

T.C.
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**Akut Lenfoblastik Lösemili Çocuklarda Avasküler Nekrozun Vitamin D
Reseptör Gen Polimorfizmleriyle İlişkisi ve Asemptomatik Avasküler
Nekroz Tanısındaki Rolü**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Nurhan ARUÇI KASAP

TEZ DANIŞMANLARI

Doç. Dr. Fatma Betül Çakır

Prof. Dr. Bülent Zülfikar

İSTANBUL-2015

**Akut Lenfoblastik Lösemili Çocuklarda Avasküler Nekrozun Vitamin D
Reseptör Gen Polimorfizmleriyle İlişkisi ve Asemptomatik Avasküler
Nekroz Tanısındaki Rolü**

Dr. Nurhan ARUÇI KASAP

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANLARI

Doç. Dr. Fatma Betül Çakır

Prof. Dr. Bülent Zülfikar

Bezmi Alem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

İSTANBUL-2015

TEŞEKKÜR

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı uzmanlık eğitimim boyunca gösterdiği her türlü destekten dolayı anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Ruşen DÜNDARÖZ'e,

Hem hekimlik mesleğine hem de hayata yaklaşımıyla bizlere örnek olan, yanında çalışmaktan onur duyduğum, tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabrından dolayı tez yöneticim sayın Doç. Dr. Fatma Betül ÇAKIR'a ve değerli hocam Prof. Dr. Bülent ZÜLFİKAR'a,

Tez çalışmamda araştırma laboratuvarını bana açan Doç. Dr. Ülkan KILIÇ'a ve Arş. Gör. Özlem GÖK'e,

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum, dostluklarıyla hayatıma değer katan sevgili Dr. Seçil ÇAKIR GÜNDOĞAN'a, Dr. Mine YÜKSEL'e, Dr. Fatma ÖZGÜÇ ÇÖMLEK'e,

Desteklerinden dolayı başta Dr. Ayşegül DOĞAN DEMİR olmak üzere kliniğimizin tüm uzman hekimlerine, asistan arkadaşlarıma ve tüm pediatri personeline, özellikle Pınar SİPAHİ'ye ve Tuğba CİNEK'e,

Her zaman çocuğu olduğum için kendimi şanslı hissettiğim canım anneme, kardeşlerime ve duygularımı anlatmak için kelimelerin kifayetsiz kaldığını bildiğim eşime,

Teşekkür ederim.

Varlığını her zaman hissettiğim, hep yanımda olan en büyük destekçime;

Babam, Prof. Dr. Muhammet ARUÇI'ye...

Dr. Nurhan ARUÇI KASAP

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
TABLolar DİZİNİ	IV
KISALTIMA DİZİNİ.....	V

ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1 Akut Lenfoblastik Lösemi	7
2.1.1. Tanım	7
2.1.2. Epidemiyoloji.....	7
2.1.3. Etiyoloji	7
2.1.4. Patogenez.....	8
2.1.5. Klinik Bulgular	8
2.1.6. Tanı.....	9
2.1.7. Prognostik Faktörler.....	9
2.1.8. Tedavi	9
2.1.8.1 Akut Lenfoblastik Lösemi Tedavi Bölümleri.....	10
2.1.8.2 Tedavi Komplikasyonları.....	11
2.2. Akut Lenfoblastik Lösemi ve Avasküler Nekroz.....	13
2.2.1. Avasküler Nekroz Tanımı	13
2.2.2. Avasküler Nekrozda Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri	13
2.2.3. Avasküler Nekrozun Etiyolojisi ve Patogenezi.....	20
2.2.4. Avasküler Nekrozda Klinik Bulgular	21
2.2.5. Avasküler Nekrozda Laboratuvar Bulgular	222
2.2.6. Avasküler Nekrozda Görüntüleme.....	266
2.2.7. Avasküler Nekroz Tedavisi.....	28
2.3. Akut Lenfoblastik Lösemi’de Avasküler Nekroz ve Genetik	29
2.3.1. Vitamin D Reseptör Gen ile İlişkisi.....	29
2.3.2. Diğer Genlerle İlişkisi.....	31

