

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLİ
ÇOCUKLARDA İNDÜKSİYON TEDAVİSİ
SIRASINDA PROTEİN Z DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

DR. AYDAN CEVRIYE ÇANKAL

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2010

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLİ
ÇOCUKLARDA İNDÜKSİYON TEDAVİSİ
SIRASINDA PROTEİN Z DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. AYDAN CEVRİYE ÇANKAL

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Hale Ören

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 2008 KB SAG 006
sayı ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İçindekiler	I
Tablolar dizini	III
Şekiller dizini	IV
Kısaltmalar	V
Teşekkür	VI
Türkçe Özet	1
İngilizce Özet (Summary)	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	6
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. Akut lenfoblastik lösemi	8
2.1.1. Epidemiyoloji ve insidans	8
2.1.2. Etiyoloji ve patogenezi	8
2.1.3. Morfolojik sınıflandırma	8
2.1.4. İmmünolojik sınıflama	10
2.1.5. Sitogenetik ve moleküler özellikler	11
2.1.6. Klinik bulgular ve laboratuvar	12
2.1.7. Ayırıcı tanı	12
2.1.8. Prognostik faktörler	14
2.1.9. Tedavi ve ilaçlar	14
2.1.10. Komplikasyonlar	17
2.1.11. Akut lenfoblastik lösemide kanama ve tromboz	17

2.2. L-asparajinaz ve glukokortikoidler	21
2.2.1. Tarihçe	21
2.2.2. Biyokimyasal ve farmakolojik özellikler	21
2.2.3. L-asparajinaz preparatları	23
2.2.4. Toksikite	24
2.2.5. Koagulasyon sistemi üzerine etkisi	25
2.2.6. Glukokortikoidler ve koagulopati	26
2.3. Protein Z ve koagulasyon sistemi	27
2.3.1. Tarihçe	27
2.3.2. Yapısı, fonksiyonu ve etki mekanizması	27
2.3.3. Plazma düzeyi	32
2.3.4. Protein Z ve hemostaz	34
2.3.5. Polimorfizm ve Faktör V Leiden mutasyonu ile ilişkisi	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Araştırmanın türü	37
3.2. Çalışma ve kontrol grubunun seçilmesi	37
3.3. Örneklerin toplanması ve saklanması	37
3.4. Protein Z'nin çalışılması	38
3.5. Diğer laboratuvar incelemeleri	38
3.6. İstatistiksel değerlendirme	39
4.BULGULAR	40
5.TARTIŞMA	47
6.SONUÇLAR	56
7.KAYNAKLAR	57

TABLolar DİZİNİ

No	Başlık	Sayfa
1	Akut lenfoblastik lösemi etiyolojisinde rol oynayan genetik ve çevresel faktörler	9
2	Akut lenfoblastik lösemide morfolojik sınıflama	9
3	Akut lenfoblastik lösemide immunolojik sınıflama	10
4	Çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemisinde sitogenetik anomalilerin sıklığı ve prognostik önemi	11
5	Akut lenfoblastik lösemide ayırıcı tanı	13
6	Akut lenfoblastik lösemide iyi ve kötü prognoz kriterleri	14
7	L-asparajinaz preparatlarının farmakolojik özelliklerinin karşılaştırılması	24
8	L-asparajinaz toksisiteleri	24
9	L-asparajinaz doz uygulamaları, birlikte kullanılan ilaçlar ve venöz tromboemboli oranları	26
10	Farklı çalışmalarda protein Z düzeyleri	33
11	Çalışma ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet özelliklerinin karşılaştırılması	40
12	Trombosit alan ve almayan olguların protein Z düzeyleri	42
13	Enfeksiyonu olan ve olmayan olguların protein Z düzeyleri	43
14	Çalışma grubunun protein Z ortalama \pm standart deviasyon, minimum, maksimum değerleri ve asemptomatik trombozlu iki olgunun protein Z değerleri	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

No	Başlık	Sayfa
1	Akut lenfoblastik lösemi tedavisi alan hastalarda semptomatik venöz tromboemboli yerleri	19
2	L-asparajinazın hücrede etki mekanizması	22
3	L-asparajinazın glutaminaz aktivitesi	23
4	Protein Z'nin üç boyutlu yapısı	29
5	Protein Z bağımlı proteaz inhibitörün aktive faktör X'u protein Z, kalsiyum ve fosfolipidlerin varlığında inhibisyonu	30
6	Aktive faktör X'un protein Z aracılı olarak protein Z bağımlı proteaz inhibitörü tarafından inhibisyonu için iki olası yol	31
7	Protein Z /Protein Z bağımlı proteaz inhibitör antikoagulan sistemi	32
8	Protein Z'nin yaşlara göre düzeyleri	33
9	Hemostazın serpinler tarafından düzenlenmesi	35
10	BFM-1995 akut lenfoblastik lösemi indüksiyon tedavi şeması ve protein Z düzeyleri için örnek alınma zamanları	38
11	Çalışma grubu PZ0 düzeyleri ile kontrol grubu protein Z düzeyleri dağılımını gösteren grafik	41
12	Trombosit verilen ve verilmeyen hastaların protein Z düzey ortalamalarını gösteren grafik	43
13	Enfeksiyonu olan ve olmayan hastaların protein Z düzey ortalamalarını gösteren grafik	44
14	Çalışma grubunun protein Z düzey ortalamaları ve standart sapmaları	46

KISALTMALAR

ALL	Akut lenfoblastik lösemi
ASP	L-asparajinaz
AT	Antitrombin
BFM	Berlin-Frankfurt-Münster
Bha64	Beta hidroksi aspartat
CD	Cluster of differentiation, diferansiyasyon kümeleri
DNR	Daunorubisin
<i>E. coli</i>	Escherichia coli
EGF	Epidermal büyüme faktörü
FAB	Fransa-Amerika-Büyük Britanya
FVL	Faktör V Leiden
FXa	Aktive faktör X
Gla	Gama karboksiglutamik asit
K vit	K vitamini
MRH	Minimal rezidüel hastalık
MTHFR	Metilentetrahidrofolatredüktaz
MTX	Metotreksat
PEG	Polietilen glikol
PG20210A	Protrombin G 20210A
PC	Protein C
PS	Protein S
PZ	Protein Z
SSS	Santral sinir sistemi
SVK	Santral venöz kateter
TDP	Taze donmuş plazma
VCR	Vinkristin
vWF	von Willebrand faktör
VTE	Venöz tromboemboli
ZPI	Protein Z bağımlı proteaz inhibitör

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca tez konumun belirlenmesi, çalışmalarımın yürütülmesi ve eğitimimde katkılarını esirgemeyen, her zaman örnek aldığım Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı ve aynı zamanda tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Hale Ören'e, eğitimime katkıları bulunan tüm diğer Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve uzmanlara, tez çalışmalarımda yardımcı olan Doç. Dr. Canan Vergin, Tıbbi Biyolog Faize Yüksel, Doç. Dr. Hülya Ellidokuz'a en içten teşekkürlerimi sunar; yetişmemde büyük emeği olan, eğitim sürecimin her döneminde bana güç ve destek veren sevgili aileme ve çalışma arkadaşlarıma ayrıca teşekkür ederim.

Dr. Aydan Cevriye ÇANKAL
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Tıpta Uzmanlık Öğrencisi

İzmir 2010

ÖZET

AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİLİ ÇOCUKLARDA İNDÜKSİYON TEDAVİSİ SIRASINDA PROTEİN Z DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Çocukluk çağının en sık görülen maliyn hastalığı olan akut lenfoblastik lösemide (ALL) indüksiyon tedavisinde steroid ve L-asparajinaz'ın (ASP) birlikte kullanımı ile hastalarda tromboz ve kanamaya eğilimin arttığı iyi bilinmektedir. ALL'li olgularda steroid ve ASP kullanımının protein S, protein C ve antitrombin gibi koagulasyonda rol oynayan proteinlerin düzeylerini nasıl etkilediği bir çok çalışmada araştırılmışsa da, bu olgularda yine bir koagulasyon kaskad proteini olan protein Z (PZ) düzeylerinin nasıl etkilendiği henüz hiçbir çalışmada araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı ALL'li pediatrik olgularda indüksiyon tedavisi sırasında PZ düzeylerini saptamak, steroid ve ASP tedavisi ile plazma PZ düzeyi arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Gereçler ve yöntem: Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı ve Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Kliniği tarafından takip ve tedavisi yapılmakta olan ALL'li çocuklar dahil edildi. Çalışma grubuna yeni ALL tanısı almış ve ALL BFM-1995 protokolü indüksiyon tedavisi alacak olan 24 çocuk alındı. Ek kronik hastalığı, karaciğer, böbrek yetmezliği, dissemine intravasküler koagulasyonu, malnütrisyonu olan ve tedavi sırasında taze donmuş plazma alan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu olarak çocuk polikliniğine muayene için başvuran, tetkik için kan örneği alınan, akut ya da kronik sistemik hastalığı, ilaç kullanımı olmayan ve ailesinde hematolojik hastalık öyküsü bulunmayan, çalışma grubu ile yaş ve cinsiyet açısından uyumlu 39 çocuk alındı. Çalışma grubundan ALL BFM-1995 kemoterapi protokolü tedavi şemasına göre tedavi başlangıcında hiç kemoterapi uygulanmadan (PZ0) ve steroid uygulaması ile birlikte ASP tedavisinin verildiği 12. gün (PZ1), 15. gün (PZ2), 18. gün (PZ3) ve 21. gün (PZ4) tedavi öncesinde, kontrol grubu çocuklardan ise bir kez 3 cc periferik kan sitratlı tüplere alınarak santrifüj edildi ve plazma örnekleri -70°C'de saklandı. PZ düzeyleri enzim immunoassay (ELİSA) yöntemi ile ölçüldü. Tüm hastaların karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, koagulasyon testleri ve aldığı kan ürünleri not edildi. İndüksiyon tedavisinin ilk 21 günü boyunca ateş yüksekliği sırasında fokal odağı

veya C-reaktif protein yüksekliği veya kültür pozitifliği olan hastalar enfeksiyonu olan hastalar olarak kabul edildi. İstatistiksel veriler SPSS 15.0 programı ile değerlendirildi. Ki-kare, Mann-Whitney U, Wilcoxon testleri kullanıldı. İstatistiksel anlamlılığı yansıtan değer olarak $p < 0.05$ seçildi.

Bulgular: Çalışma ve kontrol grubundaki çocukların ortanca yaşı sırayla 5,8 yaş (17-170 ay) ve 5,4 yaş (22-222 ay) idi. Çalışma grubunda 12 (%50) kız, 12 (%50) erkek, kontrol grubunda 19 (%48,7) kız, 20 (%51,3) erkek ocuk vardı. Çalışma ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı açısından benzer özelliklere sahip olduğu görüldü. Ortalama PZ0 düzeyi çalışma grubunda $1,628 \pm 0,485$ $\mu\text{g/ml}$ (minimum 0,976 $\mu\text{g/ml}$, maksimum 2,909 $\mu\text{g/ml}$), kontrol grubu PZ düzeyleri ortalaması ise $1,672 \pm 0,662$ $\mu\text{g/ml}$ (minimum 0,705 $\mu\text{g/ml}$, maksimum 3,40 $\mu\text{g/ml}$) saptandı. Çalışma grubu PZ0 dönemi ve kontrol grubu PZ düzeyleri ortalaması arasında istatistiksel fark gözlenmedi. İndüksiyon tedavisinin ilk 21 günü boyunca trombosit alan 13 olgu ve almayan 11 olgu ve enfeksiyonu olan beş ve olmayan 19 olgunun PZ düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmadı. Çalışma grubunda PZ0 ve sadece steroid tedavisi verilen PZ1 döneminde alınan kanda PZ düzeylerinde istatistiksel anlamlı olmayan hafif bir artış olduğu dikkati çekti. PZ0-PZ4, PZ1-PZ2, PZ1-PZ3, PZ1-PZ4 ve PZ3-PZ4 dönemlerindeki PZ düzeylerinde istatistiksel anlamlı düşüş olduğu gözlendi. Tedavi boyunca PZ düzeyleri düşük olanlar dahil hiçbir hastada kanama ve semptomatik tromboz komplikasyonu izlenmedi. Birisi rutin yapılan ekokardiyografide sağ atriyal trombüs ve diğer batın ultrasonografisinde sol renal infarkt olmak üzere iki hastada asemptomatik tromboz saptandı.

Sonuç: ALL indüksiyon tedavisi başlangıcında, tanı sırasında PZ değerleri kontrol grubu ile benzerdi. PZ düzeylerinde yalnız steroid tedavisi ile istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte hafif bir yükselme saptanırken, steroid ve ASP kullanımı ile indüksiyon tedavisinin ilerleyen dönemlerinde istatistiksel anlamlı düşüş görüldü. Ancak PZ düzeylerinde düşüklüğe rağmen hastalarda semptomatik tromboz ya da kanama komplikasyonu gelişmedi.

Anahtar kelimeler: Akut lenfoblastik lösemi, kanama, L-asparajinaz, protein Z, steroid, tromboz

SUMMARY

THE EVALUATION OF PROTEIN Z LEVELS OF CHILDREN WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA DURING INDUCTION THERAPY

Objective: It is well known that the tendency for thrombosis and hemorrhage increases in patients with concomitant use of steroid and L-asparaginase during induction treatment in acute lymphoblastic leukemia (ALL), the most frequently encountered malign disease of the childhood. In cases with ALL, although many studies investigated how the usage of steroid and ASP affects protein levels playing role in coagulation such as protein C, protein S and antithrombin, one of the other coagulation cascade proteins, protein Z levels have not been examined in any study yet. The objective of this study is to determine PZ levels during induction treatment in pediatric cases with ALL and to examine the relation between steroid and ASP therapies and plasma PZ levels.

Materials and Methods: Children with ALL who were treated and followed up in Pediatric Hematology Department of Dokuz Eylül University Faculty of Medicine and Dr. Behçet Uz Children's Hospital Hematology-Oncology Clinic were included into the study. Twenty four children who newly diagnosed as ALL and going to receive ALL BFM-1995 protocol induction treatment were included into the study group. The patients having additional chronic disease, liver and renal failure, disseminated intravascular coagulation, malnutrition and received fresh frozen plasma during the treatment were excluded from the study. Thirty nine children, without acute or chronic systemic disease, drug usage, and hematological disease in their past history, consistent with the study group in terms of age and gender, were taken as the control group. Peripheral blood of 3 cc was drawn from the study group without applying any chemotherapy (PZ0) at the beginning of the treatment, at 12th day (PZ1), 15th day (PZ2), 18th day (PZ3), and 21st day (PZ4) treatment where ASP treatment is given along with steroid administration according to ALL BFM – 1995 chemotherapy protocol. In the control group, blood samples were drawn only once. All of the blood samples were drawn into citrated tubes and then centrifuged. Plasma samples were stored at -70°C. PZ levels were measured by enzyme immunoassay (ELISA) method. Liver and renal function tests, coagulation tests, and blood products

given to children were noted. During the first 21 days of the induction treatment, the patients with focal infectious focus, elevated C-reactive protein levels or culture positiveness in the course of fever were accepted as patients with infection. Statistical data were evaluated by SPSS 15.0 software. Chi-square, Mann-Whitney U, and Wilcoxon test were used. $P < 0.05$ was selected as the value reflecting the statistical significance.

Results: The median age of the children in the study and the control groups were 5.8 years (17-170 months) and 5.4 years (22-222 months), respectively. In the study group, 12 (50%) were female and 12 (50%) were male; in the control group, 19 (48.7%) were female and 20 (51.3%) were male. It has been demonstrated that the study and the control groups have similar characteristics in terms of age and gender distribution. Mean PZ level at PZ0 was determined to be 1.628 ± 0.485 $\mu\text{g/ml}$ (minimum 0.976 $\mu\text{g/ml}$, maximum 2.909 $\mu\text{g/ml}$) in the study group and mean PZ level of the control group was determined to be 1.672 ± 0.662 $\mu\text{g/ml}$ (minimum 0.705 $\mu\text{g/ml}$, maximum 3.40 $\mu\text{g/ml}$). No statistical difference was observed between mean PZ0 levels of the study group and mean PZ level of the control group. No statistical significant difference was determined when the PZ levels of 13 cases who received platelet transfusions and 11 cases who did not receive platelet transfusions during the first 21 day of the induction treatment and PZ levels of five cases with infection and 19 cases without infection were compared to each other. In the study group, there was a slight increase in PZ levels between the PZ0 and PZ1 periods which was not statistically significant. Statistically significant decrease was observed between PZ levels in PZ0-PZ4, PZ1-PZ2, PZ1-PZ3, PZ1-PZ4, and PZ3-PZ4 periods. During the induction treatment, hemorrhage and symptomatic thrombosis were not followed up in any patients including those with low PZ levels. Asymptomatic thrombosis was determined in two patients, one as right atrial thrombus in routine echocardiography and the other as left renal infarct in ultrasonography.

Conclusions: At the beginning of ALL induction treatment, at diagnosis, PZ values of the study group were similar to those of the control group. Although a slight but not statistically significant increase of PZ levels was determined only with steroid treatment, a statistically significant decrease was observed in the progressive periods

of the induction treatment with steroid and ASP usage. However, despite low PZ levels, symptomatic thrombosis or hemorrhage complication didn't develop in any patients.

Key words: Acute lymphoblastic leukemia, hemorrhage, L-asparaginase, protein Z, steroid, thrombosis.

1.GİRİŞ VE AMAC

Lösemi, çocukluk çağının en sık görülen maliyn hastalığıdır. Türkiye'de yıllık insidansı 1,5/100.000'dir (1). Lösemilerin %75-85'ini akut lenfoblastik lösemi (ALL) oluşturur. ALL'de tam iyileşme şansı %80'lere ulaşmasına rağmen tedavi sırasında meydana gelen tümör lizis, febril nötropeni, nörolojik yan etkiler, kanama ve tromboza eğilim bozuklukları gibi komplikasyonlar halen ciddi morbidite ve bazen mortaliteye yol açabilmektedir (2). Tromboz riski ALL hastalarında artmıştır (%1-36) ve tromboz oluşumu tedaviyi olumsuz yönde etkiler (3). Artmış trombotik riskin patojenezi tam netleşmese de hastalığın kendisi, tedavisi ve hastadaki konjenital trombofiliye yol açan faktörlerin varlığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (4).

ALL'de tanı konulduktan sonra indüksiyon tedavisi ile hastanın remisyona girmesi sağlanır. İndüksiyon tedavisinde bir çok tedavi protokolünde kortikosteroid, L-asparajinaz (ASP), antrasiklinler, vinkristin ve intratekal metotreksat (MTX) yer alır (5). Steroid ve ASP'ın birlikte kullanımı ile hastalarda koagulopatilere eğilimin arttığı iyi bilinmektedir (3). *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Erwinia carotovora* kültürlerinden hazırlanan ASP, asparajinin aspartik asit ve amonyağa yıkılımını katalizleyerek lösemi hücreleri için gerekli olan asparajini tüketir ve hücre ölümüne neden olur. Alerji, hipersensitivite reaksiyonları, pankreatit, glukoz intoleransı, hipertrigliseridemi dışında koagulopati görülen en önemli yan etkilerindendir (6). Koagulopati kanama ya da tromboz şeklinde karşımıza çıkar. ALL tedavisi sırasında ortaya çıkan trombotik komplikasyonların %90'ının indüksiyon fazında görülmesi de ASP ilişkili tromboz fikrini desteklemektedir (7). ASP, ayrıca plazminojen, fibrinojen ve AT gibi hemostatik faktörlerin hepatik sentezini azaltarak ve klirensini artırarak seviyelerini azaltır. PC ve PS eksikliğine ve von Willebrand faktör (vWF) kalitatif bozukluğuna yol açtığını gösteren yayınlar mevcuttur (8). ASP özellikle steroid ile birlikte kullanıldığında tromboz gelişme riski daha yüksektir (7). Kortikosteroidler prokoagulan faktörlerin düzeyini arttırarak trombotik olay riskini arttırır, aynı zamanda hipofibrinojenemiye neden olarak kanamaya yol açarlar (9).

1977'de sığır kanında, 1984'de insan plazmasında protein Z (PZ) adlı K vitamini (K Vit) bağımlı yeni bir glikoprotein izole edilmiştir (10). Yapısı diğer K Vit bağımlı faktör VII, IX, X ve PC'ye benzer. Karaciğerde sentezlenen PZ'nin plazma

yarı ömrü 2,5 gündür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda PZ eksikliğinin tromboz gelişme riskini arttırabileceği bildirilmektedir (11). PZ, faktör X'un (FX), Protein Z bağımlı proteaz inhibitör (ZPI) tarafından çok hızlı bir şekilde inhibe edilmesini sağlayarak trombin oluşumunu etkiler. Yani eksikliği ya da disfonksiyonunda hiperkoagulabiliteye eğilim artar. Ayrıca paradoksik bir şekilde PZ eksikliğinde trombinin fosfolipid yüzeylere bağlanamadığı ve bunun sonucunda kanamaya eğilim de yaratabileceği rapor edilmektedir (12). ALL'li olgularda steroid ve ASP kullanımının protein S (PS), protein C (PC) ve antitrombin (AT) gibi koagulasyon protein düzeylerini nasıl etkilediği bir çok çalışmada araştırılmışsa da, bu olgularda PZ düzeylerinin nasıl etkilendiği henüz hiçbir çalışmada araştırılmamıştır (8, 13, 14).

Bu çalışmanın amacı ALL'li pediatrik olgularda indüksiyon tedavisi sırasında plazma PZ düzeylerini ölçmek, ASP ve steroid tedavisi ile PZ düzeyi arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Sonuçların değerlendirilmesi ile bu çocuklarda yoğun kemoterapi tedavisi süresince profilaktik antikoagulan tedavi kullanımı ya da taze donmuş plazma (TDP) replasmanı gibi kanamaya karşı önlemler alınması gündeme gelebilecektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. AKUT LENFOBLASTİK LÖSEMİ

2.1.1 Epidemiyoloji ve insidans

Lösemiler, hematopoetik hücrelerdeki genetik anormalliklerin hücrelerin klonal proliferasyonuna neden olduğu bir grup maliyn hastalıktır. Çocukluk çağı kanserlerinin %25-30'unu lösemiler, lösemilerin %97'sini akut lösemiler, akut lösemilerin %75-80'ini ALL oluşturur (2, 15). Dolayısıyla ALL çocukluk çağının en sık görülen maliyn hastalığıdır. Sağlık Bakanlığı verilerine göre yıllık insidans 1,5/100.000 olarak belirlenmiştir (1). ALL erişkin yaşlar dahil her yaşta görülebilmekle birlikte en sık 2-5 yaş arasında görülür (16). Kız/erkek oranı 1/1,2-1,3 tür. T ALL ve puberte döneminde erkek cinsiyet baskındır (17, 18). Beyaz ırkta sarı ve siyah ırka göre daha sık saptanır (19).

