Brazil M, Linderer RJ, Dickhans MJ, Garvin PJ. Aseptic hip necrosis after renal transplantation. *Archives Surgery* 1986; 121: 803-6.
11. Kenzora JE, Glimcher MJ. Accumulative cell stress: The multifactorial etiology of idiopathic osteonecrosis. *Orthopedics Clinics of North America* 1985; 16(4): 669-79.
12. Jordan FLJ, Nandorff A. The familial tendency in thromboembolic disease. *Acta Med Scand.* 1956; 156: 267-75.
13. Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. *Thrombosis Diathesis Haemorrhagica* 1965; 13: 516-30.
14. Koster T, Rosendaal FR, De Ronde H, Briet E. Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. *Lancet* 1993; 342: 1503-6.

15. Van Der Meer FJM, Koster T, Vandenbroucke JP, Briet E, Rosendaal FR. The Leiden thrombophilia study. *Thromb Haemost* 1997; 78: 631-5.
16. Martinelli I, Sacchi E, Landi G, Taioli G, Duca F, Manucci PM. High risk of cerebral-vein thrombosis in carriers of a prothrombin gene mutation and in users of oral contraceptives. *New England Journal of Medicine* 1998; 338: 1793-97.
17. De Bruijn SFTM, Stam J, Koopman MMW, Vandenbroucke JP. Case-control study of cerebral sinus thrombosis in oral contraceptive users who are carriers of hereditary prothrombotic conditions. *British Medical Journal* 1998; 316: 589-92.
18. Eichinger S, Minar E, Hirschl M, Bialonczyk C, Stain M, Mannhalter C. The risk of early recurrent venous thromboembolism after oral anticoagulant therapy in patients with the G20219A transition in the prothrombin gene. *Thromb Haemost* 1999; 81: 14-17.
19. Liu SL, Ho TC. The role of venous hypertension in the pathogenesis of Legg-Perthes disease. A clinical and experimental study. *Journal of Bone Joint Surgery (Am)* 1991; 73: 194-200.
20. Arruda VR, Belangero WD, Ozelo MC, Oliveira GB, Pagnano RG, Volpon JB, Bizzachi Jm. Inherited risk factor for thrombophilia among children with Legg-Calve-Perthes disease. *Journal of Pediatric Orthopedics* 1999; 19: 84-87.
21. Mankin JH. Nontraumatic necrosis of bone (osteonecrosis). *New England Journal of Medicine* 1992; 277: 1473-79.
22. Jones JP. Intravascular coagulation and osteonecrosis. *Clinical Orthopedics* 1992; 277: 41-54.
23. Glueck CJ, Freiberg R, Fontaine R, Tracy T, Wang P. Hypofibrinolysis, thrombophilia, osteonecrosis. *Clinical Orthopedics And Related Research* 2001; 386: 19-33.
24. Glueck CJ, Freiberg R, Gruppo R. Thrombophilia and hypofibrinolysis: Reversible pathogenetic etiologies of osteonecrosis in adults and children. *AOA International Symposium on Osteonecrosis: Etiology, diagnosis, and Treatment*. Rosemont, American Academy of Orthopedic Surgeons 1997; 105-110.
25. Glueck CJ, Freiberg R, Sieve-Smith L. Enoxaparin: A new therapy for osteonecrosis associated with heritable hypofibrinolysis and/or thrombophilia. *Journal Investigation of Medicine (abstract)*.
26. Glueck CJ, McMahon RE, Bouquot JE. A preliminary pilot study of treatment of thrombophilia and hypofibrinolysis and amelioration of the pain of osteonecrosis of the jaws. *Oral Surgery and Oral Medicine Oral Radiology Endodontics* 1998; 85: 64.

