



Steroid kullanımının femur başı avasküler nekrozu patogenezindeki yeri: Deneysel hayvan modeli

The effect of steroid use on the pathogenesis of avascular necrosis of the femoral head: an animal model

Halil BEKLER,¹ Ahmet Muhtar UYGUR,² Alper GÖKÇE,¹ Tahsin BEYZADEOĞLU¹

¹Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı;

²Mardin Devlet Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği

Amaç: Sağlıklı ve serum hastalığı oluşturulmuş sıçanların femur başlarında steroid tedavisinin etkileri araştırıldı.

Çalışma planı: Ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 30 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan eşit sayıda üç gruba ayrıldı. A grubundaki deneklere iki hafta arayla iki kez steril insan serumu (10 ml/kg) periton içine verilerek serum hastalığı oluşturuldu. Bunu izleyen iki haftadan sonra üç gün 40 ml/kg/gün metilprednisolon verildi. B grubundaki deneklere üç gün yalnızca 40 mg/kg/gün metilprednisolon verildi. C grubundaki (kontrol) sıçanlara A grubundaki işlemlerin aynısı yalnızca serum fizyolojik ile uygulandı. Her grupta işlem bitiminden iki hafta sonra deneklerin yaşamı sonlandırıldı ve femurlar çıkarıldı. Histolojik incelemeler için sol femurlarda aksiyel, sağ femurlarda sagittal kesitler hazırlandı. Işık mikroskopisi ile vaskülit, kanama ve hücre morfolojisindeki değişiklikler incelendi.

Sonuçlar: Histolojik incelemelerde, A grubu deneklerde kemik iliğinde belirgin bir azalma, nekroz alanları, yaygın kanama alanları, lakünalar ve küçük osteonekroz alanları izlendi. Vaskülit bulguları olarak arteriol duvarı düz kasında nekroz, tunika media tabakasında dejeneratif değişiklikler göze çarpmaktaydı. B grubunda daha çok kemik iliğine ait hücresel değişiklikler görüldü. Kemik trabeküllerinde osteonekroz bulgularına rastlanmadı. C grubunda intramedüller kanama dışında herhangi bir patolojiye rastlanmadı.

Çıkarımlar: Steroid kullanımı kemik nekrozunun ana nedeni olmamasına karşın, var olan etkenleri tetikleyerek femur başı avasküler nekroza yol açmaktadır.

Anahtar sözcükler: Femur başı nekrozu; osteonekroz; sıçan; steroid/yan etki.

Objectives: We investigated the effect of corticosteroid treatment on the femoral head of healthy and serum disease-induced rats.

Methods: Thirty Sprague-Dawley rats weighing 250-300 g were divided into three groups equal in number. In group A, serum disease was induced by two intraperitoneal injections of sterile human serum (10 ml/kg), interspersed with a two-week interval. The rats were then treated with methylprednisolone (40 mg/kg/day) for three consecutive days two weeks after the last injection. In group B, the animals received only methylprednisolone (40 mg/kg/day) for three days. In group C (controls), the same procedures were applied as those in group A, but with saline solution alone. All the rats were sacrificed two weeks after the last procedure. The left and right femora were sectioned axially and sagittally, respectively, to be examined under light microscopy with respect to vasculitis, hemorrhage in bone marrow, and changes in cell morphology.

Results: Histological examination showed decreased bone marrow, necrotic areas, diffuse hemorrhage, lacunae, and small areas of osteonecrosis in group A rats. Necrosis in the smooth muscle of the arteriole walls, and degenerative changes in the tunica media were suggestive of vasculitis. In group B, major findings were cellular differentiation of bone marrow, without findings of osteonecrosis in bone trabeculae. In the control group, no pathologic findings were observed other than intramedullary hemorrhage.

Conclusion: Even though it is not the main cause of bone necrosis, steroid administration increases the risk for avascular necrosis of the femoral head.

Key words: Femur head necrosis; osteonecrosis; rats; steroids/adverse effects.