2.1.2 Etiyoloji ve patogenez

Lösemili çocukların kardeşlerinde lösemi görülme riski topluma göre dört kat fazladır. Ancak tek yumurta ikizlerine bakıldığında eğer biri ilk 5 yaş içinde lösemi olursa diğerinin olma riski %20, ilk yaş içinde biri olursa diğerinde risk %100'dür (20). Bu iki durum lösemnin etiyolojisinde hem genetik hem de çevresel faktörlerin rol oynadığı fikrini desteklemektedir (Tablo 1) (21).

2.1.3 Morfolojik sınıflandırma

Günümüzde ALL'nin morfolojik ayırımında en sıklıkla kullanılan ve lenfoblastları hücre boyutu, çekirdek ve sitoplazma görünümü gibi morfolojik özelliklere göre L1, L2 ve L3 alt gruplarına ayıran sınıflama Fransa, Amerika ve Büyük Britanyanın baş harflerini taşıyan FAB sınıflamasıdır (Tablo 2) (22). ALL'ler içinde %84 oranı ile en sık görülen L1 morfolojisi, L2 morfolojisi (%15) ve L3 (%1) morfolojisine göre prognozu en iyi olandır (23, 24).

Tablo 1. Akut lenfoblastik lösemi etiyolojisinde rol oynayan genetik ve çevresel faktörler

Genetik faktörler	Çevresel faktörler
-Down sendromu 1/95*	-İyonize radyasyon
-Fankoni anemisi 1/12*	-Elektromanyetik alan
-Bloom sendromu 1/8*	-İlaçlar
-Diamond-Blackfan anemisi	Alkilleyici ajanlar
-Schwachman sendromu	-Kimyasal maddeler
-Klinefelter sendromu	Benzene maruziyet
-Turner sendromu	-İlerlemiş maternal yaş
-Nörofibromatozis	-Viral enfeksiyonlar
-Ataksi-telanjektazi	
-Ciddi kombine immun yetersizlik	
-Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri	
-Li-Fraumeni sendromu	
-Poland sendromu	
-Kostmann sendromu	
-Wiskott Aldrich sendromu	

*Lösemi gelişme riskini göstermektedir.

Tablo 2. Akut lenfoblastik lösemide morfolojik sınıflama

Lenfoblast	L1	L2	L3
Büüklük	Küçük	İri, değişken	Büyük
Çekirdek	Düzgün	Düzensiz, çentikli	Düzgün
Kromatin	Yoğun	İnce	İnce
Çekirdekçik	Hiç yok, küçük	Büyük, belirgin	Belirgin
Sitoplazma	Çok dar	Daha geniş	Koyu bazofilik
Sıklığı	Sık	Ender	Ender
Prognoz	İyi	Kötü	Kötü

2.1.4 İmmünolojik sınıflama

Lenfositlerin gelişim aşamalarında yüzeylerinde beliren ve kaybolan farklı antijenik yüzey işaretçilerine diferansiyasyon kümeleri (Cluster of differentiation, CD) denir. Bunlar adeta bir etiket gibi o hücrenin hangi gelişim aşamasında olduğu hakkında bilgi verir (25). Akım sitometrisi ile yapılmakta olan immunfenotipleme, blastın hangi aşamada olduğunu gösteren tekniktir. Çocukluk çağı ALL'lerinin %80-85'i B-hücre prekürsörlerinin monoklonal proliferasyonundan gelişir. B hücrelilerin sadece %1-2'si yüzey immunoglobulini (Ig) eksprese eder ve bunlar olgun B hücreli ALL olarak sınıflandırılır. Daha çok adölesanlarda görülen, yüksek beyaz küre değerleri, mediastinal genişleme ve santral sinir sistemi (SSS) tutulumu ile seyreden T hücreli ALL, tüm ALL'lerin %15-20'sini oluşturur ve prognozu daha kötüdür (Tablo 3) (18, 26).

Tablo 3. Akut lenfoblastik lösemide immunolojik sınıflama

Tip	Antijen ekspresyonu
Pro-B ALL	CD19±, CD22-, CD79a+, CD10-, CD7-, CD3-, sitoplazmik Ig ağır zinciri -, yüzey Ig-
Pre-pre B ALL	CD19+, CD22+, CD79a+, CD10+, CD7-, CD3-, sitoplazmik Ig ağır zinciri -, yüzey Ig ağır zinciri -
Pre-B ALL	CD19+, CD22+, CD79a+, CD10±, CD7-, CD3-, sitoplazmik Ig ağır zinciri +, yüzey Ig ağır zinciri -
Transizyonel B ALL	CD19+, CD22+, CD79a+, CD10-, CD7-, CD3-, sitoplazmik Ig ağır zinciri +, yüzey Ig ağır zinciri +, yüzey Ig hafif zincir+
Olgun B ALL	CD19+, CD22+, CD79a+, CD10±, CD7-, CD3-, sitoplazmik Ig ağır zinciri +, yüzey Ig ağır zinciri +, yüzey Ig hafif zincir+
T hücreli	CD19-, CD22-, CD79a-, CD10±, CD7+, CD3+, sitoplazmik Ig ağır zinciri -, yüzey Ig-

2.1.5 Sitogenetik ve moleküler özellikler

ALL'de gözlenen sitogenetik özellikler biyolojik ve prognostik anlama sahiptir. Lösemi sitogenetiğinin biyolojik öneminin anlaşılması lösemi gelişme mekanizmalarının ortaya konmasında moleküler metodların kullanımına yöneltmiştir (Tablo 4) (27).

Tablo 4. Çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemisinde sitogenetik anomalilerin sıklığı ve prognostik önemi

Sitogenetik anomali	Gen	Sıklık (%)	Prognoz
Normal karyotip	-	31-40	Orta-iyi
Yüksek hiperdiploidi (>55)	-	23-26	İyi
Düşük hiperdiploidi (>50)	-	10-11	Orta
Near haploid (<35)	-	1-4	Kötü
Pseudohiperdiploid	-	18-26	Orta
Hipodiploidi (35-44)	-	6	Orta-kötü
t(9;22)(q34;q11.2)	<i>BCR-ABL</i>	2-6	Kötü
t(4;11)(q21;q23)	<i>MLL-MLL T2</i>	2	Kötü
t(1;19)(q23;p13.3)	<i>TCF3-PBX1</i>	4-5	Kötü
t(12;21)(p12;q22)	<i>TEL/ETV6-AML1</i>	20-25	İyi
Anormal 9p	<i>P16 (CDKN2A, MTS1)</i>	7-11	Olumsuz
Anormal 12p	<i>TEL (ETV6)/ETV1</i>	7-9	Prognostik değil
del(6q)	Bilinmiyor	6-9	Prognostik değil
del(7p)/del(7q)/-7	Bilinmiyor	4	Olumsuz
del(5q)	Bilinmiyor	1	Olumsuz
Trizomi 8	-	2	Bilinmiyor
14q11	<i>TCR-α</i>	3-4	Prognostik değil
t(10;14)(q24;q11)	<i>TRD-TLX1</i>	Bilinmiyor	-

2.1.6 Klinik bulgular ve laboratuvar

ALL'li bir hastada semptomlar teşhisten önceki birkaç gün ila birkaç ay arasında bir zaman diliminde başlar. Bazen asemptomatik bir çocukta rutin kan sayımında ortaya çıkabilirken bazen yaşamı tehdit edici kanama, enfeksiyon ya da solunum sıkıntısı ile gelebilir. Anemi, nötropeni, trombositopeni gibi kemik iliğinin infiltrasyonu ya da lenfadenopati, hepatosplenomegali gibi lenfoid sistemin tutulması sonucu gelişen bulgular olabilir. Tanı anında %25 oranında kemik ve eklem bulguları, %10-23 oranında testis tutulumu, kanama veya tifilit ile karakterize gastrointestinal sistem bulguları, santral sinir sistemi (SSS) tutulumu, sıklıkla yenidoğan lösemilerinde görülen deri tutulumu ve otopsilerde %50-66 oranında saptansa da %5'den az olguda görülen kalp tutulumu ve yine çok nadir akciğer tutulumu gibi ekstramedullar sistem bulguları saptanabilir (21). ALL tanısı ilk konulduğu zaman laboratuvar incelemeleri çoğu kez normokrom normositer anemi, lökositoz, lökopeni veya trombositopeni ve periferik yaymada blast varlığını ortaya koyar. Vakaların %10'unda ise periferik kan bulguları tamamen normal olabilir. Periferik kanda blast görülmeyen bu tip vakalar alösemik lösemi olarak isimlendirilir. Kemik iliğinde %25 ve üzeri blast olması tanıyı koydurur. ALL'de lenfoblastların parçalanması ile ortaya çıkan pürinlerin yıkılması sonucu kanda ürik asit değeri genellikle yüksektir. Kandaki ürik asit düzeyi böbrek tübülüslerine oturarak akut böbrek yetmezliği ile sonuçlanan ürik asit nefropatisine yol açabilir. Ayrıca yine lenfoblastlardan açığa çıkan fosfatlar kalsiyumu bağlayarak kanda kalsiyum düzeyinin düşmesine yol açabilir. ALL'de radyolojik incelemelerde vakaların %10'unda mediastinal kitle ve %50'sinde kemiklerde medullar kanalda genişleme, metafizde transvers çizgiler, patolojik kırıklar gibi bulgular izlenebilir (28).

2.1.7 Ayırıcı tanı

Genellikle ALL tanısı koymada güçlükle karşılaşılmaz. Ancak bazı hastalıklar klinik ve laboratuvar bulguları ile ALL'yi taklit edebilirler (Tablo 5) (27).

Tablo 5. Akut lenfoblastik lösemide ayırıcı tanı

1. Enfeksiyonlar

- Viral (EBV, CMV, parvovirus, HIV)
- Enfeksiyona sekonder lökomoid reaksiyon

2.Otoimmün hastalıklar

- Juvenil romatoid artrit
- İdiyopatik trombositopenik purpura
- Çocukluk çağının geçici eritroblastopenisi
- Sistemik lupus eritematozus

3.Kemik iliği yetmezliği sendromları

- Megaloblastik anemi
- Saf eritroid aplazi
- Konjenital nötropeni
- Aplastik anemi
- Miyelodisplastik sendrom
- Miyelofibrozis

4.Hemofagositik lenfohistiyositoz

5.Diğer maliy niteler

- Diğer lösemiler
- Hodgkin ve non-Hodgkin lenfoma
- Solid tümörler: Nöroblastom, rabdomiyosarkom, primitif nöroektodermal tümör, medulloblastom

2.1.8 Progностik faktörler

ALL'de prognozu etkileyen çeşitli faktörler tedavi protokolünün belirlenmesinde büyük önem taşır. Amaç her risk grubu için mümkün olan en az toksik tedaviyi vermek ve daha yoğun tedaviyi yüksek risk gruplar için riskleri göze alarak kullanmaktır (Tablo 6) (29, 30).

Tablo 6. Akut lenfoblastik lösemide iyi ve kötü prognoz kriterleri

RİSK FAKTÖRÜ	İYİ PROGNOZ	KÖTÜ PROGNOZ
Yaş	1–9 yaş	<1 yaş, ≥10 yaş
Beyaz küre	<50.000/μL	≥50.000/μL
DNA indeksi	>1.16	≤1.16
Trizomi 4,10, 17	Var	Yok
İndüksiyon tedavisi sonunda kemik iliğinde <%5 blast	Evet	Hayır
8. günde periferik kanda blast sayısı	<1000 mm ³	>1000 mm ³
Sitogenetik	t(12;21)	t(9;22) t(4;11) t(1;19)
İmmunofenotip	B-öncül	T hücreli, olgun B
Santral sinir sistemi tutulumu	Yok	Var
Minimal rezidüel hastalık	Yok	Var

2.1.9 Tedavi ve ilaçlar

Günümüzde yaşam şansı %80'lere ulaşan ALL tedavisinde %20-30 oranında görülebilen nöksleri engelleyecek, ancak geç yan etkilere olabildiğince az neden olacak, risk gruplarına, hastanın biyolojik ve sitogenetik özelliklerine göre yoğunlaştırılacak tedavi protokollerine ihtiyaç vardır (31).

ALL'de genel destek tedavisi

Bazen tanı anında, ancak genelde tedavi sonrası yani lösemik hücreler yıkılmaya başladıktan sonra meydana gelen hiperürisemiye engellemek için hidrasyon, alkalinizasyon ve allopurinol kullanılır. Ancak özellikle beyaz küre sayısı çok yüksek olan ve belirgin organomegali ve lenfadenomegalisi olan hastalarda hiperfosfotemi, hipokalsemi, hiperkalemi ile karakterize tümör lizis sendromu görülebilir. Tedavide amaç elektrolit ve mineral dengesizliğini düzeltmek, alkalinizasyon ve diürezisi sağlamaktır. Gereklik halinde diyaliz kullanılır. Kanama komplikasyonu varsa trombosit $20.000/mm^3$ 'ün üzerinde tutulmaya çalışılmalıdır. Anemisi olan semptomatik hastalara ($Hb < 8$ gr/dL) eritrosit süspansiyonu verilmelidir. Beyaz küre sayısı $100.000/mm^3$ üzerinde olan hastalar viskozite nedeni ile intrakraniyal kanama ve diğer komplikasyonlar açısından riskli hastalardır. Lökosit sayısı düzeline kadar hiperviskoziteyi tetikleyeceği için hemoglobin değeri 8 g/dL'nin üzerine çıkarılmamalıdır. Tüm kan ve kan ürünlerinin ışınlanmasına ve lökosit filtresi ile verilmesine dikkat edilmeli, ilerde kemik iliği transplantasyonu olasılığını düşünerek kan bağı olanlardan transfüzyon yapılmamalıdır (21).

Pnömosistis karini enfeksiyonundan korunma amacıyla trimetoprim sulfametoksazol, fungal enfeksiyonlardan korunmak için antifungal ilaçlar kullanılır.

Hastalık hakkında yaş guruplarına uygun ayrıntılı bilgilendirme yapılmalı, özellikle enfeksiyon komplikasyonundan korunma konusu başta olmak üzere hastalıkla ilgili her konuda eğitim verilmelidir. Hastalara ve ailelerine multidisipliner bir yaklaşımın parçası olarak profesyonel psikolojik destek sağlanmalıdır (32).

Günümüzde ALL tedavi rejimleri remisyon indüksiyonu, SSS tutulumu tedavisi, konsolidasyon ve idame tedavisi olmak üzere dört ana bölüme ayrılır.

Remisyon indüksiyonu

Tam remisyon ateş, kemik ağrıları ve benzeri hastalığa ait hiçbir bulgunun kalmaması, hepatosplenomegali, lenfadenopatinin düzelmesi, beyin omirlik sıvısının temiz olması, periferik kan tablosunun normale dönmesi ve periferik yaymada blast olmaması halidir. Kemik iliğinde normal erken öncüller ve hematopoez varken blast sayısı $< 5\%$ 'in altında olmalıdır (33). Klinik olarak ALL tanısı alan bir hastada yaklaşık

olarak 10^{12} lösemik hücre bulunmaktadır. Bir hastada tam bir remisyon sağlanabilmesi için kemoterapi ile tüm lösemik hücre sayısının %99'unun yok edilmesi gerekmektedir (34). Başlangıç kemoterapisine verilen yanıt ve total lösemik hücre yükünün azaltılması tedavinin başarısı açısından önemli faktörlerdir. Vinkristin ve glukokortikoid gibi iki ana ilaç ALL'li çocukların yaklaşık %85'inde tam remisyon sağlamakta, bu ilaçlara ASP veya antrasiklin ya da her ikisinin eklenmesi ile bu oran yaklaşık %98'e çıkmaktadır (35). İndüksiyon tedavisi yaklaşık 4-6 hafta sürer. Bu dönem hastaların tedavi komplikasyonları ve enfeksiyon nedeni ile en çok kaybedildiği dönemdir. BFM-95 protokolünde 1-29. gün arası prednizolon 60 mg/m² /gün; 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33. günlerde *E. coli* ASP 10.000 U/m², 8, 15, 22, 29 günlerde vinkristin 1,5 mg/m² ve daunorubisin 30 mg/m²/gün ve intratekal MTX tedavileri verilir.

Santral sinir sistemi tedavisi

Geçmişte farmakolojik tedavinin yanı sıra hem SSS tutulumu olanlarda hem de profilaksi amacı ile uygulanan 1800-2400 santiGray (cGy) yüksek doz radyoterapi hipotalomohipofizer aks bozuklukları, kemik gelişim bozuklukları, büyüme hız değişiklikleri, beyin kognitif özelliklerinde değişiklikler gibi geç yan etkilerinin gözlenmesi ve beklenen SSS nükslerinin %5 civarında görülmesi nedeni ile düşük risk gruplarından kaldırılmıştır. Profilaksi dozu 1200 cGy, SSS tutulumu olanlarda ise 1800 cGy'e düşürülmüştür. Ayrıca intratekal tedavide bazı protokollerde MTX dışında sitozin arabinozid ve kortikosteroidler kullanılmaktadır (36, 37).

Konsolidasyon

Diğer adıyla güçlendirme tedavisinin amacı saptanabilen blastların temizlendiği varsayılarak ortalama 4 ay süren bir tedavi ile bazı bölgelerde saklı kalabilen tüm blastları temizleyerek olası nüksleri engellemektir. Yüksek doz MTX tedavileri yanında prednizolon, deksametazon, vinkristin, doksorubisin, daunurubisin, sitarabin, ASP, 6-merkaptopürin, 6-tioguanin gibi ilaçlar kullanılır (5).

İdame tedavisi

Konsolidasyon tedavisinin ardından yaklaşık 1,5 yıl süren, remisyonun devamlılığını amaçlayan tedavi bölümüdür. Tedavide oral 6-merkaptopürin (50

mg/m²) her gün ve oral MTX (20 mg/m²) haftada bir gün hastanın lökosit sayısını 2000-3000/mm³ arasında tutacak şekilde uygulanır (38).

Kök hücre nakli

ALL tedavisinde kök hücre nakli, t(9;22) veya t(4;11) translokasyonuna sahip olan, indüksiyon sonrasında kemik iliğinde blast oranı %25'in üzerinde olan, steroide erken yanıt vermeyen yüksek riskli hastalarda ve erken nüks görülen hastalarda yapılır (39, 40).

2.1.10 Komplikasyonlar

Hiperürisemi ve tümör lizis sendromunda hidrasyon, alkalinizasyon sağlanır ve allopurinol kullanılır (41).

Mutlak nötrofil sayısı <500 /mm³ veya mutlak nötrofil sayısı <1000/mm³ ancak <500/mm³ düşmesi bekleniyor ve aksiller ölçümle ateş bir kez ≥ 38.5 °C veya 24 saatlik izlemde (en az 4 saat ara ile) en az 2 aksiller ölçümde >38 °C ise febril nötropeniden bahsedilir. Mortalite oranları %2-10 arasında değişebilen febril nötropenik hastaların tüm kültürleri alınarak geniş spektrumlu antibiyotikler başlanmalı ve klinik durumun uzaması halinde antifungal ilaçlar eklenmelidir (42).

ALL'de sağ kalım oranlarının artması, hastalığa ve tedaviye bağlı nöropsikolojik bozukluklar, kardiyak, endokrin, seksüel ve fertilitate ilgili sorunlar ve ikincil tümörler gibi geç yan etkileri gündeme getirmiştir (43).

2.1.11 Akut lenfoblastik lösemide kanama ve tromboz

ALL'de kanamanın en önemli sebebi lösemik hücre çoğalmasına ya da verilen sitotoksik tedaviye bağlı gelişen trombositopenidir. Ancak lösemik hücrelerden dolaşıma salınan prokoagulan, fibrinoliz aktivatörleri ve proteazlara bağlı meydana gelen hemostatik değişikliklerin ve koagulopatinin bir parçası olarak görülebilir. Ayrıca kanama, sepsis, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve koagülasyon proteinleri sentezinde bozulma gibi tedavi komplikasyonlarına bağlı da oluşabilir (44).

Tromboz daha çok erişkinlerin hastalığı olarak bilinmesine rağmen yapılan son araştırmalar çocukluk yaş grubunda hiç de nadir olmadığını göstermiştir. Tromboz kalıtsal ve edinsel faktörlerin bir araya gelmesiyle ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalıktır. Çocuklara ait tromboembolik komplikasyonlar erişkinlerin tersine daha çok

kalıtsal trombofilik faktörlerle bağlıdır. Ancak yine de çoğunlukla trombozun gelişmesi için kalıtsal eksikliğe ek olarak ciddi bir hastalık (maliy niteler, enfeksiyon, nefrotik sendrom), edinsel inhibitör eksiklikleri veya kateter gibi dış etkenlerin varlığı gerekir. Bu nedenle çocuklarda tromboembolik olaylar protrombotik risk faktörlerini araştırmayı gerektirmektedir (45). Çocuklarda tromboza zemin hazırlayan kalıtsal hastalıklardan en sık aktive protein C rezistansına yol açan FVL mutasyonuna rastlanır. Türkiye'de trombozlu çocuk hastalarda FVL homozigotluğu oranı %5.6, heterozigotluk oranı %21.4'dür. Diğer kalıtsal hastalıklar PG 20210A mutasyonu, PC, PS, AT eksikliği, homosistenemi ve daha nadir olarak disfibrinojenemiler, displasminojenemi, orak hücreli anemidir (46).

Ödem, kızarıklık, ciltte renk değişikliği, ısı artışı, ağrı, hassasiyet, venöz belirginleşme veya santral venöz kateter (SVK) patensinin kaybına neden olan venöz tromboemboli (VTE), trombozun çözülmemesi (%50), nüks, venöz akışın bozulması ve posttrombotik sendrom gibi ciddi morbitide ve mortaliteye neden olabilmektedir (47).