27. Glueck CJ, Wang P, Tracy T. Amelioration of osteonecrosis by treatment of thrombophilia and hypofibrinolysis. *Journal of Investigative Medicine*. 1999. 47; 190A(abstract).
28. Roy DR, Glueck CJ. Osteonecrosis medical management. *Journal of Rheumatology* 1999; 2: 260-1.
29. Kutlar A, Kutlar F, Türker İ, Tura C. The methylene tetrahydrofolate reductase (C677T) mutation a potential risk factor for avascular necrosis in sickle cell disease. *Hemoglobin* 2001; 25(2): 213-7.
30. Metsalaar HJ, Steenberge JP, Bijnen AB, Jeekel JJ. Incidence of osteonecrosis after renal transplantation. *Acta Orthopedic Scandinavian* 1985; 56; 413-15.
31. Fisher DE, Bickel WH. Corticosteroid induced avascular necrosis. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 1971; 53-A(5): 859-73.
32. Parfrey PS, Farge D, Parfrey NA, Hanley JA. The decreased incidence of aseptic necrosis in renal transplant recipients-A case control study. *Transplantation* 1986; 41(2): 182-87.
33. Patton PR, Plaff WW. Aseptic bone necrosis after renal transplantation. *Surgery* 1988; 103(1): 63-68.
34. Khwaja K, Asolati M, Harmon J. Outcome at 3 years with a prednisone-free maintenance regimen: a single-center experience with 349 kidney transplant recipients. *American Journal of Transplantation* 2004; 4: 980-7.
35. Asano T, Kenji A, Fujioka M, Inoue S, Ueshima K. Relationship between postrenal transplant osteonecrosis of the femoral head and gene polymorphisms related to the coagulation and fibrinolytic systems in Japanese subjects. *Transplantation* 2004; 77(2): 220-25.
36. Wang GJ, Sweet DE, Reger SI, Thompson RC. Fat cell changes as a mechanism of avascular necrosis of the femoral head in cortisone treated rabbits. *J Bone Joint Surg Am* 1977; 53: 729-35.
37. Bayley M, Cotoruello JG, De Francisco ALM, Canga E, Amado JA. The influence of immunosuppression on the aseptic bone necrosis after renal transplantation. *Transplantation Proceedings* 1991; 23(4): 2199-2000.
38. Chmell SJ, Schwartz CM, Giacchino JL. Total hip replacement in patients with renal transplantation. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 1971; 53A(2): 203-215.
39. Heidenreich S, Junker R, Wolters H, Lang D, Hensing S. Outcome of kidney transplantation with inherited thrombophilia: Data of a prospective study. *Journal of The American Society of Nephrology* 2003; 14: 234-239.

40. Heidenreich S, Dercken C, August C, Koch HG, Novak U. High rate of acute rejection in kidney allograft recipients with thrombophilic risk factors. *Journal of The American Society of Nephrology* 1998; 9: 1309-1313.
41. Fischereder M, Schneeberger H, Lohse P, Kramer BK. Increased rate of renal transplant failure in patients with the G20210A mutation of the prothrombin gene. *American Journal of Kidney Disease* 2000; 38: 1061-64.
42. Lausten GS, Jensen JS, Olgaard K. Necrosis of the femoral head after renal transplantation. *Acta Orthop Scand* 1988; 59: 650-54.
43. Lausten GS, Lemser T, Jensen PK, Egjford M. Necrosis of the femoral head after kidney transplantation. *Clinical Transplantation* 1998; 12: 572-74.
44. Sakai T, Sugano N, Kakado Y. Tacrolimus may be associated with lower osteonecrosis rates after renal transplantation *Clinical Orthopedics* 2003; 415: 163-170.
45. Reichert S, Trechot P, Barbaud A. Bilateral femoral avascular necrosis in a man with psoriasis: responsibility of topical steroid and role of cyclosporine. *Dermatology*. 2001; 203: 356-57.
46. Hayashi T, Saito N, Shoji T. Cyclosporin A monotherapy in nephrotic syndrome with contraindication of steroid therapy. *Internal Medicine* 1999; 38: 272-75.
47. Thang S, Chan TM, Lui SL. Risk factors for avascular bone necrosis after renal transplantation. *Transplantation Proceedings* 2000; 32: 1873-75.
48. Abbott K, Koff J, Bohlen E, Oglesby R, Lawrence YC, Lentine K, Schnitzler A. Maintenance immunosuppression use and the associated risk of avascular necrosis after kidney transplantation in the United States. *Transplantation* 2005; 79(3): 330-36.
49. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS. Antithrombotic effect of FK 506 versus prothrombotic effect of cyclosporine in vivo. *Transplantation* 1995; 63: 97-83.
50. Lee JS, Koo KH, Ha YC. Role of thrombotic and fibrinolytic disorders in osteonecrosis of the femoral head. *Clinical Orthopedics* 2003; 417: 270-76.
51. Van Veldhuizen PJ, Nefr J, Murphey MD. Decreased fibrinolytic potential in patients with idiopathic avascular necrosis and transient osteoporosis of the hip. *American Journal of Haematology* 1993; 44: 243-48.
52. Reynolds JC, Agodoa LY, Yuan CM. Thrombotic microangiopathy after renal transplantation in the United States 2003; 42: 1058-68.
53. Fortin MC, Raymond MA, Madore F. Increased risk of thrombotic microangiopathy in patients receiving a cyclosporin-sirolimus combination 2004; 4: 946-52.