Fremont A. Chandler femur başı enfarktüsü adını verdiği, ağrı, fonksiyon kaybı ve kemik kollapse ile seyreden bir semptomlar topluluğuna kemik avasküler nekrozu (FBAVN) vasküler desteğin kaybına bağlı bölgesel kemik dokusunun ölümü, nekrozu olarak tanımlanmaktadır. Travmatik femur başı osteonekrozları femur boynu kırıklarını ve travmatik kalça çıkıklarını takiben görülmektedir. Travmatik olmayan femur başı avasküler nekrozları daha çok genç yaş grubunda ve sıklıkla çift taraflıdır. Bu gruptaki hastalar kötü prognozları ile tedavi planlamasında sorun olmaya devam etmektedirler. Femur başı avasküler nekrozu oluşumuna yol açan birçok hastalık bildirilmiş ve çok sayıda teori üzerinde durulmuştur. Kortikosteroid kullanımı, alkol, hemoglobi-nopatiler, disbarizm, depo hastalıkları FBAVN'ye yol açarlar. Bunlar arasında steroid kullanımının neden olduğu osteonekroz önemli bir grubu oluşturur. Sinir yaralanmaları, replantasyonlar ve bağ dokusu hastalıklarında steroid yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu hastalıklarda farklı FBAVN yüzdesi ile karşılaşılması steroidlerin de her zaman aynı mekanizmayla etkemediğini ortaya koymaktadır. Yağ embolilerinin kemik içi arteriollerde birikerek tıkanmaya yol açabileceği, pıhtılaşma bozuklukları veya kompartman sendromuna benzer kemik içi basınç artışı ile avasküler nekroz oluşumuna neden olabileceği üzerinde en çok durulan teoriler olmuştur. Karaciğer yağlanması, yüksek doz steroid kullanımının veya endojen lipoproteinlerin stabilizasyonunun yağ embolilerinin kaynağını oluşturduğu iddia edilmiştir.^[1] Wang ve ark.^[2] steroid tedavisi sonucunda yağ hücrelerinin şekil ve hacimlerinde artış olduğunu göstermiştir. Daha sonraki çalışmalarda da yağ miktarında artışın tıkanmaların sorumlusu olduğu üzerinde durulmuştur. Steroidlerin kemik iliğine, kemik dokuya ve remodelasyon üzerine etkileri halen tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Deneysel model olarak kullanılan hayvan modellerinin genelde dört ayaklı olması kalça biyomekaniğinin hastalığa etki-

lerinin tam olarak ortaya konulamamasına neden olmaktadır.

Bu çalışmada hastalık olmadan steroid tedavisi ile serum hastalığı modelinde steroid tedavisinin FBAVN'ye etkileri, kontrol grubu da dahil edilerek araştırıldı. Histolojik incelemelerle de steroidin yol açtığı yapısal değişikliklerin femur başı üzerine etkileri ortaya kondu.

Gereç ve yöntem

Çalışmada ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 30 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Denekler biri kontrol olmak üzere eşit sayıda üç gruba ayrıldı. A grubundaki 10 adet sıçana iki hafta arayla 10 ml/kg steril insan serumu periton içine verildi. Bunu takip eden iki haftadan sonra üç gün 40 ml/kg/gün metil prednisolon verildi. B grubundaki sıçanlara üç gün yalnızca 40 mg/kg/gün prednisolon verildi. C grubundaki (kontrol) sıçanlara A grubundaki işlemler yalnızca serum fizyolojik ile uygulandı; iki hafta arayla periton içine verilen 10 ml/kg serum fizyolojisi takiben üç gün 40 mg/kg/gün serum fizyolojik uygulandı. Her grupta işlem bitiminden iki hafta sonra deneklerin yaşamı sonlandırıldı.

Deney bitiminden sonra sıçanların femur başları alınarak %10'luk formalin ile tespit edildi. Sağ femurlar yüzde beşlik formik asit, sol femurlar ise trikloasetik asit ile dekalsifiye edildi. Histolojik yöntemlerle takibe alınan numunelerden sağ femur uzunlamasına sol femur ise enlemesine parafine yatırıldı. Elde edilen beş mikrometre parafin kesitlerden hemotoksilen eosin, safranin-fast green ve trikrom Masson ile boyama yapıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

Sonuçlar

Deneklerin femur başlarında makroskopik ve mikroskopik olarak herhangi bir deformite ve kol-