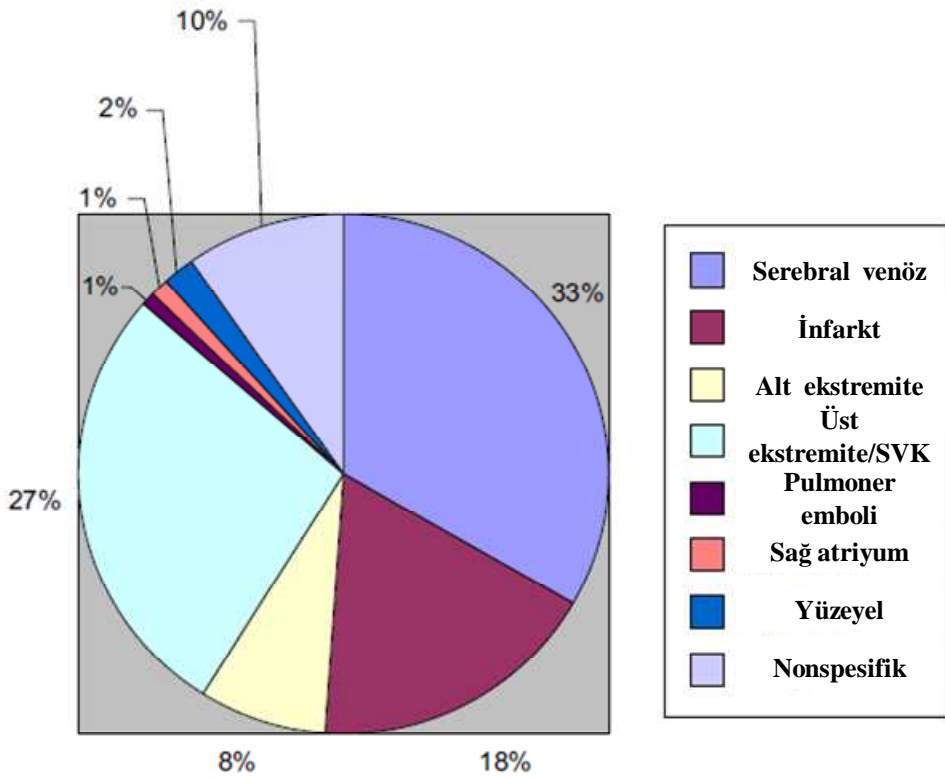
Kanser venöz tromboembolilerin en sık görüldüğü primer hastalıklardan birisidir ve çocuklardaki tromboembolik olayların yaklaşık %17'sini oluşturur (46). ALL çocukluk çağıında venöz tromboemboli ile ilişkili, en sık görülen maliy hastalıktır. ALL'li çocuklarda arteriyel tromboz vakaları bildirilse de trombotik olayların çoğu venöz orijinlidir. ALL'de tromboz gelişimi tümör hücreleri tarafından salınan prokoagulanlar, kateter uygulanması, genetik yatkınlık ve enfeksiyon gibi nedenlere bağlı olabilir; ancak çoğunlukla tedavi ilişkilidir ve sıklıkla SSS'ni ve üst venöz sistemi etkiler (4, 45, 48, 49).

Akut lenfoblastik lösemide venöz tromboemboli prevalansı

ALL'li çocuklarda bildirilen VTE prevalansı, VTE tanı metodları, çalışma yöntemleri ve kemoterapi protokollerindeki farklılıklarından dolayı %1-73 gibi geniş bir aralıkta değişir. Sadece klinik olarak semptomatik VTE prevalansı prospektif çalışmalarda %3-14 arasındadır (50-52). Asemptomatik derin ven trombozları için tarama olarak radyolojik görüntülemelerin yapıldığı çalışmalarda ise prevalans %37-73 arasında değişebilmektedir (53-56).

ALL'li çocuklarda saptanan semptomatik VTE'lerin %33'ü venöz, %18'i serebral infarkt ya da inme şeklindedir. Yaklaşık yarısı SSS'ni ilgilendirir. %27 gibi yüksek bir

oranda SVK ilişkili üst ekstremité venöz sistem trombozları rapor edilmiştir. Geri kalanlarını ise %7,7 alt ekstremité, %2,2 yüzeysel VTE, %1 pulmoner emboli ya da sağ atriyal tromboz oluşturur (Şekil 1) (3). Asemptomatik vakaları içeren yayınlarda vakaların %96,6'sı gibi çok büyük bir bölümü üst venöz sistemi, yalnızca %3,4'ü SSS'ni kapsar. Sağ atriyal trombozlar semptomatik venöz trombozlu hastaların %1-2'sini oluştururken hem semptomatik hem asemptomatik vakaların alındığı çalışmalarda %13,6 gibi çok daha yüksek oranlar görülmektedir (54, 57).



Şekil 1. Akut lenfoblastik lösemi tedavisi alan hastalarda semptomatik venöz tromboemboli yerleri

Kemoterapinin rolü

ALL ilişkili VTE'de kemoterapi ajanlarının rolü VTE'nin neredeyse hepsinin tanı anında değil tedavi sırasında görüldüğünün gözlemlenmesi ile ortaya konmuştur (3). ALL'de VTE vakalarının %90'ı indüksiyonda, kalan %10'u konsolidasyon ve idame tedavileri sırasında görülmektedir (7, 58). Bu nedenle araştırmacılar

kemoterapötiklerin hemostaz üzerine etkisine yoğunlaşmış ve hemostaz üzerindeki değişiklikler tek ajan olarak ASP veya vinkristin ve prednizolon ve/veya antrasiklin ile kombinasyonunda iyi dökümente edilmiştir (7, 14, 59).

Santral venöz kateterler

SVK, kemoterapi, kan ürünleri ve diğer intravenöz tedavilerin verilmesi ve tetkikler için kanların alınmasını kolaylaştırması bakımından oldukça pratik olması nedeni ile ALL'de tedavi standartları arasına girmeye başlamıştır. İnternal (Subkutan port-a-cat) veya eksternal (Broviak/Hikman) olarak takılan SVK hastaların yaşam kalitesini arttırmaktadır. Ancak ne var ki SVK aynı zamanda ciddi morbiditeye neden olabilen enfeksiyon ve VTE ile ilişkilidir. ALL'li çocuklarda SVK ilişkili trombozlar diğer maliyn hastalıklara göre daha sık görülür. SVK ilişkili trombozların çoğu asemptomatiktir ve çoğunlukla kateterin vene giriş yerinde bulunur. SVK ilişkili VTE, tekrarlayan VTE (%4-19), pulmoner embolizm (%8-15), posttrombotik sendrom (%5-25) veya ölümlle sonuçlanabilir (58).

Kalıtsal protrombotik defektlerin rolü

Altta yatan hastalığı olan genel pediatri popülasyonunda semptomatik VTE'ye bakıldığında kalıtsal trombofililer, VTE oluşma ve tekrar riskini artırır (60). Beş prospektif çalışmanın metaanalizine göre ALL'de kalıtsal trombofililer ALL'li çocuklarda VTE riskini yaklaşık olarak 8,5 (4,4-17,4) kat arttırmaktadır (3). Çocuklarda tromboemboli riskini değerlendiren prospektif, çok merkezli bir çalışmaya göre PC, PS, AT eksiklikleri VTE ile oldukça ilişkilidir. Kalıtsal trombofilisi olan hastalarda semptomatik VTE gelişme riski daha fazla (%46,5 ve %2,2 $p<0.0001$); ve birden çok defekti olan hastalarda tek defekti olan hastalara göre VTE riski anlamlı derecede daha fazladır (61). Genel olarak bakıldığında ise ilaçlar, kalıtsal defektler veya kateterin birlikte bulunmaları bu faktörlerin tek tek bulunmasından daha fazla tromboz riskine yol açar (49). Ancak bazı çalışmalarda farklı sonuçlar görülebilmektedir. Örneğin L-asparajinaz ile tedavi edilmiş ALL'li çocuklarda profilaktik antitrombin tedavisi (PARKAA, Prophylactic antithrombin replacement in kids with ALL treated with L-asparaginase) çalışmasında PG 20210A ve FVG169A mutasyonu ve asemptomatik VTE gelişim riski arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. (54, 62)

2.2 L-ASPARAJİNAZ VE GLUKOKORTİKOİDLER

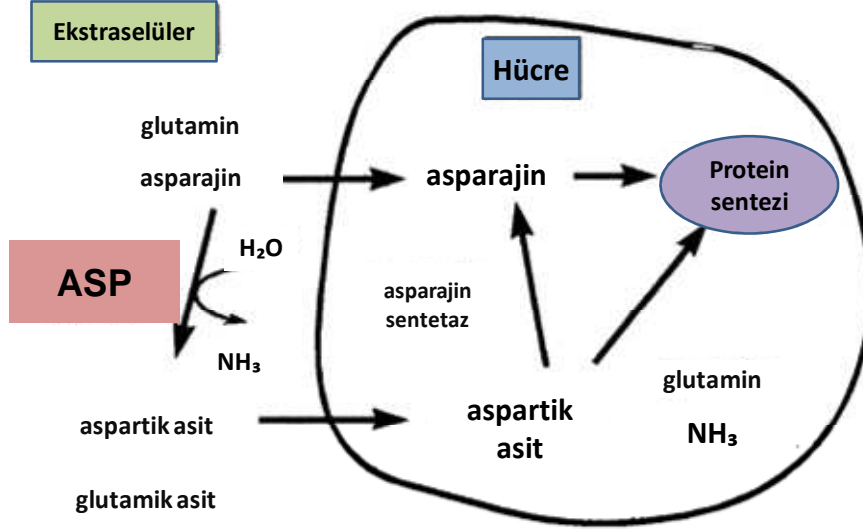
2.2.1 Tarihçe

ASP'nin antikanser ilaç olarak keşfi ve gelişimi ilk kez, Kidd'in 1953 yılında, farelerde oluşturulan lenfomanın Gine domuz serumu verildikten sonra regrese olduğunu gözlemlemesinden sonra başladı (63). 1963 yılında Broome, tümör regresyonunu sağlayan şeyin, asparajini aspartik asit ve amonyağa hidrolize etmek için relatif substrat spesifitesi gösteren ASP isimli enzim olduğunu gösterdi (64). Haley ve arkadaşları (65) L5178Y lösemik hücrelerin in vitro büyümesi için asparajine ihtiyacı olduğunu gözlemledi. 1964'de Mashburn ve Wriston'un ASP'ı diğer kaynaklardan elde etme çabaları sonuç verdi ve enzim *E. coli*'den izole edildi (66). Aynı klinik etkiye sahip olan enzimin bol miktarda elde edilebilmesi geniş klinik çalışmaların önünü açmış oldu. Belli neoplastik hücrelerin kendi metabolizmaları için gerekli olan aminoasit asparajini yeterli sentezleyemediği ve ASP nedeni ile meydana gelen asparajin eksikliğinin hücre fonksiyonlarının yitirilmesine ve hücre ölümüne yol açtığı anlaşılmış oldu (67). 1970'lerin başında ASP, ALL ve non-Hodgkin lenfomalı çocuklardaki kombine kemoterapi protokollerine girdi (35). Daha sonra enzim *Erwinia carotovora* diğer adıyla *Erwinia chrysanthemi*'den elde edildi (68). Son olarak da hipersensitivite reaksiyonları durumunda daha çok tercih edilen polietilen glikol (PEG) konjuge enzimleri geliştirildi (6).

2.2.2 Biyokimyasal ve farmakolojik özellikleri

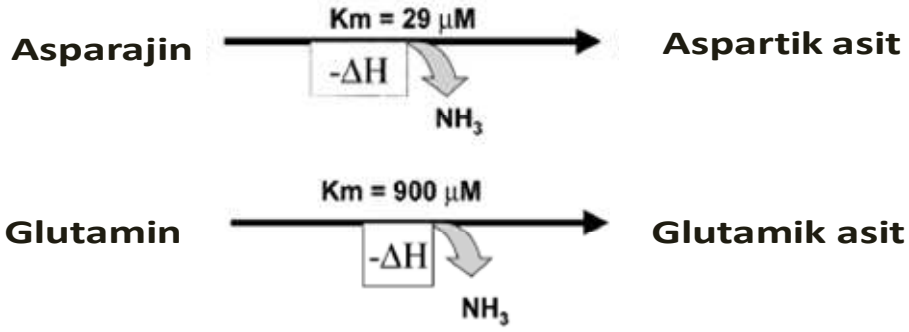
ASP, doğal olarak bir çok bitki, hayvan ve mikroorganizmada bulunan, her biri aktif bir merkez içeren dört subünitten oluşan ve moleküler ağırlığı 138000-141000 Da (Dalton) olan bir enzimdir (69). Bir çok normal hücre protein sentezi için yeterli L-asparajini asparajin sentez ile sentezleyebilir ya da diyetle dışardan alarak absorbe eder ve vücut için uygun hale getirir. Ancak tümör hücreleri özellikle de lenfoid maligniteler, hızlı malign büyümelerini gerçekleştirebilmek için hem çok daha fazla miktarda L-asparajine ihtiyaç duyarlar, hem de normal hücrelerde bulunan asparajin sentez enzimine sahip olmadıkları için asparajin aminoasitini sentezleyemezler. Bir başka deyişle asparajin aminoasiti normal hücreler için nonesansiyel iken lenfoid malign hücreler için esansiyel bir aminoasittir (70). Bir kemoterapötik ajan olarak

ASP enzimi dolaşımdaki asparajini aspartik asit ve amonyağa hidrolize ederek bu maliyn hücrelerin protein sentezi için gerekli olan asparajinini tüketir ve maliyn hücreler kendi asparajinini sentezleyemedikleri için sonuçta DNA ve RNA sentezi ardından protein sentezi bozulur ve hücre fonksiyonları bozularak sonunda hücre ölümü gerçekleşir (Şekil 2) (67).



Şekil 2. L-asparajinazın hücrede etki mekanizması

Gine domuz serumunda bulunan bir ASP dışında tüm ASP'lar aynı zamanda glutaminaz aktivitesine sahiptir. Ancak bu enzim aktivitesi asparajinaz aktivitesinin %3-9'u kadardır (71). Yüksek ASP dozları serum glutaminini de tüketir, çünkü serum asparajin tüketimi enzimin verilmesinden sonraki birkaç dakika içinde zaten gerçekleşmiştir ve glutamin substrat olarak ortamda bolca bulunmaktadır (Şekil 3) (72). Enzimin istenmeyen ciddi yan etkilerinden bu glutaminaz aktivitesi sorumludur. Bir ASP preparatı için yüksek asparajinaz aktivitesi, düşük glutaminaz spesifitesi ve kanda uzun bir yarı ömrü olması idealdir (67).



Şekil 3. L-asparajinazın glutaminaz aktivitesi

ASP intramuskuler veya intravaskuler yol ile uygulanabilir. İntramuskuler uygulamadan sonra plazma düzeyleri intravenöz uygulamaya göre olanın yarısı kadardır. ASP uygulamadan sonra büyük oranda vasküler boşlukta kalmakla birlikte plevral sıvı ve asit sıvısında da saptanabilir. ASP'ın eliminasyonu büyük oranda retiküloendotelial sistemden gerçekleşir (73).

2.2.3 L- Asparajinaz preparatları

ASP'ın klinikte kullanılan farmakokinetik ve immunojenite açısından farklılıklar gösteren üç farklı formu vardır (Tablo 7) (67). *Erwinia chrysanthemi*'nin *E. coli* kadar etkili ancak daha az toksik olduğunu söyleyen çalışmalar varsa da son yapılan önemli bir çalışmada *E. coli* ASP verilen lösemili olgularda daha fazla koagülasyon anormalliğine rastlanmasına rağmen, *Erwinia* ASP kullanılan olgulara göre uzun süreli sağ kalımın anlamlı daha yüksek olduğu gösterilmiştir (74, 75). 1980'lerde klinik kullanıma giren PEG ASP ise *E. coli* enziminin polietilen glikol ile konjugasyonu yani pegilasyon ile elde edilir. Bu modifikasyon ilacın aktivitesini korurken immunolojik potansiyelini azaltır ve yarı ömrünü oldukça uzatır (76). Diğerlerine göre çok daha pahalı olan bu ilaç tedavi protokollerinde yer almaya başlamıştır (6).

Tablo 7. L-asparajinaz preparatlarının farmakolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Kaynak	Moleküler ağırlık (Da)	Km ASP	Km Glutamin	Yarı ömür (Gün)
<i>E.coli</i>	141 000	10	6,25	1,24 ±0,17
<i>E.chrysanthemi</i>	138 000	12	1,1	0,65 ±0,13
PEG- <i>E.coli</i>	145 000	10	-	5,73±3,24

2.2.4 Toksikite

ASP'ın toksisitesi, yabancı bir protein olarak antijenik özellik göstererek immunolojik cevap oluşturması ve protein sentezi inhibisyonuna bağlı olmak üzere iki ana nedene bağlıdır (72). Antihistaminiklerle tedavi edilebilen basit ürtikerden tedavinin spesifik ASP formları ile değiştirilmesine neden olabilen ciddi reaksiyonlara kadar değişebilen hipersensitivite reaksiyonları %13-30 oranında görülmektedir (77). Tablo 8'de ASP'ın yan etkileri verilmektedir (6, 77).

Tablo 8. L-asparajinaz toksisiteleri

1.Hipersensitivite

- Ürtiker
- Bronkospazm
- Hipotansiyon

2.Karaciğer fonksiyon bozukluğu

- Hipoalbuminemi
- Lipoprotein anormallikleri
- Transaminaz, bilirübin ve alkalen fosfataz yüksekliği

3.Koagulasyon faktör ve protrombotik faktör eksiklikleri

4.Pankreatit

5.Serebral disfonksiyon

- Letarji
- Koma
- Nöbet

6-Parotit

7-İmmun supresyon

2.2.5 Koagulasyon sistemi üzerine etkisi

ALL tedavisinde ASP, hepatik proteinlerin sentezini azaltarak hemostazda değişikliklere neden olur. ASP'ın tromboza yatkınlık sağlamasının nedeni başta AT ve PC olmak üzere endojen antikoagulanların sentezini azaltmasıdır. Paradoksik bir şekilde ASP, fibrinojen seviyelerinde düşmeye neden olarak koagulasyonda gecikmeye ve kanama riskine de neden olmaktadır. Ancak fibrinojen düzeylerindeki anlamlı düşmeler (<50 mg/dl) protein sentezindeki inhibisyonun ciddiyetini ve özellikle de AT'nin sentezindeki belirgin inhibisyonu gösterdiği için hipofibrinojenemi tromboz gelişme riskinin arttığını gösteren bir bulgu olarak kabul edilebilir (9).

Hemostatik proteinlerdeki bu anlamlı değişimlere rağmen ALL'de ASP ilişkili ciddi kanama ve trombozlar beklenen ölçüde sık görülmez. *E. coli* ASP %2,1-15, PEG ASP %1,1-4 oranında trombotik komplikasyonlara yol açar. ASP ilişkili koagulopatilerden her zaman tromboz daha çok görülür ve hiperhomosistenemi, PC, PS, AT eksikliği, FVL, PG 20210A mutasyonu gibi kalıtsal koagulasyon bozukluğu olan hastalarda tromboz daha sık gelişir (61). Serebral venöz sinüsdeki SSS trombozları ASP ilişkili trombozların bir özelliğidir ve hastaların %1-3'ünde görülür.

ASP kullanan ALL'li olgularda SVK varlığı ve steroid (Özellikle prednizolon) kullanımını tromboz riskini artırır. Tablo 9'da ASP dozları, ilaç kombinasyonları ve VTE gelişme oranları görülmektedir (58).

Son yıllarda yayınlanmış bir çalışmada ASP ile ilişkili trombotik olaylar 10-18 yaş arasındaki çocuklarda %11, daha küçük çocuklarda %2 oranında bildirilmiştir (78).

AT içeren TDP gibi önleyici tedavilerle plazma antikoagulan ve prokoagulanlarını dengeleyerek tromboz insidansı azaltılabilir. Yüksek miktarda fibrinojen ve biraz asparajin içeren kriyopresipitat ASP nedenli kanama ve tromboz profilaksisi için yararlı olabilir (79). Bir çalışmada profilaktik AT tedavisi verilen ALL'li hastalarda tromboz insidansı %28 iken, verilmeyen grupta %37 bulunmuştur (57). Bu çalışmada profilaktik AT kullanımının etkili ve güvenli olduğu gösterilmiş olsa da daha sonraki çalışmalarda aynı etkinlik gösterilememiş ve günümüzde profilaktik AT tedavisi rutin olarak önerilmemektedir.

Tablo 9. L-asparajinaz doz uygulamaları, birlikte kullanılan ilaçlar ve venöz tromboemboli oranları

Araştırmacı	Kaynağı	ASP dozu(IU/m ²) ve süresi	Diğer ilaçlar	Protokol	VTE'li olgular (%)
Zaunschim (80)	Erwinia im	5000/gün(21 x)	VCR/Pred/DNR	İndüksiyon	0/13
Legnani (81)	E.coli im	3x6000/hafta(9 x)	VCR/Pred	İndüksiyon	0/12
O'Meara(82)	Erwinia im	5000/gün(21 x)	VCR/Pred/DNR	İndüksiyon	0/12
Semeraro(83)	E.coli im	3x6000/hafta(9 x)	VCR/Pred	İndüksiyon	0/10
Sutor(7)	E.coli iv	3x10000/hafta(8 x)	VCR/Pred/DNR	İndüksiyon	0/14
Risseeuw(84)	Erwinia im	3x10000/hafta(8 x)	VCR/Pred/DNR	İndüksiyon	0/10
Pui (85)	E.coli iv	2-3x10000/hafta(4-9x)	VCR/Pred	İndüksiyon	11/460(18,3)
Miniero(86)	E.coli im	3x6000/hafta(9 x)	VCR/Pred	İndüksiyon	3/53 (5,7)
Nowak-Göttl(87)	E.coli iv	3x10000/hafta(8 x)	VCR/Pred/DNR	İndüksiyon	5/46 (10,9)
Nowak-Göttl(61)	E.coli iv	3x5000/hafta(8 x)	VCR/Dexa/DNR	İndüksiyon	27/289 (9,3)
Nowak-Göttl(88)	E.coli iv	3x5000/hafta(8 x)	VCR/Pred/DNR	İndüksiyon	1/56 (1,8)

2.2.6 Glukokortikoidler ve koagulopati

Glukokortikoidler 1940'ların sonundan itibaren başlangıçta kortizon ve adrenokortikoid hormon daha sonra prednizon ve bazen deksametazon olmak üzere çocukluk çağı lösemilerinde kullanılmaktadır ve ALL tedavisinin önemli bir parçasını oluşturmaktadır (89).

Glukokortikoidler hücre membranından içeriye difüzyon ile girdikten sonra sitoplazmadaki glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak bir kompleks oluşturur. Bu kompleks nükleusa geçtikten sonra DNA'ya bağlanır ve DNA endonükleazlar tarafından parçalanır. Böylece DNA tamir mekanizmaları devreye girer ki bu ciddi NAD ve ATP kaybına yol açar. DNA'nın parçalanması ve ciddi enerji kaybı hücreyi apoptoza götürür. Bu glukokortikoidlerin antilösemik aktivitesinin en çok kabul gören mekanizmasıdır (90).