54. Mathis AS, Dave N, Knipp GT. Drug related dyslipidemi after renal transplantation. *American Journal of Health System Pharmacology* 2004; 61: 565-85.
55. Tanabe K. Calcineurin inhibitors in renal transplantation: what is the best option? *Drugs* 2003; 63: 1535-48.
56. Moscal JT, Topping RE, Franklin LL. Hypercholesterolemia: an association with osteonecrosis of the femoral head. *American Journal of Orthopedia* 1997; 26: 609-12.
57. Boss JH, Misselevich I. Osteonecrosis of the femoral head of laboratory animals: the lessons learned from a comparative study of osteonecrosis in man and animals. *Vet Pathol* 2003; 40: 345-54.
58. Prichett JW. Statin therapy decreases the risk of osteonecrosis in patients receiving steroids. *Clinical Orthopedics* 2001; 386: 173-78.
59. Potter DE, Genant HK, Salvatierra O. Avascular necrosis of the bone after renal transplantation. *American Journal Of Children Diseases* 1978; 132: 1125-29.
60. Page CM, Hulme B, Papapoulos SE, Oriordan LH. Avascular necrosis of bone after renal transplantation: the role of paratyroid hormone and vitamin D. *British Medical Journal* 1978; 2: 664-5.
61. Meakin CJ, Hopson CN, First MR. Avascular necrosis of bone following renal transplantation. *The International Journal of Artificial Organs* 1985; 8(1): 19-20.
62. Nielsen HE, Melsen F, Christensen MS. Aseptic necrosis of bone following renal transplantation. *Acta Medical Scandinavian* 1997; 202: 27-32.
63. Elmstedt E. Avascular bone necrosis in the renal transplant patient. *Clinical Orthopedic Related Research* 1981; 158: 149-57.
64. Horton MA, Oliver RTD. Serum alkaline-phosphatase as predictor of avascular necrosis of bone in renal transplant recipient. *The Lancet* 1979; 294(7): 396-7.
65. Ekmekci Y, Erbay B, Karabulut HG, Ates K, Bökesoy I, Ertürk S. Relationship between vitamin D receptor genotype and avascular necrosis in kidney transplant patients. ERA-EDTA Congress, 2000 Nice. Abstract Book.
66. Balasa M, Gruppo R, Glueck J, Wang P, Roy D, Wall E. Legg-Calve-Perthes disease and thrombophilia. *Journal of Bone and Joint Surgery* 2004; 86-A(12): 2642-47.
67. Glueck CJ, Crawford A, Roy D. Association of antithrombotic factor deficiencies and hypofibrinolysis with Legg-Calve-Perthes disease. *Journal of Bone and Joint Surgery* 1996; 78-A: 3-13.

68. Eldridge J, Dilley A, Austin H, El-Jamil M, Wolstein L, Doris J, Hooper W, Meehan PL. The role of protein C and S deficiency, thrombophilia and hypofibrinolysis: Pathophysiologic causes of Legg-Calve-Perthes disease. *Pediatrics* 2001; 107: 1329-34.
69. Yılmaz D, Karapınar L, Karapınar B, Oztürk H, Kavaklı K. Evaluation of anticoagulant system in Turkish children with Perthes Disease. *Pediatric International* 2005; 47(1): 43-8.
70. Posan E, Szepesi K, Gaspar L, Csernatony Z, Ajzner E, Toth A, Udvardy M. Thrombotic and fibrinolytic alterations in the aseptic necrosis of femoral head. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 2003; 14: 243-48.
71. Gallistl S, Thomas R, Wolfgang L, Wolfgang M. The role of thrombotic disorders in the etiology of Legg-Calve-Perthes disease. *Journal of Pediatric Orthopedi* 1999; 19(1): 82-3.
72. Kealey C, Mayne E, McDonald W, Murray P, Cosgrove AP. The role of coagulation abnormalities in the development of Perthes disease. *Journal of Bone and Joint Surgery* 2000; 82-B: 744-6.
73. Hayek S, Kenet G, Lubetsky A, Rosenberg N, Gitel S, Wientroub S. Does thrombophilia play an aetiological role in Legg-Calve-Perthes disease? *Journal of Bone and Joint Surgery* 1999; 81-B(4): 686-90.
74. Hresko MT, McDougall PA, Gorlin JB, Vamvakas EC, Kasser JR, Neufeld EJ. Prospective reevaluation of the association between thrombotic diathesis and Legg-Calve-Perthes disease. *Journal of Bone and Joint Surgery* 2002; 84: 1613-8.
75. Schmitz A, Pfortner J, Protzel A, Harbrecht U. Incidence of thrombophilic factor V Leiden and prothrombin G20210A mutation in Perthes disease-a pilot study. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 2001; 139: 143-6(abstrakt).