Tablo 1. Histolojik değişikliklerin gruplara göre dağılımı

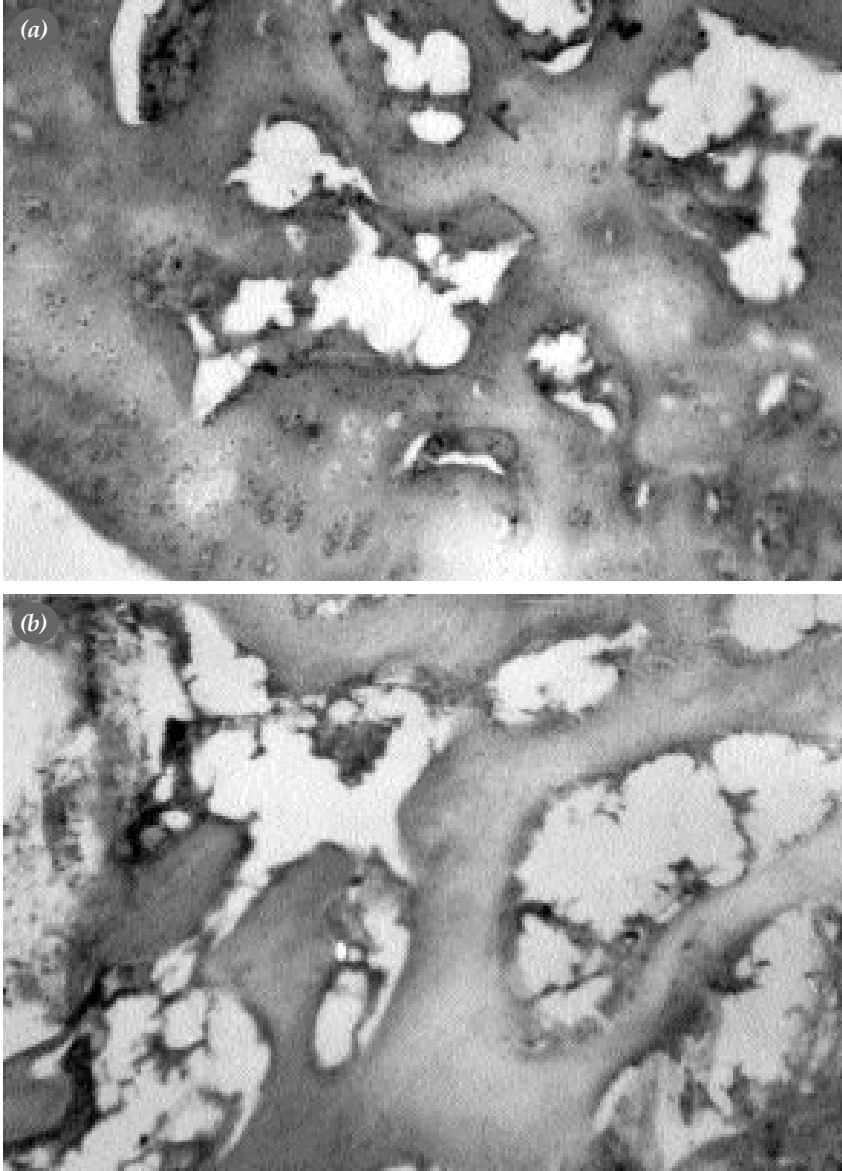
| Denek grubu | Femur başı sayıları | Osteonekroz | | Vaskülit | | Hücresel değişiklikler | | İntramedüller kanama | | Normal bulgular | |
|-------------|---------------------|-------------|-------|----------|-------|------------------------|-------|----------------------|-------|-----------------|-------|
| | | Sayı | Yüzde | Sayı | Yüzde | Sayı | Yüzde | Sayı | Yüzde | Sayı | Yüzde |
| A | 20 | 18 | 90 | 18 | 90 | 20 | 100 | 16 | 80 | 0 | 0 |
| B | 20 | 3 | 15 | 4 | 20 | 14 | 70 | 15 | 75 | 6 | 30 |
| C | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 18 | 90 |

laps saptanmadı. Mikroskopik incelemenin sonuçları Tablo 1’de gösterildi.