Kortikosteroidler prokoagulan faktörlerin düzeyini arttırarak trombotik olay riskini arttırır aynı zamanda hipofibrinojenemiye neden olarak kanamaya yol açarlar (91).

ALL tedavisinde kortikosteroidlerin *E. coli* ASP ile birlikte kullanımında her iki kortikosteroid kıyaslandığında meydana gelen protrombotik durum (prokoagulan faktörlerin artması, fibrinolitik potansiyelin azalması) prednizolonda deksametazona göre daha belirgindir. Kortikosteroidlerin inflamatuvar reaksiyonlar üzerine inhibitör etkisi bulunmaktadır. Kıyaslandığında deksametazon prednizolona göre daha belirgin glukokortikoid etkiye sahiptir ve bu deksametazonun VTE gelişimi açısından daha koruyucu bir etkiye sahip olduğunu açıklayabilir (88). Farklı glukokortikoidlerle

hemostatik etki ve VTE riski arasında karşılaştırma yapacak randomize çalışma olmamakla birlikte iki BFM çalışmasındaki karşılaştırmada indüksiyonda VTE riski prednizolona göre deksametazonda daha düşük bulunmuştur. (ALL BFM protokolü 2000-Deksametazon:%1,8, ALL BFM 90/95 protokolleri Prednizon %10,4; p=0.001). Caruso ve arkadaşlarının yeni yayınladığı metaanalizinde indüksiyonda kullanılan glukokortikoidlerle VTE prevalansı arasında anlamlı fark bulunamamış ancak postindüksiyon fazında prednizonun VTE riskinde artışa neden olduğu saptanmıştır. (%12,2 ve %1,6; p=0.001) (3).

ASP ve steroid birlikte kullanıldığında semptomatik tromboz riski 8-10 kat artmaktadır (3).

2.3 PROTEİN Z VE KOAGULASYON SİSTEMİ

2.3.1 Tarihçe

PZ ilk defa Prowse ve Esnouf tarafından 1977 yılında sığırdan izole edildi (10). İnsan PZ'sinin izole edilmesi ise Broze ve Miletich tarafından 1984'leri buldu (92). Tam aminoasit zinciri 1990 yılında Sejima ve arkadaşları (93) ve Ichinose ve arkadaşları (94) tarafından tanımlandı.

2.3.2 Yapısı, fonksiyonu ve etki mekanizması

Oldukça ayrıntılı analiz edilen sığır PZ'si 396 aminoasit kalıntısı içerir ve 50 kDa ağırlığındadır. İnsan PZ'si %59 sığır PZ'si ile homologtur. İnsan PZ'si sığır PZ'sine göre COOH terminalinde olmak üzere 36 rezidü daha kısadır ve yalnızca 360 aminoasit içerir. İnsan PZ'si, 62 kDa ağırlığında, dolaşımdaki yarı ömrü 2-3 gün olan tek zincirli bir glikoproteindir. Hemostaz proteinlerinin çoğunda bulunan karboksiglutamik asit (Gla) aminoasitinin posttranslasyonel formasyonu için K vit gereklidir. PZ de K vit bağımlı bir hemostaz proteindir (12, 95, 96). PZ'nin majör kaynağı karaciğer olmakla birlikte endotel hücreleri tarafından da muhtemel sentezi vardır (97).

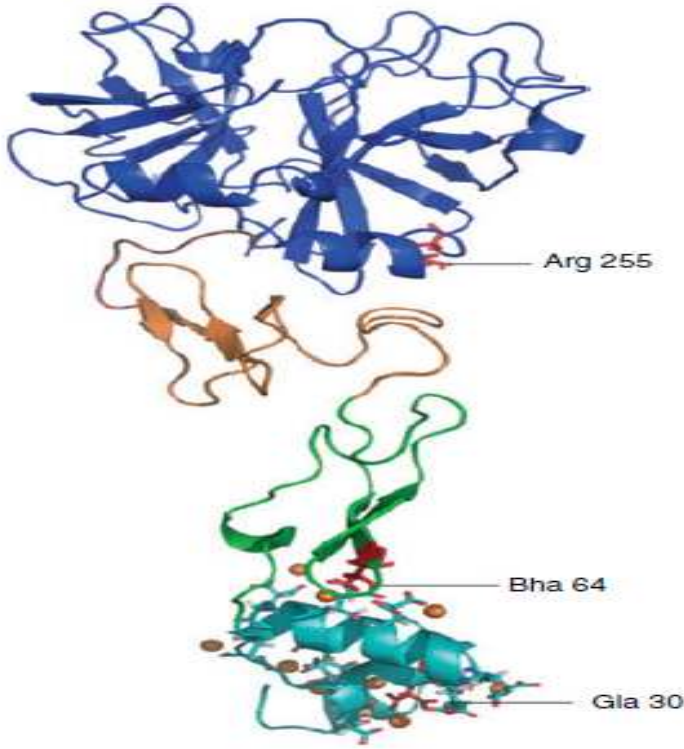
İnsan PZ'si dört bölgeden oluşur (Şekil 4) (98).

1-Gla alanı: Kalıntı 1- 46 arasında, molekülün NH₂ terminalinde bulunan ve diğer serin proteazlarla oldukça benzer olan ana yapısal alandır. Pozisyon 7, 8, 11, 15, 17, 20, 21, 26, 27, 30, 33, 35 ve 40'da Gla kalıntıları bulunur. Pozisyon 30'daki Gla, Gla alanı stabilizasyonu ve kalsiyum (Ca) etkileşimi için önemlidir. Pozisyon 11'deki Gla kalıntısı PZ'nin diğer K vit bağımlı proteinlerle karşılaştırıldığında 100 kat daha yavaş bir membran bağlanma ve disosiyasyon kinetiği göstermesini sağlar.

2- EGF 1 (Epidermal büyüme faktörü) benzeri modül: Kalıntı 47-83 arasındadır. Bu alanın yapısal özelliği Serin 61 ve Treonin 72 arası antiparalel beta sheet ve Lizin 51 ve Serin 53 arası alfa heliks yapısıdır. Bu da PZ'nin kristal yapısı ile uyumludur. 64. kalıntıda beta hidroksi aspartat (Bha64) mevcuttur. İnsan PZ'sinin EGF1 alanının özelliği FVII, FIX ve FX'un EGF1 alanlarının aksine Gla'dan bağımsız Ca bağlama alanları içermemesi, yani Ca bağlamamasıdır. Dolayısı ile PZ'deki EGF1 alanındaki Ca herhangi yapısal bir rol oynamaz sadece Bha64 etrafındaki negatif yükün dengelenmesini sağlar. Ca yokluğunda Bha64 negatif yükü dengelemek için Serin 49:OG ile güçlü hidrojen bağı ve Arjinin 44 ile tuz köprüsü oluşturur. PZ'nin Gla alanı EGF1 benzeri modüle bağlandığında Ca için daha yüksek afinite gösterir. Bu da EGF benzeri alanın N terminalinin PZ'nin temel konformasyonu ve PZ'nin Gla alanının afinitesi için gerekli olduğunu göstermektedir.

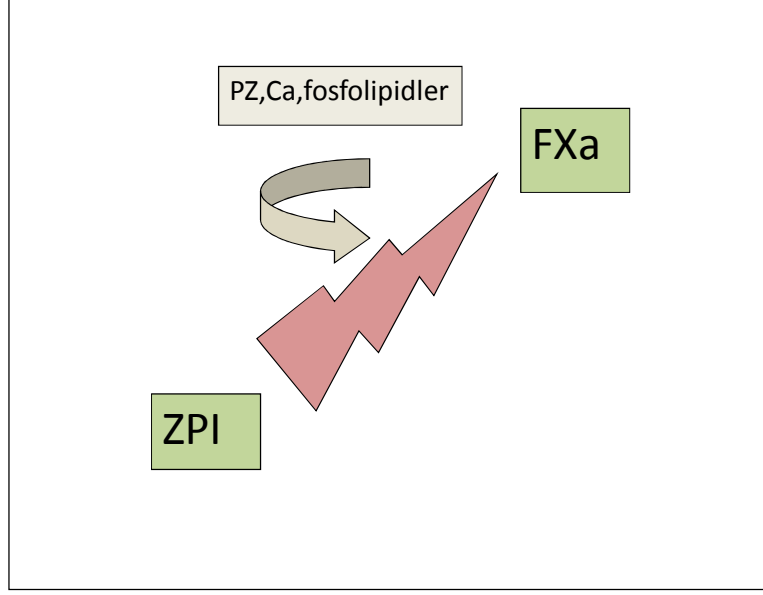
3-EGF 2 benzeri modül : Kalıntı 85-126 arasında bulunur.

4- Serin Proteaz benzeri modül: Kalıntı 135–360 arasında molekülün COOH ucundadır. Arjinin 255 ile güçlü hidrojen bağları yapıldığı için önemlidir. 149. kalıntıdan COOH terminale dek K vit bağımlı serin proteazların özellikle de faktör IX ve PC'nin katalitik alanları oldukça benzer. Ancak serin proteazların aktif merkezinde, 221'de aspartik asit korunurken, histidin 57, lizin 178 ile serin 195, aspartik asit 313 ile yer değiştirmiştir. Bu da PZ'nin bir serin proteaz zimojen olmadığını ancak PZ'nin bir serin proteaz bağlama proteini ya da PC gibi hücrelerin fosfolipid yüzeylerinde bazı proteolitik reaksiyonlar için substrat olarak rol oynadığı olasılığını göstermektedir (93, 94, 98-100).



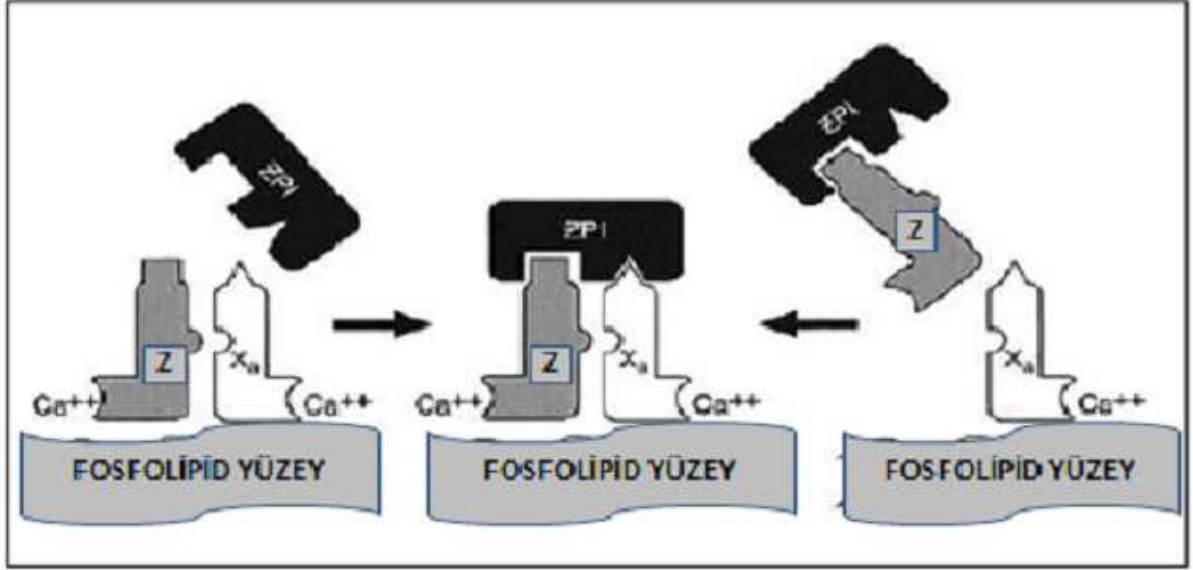
- Bha 64:** EGF 1 benzeri modülde 64. kalıntıda beta hidroksi aspartat
Gla 30 alanı: Gla alanında stabilizasyon ve Ca etkileşimi için önemlidir
Arg 255: Serin protez benzeri modülde güçlü hidrojen bağlarının yapıldığı yer
- Şekil 4.** Protein Z'nin üç boyutlu yapısı

PZ'nin tanımlanması 30 yılı aşkın bir süre önce olmasına rağmen fizyolojik rolü çok uzun süre tam anlaşılamamıştır. Koagulasyon kaskadı üzerindeki rolü 1990'larda PZ bağımlı proteaz inhibitörün (ZPI) izole edilmesi ve FVL homozigot ve PZ'si eksik farelerde protrombotik fenotipin tanımlanması ile ortaya konmuştur (101, 102). Han ve arkadaşları (101) tarafından 1998'de tanımlanan ZPI, 72 kDa moleküler ağırlığında tek zincirli bir glikoprotein olup serpin ailesinden bir proteaz inhibitörüdür. Keşfinden 1 yıl sonra aynı grup tarafından karaciğerde sentezlenen bu proteinin 2,44 Kilobaz (Kb) uzunluğunda, kromozom 14q32.1 üzerinde lokalize olan geni gösterilmiştir (103). ZPI aktive faktör X'u heparinden bağımsız, PZ bağımlı bir mekanizma ile inhibe etmektedir. PZ, ZPI'ün FXa'yı inhibisyonunu 1000 kat artırır. ZPI, FXa'yı PZ, Ca ve fosfolipidlerin varlığında çok kısa sürede inhibe eder (Şekil 5) (104-106).



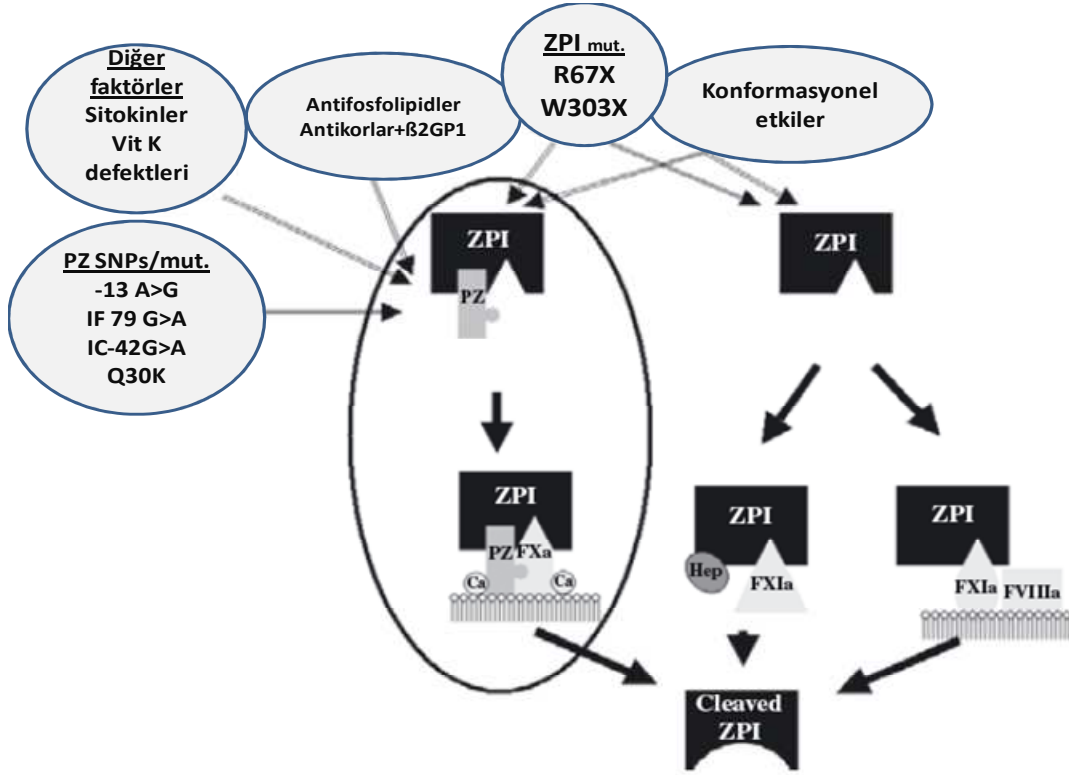
Şekil 5. Protein Z bağımlı proteaz inhibitörün aktive faktör X'u protein Z, kalsiyum ve fosfolipidlerin varlığında inhibisyonu

FXa'nın PZ aracılı olarak ZPI tarafından inhibisyonu için iki olası yol tanımlanmıştır. Birinci olasılıkla önce FXa ile PZ birleşmekte ve daha sonra bunlara ZPI katılmaktadır. İkinci olasılıkla ise dolaşımdaki PZ/ZPI kompleksi fosfolipid yüzeylere bağlanarak FXa ile etkileşime girmektedir. İkinci olasılığın plazma ortamında daha baskın olduğu düşünülmektedir. Her ikisinde de fosfolipid yüzeylerde PZ-ZPI-FXa kompleksi oluşmaktadır (Şekil 6) (106-108).



Şekil 6. Aktive faktör X'un protein Z aracılı olarak protein Z bağımlı proteaz inhibitörü tarafından inhibisyonu için iki olası yol

İnsan ZPI'ü aktif merkezinde tirozin olmak üzere 423 aminoasit kalıntısı içerir (11). %25-35 oranında diğer serpin proteinleri ile homologtur ki bu da yeni bir üye olarak serpin ailesine dahil edilmesi ile uyumlu bir bilgidir. ZPI/PZ etkileşimini etkileyen pek çok faktör vardır (Şekil 7) (109). Üstelik diğer serpinlerin aksine, ZPI-FXa kompleksi stabil değildir ve proteolitik olarak ayrılmış ZPI'ün ortama salınmasına neden olur. ZPI, aynı zamanda FIXa ve FIXa'yı PZ, Ca⁺⁺ ve fosfolipid gerektirmeyen ve tipik serpin proteaz etkileşimi ile yürümeyen bir mekanizma ile inhibe eder (110).



Şekil 7. Protein Z /Protein Z bağımlı proteaz inhibitör antikoagulan sistemi

Trombin üretimi protrombin, FV, fosfolipid ve Ca⁺⁺ içeren PZ/ZPI kompleksi ile azalır. Bu durum insan plazmasında koagulasyon yanıtını baskıladığı için PZ eksikliği durumunda tromboembolik komplikasyonların gelişebileceği görüşünün ortaya atılmasına neden olmuştur (11).

PZ, aynı zamanda Ca⁺⁺ bağımlı bir şekilde fosfolipid yüzeyler ile trombin arasında ilişkinin oluşumunu sağlayarak koagulasyon sisteminin sağlıklı bir şekilde işlemesini sağlar (12). Bu durumun gösterilmesinden sonra eksikliğinin kanama eğilimine neden olabileceği konusundaki araştırmalara da ilgi artmıştır (111-113).

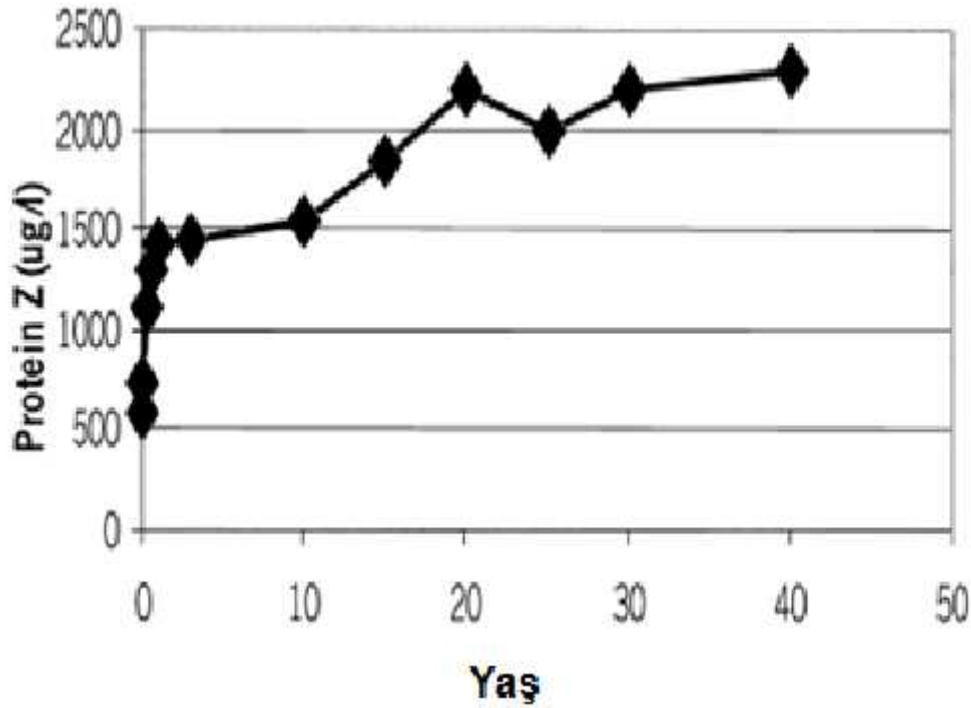
2.3.3 Plazma düzeyi

PZ düzeyinin oldukça geniş bir aralığı vardır (1-4 µg/ml) ve hemostazdaki rolünün kesinleşmesindeki zorluk buradan kaynaklanmaktadır (114, 115). PZ düzeyleri ELİSA yöntemi ile ölçülebilmektedir, ancak fonksiyonunu gösteren bir test henüz yoktur. Normal erişkin grubundaki ortalama PZ düzeyleri aşağıda verilmiştir (Tablo 10) (116).

Tablo 10. Farklı çalışmalarda protein Z düzeyleri

Araştırma	Olgu sayısı	Yaş (yıl)	PZ($\mu\text{g/ml}$)(ort \pm SD)
Miletich ve Broze (114)	455	19-80	2,90 \pm 1,0
Kemkes-Matthes (112)	36	43,1 \pm 20,2	2,68 \pm 0,49
Gamba ve ark.(113)	27	30	2,54 \pm 0,77
Vasse ve ark. (117)	88	36,5	2,29 \pm 0,64
Ravi ve ark. (111)	200	34,8 \pm 9,5	1,424 \pm 0,506
Le Duchez ve ark. (118)	276	37,1 \pm 18,4	2,11 \pm 0,59

PZ düzeyi yaşamın ilk aylarında hızla yükselir (>1000 $\mu\text{g/L}$) ve çocukluk döneminde yavaş yükselişini sürdürerek ortalama erişkin düzeyine pubertede erişir (Şekil 8) (104).



Şekil 8. Protein Z'nin yaşlara göre düzeyleri

Erişkinlerde yaşın PZ düzeyi üzerine minimal etkisi olduğu düşünülse de yaşla birlikte azaldığını belirten bir çalışma vardır (114, 119). Sağlıklı erişkinler arasında yapılmış çalışmaların çoğunda PZ düzeyleri ve cinsiyet arasında bir anlamlı bir fark

bulunmamakla birlikte erkeklerde plazma PZ düzeylerini yüksek bulan ve kadınlarda yüksek bulan çalışmalar da mevcuttur (115, 120).