A grubu deneklerin histolojik preparatlarında kemik iliğinde belirgin bir azalma, yer yer fokal nekroz alanları ile yaygın intramedüller kanama alanları izlendi. Nekroz alanlarında hücre sınırları düzensizdi. Osteositleri olmayan oldukça bol lakünalar mevcuttu. Ayrıca bazı kesitlerde küçük osteonekroz alanları ve vaskülit izlenmekteydi. Vaskülit bulguları olarak arteriöl duvarı düz kasında nekroz, tunika media tabakasında dejenerasyon bulguları izlendi. Epifizer bölgedeki damar duvarında ise patolojik değişiklik saptanmadı. Nekrozun yoğun olduğu bölgelerde görülen intramedüller hemoraji eski kanama

karakterindeydi. Bu bölgedeki yağ hücrelerinde morfolojik değişiklikler görülürken, kemik oluşumuna ait herhangi bir bulguya rastlanmadı. Bu bulgular femurun metafiz ve diyafizinde de izlenmekteydi (Şekil 1a, b). Nekroz ve intramedüller kanama alanlarının yoğunluğu perifere doğru azalıyordu. Uzak bölgelerde tamamen normal kemik iliği ve trabeküler yapı varken, fokal vaskülit ve kanama alanları normal ve osteonekrotik alanlar arasında bulunuyordu.

B grubunda daha çok kemik iliğine ait hücresel değişiklikler vardı. Kemik trabeküllerinde osteonekroz bulguları olmamasına karşın yaygın kanama alanları dikkat çekiyordu. Vaskülit bulgularına dört



Şekil 1. Denek grubu A (a) (H-E x 16), (b) (H-E x 82). Lakünalarda osteosit kaybı, kanama alanları, vaskülit.

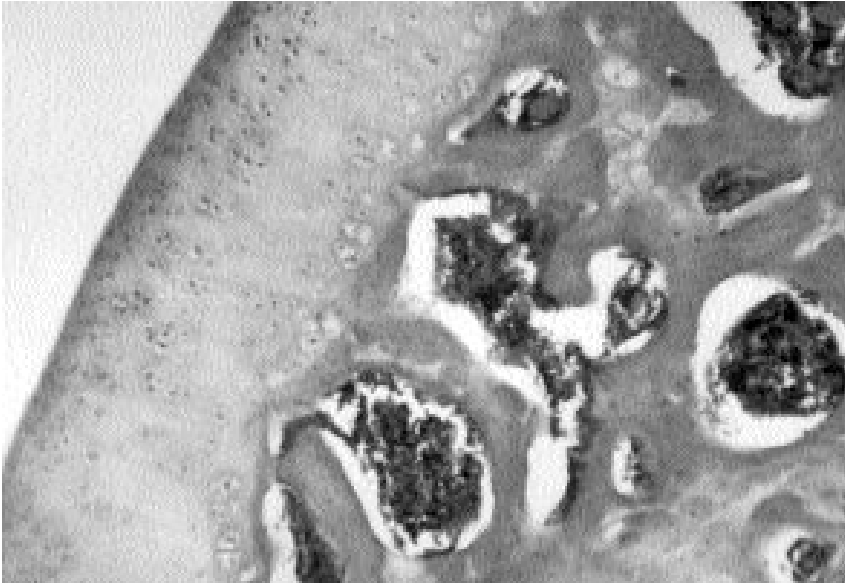
kesitte rastlanırken, hücresel değişiklikler, sitolizis, karyoreksis ve karyolizis 14 kesitte gözlemlendi (Şekil 2). Altı kesitte hiçbir patolojik bulguya rastlanmadı. İntramedüller kanama 15 kesitte, osteonekroz üç kesitte saptandı. Hemen hemen tüm kesitlerde yağ hücre morfolojilerinde değişiklikler görüldü.

C grubunda intramedüller kanama dışında herhangi bir patolojiye rastlanmadı (Şekil 3). Student t-test ile yapılan istatistiksel analizde gruplar arasında anlamlı farklılıklar saptandı ($p < 0.01$).

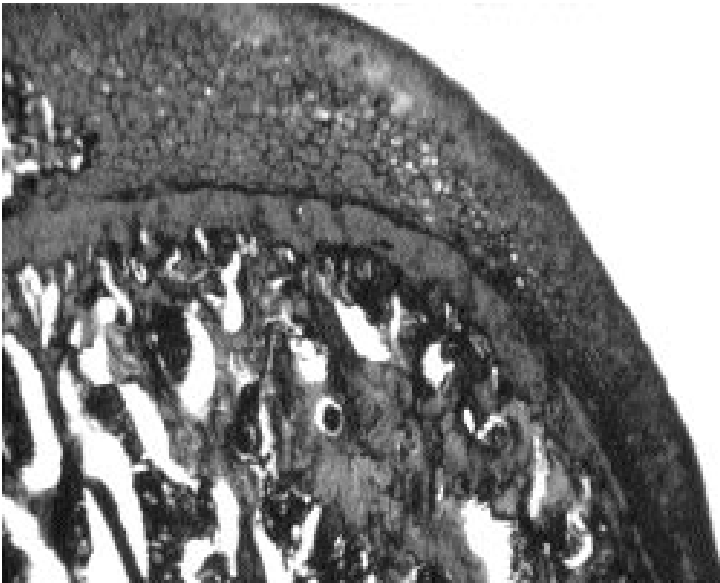
Tartışma

Steroid kullanımı ile FBANV'nin ilişkisi klasik bir bilgi olarak kabul görmektedir. Literatürde os-

teonekrozun steroid kullanan hastaların yalnızca %8-10'unda görüldüğü bildirilmektedir. Steroid kullanan hastalar genellikle immün sistemleri şu ya da bu nedenle etkilenmiş hastalardır. Bağ dokusu hastalıklarında, romatoid artrit, lupus ya da organ nakli gibi steroidin çeşitli amaçlarla kullanıldığı durumlarda avasküler nekroz görülmektedir. Ancak bu durumlarda immün cevapta olan değişikliklere bağlı genel vaskülit hali hastalığın doğası nedeni ile zaten mevcuttur. Birçok olguda altta yatan süregen hastalığın mı, steroidin mi avasküler nekroza yol açtığı şüphelidir.^[3,4] Böbrek hastalarında kronik steroid kullanımı avasküler nekroza yol açmazken organ nakli sonrası FBANV oranı hızla



Şekil 2. Denek grubu B (H-E x 16). Yaygın kanama alanları.



Şekil 3. Denek grubu C (Safranin fast x 16) Düşük düzeyde intramedüller kanama.

artmaktadır. Bu durumda neden organ nakli mi yoksa verilen steroid midir? Steroidlerin kalça avasküler nekrozu patogenezindeki yerini açıklayan yeterli deneysel hayvan modeli çalışması bulunmamaktadır. Yüksek doz steroid kullanılan hayvan deneylerinde araştırmacılar yağlı dejenerasyona, damarsal değişikliklere rastlasalar dahi hiçbir çalışmada avasküler nekroza rastlanmamıştır. Oysa osteoporoza her çalışmada rastlanmıştır.^[5-7] Bir hastalık zemininde yüksek doz steroid tedavisi verilerek deneysel olarak osteonekroz oluşturulma girişimi az sayıda çalışmada vardır. Matsui ve ark.^[8] tekrarlayıcı at serumu enjekte ederek aşırı duyarlılık vaskülit (akut serum hastalığı) hastalığı oluşturulan tavşanlara yüksek doz steroid tedavisi vermişler ve osteonekroz oluşumu bildirmişlerdir.

Anti DNA antikoru ile immünize edilerek oluşturulan bir tavşan modelinde lupus hastalığına benzer tablo yaratılarak, steroidlere verilen cevap histolojik olarak incelenmiş ve %80 oranında immünizasyondan sonra intravasküler koagülasyon ve çeşitli derecelerde tıkanmalar bulunmuştur.

Bizim çalışmamız sıçanlarda kısa sürede elde edilen histolojik değişikliklerin incelenmesi temeline dayanmaktadır. Serum hastalığı oluşturulan deneklerde anlamlı derecede fazla sayı ve morfolojik derecede değişiklikler saptanmıştır. Yalnızca prednizolon uygulanan B grubu deneklerin femur başlarında yapılan mikroskopik incelemede, deneklerden 14'ünde hücresel değişiklikler saptanırken 15'inde intramedüller kanama saptandı. Oluşan kanamanın kemik içi basıncı artırarak osteonekroza yol açması beklenirken, yalnızca üç olguda avasküler nekroza rastlanması anlamlıdır. Kenzora tümör tedavisinde kemik içine verilen steroidlerin nekroza yol açmadığını, kafa travması nedeniyle kortikosteroid kullananlarda avasküler nekroz olgusu görülmediğini söyleyerek, steroid-kemik nekrozu ilişkisini sorgulamaktadır ki bizim görüşümüz de bu yöndedir. Aynı yazar kortikosteroidlerin DNA sentezini durdurduğunu buna karşın RNA sentezinin sürdüğünü, bu nedenle protein sentezi ve hücre varlığında bir kesinti olmadığını saptamıştır.^[9,10] Kortikosteroidler kemikte osteoporoza yol açarlar. Bu kemiğin canlı olduğunun göstergesidir. Tüm bunlar kortikosteroid kullanımının osteonekroz oluşumu için yeterli bir neden olmadığını göstermektedir. Korompilias ve ark.^[11] tavşan-