PZ düzeyi özellikle de düşük doğum ağırlığı olan bebeklerde ve preeklantik anne bebeklerinde daha belirgin olmak üzere yenidoğanlarda belirgin olarak düşüktür (121, 122).

PZ düzeyi karaciğer hastalıkları ve nefrotik sendromda düşüktür (123, 124). Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda PZ düzeyinin düştüğü ancak hemodiyaliz uygulanan ve uygulanmayanlar arasında anlamlı fark olmadığını gösteren bir çalışma olmakla birlikte, PZ düzeyinin hemodiyaliz alan hastalarda arttığını gösteren bir başka çalışma da mevcuttur (125, 126). Periton diyalizinin PZ düzeyini değiştirmedeği bildirilmiştir (127).

Talasemili hastalarda iyi bilinen PC eksikliğine benzer şekilde PZ düzeyi de düşüktür (128). PZ düzeyi solid malign tümörlerde düşüktür ve hastalığın ilerleyen evrelerinde bu düşüş daha belirginleşir (129). PZ düzeyi ayrıca dissemine intravasküler koagülasyon, amiloidoz ve oral antikoagulan tedavisi sırasında azalır (108, 114). Oral kontraseptiflerle PZ plazma düzeyi yükselir (130).

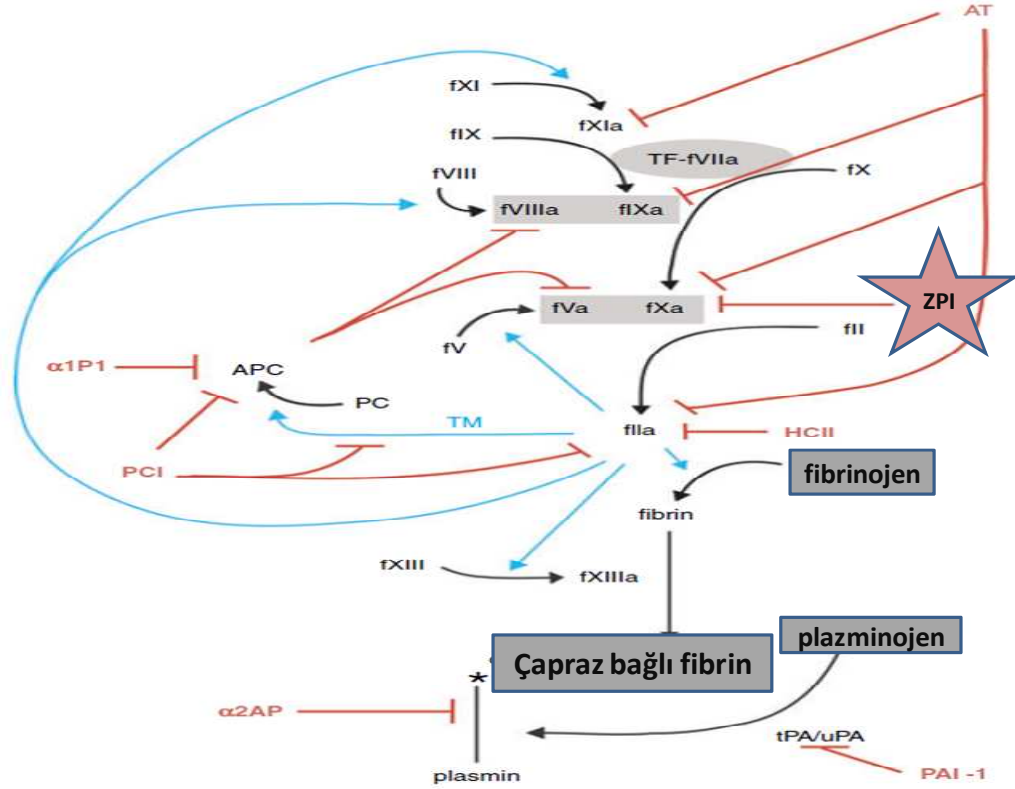
2.3.4 Protein Z ve hemostaz

Hemostaz ve fibrinoliz uygun kan akışını sağlayan kompleks bir seri enzimatik reaksiyon sonucu gerçekleşen biyolojik süreçlerdir. Bu süreçlerdeki proteolitik ve inhibitör reaksiyonlar arasındaki nazik dengenin bozulması tromboz ya da anormal kanama gibi patolojik sonuçlara yol açar. Bu yollardaki enzimatik reaksiyonlar lokal kofaktörler ve serpinler tarafından kontrol edilen serin proteazlar üzerinden yönetilmektedir (131).

Koagülasyonun son hedefi fibrin polimerizasyonu olsa da, koagülasyon yolunun en önemli ve kritik basamağı trombin üretimidir. Trombin, FXIII'ü aktive ederek fibrinojenin fibrine dönüşümünü sağlar. Trombin üretimi, damar hasarı meydana geldiğinde subendoteldeki doku faktörüne kanın teması ile başlar. Doku faktörü aynı zamanda aktive trombositler ve lökositler tarafından da salınır. Bu nedenle koagülasyon inflamasyon ile de başlayabilir. Doku faktörü, FVIIa ile kompleks yapar ve FX'u aktive eder. FVa ve FXa birlikte protrombinaz kompleksi oluşturur ve protrombini (FII) trombine (FIIa) dönüştürür. Trombosit FV, FVIII, FXI'i daha da aktive ederek trombin oluşumunu artırır. Trombosit yüzeylerin doku faktörü-VIIa veya FXIa

tarafından daha önce aktive edilmiş FIXa ve FVIIIa Ca varlığında trombosit tenaz kompleksi yapmak üzere trombosit yüzeylerinde birleşir. Trombosit tenaz daha fazla FX'u aktive eder ve bu da FVa ile birlikte trombin patlamasını oluşturur. Stabil hemostatik pıhtı oluşumu için kritik olan budur (132).

Koagulasyon ana olarak AT, doku faktör yol inhibitörü (TFPI), PC yolağı, heparin kofaktör II (HC II) ve ZPI tarafından düzenlenmektedir (Şekil 9) (133). PC inhibitör ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 trombinin inhibe ederek düzenlemeye katkıda bulunur. Prokoagulan, antikoagulan ve fibrinolitik proteinler arasındaki kompleks düzenlemeyi sağlayan doğal antikoagulan sistemlerden en son keşfedilen sistem PZ/ZPI kompleksidir. PZ/ZPI sistemi aktive faktör X,XI, ve IX'u farklı mekanizmalarla inhibe eden yeni bir antikoagulan sistemdir denebilir. AT ve PC/PS antikoagulan sistemleri gibi ZPI serpininin ya da kofaktörü olan PZ'nin eksikliği hemostatik sistemin dengelerini bozarak trombotik sonuçlara yol açabilir (104).



Şekil 9. Hemostazın serpinler tarafından düzenlenmesi

2.3.5 Polimorfizm ve Faktör V Leiden ile ilişkisi

PZ geni kromozom 13q34'de lokalizedir ve yaklaşık 14 Kb uzunluğunda ve bir alternatif ekson içeren dokuz eksondan oluşur (134). İnsan PZ geni oldukça polimorfiktir. PZ lokusundaki genetik faktörler ve kişisel farklılıklar PZ düzeylerinin plazma düzey aralığının bu kadar geniş olmasının bir nedeni olabilir (115). Ulusal Sağlık Örgütü'nün tek nükleotid polimorfizmi (Single nucleotide polymorphism:SNP) datasında insan PZ geninde 110 ve PZ geninin yakınında da 14 tane olmak üzere 124 SNP tanımlanmıştır (109). Çalışmalar A-13G ve G79A polimorfizmleri ve PZ plazma düzeyi arasında bir ilişki saptamış; PZ'nin en düşük düzeyinin A-13G'nin GG ve G79A'nın AA genotipi ile ilgili olduğu bildirilmiştir (135, 136). İntron C (G-42A) en düşükü genotip AA ile ilişkili olmak üzere farklı PZ düzeyi ile ilişkilidir (137). E30 Q mutasyonu PZ'si düşük bir hastada saptanmıştır (138). Gla 30 kalıntısının Lizin kalıntısı (E30K) ile yer değiştirmesi defektif PZ sekresyonu ile ilişkilidir (139). FVL mutasyonu olan ve tromboembolik komplikasyonu olan hastalarda sık görülen R255H polimorfizmi PZ'nin lokal elektrostatik yükünü modifiye eder ve ZPI ile etkileşimini bozar (140). FVL mutasyonu ve PZ eksikliği birlikteliğinin protrombotik fenotipini belirgin bir şekilde arttırdığı, tromboembolik olaylarla daha erken yaşta karşılaşılmasına ve daha ciddi trombozların görülmesine neden olduğu rapor edilmiştir (102, 141).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Araştırmanın türü

Bu araştırma yeni ALL tanısı almış olan çocuklarda plazma PZ düzeyleri ile ASP ve steroid tedavisi arasındaki ilişkiyi araştıran, Dokuz Eylül Üniversitesi Çocuk Hematoloji BD ve Dr Behçet Uz Çocuk Hastanesi Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Kliniğinde yapılan çok merkezli, prospektif ve kontrollü bir çalışmadır.

3.2 Çalışma ve kontrol grubunun seçilmesi

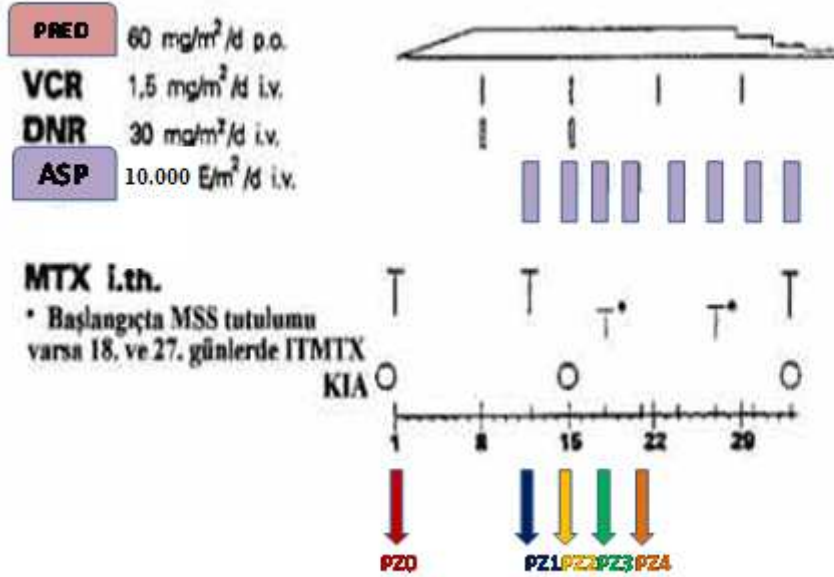
Çalışmaya Mart 2008 - Mayıs 2009 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji BD ve Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Kliniği tarafından takip ve tedavisi yapılmakta olan ALL'li hastalar dahil edildi. Çalışma grubuna yeni ALL tanısı almış ve ALL BFM-1995 protokolü indüksiyon tedavisi alacak olan 24 çocuk alındı. Ek kronik hastalığı, karaciğer, böbrek yetmezliği, malnütrisyonu, dissemine intravasküler koagülasyonu olan ve indüksiyon tedavisinin ilk 21 günü boyunca TDP alan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çocuk polikliniğine muayene için başvuran, tetkik için kan örneği alınan, akut ya da kronik sistemik hastalığı ve ilaç kullanımı olmayan ve ailesinde hematolojik hastalık bulunmayan, hasta grubu ile yaş ve cinsiyet açısından uyumlu 39 çocuk kontrol grubu olarak alındı.

Ateş yüksekliği sırasında fokal odağı veya C-reaktif protein (CRP) yüksekliği veya kültür pozitifliği olan hastalar enfeksiyonu olan hastalar olarak kabul edildi. Çalışma grubu bu kriterlere göre enfeksiyonu olanlar ve olmayanlar olarak gruplandırıldı. İndüksiyon tedavisi sırasında 21 gün boyunca trombosit alan ve almayan ALL'li hastalar ayrıca değerlendirildi.

3.3 Örneklerin toplanması ve saklanması

Çalışma grubundan ALL BFM-1995 kemoterapi protokolü tedavi şemasına göre (Şekil 10) tedavi başlangıcında hiç kemoterapi uygulanmadan, 12, 15, 18 ve 21. günlerde tedavi öncesinde, kontrol grubu çocuklardan ise bir kez 3 cc periferik kan 1/9 oranında sitratlı tüplere alınarak 2500 devirde 20 dakikada santrifüj edildi ve plazma örnekleri -70°C'de saklandı. Hasta grubundan kemoterapi öncesi, 12, 15, 18 ve 21. gün tedavilerinden hemen önce alınan PZ düzeyleri sırası ile PZ0, PZ1, PZ2, PZ3, PZ4

olarak adlandırıldı. PZ0 tanı, PZ1 steroid tedavisi, PZ2, PZ3 ve PZ4 örnekleri ise steroidle birlikte ASP uygulanan günlere denk gelmekteydi.



Şekil 10. BFM-1995 akut lenfoblastik lösemi indüksiyon tedavi şeması ve protein Z düzeyleri için örnek alınma zamanları

3.4 Protein Z'nin çalışılması

PZ düzeyleri plazma örneklerinin alınmasından en geç altı ay içinde PZ kiti ile (Zymutest Protein Z; Hyphen BioMed, Neuville-sur-Oise, Fransa) enzim immunoassay yöntemi (ELİSA) kullanılarak ölçüldü (Bio-Rad Novapath mikropate okuyucu, Veenendaal, Hollanda). Plazma örneklerinin tarihlerinin geçmemesi için örnek çalışmaları iki ayrı zaman diliminde gerçekleştirildi. PZ düzeyleri 1-4 µg/ml aralığında normal kabul edildi.

3.5 Diğer laboratuvar incelemeleri

Tüm hastaların karaciğer, böbrek fonksiyon ve koagülasyon testleri karaciğer, böbrek yetmezliği ve dissemine intravasküler koagülasyon açısından değerlendirildi. Tedavi başlangıcında toplam 12 hastada ölçülen AT, PC, PS düzeyleri ve 16 hastada bakılan FVL mutasyonu, PG 20210A, MTHFRC677T ve MTHFRA1298C gen analizi sonuçları dosyalarından kaydedildi.

3.6 İstatistiksel değerlendirme

İstatistik değerlendirme için veriler "Scientific Package for Social Sciences" (SPSS 15.0) programına yüklenerek çözümlenmeler bu program üzerinden yapıldı. Çalışma ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet özellikleri ve PZ değerleri arasında istatistiksel anlamlılık için ki-kare testi kullanıldı. Enfeksiyonu olan ve olmayan, trombosit alan ve almayan hastaların PZ değerleri arasındaki fark ve aynı grupların PZ'leri arasındaki farklar arasında fark olup olmadığı Mann-Whitney U ile değerlendirildi. Çalışma grubunda PZ0-PZ1, PZ0-PZ2, PZ0-PZ3, PZ0-PZ4, PZ1-PZ2, PZ1-PZ3, PZ1-PZ4, PZ2-PZ3, PZ2-PZ4, PZ3-PZ4 değerleri arasındaki farkların istatistiksel anlamlılığına karar vermede Wilcoxon testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılığı yansıtan değer olarak $p < 0.05$ seçildi.

4.BULGULAR

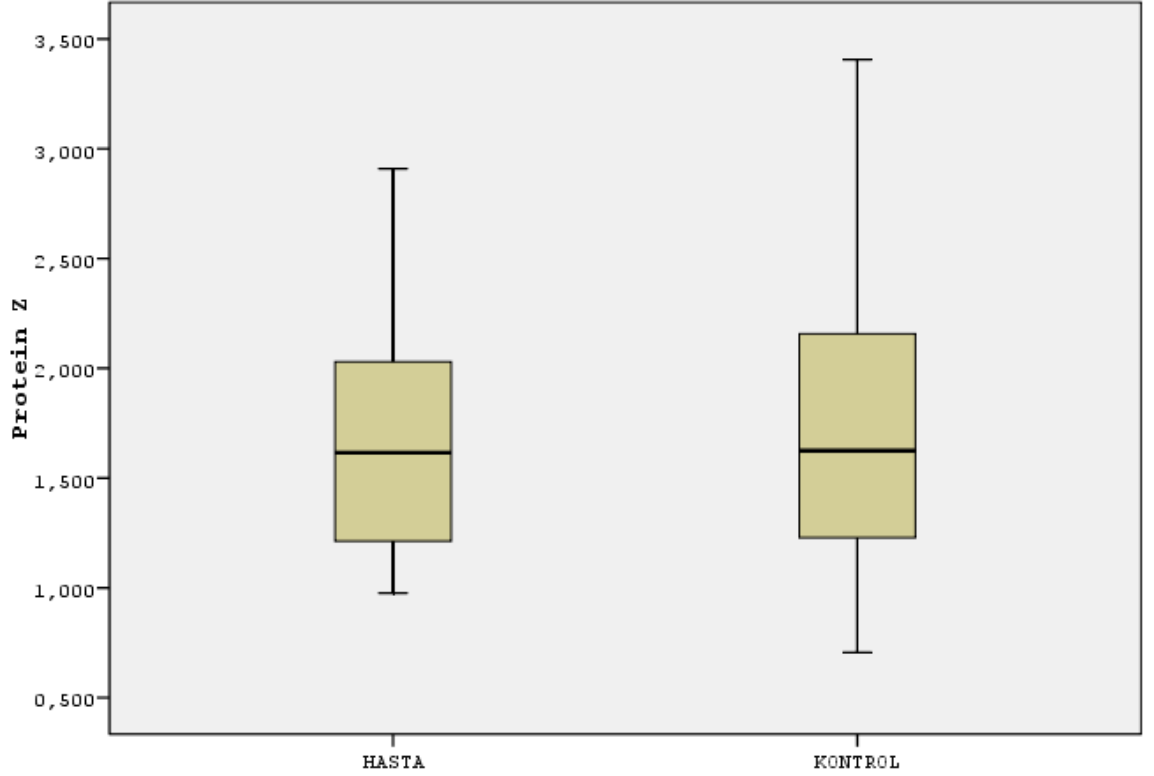
Mart 2008-Mayıs 2009 tarihleri arasında yaşları 17 ay ile 170 ay arasında değişen 15'i Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakóltesi Çocuk Hematoloji BD ve dokuzu Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Kliniği tarafından takip edilen toplam 24 yeni tanı ALL hastası çalışma grubuna ve yaşları 22 ay ile 222 ay arasında değişen 39 çocuk kontrol grubuna alındı.

Çalışma ve kontrol gruplarının cinsiyet ve yaş dağılımları Tablo 11'de verildi. Çalışma ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.865$; $p=0.921$) (Tablo 11). Çalışma ve kontrol grubundaki çocukların ortanca yaşı sırayla 5,8 yaş (17-170 ay) ve 5,4 yaş (22-222 ay) idi.

Tablo 11. Çalışma ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet özelliklerinin karşılaştırılması

	Çalışma grubu (n=24)	Kontrol grubu (n=39)	p
Yaş Ortalaması ± Standart deviasyon (Ay)	78,2 ±44,6	77,38 ±41,90	0.865
Cinsiyet Kız/Erkek	12 /12	19/20	0.921

PZ0 düzeyleri çalışma grubunda 0,976 ve 2,909 µg/ml arasında, kontrol grubu PZ değerleri ise 0,705 ve 3,40 µg/ml arasında saptandı. Çalışma grubu PZ0 düzeyleri ortalaması (1,628±0,485 µg/ml) ile kontrol grubu PZ düzeyleri ortalaması (1,672±0,662 µg/ml) arasında istatistiksel fark gözlenmedi ($p=0.921$) (Şekil 11).



Şekil 11. Çalışma grubu PZ0 düzeyleri ile kontrol grubu PZ düzeyleri dağılımını gösteren grafik

Literatürde PZ düzeyleri ile yaş arasındaki ilişki hakkındaki bilgiler nedeni ile yaş ve PZ düzeyleri incelendiğinde, çalışma grubunda PZ0 ve yaş ($p= 0.908$) kontrol grubunda ise tek PZ düzeyi ve yaş ($p=0.752$) arasında herhangi anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Literatürdeki PZ düzeyleri ve cinsiyet arasındaki ilişki hakkındaki bilgiler nedeni ile cinsiyet ve PZ düzeyleri incelendiğinde, çalışma grubunda PZ0 ve cinsiyet ($p=0.644$), kontrol grubunda ise tek PZ düzeyi ve cinsiyet ($p=0.715$) arasında herhangi anlamlı bir ilişki saptanmadı.

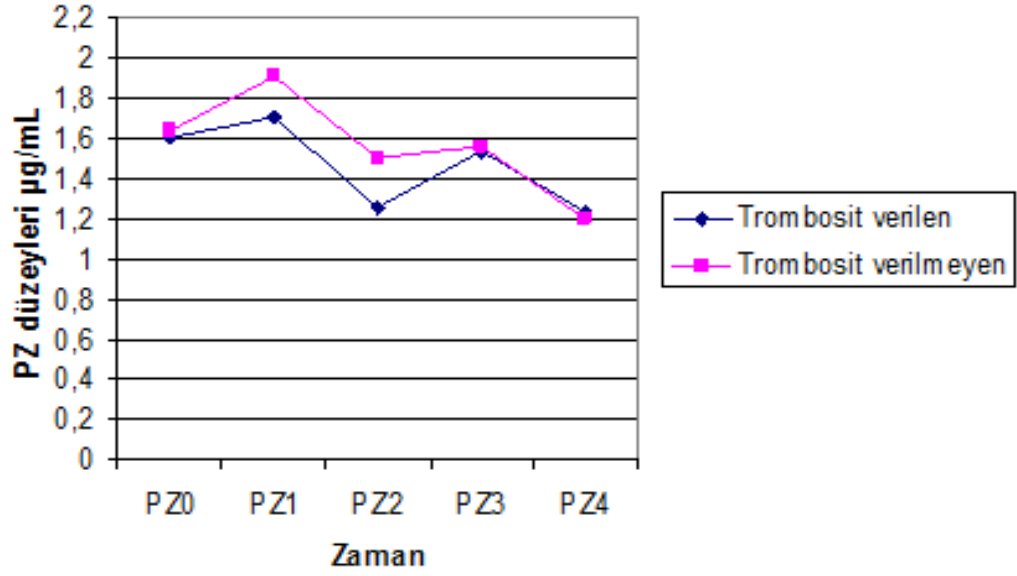
1-4 µg/ml aralığı alındığında kontrol grubunda PZ düzeyleri altı olguda alt sınırın altında saptandı. Çalışma grubunda PZ düzeyi tanı anında 0.976 µg/ml değeri ile bir hastada düşüktü. PZ1'de üç, PZ2'de sekiz, PZ3'de üç, PZ4'de altı hastanın PZ düzeyleri <1 µg/ml idi.

Çalışma grubunda indüksiyon tedavisinin ilk 21 günü boyunca trombosit alan (n=13) ve almayan (n=11) olguların PZ düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 12; Şekil 12). Ayrıca bu iki grubun başlangıç ve son PZ değerleri arasındaki farkları arasında da fark saptanmadı (p=0.385).

Çalışma grubunda indüksiyon tedavisinin ilk 21 günü boyunca enfeksiyonu olan (n=5) ve olmayan (n=19) olguların PZ düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 13; Şekil 13). Ayrıca bu iki grubun başlangıç ve son PZ değerleri arasındaki farkları arasında da fark saptanmadı (p=0.850).

Tablo 12. Trombosit alan ve almayan olguların protein Z düzeyleri

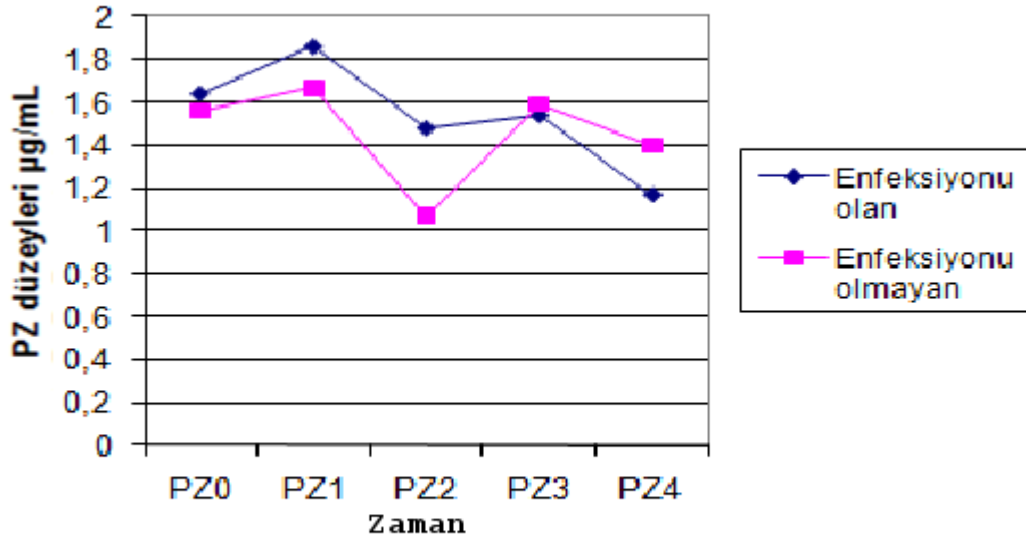
	Trombosit alan hastalar (n=13)	Trombosit almayan hastalar (n=11)	p değeri
PZ0 (µg/ml)	1,60	1,64	0.839
PZ1 (µg/ml)	1,71	1,91	0.582
PZ2 (µg/ml)	1,26	1,50	0.434
PZ3 (µg/ml)	1,54	1,56	0.725
PZ4 (µg/ml)	1,23	1,20	0.821



Şekil 12. Trombosit verilen ve verilmeyen hastaların protein Z düzey ortalamalarını gösteren grafik

Tablo 13. Enfeksiyonu olan ve olmayan olguların protein Z düzeyleri

	Enfeksiyonu olan hastalar (n=5)	Enfeksiyonu olmayan hastalar (n=19)	p
PZ0 (µg/ml)	1,64	1,56	0.349
PZ1 (µg/ml)	1,86	1,67	0.725
PZ2 (µg/ml)	1,48	1,07	0.861
PZ3 (µg/ml)	1,54	1,59	0.394
PZ4 (µg/ml)	1,17	1,40	0.518



Şekil 13. Enfeksiyonu olan ve olmayan hastaların protein Z düzey ortalamalarını gösteren grafik

Çalışma grubunda semptomatik tromboz ya da kanama komplikasyonu izlenmedi. İki hastada asemptomatik tromboz saptandı. Rutin yapılan batin ultrasonografisinde (USG) sol renal infarktla uyumlu olduğu görülen lezyonu olan 34 aylık bir hastada tanı anında PZ düzeyi normal sınırlardaydı ve PZ düzeyi sadece PZ2 döneminde alt sınırın altına düştü. Bu hastanın tedavi başlangıcında alınan PC düzeyi düşük (%49) idi, PS ve AT düzeyi normaldi. MTHFR gen mutasyonları heterozigot, PG20210A mutasyonu ve FVL mutasyonu negatifti.

Sağ atriyal trombus saptanan 62 aylık diğer vakanın orbital selülit nedeniyle 18. günden sonra tedavisine ara verilmek zorunda kalınmıştı. Bu hastanın konsolidasyon tedavisi başında kontrol amaçlı yapılan ekokardiyografisinde (EKO) sağ atriyal trombus saptandı. Tanı anında alınan PZ düzeyi normal sınırlardaydı ve normal sınırın altına düşmedi. PC, PS ve AT düzeyi normal, MTHFR C677T homozigot, PG20210A mutasyonu ve FVL mutasyonu negatifti. Tromboz komplikasyonu gelişen iki hastada enfeksiyon ve SVK mevcuttu.

PS için %58-127, PC için %70-140 ve AT için %75-125 referans değerleri alındığında tedavi başlangıcında kan gönderilen 12 hasta içinde yalnızca birisi

insidental renal infarkt saptanan hasta (% 49) değeri olmak üzere üç hastada PC normal değerlerin altında saptandı. Yalnızca bir hastada PS değeri düşük (%45) saptandı ve hastaların tümünde AT değeri normal sınırlar içerisinde idi.

Çalışma grubunda 16 hastadan trombofili mutasyonları gönderildi. FVL mutasyonu bir hastada heterozigot diğer 15 hastada negatif, PG20210A mutasyonu 16 hastada negatif, MTHFR1298C dört hastada heterozigot, bir hastada homozigot, MTHFRC677T sekiz hastada heterozigot, üç hastada homozigot saptandı.

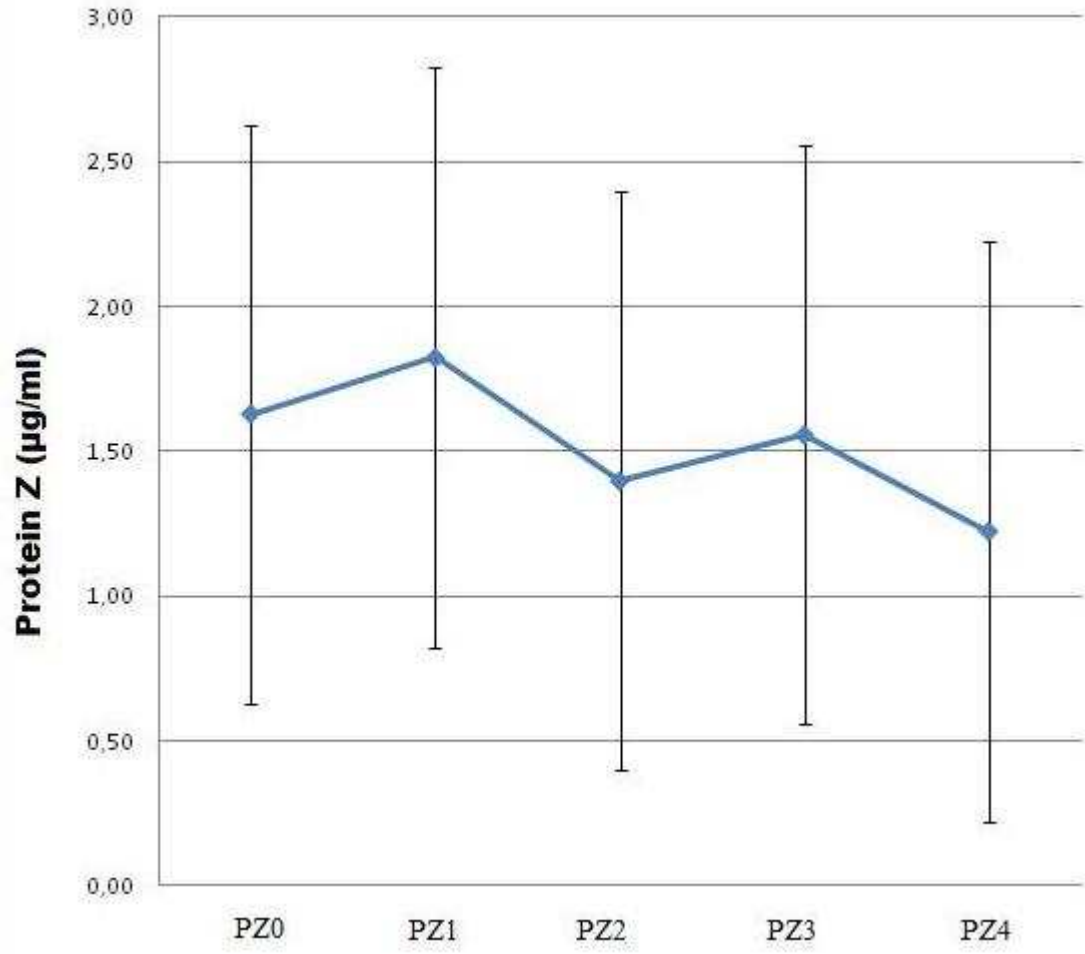
Çalışma grubunda glukokortikoidlerin ASP'den bağımsız olarak direk etkisi için indüksiyon tedavisine başlamadan hemen önce alınan PZ0 ve 12. günde ASP tedavisi başlamadan önce alınan PZ1 konsantrasyonlarının karşılaştırmasına bakıldığında 24 hastanın PZ0 düzeylerinin ortalaması 1,628 ($\pm 0,485$) iken PZ1 düzey ortalamaları 1,82 $\mu\text{g/ml}$ ($\pm 0,815$) idi (Tablo 14). Wilcoxon testi ile değerlendirildiğinde PZ0 ve PZ1 arasında istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte hafif bir artış görüldü. PZ0-PZ4 ($p=0.006$), PZ1-PZ2 ($p=0.007$), PZ1-PZ3 ($p=0.037$), PZ1-PZ4($p=0.005$), PZ3-PZ4 ($p=0.011$), arasındaki düzey farklarında istatistiksel anlamlı düşme gözlemlendi (Şekil 14).

Tablo 14. Çalışma grubunun protein Z ortalama \pm standart deviasyon, minimum, maksimum değerleri ve asemptomatik trombozlu iki olgunun PZ değerleri

	Ortalama \pm SD	Maksimum	Minimum	Hasta 1*	Hasta 2**
PZ0 ($\mu\text{g/ml}$)	1,62 \pm 0.48	2,90	0,97	2,078	1,999
PZ1 ($\mu\text{g/ml}$)	1,82 \pm 0.81	3,54	0,50	2,654	2,18
PZ2 ($\mu\text{g/ml}$)	1,39 \pm 0.67	2,98	0,20	1,899	0,78
PZ3 ($\mu\text{g/ml}$)	1,55 \pm 0.59	2,78	0,53	-	1,137
PZ4 ($\mu\text{g/ml}$)	1,22 \pm 0.55	3,08	0,43	-	1,21

* Asemptomatik sağ atriyal trombüsü olan hasta

** Asemptomatik sol renal enfarktı olan hasta



Şekil 14. Çalışma grubunun protein Z düzey ortalamaları ve standart sapmaları

5.TARTIŞMA

Çocukluk çağının en sık görülen maliynitesi olan ALL'de, tedavi başarı şansı %80 gibi çok yüksek rakamlara ulaşmış olmasına rağmen tedavi sırasında meydana gelen çeşitli yan etkiler önemli morbitide ve bazen mortaliteye neden olabilmektedir (2). Kanama veya tromboz şeklinde karşımıza çıkan koagulopati bu yan etkilerin en önemlilerindedir (7). Trombozların %90'ının tedavinin indüksiyon fazında meydana gelmesi dikkatleri ALL tedavisi indüksiyon fazı ajanları özellikle de glukokortikoidler ve ASP üzerine çekmiştir (58).

Bir kemoterapötik ajan olarak ASP enzimi dolaşımdaki asparajini aspartik asit ve amonyağa hidrolize ederek maliyn hücrelerin protein sentezi için gerekli olan asparajinini tüketir. ASP, tedavi sırasında hepatik proteinlerin sentezini de azaltarak hemostazda değişikliklere neden olur. ASP'ın tromboza yatkınlık sağlamasının nedeni başta AT ve PC olmak üzere endojen antikoagulanların sentezini azaltmasıdır (9). Paradoksik bir şekilde ASP, fibrinojen seviyelerinde düşmeye neden olarak koagulyasyonda gecikme ve kanama riskine neden olur (70).

Glukokortikoidlerin sitoplazmadaki glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak oluşturduğu kompleks nükleusa geçtikten sonra DNA'ya bağlanır ve bu DNA endonükleazlar tarafından parçalanır. DNA'nın parçalanması ve ciddi enerji kaybı hücreyi apoptoza götürür. Bu glukokortikoidlerin antilösemik aktivitesinin en çok kabul gören mekanizmasıdır (90). Kortikosteroidler prokoagulan faktörlerin düzeyini arttırarak trombotik olay riskini arttırır. VTE riski prednizolona göre deksametazonda daha düşüktür (88). Kortikosteroidler aynı zamanda hipofibrinojenemiye neden olarak kanamaya yol açarlar (91). Literatürde bir çok çalışmada bu ilaçların hemostatik sistem proteinleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Steroid ve ASP birlikte kullanımı ile ALL'li hastalarda koagulopatilere eğilimin arttığı iyi bilinmektedir (142). Biz bu çalışmada özellikle kanama ve tromboz riskinin yüksek olduğu ALL'li olgularda indüksiyon tedavisi sırasında, tanı sırasında, steroid tedavisi ile ve steroid+ASP tedavisi ile PZ düzeylerindeki değişimi araştırmayı amaçladık.

Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak ortalama PZ değeri $1,672\pm 0,662$ µg/ml bulundu (111). Literatürde de yaşamın ilk aylarında PZ düzeyinin hızla yükseldiği, daha sonra PZ düzeylerinin çok yavaş yükseldiği, ergenlik döneminde ortalama erişkin değerlerine ulaştığı bildirilmektedir (104). Sağlıklı

çocuklardan oluşan kontrol grubunda altı çocuğun plazma PZ değerinin $<1 \mu\text{g/ml}$ olmasının nedeni henüz PZ değerlerinin pediatrik yaş grubunda çok az sayıda çalışmada bakılmasından ve PZ normal alt sınır değerinin tartışmalı olmasından kaynaklanabilir. Sağlıklı erişkinlerde bile minimum ve ortalama PZ düzeyleri farklılık gösterebilmektedir (111-118). Sağlıklı kontrollerin değerleri ve çalışma grubu olarak alınan yeni tanı ALL'li çocukların bazal değerleri alındığında yaş ve PZ düzeyleri arasında herhangi bir ilişki saptanmadı.

Sağlıklı erişkinler arasında yapılmış çalışmaların çoğunda PZ düzeyleri ve cinsiyet arasında bir anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte erkeklerde ve kadınlarda plazma PZ düzeylerini yüksek bulan çalışmalar mevcuttur (115, 120). Bizim çalışmamızda cinsiyetlere göre bakıldığında çalışma grubu bazal değerleri ve cinsiyet ve ayrıca kontrol grubu PZ değerleri ve cinsiyet arasında bir ilişki saptanmadı.

Endojen antikoagulan düzeyleri primer maliyitenin kendisinden de etkilenebilmektedir. Lösemi hücrelerinden açığa çıkan prokoagulan maddeler bu hemostatik değişikliklere neden olmaktadır (47). Bizim çalışmamızda çalışma grubu tedavi öncesi ilk PZ değerleri (PZ0) ile sağlıklı grubun değerlerinin ortalaması arasında herhangi bir fark saptanmadı ki bu da düzeylerin primer hastalıktan en azından başlangıçta etkilenmediğini gösterdi. Bu durum yalnızca kemoterapi ajanlarının PZ düzeyine etkisini gözlemlemek açısından çalışmamıza avantaj sağlamakla birlikte ALL'de indüksiyon tedavisi sırasında primer hastalığa bağlı değişik mekanizmalarla meydana gelen hemostatik değişiklikleri göz ardı etmek mümkün değildir.

Çalışmamızda tedavinin 12. gününde henüz ASP tedavilerinin verilmediği dönemde alınan PZ düzeylerinde ilk bazal değerlere göre istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte bir artış oldu. Bu yalnızca prednizolonun PZ üzerine etkisini göstermektedir. Sutor ve arkadaşlarının (13) yaptığı bir çalışmada ALL-BFM-90 tedavi protokolüne göre tedavi edilen hastalarda, başlangıç fibrinojen, AT, PC, vWF, plasminojen ve indüksiyon fazında verilen 2 doz *E.Coli* ASP ve konsolidasyon fazında verilen iki doz *Erwinia* ASP sonrası düzeyleri karşılaştırılmıştır. Başlangıçta AT, plasminojen ve PC normal, vWF antijen yüksek bulunmuştur. Glukokortikoidler ile monoterapiden 8 gün sonra fibrinojen %59, vWF antijen %67 düşerken, AT %124, PC %201 olmak üzere ilk değerlere göre artmış, plasminojen düzeyi ise

değişmemiştir. Bizim çalışmamızda PZ, Sutor'un çalışmasında AT ve PC düzeylerinin yükselmesi steroidin proteinlerin yapımını arttırması ile açıklanabilir. Sutor ve arkadaşlarının bu çalışmasında indüksiyonda iki doz *E. coli* ASP (10,000 U/m²) sonrası AT (%123'ten %63'e), PC (%168'den %87'ye), plasminojen (%94'ten %41'e) ve fibrinojen de (%148'den %79'a, bütün parametreler için p < veya = 0.01) belirgin düşme gözlenirken, reindüksiyon sonrası iki doz *Erwinia* ASP (10,000 U/m²) ile AT, PC veya plasminojen düzeylerinde değişme olmamış ve fibrinojendeki düşme (162 mg/dL'den 121 mg/dL'ye) daha az belirgin bulunmuştur. Literatürde indüksiyon tedavisi ajanları ve PZ düzeylerindeki değişimlerle ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak PZ'deki hemostatik değişimlere bağlı düzey değişikliklerinin diğer K vit bağımlı plazma proteinleri özellikle de AT ve PC ile paralel gittiğini bilmekteyiz. Bizim çalışmamızda PZ düzeyleri PZ4 döneminde anlamlı olarak azalmıştır. İndüksiyon tedavisinde tüm hastalarımız *E. Coli* ASP (10.000 U/m²) almıştır. Literatürde bakıldığında *E. coli* ASP'ın *Erwinia* ASP'a göre hemostatik değişiklikleri daha belirgindir (143).

ALL tedavisinde görülen koagulopatilerin çok büyük bir kısmının indüksiyon fazında görülmesi nedeni ile bu dönemde verilen ASP ve glukokortikoidlerle ilgili çalışmalar mevcuttur. Ancak bu dönemde verilen vinkristin ve antrasiklinler ve de metotreksat tedavileri ve hemostaz değişiklikleri açısından bakıldığında literatürde daunorubisin ve vinkristin ile ilişkili hemostatik sistem üzerine etki bildirilmemiştir. Bu nedenle indüksiyon tedavisi sırasında verilen bu ilaçlar hemostaz açısından dikkate alınmamıştır. Yüksek doz metotreksatın ALL'li çocuklarda hemostatik proteinler üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 20 hastada 3 g/m² den 35 siklus MTX tedavisinden önce ve tedavinin 1. ve 7. günlerinde protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (PTT), fibrinojen, PC, PS, AT, fibrin yıkım ürünleri (FDP) ve doku plazminojen aktivatör (TPA) düzeyleri ölçülmüştür. Tedavinin birinci gününde PT uzamış, fibrinojen, PC, PS, AT düzeyleri azalmış, ancak tedavinin 7. gününden sonra FDP haricinde diğer değerler düzelmeye başlamıştır. Tüm tedavi boyunca TPA seviyeleri tedavi ile değişmemiştir. Bu geçici değişiklikler klinik olarak tromboembolik veya hemorajik değişikliklere neden olmamıştır (144). Bir diğer çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur (145). Ancak bu çalışmalar ve bizim çalışmamızda uygulanan MTX şeması çok farklıdır. BFM protokolünde verilen MTX ve hemostaz proteinleri değişiklikleri ile ilgili bir çalışma yoktur.

Çalışmamızda indüksiyon tedavisinin ilk 21 gününde enfeksiyonu olan çocuklarda PZ düzeylerinin enfeksiyona bağlı değişkenlik gösterebileceğini düşünerek enfeksiyonu olan ve olmayan hastaların PZ değerlerini de karşılaştırdık. Çalışmamızda enfeksiyonu olan ve olmayan hastaların PZ değerleri ve başlangıç ve son PZ değerleri arasında anlamlı fark bulamadık. Hasta sayısı az olmakla birlikte PZ değerlerinin enfeksiyonda belirgin bir farklılık göstermediğini saptadık. Literatürde de PZ düzeylerinin enfeksiyon ve enflamasyonla ilgisi halen tartışmalıdır. Hematolojik maliynitesi olan hastalarda IL-6 düzeyleri ve PZ düzeyleri arasında anlamlı negatif korelasyon bildirilmiştir (146). İn vitro fibrinojen sentezinin majör düzenleyicilerinden IL-6 ve lipopolisakkarid ile aktive edilmiş monositler hepatik PZ sentezini anlamlı ölçüde etkilemez (147). Ancak IL-6 ailesinden bir sitokin, onkostatin M mikrovasküler endotel hücreleri tarafından PZ sentezini artırır ki bu da PZ sentezinin inflamasyon ile ilişkisinin zayıf da olsa olduğunu göstermektedir (97). Perkütan koroner girişim yapılan az erişkin hasta sayısı ile yapılan bir çalışmada yapılan bir çalışmada ilk 72 saatte PZ düzeylerinde anlamlı bir yükselik saptanmış ancak IL-6 düzeyleri değişmemiştir ki bu da IL-6 ve PZ arasında direkt bir ilişki olmadığını göstermektedir (148). Akut iskemik inmenin ilk yedi günü içinde ve takip eden üç-altı ay içinde alınan serum örneklerindeki PZ düzeylerinin karşılaştırılması PZ'nin akut faz sırasında yükseldiğini göstermektedir (149).