lar üzerinde yaptıkları çalışmada, vaskülit yaratılmış takiben steroid verilmiş deneklerde %80 oranında patoloji gözlemişlerdir. Oysa aynı çalışmada salt metilprednizolon-prednizolon uygulanan on tavşandan yalnızca ikisinde metafizer bölgede kemik dışı venlerde pıhtı görülmüştür. Solomon,^[12] hiperkortikoidizmde oluşan osteonekrozu bu olgularda sık görülen karaciğer yağlanması, hiperlipidemi ve yağ embolileri ile açıklamaya çalışmıştır. B grubunu oluşturan deneklerde osteonekroz gözlenmemekle birlikte yaygın kanama alanları, sitolizis, karyoreksis, karyolizis gibi ciddi değişikliklere sık rastlanmıştır. Steroid kullanımı kemiği ciddi şekilde etkilemektedir. Ancak vaskülit varlığında A grubunda olduğu gibi steroid kullanımı kemikte ağır histopatolojik değişikliklere yol açmaktadır. Bu değişiklikler ise osteonekroza yol açmaktadır. Tüm bu bulgular ışığında bu hayvan deneyinde ortaya çıkan bulguların, Kenzora'nın "Accumulative Cell Stres" teorisini doğruladığını söyleyebiliriz.

Kanımızca steroid kullanımı özellikle immün patolojileri olan hastalarda osteonekroz oluşumu açısından risklidir. Sağlıklı oldukları varsayılan ancak steroid kullanımı ile osteonekroz oluşumu gözlenen hastalarda mutlaka immün ya da hematojen bir neden aranmalıdır.

Kaynaklar

1. Lieberman JR, Berry DJ, Mont MA, Aaron RK, Callaghan JJ, Rajadhyaksha AD, et al. Osteonecrosis of the hip: management in the 21st century. Instr Course Lect 2003;52: 337-55.
2. 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;59:729-35.
3. Fisher DE, Bickel WH, Holley KE, Ellefson RD. Corticosteroid-induced aseptic necrosis. II. Experimental study. Clin Orthop Relat Res 1972;(84):200-6.
4. Jaffe WL, Epstein M, Heyman N, Mankin HJ. The effect of cortisone on femoral and humeral heads in rabbits. An experimental study. Clin Orthop Relat Res 1972;(82):221-8.
5. Cruess RL, Ross D, Crawshaw E. The etiology of steroid-induced avascular necrosis of bone. A laboratory and clinical study. Clin Orthop Relat Res 1975;(113):178-83.
6. Felson DT, Anderson JJ. Across-study evaluation of association between steroid dose and bolus steroids and avascular necrosis of bone. Lancet 1987;1:902-6.
7. Jones JP Jr. Intravascular coagulation and osteonecrosis. Clin Orthop Relat Res 1992;(277):41-53.
8. Matsui M, Saito S, Ohzono K, Sugano N, Saito M, Takaoka K, et al. Experimental steroid-induced osteonecrosis in adult rabbits with hypersensitivity vasculitis. Clin Orthop Relat

Res 1992;(277):61-72.

9. Kenzora JE, Glimcher MJ. Accumulative cell stress: the multifactorial etiology of idiopathic osteonecrosis. *Orthop Clin North Am* 1985;16:669-79.
10. Kenzora JE, Glimcher MJ. Pathogenesis of idiopathic osteonecrosis: the ubiquitous crescent sign. *Orthop Clin*

North Am 1985;16:681-96.

11. Korompilias AV, Ortel TL, Urbaniak JR. Coagulation abnormalities in patients with hip osteonecrosis. *Orthop Clin North Am* 2004;35:265-71.
12. Solomon L. Mechanisms of idiopathic osteonecrosis. *Orthop Clin North Am* 1985;16:655-67.