PZ düzeylerini değiştireceği bilindiğinden TDP alan hastalar çalışmaya alınmamakla birlikte trombositlerin de bir miktar plazma proteini içerebileceği düşüncesi nedeni ile çalışma grubunda trombosit alan hastalar ve olmayan hastaların PZ değerleri ve başlangıç ve son PZ değerleri arasındaki farklar değerlendirildi. Bu iki grup arasında fark saptanmadı. Bu da hastaları total olarak değerlendirebilmemize olanak sağladı. Literatürde ALL'li olgularda PC, PS ve AT değerlerini inceleyen araştırmalarda trombosit süspansiyonu verilen hastaların da çalışmaya dahil edilmiş olduğu görüldü (13). Bizim çalışmamızda trombosit süspansiyonunun PZ düzeyini etkilemediği gösterilmiş oldu.

PZ, Ca iyonuna bağımlı bir şekilde fosfolipid yüzeyler ile trombin arasında ilişkinin oluşumunu sağlar ki bu eksikliğinde kanamaya olan eğilimi açıklar. Ayrıca ZPI'ün FXa, Ca ve fosfolipidlerin varlığında inhibisyonunu 1000 kat artırır, bu durum da eksikliğinde protrombotik tarafın baskın olmasına neden olur. PZ eksikliğinin

paradoksik olarak hem kanamaya eğilimi arttırması hem de tromboza yatkınlık sağlaması bu nedenledir (12).

İlk PZ eksikliği kanama yatkınlığına neden olabilecek başka bir neden kanıtlanamayan hastalarda tanımlanmıştır (112). Trombin fosfolipid yüzeylere PZ varlığında bağlanabilir ancak yokluğunda bağlanamaz bilgisinden sonra PZ eksikliğinin kanamaya yatkınlık yapacağı düşüncesi ortaya atılmıştır (96). Trombin fosfolipid yüzey ilişkisi ve PZ varlığının öneminin 1991'de Hogg ve Stenflo tarafından anlaşılması ile birlikte PZ eksikliği ve kanama eğilimi ile ilgili daha çok erişkinler üzerinde olmakla birlikte bir çok çalışma yapılmış ve birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda hastaların tedavi öncesi bazal PZ değerlerine bakıldığında 0,976-2,292 µg/ml arasında, ortalama 1,628 µg/ml idi. Steroid ve ASP tedavisi dönemlerinde tedavi ilerledikçe PZ değerlerinde düşüklük olduğu saptandı; PZ4 dönemlerinde ortalama PZ düzeyi 1,22±0,55 µg/ml idi. PZ değerlerinin kullanılan ilaçların etkileri nedeniyle azaldığını gösterdiğimiz bu çalışmada PZ düzeyleri belirgin düşüş olan hastalar dahil hiçbir hastada tedavi boyunca kanama komplikasyonu gelişmedi. Bu nedenle PZ değerlerindeki düşmenin her zaman ağır bir kanama nedeni olmayacağını düşündük.

1995'de Kemkes-Matthes tarafından kanama problemleri olan ve diğer nedenlerin ekarte edildiği 36 hasta incelendiğinde kanaması olan grubun ortalama PZ seviyesi kontrol grubuna göre oldukça düşük bulunmuştur. Kanamaya eğilimi olan 36 hastanın 21'inde sağlıklı grubun en düşük değerinden daha düşük değerler saptanmıştır (112).

Greten ve arkadaşları (150) 1995'de ilk kez PZ seviyesi 600 µg/L ve nedeni açıklanamayan kanamaya eğilimi olan bir hastada kolesistektomi sırasında protrombin kompleksi kullanarak PZ'yi yerine koymuşlardır. Tedavi sonrası kanama zamanı kısalmış ve cerrahi girişim sırasında normal hemostaz sağlanabilmiştir. Daha sonra nedeni bilinmeyen kanamaya eğilimi olan ve PZ eksikliği saptanan hastalarda protrombin kompleksi kullanarak yerine koyma tedavisi çeşitli hastalarda kullanılmıştır. Bu hastalardan hiç biri PZ seviyesinin normalleşmesinden sonra kanamamış ve protrombin kompleks infüzyonundan sonra tromboembolik komplikasyon gelişmemiştir. Ticari bir preparatı çıkana dek PZ eksikliği olan kanamaya eğilimli hastalarda protrombin kompleksi kullanılabileceği belirtilmiştir.

Gross ve arkadaşları (104) düşük PZ seviyesi ve kanamaya eğilimi olan iki aile tanımlamışlardır ve PZ eksikliğinin kalıtsal bir bozukluk olabileceği sonucuna varmışlardır. Üstelik bu iki ailede düşük PZ eksikliğine ek olarak sınırdan vWF ve faktör VII eksikliği saptamışlardır ki bu da PZ eksikliğinin diğer hafif hemostatik bozuklukları ağırlaştırabileceğini göstermektedir.

Adenoidektomi ve tonsillektomi sırasındaki kan kayıp oranları ile plazma PZ düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada düşük PZ düzeyi olan hastaların normal düzeye sahip hastalara oranla anlamlı derecede fazla kan kaybettikleri görülmüştür. Benzer bulgular kardiyak ve dental cerrahilerde de saptanmıştır (116).

Çobankara ve arkadaşları (151) immün trombositopenik purpuralı hastalarda PZ düzeyini klonal, reaktif trombositozlu ve sağlıklı kontrollerden çok daha yüksek saptayarak, bu hastalarda trombositopeniye rağmen oldukça iyi bir hemostaza sahip olmaları ve kanama riskinin trombositopeninin derecesine göre düşük olmasının nedeninin artmış PZ düzeyleri ile ilişkili olabileceği fikrini ortaya atmışlardır. Bu da kanama ve PZ ilişkisinin olduğunu destekleyen bir çalışmadır.

Tersine Gamba ve arkadaşları (113) nedeni açıklanamayan kanamaya eğilimi olan 15 hastayı incelediklerinde sağlıklı kontrollerin PZ düzeyleri (2540 ± 77 $\mu\text{g/L}$) ve kanamaya eğilimi olan hastaların düzeyleri (2710 ± 1080 $\mu\text{g/L}$) arasında anlamlı bir fark saptamamışlardır.

Ravi ve arkadaşları (111) kanamaya eğilimi olan 48 hasta ve 200 sağlıklı kontrolü incelemişler ve nedeni açıklanamayan kanaması olan 39 hasta ile düşük PZ düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptamamışlardır. Yine de nedeni açıklanamayan ciddi kanama komplikasyonları ve en düşük PZ düzeyine sahip (431 $\mu\text{g/L}$) olan bir kadın hasta söz konusu olmuştur.

PZ eksikliği ve VTE üzerine de literatürde bir çok çalışma bulunmaktadır. Dört vaka kontrollü çalışmada hasta kontrol grubu arasında benzer düzeyler bulunmuş ve düşük PZ düzeyleri VTE'de bağımsız bir risk faktörü olarak gösterilmemiştir (117, 130, 137, 152). Sadece çok çok düşük değerler yani sağlıklı kontrol grubu değerlerinin %5'inden daha düşük PZ düzeylerinin VTE'de orta trombotik risk olarak kabul edilebileceği belirtilmiştir.

ALL'de görülen trombozların çoğu venözdür ve semptomatik VTE prevalansı %3-14 arasında değişmektedir (137). Bizim çalışmamızda PZ4 döneminde PZ düzeyleri düşmesine rağmen semptomatik tromboz hiçbir hastada görülmedi.

Asemptomatik VTE prevalansı ise radyolojik tarama yapılan çalışmalarda %37-73'leri bulabilmektedir. Asemptomatik vakaları içeren yayınlarda vakaların %96,6'sı gibi çok büyük bir bölümü üst venöz sistemi, yalnızca %3,4'ü SSS'yi kapsar. Sağ atriyal trombozlar semptomatik venöz trombozlu hastaların %1-2 sini oluştururken hem semptomatik hem asemptomatik vakaların alındığı çalışmalarda %13,6 gibi çok daha yüksek oranlarda görülmektedir (58). Bizim çalışmamızda hastalara rutin tarama amaçlı venöz doppler yapılmadı, hastalara yalnızca klinik olarak trombozdan şüphe edilen durumlarda doppler USG ve tedavinin belli dönemlerinde EKO yapıldı. Tromboz saptanan vakalardan birisinde kontrol amaçlı yapılan batın USG'de renal infarkt ve diğerinde de rutin yapılan EKO'da sağ atriyal tromboz saptandı. Bu hastalarda ek risk faktörleri olarak enfeksiyon ve SVK varlığı söz konusuydu.

Serebrovasküler olaylar ve düşük PZ düzeyleri arasındaki ilk ilişki küçük vaka kontrollü bir çalışmada iskemik inmesi olan hastalarda (%20) kontrol grubuna (%5) göre PZ eksikliği sıklığının belirgin fazla olduğunun gösterilmesi ile ortaya konulmuştur (117). Daha sonra gelen iki çalışma bu fikri desteklemiştir (153, 154). Ancak bunun aksine herhangi bir ilişki saptamayan başka bir çalışma da yapılmıştır (155). Şaşırtıcı bir biçimde yapılan başka iki çalışmada ise yüksek PZ düzeylerinin iskemik inme riskini arttırdığı fikri ortaya atılmıştır (149, 156). PZ polimorfizmi ve inme riski açısından bakıldığında da yine farklı sonuçlar gözlemlenmiştir. Düşük PZ düzeyleri ile ilişkili olduğu bilinen İntron F79A allelinin inmeye karşı koruduğunu gösteren çalışmalar olduğu gibi (135, 136) herhangi bir ilişki saptamayan bir çalışma da mevcuttur (157).

ASP ilişkili tromboz altta yatan FVL eksikliği, homosistenemi, PC, PS, AT eksikliği, PG 20210A mutasyonu gibi kalıtsal koagülasyon bozukluğu olan hastalarda daha sıklıkla görülmektedir. Literatürde PZ eksikliği ve FVL mutasyonu ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yin ve arkadaşları (102) ilk kez FVL mutasyonu olan farelerde PZ eksikliğinin protrombotik fenotipi belirgin bir şekilde arttırdığını göstermişlerdir. PZ'si eksik olan fareler (PZ -/-) tamamen normal fenotipik özelliklere sahiptiler. Ancak FVL homozigot ise neredeyse tama yakın mortalite ile sonuçlanan intrauterin, perinatal trombozis ve tüketim koagülapatisi görülmüştür. Daha hafif kombinasyonlar yani tam PZ eksikliği ile FVL heterozigotluğu birlikteliği ve heterozigot PZ eksikliği ile FVL homozigotluğu daha hafif, ancak yine de anlamlı sağkalım düşüklüğüne neden olmuştur. Ayrıca FVL homozigot farelerin vasküler

tromboz ve hepatik fibrin birikiminin ciddiyeti PZ'nin genotipine de bağlı bulunmuştur (PZ -/->PZ +/-). Daha sonra Kemkes-Matthes ve arkadaşları (141) tarafından FVL mutasyonu ve düşük PZ düzeyi olan hastalarda FVL mutasyonu olan ve normal PZ düzeyine sahip olan hastalara göre tromboembolik olaylarla daha erken yaşta karşılaşıldığı ve daha ciddi trombozların görüldüğü kanıtlanmıştır. PZ genindeki R255H missense yer değiştirmesinin FVL mutasyonu olan hastalarda muhtemel PZ'nin fonksiyonu ile ilgili bir değişime neden olarak tromboembolik riski artırdığını gösterilmiştir (140). PZ genindeki polimorfizmler, fonksiyonel ve klinik sonuçlarını görmek için tekrarlayan çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca PZ eksikliğinin, PG 20210A ve hiperhomosistenemi gibi protrombotik risk faktörleri ile birlikte olduğu durumlarla da tromboz riskinin artmakta olduğunu kanıtlanmıştır. Bu alışmalar gösteriyor ki düşük PZ düzeyi hafif bir protrombotik risk faktörüdür ancak diğer risk faktörleri ile birleştiğinde prokoagulan sonuçları artabilir (109).

Beş prospektif çalışmanın metaanalizine göre ALL'de kalıtsal trombofili prevelansı genel pediatri popülasyonu ile aynıdır ve kalıtsal trombofililer VTE riskini ALL hastalarında yaklaşık olarak 8,5 (4,4-17,4) kat arttırmaktadır (3). Bizim alışmamızda çalışma grubundan 16 hastanın FVL mutasyonu, PG 20210A, MTHFR gen mutasyonları incelendiğinde toplumda sıklığı %8-10 olan FVL mutasyonunun bizim hastalarımızda homozigot olarak hiç görülmemesi ve sadece bir kişide heterozigot görülmemesi, PZ düzeylerinin indüksiyonda maksimum kümülatif etkinin görüldüğü özellikle 4. ASP'ın verildiği günlerde belirgin düşmesine rağmen semptomatik tromboembolinin hiçbir hastada görülmemesinin nedenlerinden birisi olabilir.

Serpinlerin eksikliği, disfonksiyonu ya da fazlalığı anormal kanama ya da trombozlara yol açar. PZ/ZPI sistemi keşfedilen en son koagülasyon düzenleyici sistemdir (133). Serpinlerin yapısı, fonksiyonları, serpinlerin hedef proteazları ve kofaktörleri üzerine yapılan çalışmalar hem ilişkili hastalıklar hakkında değerli bilgiler sunacak hem de serpin proteaz ilişkisini manüple edebilecek ilaçların potansiyel mekanizmalarını ortaya koyarak tromboz ve kanamanın önlenmesini sağlayabilecektir.

Bizim alışmamızla PZ düzeyleri ile ALL'li çocukların indüksiyon tedavisi döneminde aldıkları glukokortikoidler ve ASP arasındaki ilişki ve bu ilişkinin kliniğe yansımaları ortaya konulmaya çalışılmıştır. Sonuç olarak ALL'li çocuklarda

indüksiyon tedavisi sırasında glukokortikoidlerle PZ düzeylerinde istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte yükselme saptanırken, birinci doz ASP sonrası hızlı ve anlamlı bir düşüş görülmüş ve 4. doz ASP'den sonra başlangıç değerlerine göre anlamlı ölçüde düşük PZ düzeyleri saptanmıştır. Ancak bu sonuçlar kliniğe kanama ya da semptomatik tromboz olarak yansımamıştır. Bu konuda yapılacak olan daha geniş ve ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.SONUÇLAR

1. Çalışma grubunun tanı anındaki PZ düzeyleri ve kontrol grubunun PZ düzeyleri ortalaması arasında istatistiksel fark gözlenmedi. Bu PZ düzeylerinin en azından başlangıçta primer hastalıktan çok etkilenmediğini gösterdi.
2. Çalışma grubunda PZ0 düzeyleri ve yaş, kontrol grubunda PZ düzeyleri ve yaş arasında anlamlı ilişki saptanmadı.
3. Çalışma grubunda PZ0 düzeyleri ve cinsiyet, kontrol grubunda PZ düzeyleri ve cinsiyet arasında anlamlı ilişki saptanmadı.
4. Çalışma grubunda trombosit alan ve almayan hastaların PZ düzeylerinde ve başlangıç ve son PZ düzey farklarında anlamlı fark saptanmadı. Bu da trombosit süspansiyonlarının PZ düzeylerini etkilemediğini gösterdi.
5. Çalışma grubunda enfeksiyonu olan ve olmayan hastaların PZ düzeylerinde ve başlangıç ve son PZ düzey farklarında anlamlı fark saptanmadı. Bu da PZ düzeylerinin enfeksiyondan etkilenmediğini gösterdi.
6. PZ düzeylerinde yalnız steroid tedavisi ile istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte hafif bir yükselme saptanırken, steroid ve ASP kullanımı ile indüksiyon tedavisinin ilerleyen dönemlerinde istatistiksel anlamlı düşüş görüldü.
7. Tedavi boyunca PZ'si düşük olanlar dahil hiçbir hastada kanama ve semptomatik tromboz komplikasyonu izlenmedi. Birisi rutin yapılan ekokardiyografide sağ atriyal trombüs ve diğeri batın ultrasonografisinde sol renal infarkt olmak üzere iki hastada asemptomatik tromboz saptandı.

7.KAYNAKLAR

1. Celkan T. Çocukluk Çağı Akut Lenfoblastik Lösemisi. Solakoğlu Z, Özyalçın S, Kasapçopur Ö. Klinik Gelişim Pediatrik Onkoloji; Türk Tabibler Birliği, İstanbul, 2007 Cilt: 20, Sayı: 2, Sayfa: 14-25.
2. Pui CH. Acute lymphoblastic leukemia in children. *Curr Opin Oncol.* 2000;12: 3-12.
3. Caruso V, Iacoviello L, Di Castelnuovo A, et al. Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. *Blood.* 2006;108: 2216-22.
4. Bajzar L, Chan AK, Massicotte MP, et al. Thrombosis in children with malignancy. *Curr Opin Pediatr.* 2006;18: 1-9.
5. Gaynon PS, Trigg ME, Heerema NA, et al. Children's Cancer Group trials in childhood acute lymphoblastic leukemia: 1983-1995. *Leukemia.* 2000;14: 2223-33.
6. Graham ML. Pegaspargase: a review of clinical studies. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003;55: 1293-302.
7. Sutor AH, Mall V, Thomas KB. Bleeding and thrombosis in children with acute lymphoblastic leukaemia, treated according to the ALL-BFM-90 protocol. *Klin Padiatr.* 1999;211: 201-4.
8. Mitchell LG, Halton JM, Vegh PA, et al. Effect of disease and chemotherapy on hemostasis in children with acute lymphoid leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1994;16: 120-6.
9. Beinart G, Damon L. Thrombosis associated with L-asparaginase therapy and low fibrinogen levels in adult acute lymphoblastic leukemia. *Am J Hematol.* 2004;77: 331-5.
10. Prowse CV, Esnouf MP. The isolation of a new warfarin-sensitive protein from bovine plasma. *Biochem Soc Trans.* 1977;5: 255-6.
11. Han X, Fiehler R, Broze GJ, Jr. Characterization of the protein Z-dependent protease inhibitor. *Blood.* 2000;96: 3049-55.
12. Hogg PJ, Stenflo J. Interaction of vitamin K-dependent protein Z with thrombin. Consequences for the amidolytic activity of thrombin and the interaction of thrombin with phospholipid vesicles. *J Biol Chem.* 1991;266: 10953-8.
13. Mall V, Thomas KB, Sutor AH, et al. Effect of glucocorticoids, E. coli- and Erwinia L-asparaginase on hemostatic proteins in children with acute lymphoblastic leukemia. *Klin Padiatr.* 1999;211: 205-10.
14. Oner AF, Gurgey A, Kirazli S, et al. Changes of hemostatic factors in children with acute lymphoblastic leukemia receiving combined chemotherapy including high dose methylprednisolone and L-asparaginase. *Leuk Lymphoma.* 1999;33: 361-4.
15. Pui CH, Campana D, Evans WE. Childhood acute lymphoblastic leukaemia--current status and future perspectives. *Lancet Oncol.* 2001;2: 597-607.
16. Vrooman LM, Silverman LB. Childhood acute lymphoblastic leukemia: update on prognostic factors. *Curr Opin Pediatr.* 2009;21: 1-8.
17. Swensen AR, Ross JA, Severson RK, et al. The age peak in childhood acute lymphoblastic leukemia: exploring the potential relationship with socioeconomic status. *Cancer.* 1997;79: 2045-51.
18. Goldberg JM, Silverman LB, Levy DE, et al. Childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: the Dana-Farber Cancer Institute acute lymphoblastic leukemia consortium experience. *J Clin Oncol.* 2003;21: 3616-22.

19. Neglia JP, Robison LL. Epidemiology of the childhood acute leukemias. *Pediatr Clin North Am.* 1988;35: 675-92.
20. Draper GJ, Heaf MM, Kinnier Wilson LM. Occurrence of childhood cancers among sibs and estimation of familial risks. *J Med Genet.* 1977;14: 81-90.
21. Redner A, Leukemias. Lanzkowsky P. In *Manuel of Pediatric Hematology and Oncology.* San Diego: Elsevier Academic Press; 2005: p.415-453.
22. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol.* 1976;33: 451-8.
23. Lilleyman JS, Hann IM, Stevens RF. The clinical significance of blast cell morphology in childhood lymphoblastic leukaemia. *Med Pediatr Oncol.* 1986;14: 144-7.
24. Miller DR, Krailo M, Bleyer WA, et al. Prognostic implications of blast cell morphology in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childrens Cancer Study Group. *Cancer Treat Rep.* 1985;69: 1211-21.
25. Campana D, Behm FG. Immunophenotyping of leukemia. *J Immunol Methods.* 2000;243(1-2): 59-75.
26. Baruchel A, Leblanc T, Schoison G. *Pathology of Acute Lymphoblastic Leukemia.* Lilleyman JS, Hann IM; *Pediatric Hematology.* London: Churchill Livingstone;1999: p.519-536.
27. Ronald Hoffman M, Bruce Furie, MD, Edward J. *Hematology: Basic Principles and Practice.* Newyork:Churchill Livingstone Inc;2000: p.1070-1197.
28. David G. Nathan MD, Stuart H. Orkin, MD, *Hematology of infancy and Childhood.* Philadelphia: WB Saunders Company; 1998: p.1245-1269
29. Smith M, Arthur D, Camitta B, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 1996;14: 18-24.
30. Schultz KR, Pullen DJ, Sather HN, et al. Risk- and response-based classification of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a combined analysis of prognostic markers from the Pediatric Oncology Group (POG) and Children's Cancer Group (CCG). *Blood.* 2007;109: 926-35.
31. Pui CH. Recent advances in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Formos Med Assoc.* 2004;103: 85-95.
32. Ruccione K. Acute leukemia in children: current perspectives. *Issues Compr Pediatr Nurs.* 1983;6: 329-63.
33. Frei E, 3rd, Karon M, Levin RH, et al. The effectiveness of combinations of antileukemic agents in inducing and maintaining remission in children with acute leukemia. *Blood.* 1965;26: 642-56.
34. Campana D. Minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol.* 2009;46: 100-6.
35. Ortega JA, Nesbit ME, Donaldson MH, et al. L-Asparaginase, vincristine, and prednisone for induction of first remission in acute lymphocytic leukemia. *Cancer Res.* 1977;37: 535-40.
36. Pui CH. Central nervous system disease in acute lymphoblastic leukemia: prophylaxis and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006:142-6.
37. Kamps WA, Bokkerink JP, Hakvoort-Cammel FG, et al. BFM-oriented treatment for children with acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation and treatment reduction for standard risk patients: results of DCLSG protocol ALL-8 (1991-1996). *Leukemia.* 2002;16: 1099-111.

38. Tucci F, Arico M. Treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2008;93: 1124-8.
39. Harker-Murray PD, Thomas AJ, Wagner JE, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia isolated to the central nervous system. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14: 685-92.
40. Mehta PA, Davies SM. Allogeneic transplantation for childhood ALL. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41: 133-9.
41. Razis E, Arlin ZA, Ahmed T, et al. Incidence and treatment of tumor lysis syndrome in patients with acute leukemia. *Acta Haematol*. 1994;91: 171-4.
42. Orudjev E, Lange BJ. Evolving concepts of management of febrile neutropenia in children with cancer. *Med Pediatr Oncol*. 2002;39: 77-85.
43. Pui CH, Cheng C, Leung W, et al. Extended follow-up of long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2003;349: 640-9.
44. Barbui T, Finazzi G, Falanga A, et al. Bleeding and thrombosis in acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 1993;11: 43-7.
45. Athale UH, Chan AK. Thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia: part I. Epidemiology of thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *Thromb Res*. 2003;111: 125-31.
46. Oren H, Devecioglu O, Ertem M, Vergin C, et al. Analysis of pediatric thrombotic patients in Turkey. *Pediatr Hematol Oncol*. 2004;21: 573-83.
47. Monagle P, Adams M, Mahoney M, et al. Outcome of pediatric thromboembolic disease: a report from the Canadian Childhood Thrombophilia Registry. *Pediatr Res*. 2000;47: 763-6.
48. Kuhle S, Massicotte P, Chan A, et al. Systemic thromboembolism in children. Data from the 1-800-NO-CLOTS Consultation Service. *Thromb Haemost*. 2004;92: 722-8.
49. Payne JH, Vora AJ. Thrombosis and acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2007;138: 430-45.
50. Shapiro AD, Clarke SL, Christian JM, et al. Thrombosis in children receiving L-asparaginase. Determining patients at risk. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1993;15: 400-5.
51. Mauz-Korholz C, Junker R, Gobel U, et al. Prothrombotic risk factors in children with acute lymphoblastic leukemia treated with delayed *E. coli* asparaginase (COALL-92 and 97 protocols). *Thromb Haemost*. 2000;83: 840-3.
52. Nowak-Gottl U, Heinecke A, von Kries R, et al. Thrombotic events revisited in children with acute lymphoblastic leukemia: impact of concomitant *Escherichia coli* asparaginase/prednisone administration. *Thromb Res*. 2001;103: 165-72.
53. Farinasso L, Bertorello N, Garbarini L, et al. Risk factors of central venous lines-related thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia during induction therapy: a prospective study. *Leukemia*. 2007;21: 552-6.
54. Mitchell LG, Andrew M, Hanna K, et al. A prospective cohort study determining the prevalence of thrombotic events in children with acute lymphoblastic leukemia and a central venous line who are treated with L-asparaginase: results of the Prophylactic Antithrombin Replacement in Kids with Acute Lymphoblastic Leukemia Treated with Asparaginase (PARKAA) Study. *Cancer*. 2003;97:508-16.
55. Ruud E, Holmstrom H, de Lange C, et al. Thrombotic effects of asparaginase in two acute lymphoblastic leukemia protocols (NOPHO ALL-1992 versus NOPHO ALL-2000): a single-institution study. *Pediatr Hematol Oncol*. 2006;23: 207-16.

56. Kaste SC, Gronemeyer SA, Hoffer FA, et al. Pilot study of noninvasive detection of venous occlusions from central venous access devices in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Radiol*. 1999;29: 570-4.
57. Mitchell L, Andrew M, Hanna K, et al. Trend to efficacy and safety using antithrombin concentrate in prevention of thrombosis in children receiving L-asparaginase for acute lymphoblastic leukemia. Results of the PAARKA study. *Thromb Haemost*. 2003;90: 235-44.
58. Nowak-Gottl U, Kenet G, Mitchell LG. Thrombosis in childhood acute lymphoblastic leukaemia: epidemiology, aetiology, diagnosis, prevention and treatment. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2009;22: 103-14.
59. Mitchell L, Hoogendoorn H, Giles AR, et al. Increased endogenous thrombin generation in children with acute lymphoblastic leukemia: risk of thrombotic complications in L'Asparaginase-induced antithrombin III deficiency. *Blood*. 1994;83: 386-91.
60. Young G, Albisetti M, Bonduel M, et al. Impact of inherited thrombophilia on venous thromboembolism in children: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Circulation*. 2008;118: 1373-82.
61. Nowak-Gottl U, Wermes C, Junker R, et al. Prospective evaluation of the thrombotic risk in children with acute lymphoblastic leukemia carrying the MTHFR TT 677 genotype, the prothrombin G20210A variant, and further prothrombotic risk factors. *Blood*. 1999;93: 1595-9.
62. Revel-Vilk S, Massicotte P. Thromboembolic diseases of childhood. *Blood Rev*. 2003;17: 1-6.
63. Kidd JG. Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea pig serum. II. Studies on the nature of the active serum constituent: histological mechanism of the regression: tests for effects of guinea pig serum on lymphoma cells in vitro: discussion. *J Exp Med*. 1953;98: 583-606.
64. Broome JD. Evidence that the L-asparaginase of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. II. Lymphoma 6C3HED cells cultured in a medium devoid of L-asparagine lose their susceptibility to the effects of guinea pig serum in vivo. *J Exp Med*. 1963;118: 121-48.
65. Haley EE, Fischer GA, Welch AD. The requirement for L-asparagine of mouse leukemia cells L5178Y in culture. *Cancer Res*. 1961;21: 532-6.
66. Mashburn LT, Wriston JC, Jr. Tumor Inhibitory Effect of L-Asparaginase from *Escherichia Coli*. *Arch Biochem Biophys*. 1964;105: 450-2.
67. Muller HJ, Boos J. Use of L-asparaginase in childhood ALL. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1998;28: 97-113.
68. Wade HE, Robinson HK, Phillips BW. Asparaginase and glutaminase activities of bacteria. *J Gen Microbiol*. 1971;69: 299-312.
69. Capizzi RL, Bertino JR, Skeel RT, et al. L-asparaginase: clinical, biochemical, pharmacological, and immunological studies. *Ann Intern Med*. 1971;74: 893-901.
70. Verma N, Kumar K, Kaur G, et al. L-asparaginase: a promising chemotherapeutic agent. *Crit Rev Biotechnol*. 2007;27: 45-62.
71. Miller HK, Salser JS, Balis ME. Amino acid levels following L-asparagine amidohydrolase (EC.3.5.1.1) therapy. *Cancer Res*. 1969;29: 183-7.
72. Avramis VI, Tiwari PN. Asparaginase (native ASNase or pegylated ASNase) in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Int J Nanomedicine*. 2006;1: 241-54.

73. Brueck M, Koerholz D, Nuernberger W, et al. Elimination of l-asparaginase in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *Dev Pharmacol Ther.* 1989;12: 200-4.
74. Eden OB, Shaw MP, Lilleyman JS, et al. Non-randomised study comparing toxicity of *Escherichia coli* and *Erwinia asparaginase* in children with leukaemia. *Med Pediatr Oncol.* 1990;18: 497-502.
75. Duval M, Suciu S, Ferster A, et al. Comparison of *Escherichia coli*-asparaginase with *Erwinia*-asparaginase in the treatment of childhood lymphoid malignancies: results of a randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Children's Leukemia Group phase 3 trial. *Blood.* 2002;99: 2734-9.
76. Hawkins DS, Park JR, Thomson BG, et al. Asparaginase pharmacokinetics after intensive polyethylene glycol-conjugated L-asparaginase therapy for children with relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Clin Cancer Res.* 2004;10: 5335-41.
77. Vrooman LM, Supko JG, Neuberg DS, et al. *Erwinia asparaginase* after allergy to *E. coli* asparaginase in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2010;54: 199-205.
78. Appel IM, Hop WC, van Kessel-Bakvis C, et al. L-Asparaginase and the effect of age on coagulation and fibrinolysis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Thromb Haemost.* 2008;100: 330-7.
79. Abbott LS, Deevska M, Fernandez CV, et al. The impact of prophylactic fresh-frozen plasma and cryoprecipitate on the incidence of central nervous system thrombosis and hemorrhage in children with acute lymphoblastic leukemia receiving asparaginase. *Blood.* 2009;114: 5146-51.
80. Zaunschirm A, Muntean W. Correction of hemostatic imbalances induced by L-asparaginase therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Hematol Oncol.* 1986;3: 19-25.
81. Legnani C, Palareti G, Pession A, et al. Intravascular coagulation phenomena associated with prevalent fall in fibrinogen and plasminogen during L-asparaginase treatment in leukemic children. *Haemostasis.* 1988;18: 179-86.
82. O'Meara A, Daly M, Hallinan FH. Increased antithrombin III concentration in children with acute lymphatic leukaemia receiving L-asparaginase therapy. *Med Pediatr Oncol.* 1988;16: 169-74.
83. Semeraro N, Montemurro P, Giordano P, et al. Unbalanced coagulation-fibrinolysis potential during L-asparaginase therapy in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Thromb Haemost.* 1990;64: 38-40.
84. Risseuw-Appel IM, Dekker I, Hop WC, et al. Minimal effects of *E. coli* and *Erwinia asparaginase* on the coagulation system in childhood acute lymphoblastic leukemia: a randomized study. *Med Pediatr Oncol.* 1994;23: 335-43.
85. Pui CH, Chesney CM, Weed J, et al. Altered von Willebrand factor molecule in children with thrombosis following asparaginase-prednisone-vincristine therapy for leukemia. *J Clin Oncol.* 1985;3: 1266-72.
86. Miniero R, Pastore G, Saracco P, et al. Hemostatic changes in children with acute lymphoblastic leukemia treated according to two different L-asparaginase schedules. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1986;8: 116-20.
87. Nowak-Gottl U, Werber G, Ziemann D, et al. Influence of two different *Escherichia coli* asparaginase preparations on fibrinolytic proteins in childhood ALL. *Haematologica.* 1996;81: 127-31.

88. Nowak-Gottl U, Ahlke E, Fleischhack G, et al. Thromboembolic events in children with acute lymphoblastic leukemia (BFM protocols): prednisone versus dexamethasone administration. *Blood*. 2003;101: 2529-33.
89. Shipman GF, Bloomfield CD, Smith KA, et al. The effects of glucocorticoid therapy on glucocorticoid receptors in leukemia and lymphoma. *Blood*. 1981;58: 1198-202.
90. Kaspers GJ, Pieters R, Klumper E, et al. Glucocorticoid resistance in childhood leukemia. *Leuk Lymphoma*. 1994;13: 187-201.
91. van Giezen JJ, Brakkee JG, Dreteler GH, et al. Dexamethasone affects platelet aggregation and fibrinolytic activity in rats at different doses which is reflected by their effect on arterial thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1994;5: 249-55.
92. Broze GJ, Miletich JP. Human Protein Z. *J Clin Invest*. 1984;73: 933-8.
93. Sejima H, Hayashi T, Deyashiki Y, et al. Primary structure of vitamin K-dependent human protein Z. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990;171: 661-8.
94. Ichinose A, Takeya H, Espling E, et al. Amino acid sequence of human protein Z, a vitamin K-dependent plasma glycoprotein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990;17: 1139-44.
95. Iwanaga S, Nishimura H, Kawabata S, et al. A new trisaccharide sugar chain linked to a serine residue in the first EGF-like domain of clotting factors VII and IX and protein Z. *Adv Exp Med Biol*. 1990;281:121-31.
96. Hogg PJ, Stenflo J. Interaction of human protein Z with thrombin: evaluation of the species difference in the interaction between bovine and human protein Z and thrombin. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991;178: 801-7.
97. Vasse M, Denoyelle C, Corbiere C, et al. Human endothelial cells synthesize protein Z, but not the protein Z dependent inhibitor. *Thromb Haemost*. 2006;95: 519-23.
98. Lee CJ, Chandrasekaran V, Duke RE, et al. A proposed structural model of human protein Z. *J Thromb Haemost*. 2007;5: 1558-61.
99. Hojrup P, Jensen MS, Petersen TE. Amino acid sequence of bovine protein Z: a vitamin K-dependent serine protease homolog. *FEBS Lett*. 1985;184: 333-8.
100. Persson E, Stenflo J. Comparison of the Ca²⁺ binding properties of the gamma-carboxyglutamic acid-containing module of protein Z in the intact protein and in N-terminal fragments. *FEBS Lett*. 1992;314: 5-9.
101. Han X, Fiehler R, Broze GJ, Jr. Isolation of a protein Z-dependent plasma protease inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95: 9250-5.
102. Yin ZF, Huang ZF, Cui J, et al. Prothrombotic phenotype of protein Z deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97: 6734-8.
103. Han X, Huang ZF, Fiehler R, et al. The protein Z-dependent protease inhibitor is a serpin. *Biochemistry*. 1999;38: 11073-8.
104. Kemkes-Matthes B, Matthes KJ. Protein Z. *Semin Thromb Hemost*. 2001;27: 551-6.
105. Becker RC. The importance of factor Xa regulatory pathways in vascular thromboresistance: focus on protein Z. *J Thromb Thrombolysis*. 2005;19: 135-7.
106. Vasse M. Protein Z, a protein seeking a pathology. *Thromb Haemost*. 2008;100: 548-56.
107. Broze GJ, Jr. Protein-Z and thrombosis. *Lancet*. 2001;357: 900-1.
108. Broze GJ, Jr. Protein Z-dependent regulation of coagulation. *Thromb Haemost*. 2001;86: 8-13.

109. Corral J, Gonzalez-Conejero R, Hernandez-Espinosa D, et al . Protein Z/Z-dependent protease inhibitor (PZ/ZPI) anticoagulant system and thrombosis. *Br J Haematol.* 2007;137: 99-108.
110. Heeb MJ, Cabral KM, Ruan L. Down-regulation of factor IXa in the factor Xase complex by protein Z-dependent protease inhibitor. *J Biol Chem.* 2005;280: 33819-25.
111. Ravi S, Mauron T, Lammle B, et al. Protein Z in healthy human individuals and in patients with a bleeding tendency. *Br J Haematol.* 1998;102: 1219-23.
112. Kemkes-Matthes B, Matthes KJ. Protein Z deficiency: a new cause of bleeding tendency. *Thromb Res.* 1995;79: 49-55.
113. Gamba G, Bertolino G, Montani N, et al. Bleeding tendency of unknown origin and protein Z levels. *Thromb Res.* 1998;90: 291-5.
114. Miletich JP, Broze GJ, Jr. Human plasma protein Z antigen: range in normal subjects and effect of warfarin therapy. *Blood.* 1987;69:1580-6.
115. Santacroce R, Cappucci F, Di Perna P, et al. Protein Z gene polymorphisms are associated with protein Z plasma levels. *J Thromb Haemost.* 2004;2:1197-9.
116. Balkan C, Kavaklı K, Karapınar D. Protein Z. *Ege Pediatri Bülteni.* 2002;9: 217-222.
117. Vasse M, Guegan-Massardier E, Borg JY, et al . Frequency of protein Z deficiency in patients with ischaemic stroke. *Lancet.* 2001;357: 933-4.
118. Le Cam-Duchez V, Bagan-Triquenot A, Barbay V, et al. The G79A polymorphism of protein Z gene is an independent risk factor for cerebral venous thrombosis. *J Neurol.* 2008;255: 1521-5.
119. Heeb MJ, Fisher M, Paganini-Hill A. Association of low protein Z levels with ischemic stroke in young women. *Thromb Haemost.* 2007;97: 495-6.
120. Fedi S, Sofi F, Brogi D, et al. Low protein Z plasma levels are independently associated with acute coronary syndromes. *Thromb Haemost.* 2003;90: 1173-8.
121. Schettini F, Jr., Laforgia N, Altomare M, et al . Plasma protein Z levels in healthy and high-risk newborn infants. *Acta Paediatr.* 2004;93: 654-7.
122. Yurdakok M, Gurakan B, Ozbag E, et al. Plasma protein Z levels in healthy newborn infants. *Am J Hematol.* 1995;48: 206-7.
123. Kemkes-Matthes B, Matthes KJ. Protein Z, a new haemostatic factor, in liver diseases. *Haemostasis.* 1995;25: 312-6.
124. Ozkaya O, Bek K, Fisgin T, et al. Low protein Z levels in children with nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2006;21: 1122-6.
125. Blyth E, Favaloro EJ, Harris D, et al. Protein Z is reduced in chronic kidney disease and not elevated in patients on haemodialysis. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2008;19: 23-5.
126. Usalan C, Erdem Y, Altun B, et al. Protein Z levels in haemodialysis patients. *Int Urol Nephrol.* 1999;31: 541-5.
127. Bek K, Ozkaya O, Fisgin T, et al. Protein Z and natural anticoagulants in children on peritoneal dialysis and hemodialysis. *Pediatr Nephrol.* 2007;22: 881-6.
128. Del Vecchio GC, Nigro A, Giordano P, et al. Plasma protein Z and protein C inhibitors and their role in hypercoagulability of thalassemia. *Acta Haematol.* 2007;118: 136-40.
129. Shang Y, Pan XY, Ding CP, et al. Clinical significance of protein Z detection in patients with malignant tumors. *Ai Zheng.* 2005;24: 1144-7.

130. Al-Shanqeeti A, van Hylckama Vlieg A, Berntorp E, et al . Protein Z and protein Z-dependent protease inhibitor. Determinants of levels and risk of venous thrombosis. *Thromb Haemost.* 2005;93: 411-3.
131. Pike RN, Buckle AM, le Bonniec BF, et al. Control of the coagulation system by serpins. Getting by with a little help from glycosaminoglycans. *FEBS J.* 2005;272: 4842-51.
132. Hoffman M, Monroe DM. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2007;21: 1-11.
133. Rau JC, Beaulieu LM, Huntington JA, et al. Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. *J Thromb Haemost.* 2007;5: 102-15.
134. Fujimaki K, Yamazaki T, Taniwaki M, et al. The gene for human protein Z is localized to chromosome 13 at band q34 and is coded by eight regular exons and one alternative exon. *Biochemistry.* 1998;37: 6838-46.
135. Lichy C, Kropp S, Dong-Si T, et al. A common polymorphism of the protein Z gene is associated with protein Z plasma levels and with risk of cerebral ischemia in the young. *Stroke.* 2004 ;35: 40-5.
136. Staton J, Sayer M, Hankey GJ, et al. Protein Z gene polymorphisms, protein Z concentrations, and ischemic stroke. *Stroke.* 2005;36: 1123-7.
137. Santacroce R, Sarno M, Cappucci F et al. Low protein Z levels and risk of occurrence of deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2006;4: 2417-22.
138. Soury M, Koseki-Kuno S, Iwata H, et al. A naturally occurring E30Q mutation in the Gla domain of protein Z causes its impaired secretion and subsequent deficiency. *Blood.* 2005;105: 3149-54.
139. Iwata H, Soury M, Kemkes-Matthes B, et al. An additional Glu30Lys substitution in the Gla domain of the protein Z gene is not a common polymorphism but a rare mutation, which would cause its deficiency. *J Thromb Haemost.* 2005;3: 2360-1.
140. Kemkes-Matthes B, Matthes KJ, Soury M, et al. R255h amino acid substitution of protein Z identified in patients with factor V Leiden mutation. *Br J Haematol.* 2005;128: 248-52.
141. Kemkes-Matthes B, Nees M, Kuhnel G, et al. Protein Z influences the prothrombotic phenotype in Factor V Leiden patients. *Thromb Res.* 2002;106: 183-5.
142. Priest JR, Ramsay NK, Bennett AJ, et al. The effect of L-asparaginase on antithrombin, plasminogen, and plasma coagulation during therapy for acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr.* 1982;100: 990-5.
143. Appel IM, Hop WC, Pieters R. Changes in hypercoagulability by asparaginase: a randomized study between two asparaginases. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2006;17: 139-46.
144. Totan M, Dagdemir A, Ak AR, et al. Effects of high-dose methotrexate on the hemostatic system in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol.* 2001;36: 429-33.
145. Fisgin T, Yarali N, Kara A, et al. Hemostatic side effects of high-dose methotrexate in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Hematol Oncol.* 2004;21: 77-83.
146. Undar L, Karadogan I, Ozturk F. Plasma protein Z levels inversely correlate with plasma interleukin-6 levels in patients with acute leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. *Thromb Res.* 1999;94: 131-4.
147. Vasse M, Denoyelle C, Legrand E, et al. Weak regulation of protein Z biosynthesis by inflammatory cytokines. *Thromb Haemost.* 2002;87: 350-1.

148. Cesari F, Gori AM, Fedi S, et al. Modifications of protein Z and interleukin-6 during the acute phase of coronary artery disease. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2007;18: 85-6.
149. McQuillan AM, Eikelboom JW, Hankey GJ, et al. Protein Z in ischemic stroke and its etiologic subtypes. *Stroke*. 2003;34: 2415-9.
150. Greten J, Kemkes-Matthes B, Nawroth PP. Prothrombin complex concentrate contains protein Z and prevents bleeding in a patient with protein Z deficiency. *Thromb Haemost*. 1995;74: 992-3.
151. Çobankara V, Özatlı D, Haznederoğlu IC, et al. Circulating Protein Z in reactive and clonal thrombocytosis and ITP. *Thromb Haemost*. 1999;563a
152. Martinelli I, Razzari C, Biguzzi E, et al. Low levels of protein Z and the risk of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost*. 2005;3: 2817-9.
153. Heeb MJ, Paganini-Hill A, Griffin JH, et al. Low protein Z levels and risk of ischemic stroke: differences by diabetic status and gender. *Blood Cells Mol Dis*. 2002;29: 139-44.
154. Ayoub N, Esposito G, Barete S, et al. Protein Z deficiency in antiphospholipid-negative Sneddon's syndrome. *Stroke*. 2004;35: 1329-32.
155. Lopaciuk S, Bykowska K, Kwiecinski H, et al. Protein Z in young survivors of ischemic stroke. *Thromb Haemost*. 2002;88: 536.
156. Kobelt K, Biasiutti FD, Mattle HP, et al. Protein Z in ischaemic stroke. *Br J Haematol*. 2001 ;114: 169-73.
157. Obach V, Munoz X, Sala N, et al. Intronic c.573 + 79G>A polymorphism of protein Z gene in haemorrhagic and ischaemic stroke. *Thromb Haemost*. 2006;95: 1040-1.