3. GEREÇ ve YÖNTEM	33
3.1. Örnek Toplama	33
3.2. Saklama Koşulları.....	33
3.3. Vitamin D Reseptör Gen Çalışması	33
3.4. Kullanılan Malzemeler.....	33
3.5. İstatistiksel Yöntemler	34
4. BULGULAR	35
4.1. Hastalar	35
4.2. Genetik Dağılım.....	37
4.3. Avasküler Nekroz ile İlişki.....	38
4.3.1. Avasküler Nekroz ve Klinik Bilgiler ile İlişki	38
4.3.2. Avasküler Nekroz ve Vitamin D Reseptör Polimorfizmleri ile İlişki	39
4.3.3. Avasküler Nekrozda Manyetik Rezonans Görüntüleme Bulguları	40
4.3.4. Avasküler Nekroz ve Biyokimyasal Değerler ile İlişki.....	400
4.3.5. Avasküler Nekrozda Genotip ve Cerrahi ile İlişki.....	411
5. TARTIŞMA	422
5.1. Avasküler Nekroz ve Vitamin D Reseptör Polimorfizmleri ile İlişki	422
5.2. Avasküler Nekroz İnsidansı ile İlişki.....	43
5.3. Avasküler Nekroz ve Yaş/Cinsiyet ile İlişki.....	433
5.4. Biyokimyasal Değerler ile İlişki.....	444
5.5. Avasküler Nekroz Tutulum Bölgeleri ile İlişki	466
SONUÇLAR ve ÖNERİLER	477
KAYNAKLAR	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil no	Sayfa no
Şekil 1. VDR ekzon-intron yapısı ve bilinen polimorfizmleri	29
Şekil 2: AVN tanısı alan hastaların genotip dağılımı.....	39
Şekil 3: AVN saptanan hastalarda eklem tutulum oranları	40
Şekil 4: AVN varlığına göre P seviyeleri ilişkisi	41

TABLolar DİZİNİ

Tablo no	Sayfa no
Tablo 1: Çalışmaya katılan ALL tanılı hastalarda yaş, cinsiyet, ALL tanı yaşı ve remisyonda devam eden süre.....	35
Tablo 2: Hastaların genotip dağılımı ve AVN varlığı	37
Tablo 3: AVN varlığına göre hastaların yaş, tanı yaşı ve tedavi yılı dağılımları	38
Tablo 4: AVN varlığına göre biyokimyasal parametreler değerlendirilmesi	41

KISALTMA DİZİNİ

- 1,25(OH)₂D: 1,25-Dihidroksi Vitamin D
25(OH)D: 25 Hidroksi Vitamin D
ABCB1: ATP-binding cassette, sub-family B
ACP1/5: Acid phosphatase 1/5
ALL: Akut lenfoblastik lösemi
ALP: Alkalen fosfataz
AVN: Avasküler nekroz
BGLAP: Bone gamma-carboxyglutamate (gla) protein
Ca: Kalsiyum
CYP3A: Cytochrome P450, family 3, subfamily A
DNA: Deoksiribonukleik asit
ESR1: Östrojen Reseptör Geni
GR: Glucocorticoid receptore gene
GSTM1: Glutathione S-transferase mu 1
GSTP1: Glutathione S-transferase pi 1
GSTT1: Glutathione S-transferase theta 1
IGF-I: Insulin like growth factor-I
KIT: Kemik iliği transplantasyonu
KMD: Kemik mineral dansitesi
KS: Kortikosteroid
KT: Kemoterapi
LRP5: Low density lipoprotein receptor-related protein 5
MDR1: Multidrug resistance gen
MRG: Manyetik Rezonans Görüntülemesi
MTHFR: Metylenetetrahydrofolate reductase gen
MTX: Metotreksat
NR3C1: Nuclear receptor subfamily 3, group C, member 1
P: Fosfor
PAI-1: Serpin peptidase inhibitor
PCR: Polymerase chain reaction
PTHr: Paratiroid Hormon Reseptörü Geni
RD: Referans değerleri

RFC: Replication factor C gen

RFLP: Restriction fragment length polymorphism

RT: Radyoterapi

SNPs: single nucleotide polymorphisms; tek nükleotid polimorfizmleri

SSS: Santral sinir sistemi

TYMS: Thymidylate synthetase

UGT1A1: UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A1

UKALL: United Kingdom Acute Lymphoblastic Leukemia

VDR: Vitamin D reseptör

ÖZET

Akut Lenfoblastik Lösemili Çocuklarda Avasküler Nekrozun Vitamin D Reseptör Gen Polimorfizmleriyle İlişkisi ve Asemptomatik Avasküler Nekroz Tanısındaki Rolü

Amaç: Avasküler nekroz gelişiminin, akut lenfoblastik lösemili hastalarda tedavi boyunca oluşan önemli bir komplikasyon olduğu görülmüştür. Avasküler nekroz; lösemik sürecin kendisine ve kemoterapinin hücrel toksisite ve vasküler hasar oluşturmaya bağlı olarak gelişmektedir.

Çalışmamızda, akut lenfoblastik lösemili hastalarda avasküler nekroz gelişiminin vitamin D reseptör gen polimorfizmleri ile ilişkisinin belirlenmesi; elde edilen sonuçlardan yeni tanı alan hastaların takip ve tedavi süresinde yararlanılabilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bezmi Alem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi ve İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Çocuk Hematoloji-Onkoloji Bölümlerinde takipli akut lenfoblastik lösemi tanılı, tanı yaşları 0-18 yaş arasında olan 71 hasta çalışmaya dahil edildi. Alınan kanda; deoksiribo nukleik asit izolasyonu yapıldı ve vitamin D reseptör gen bölgeleri olan BsmI, ApaI ve TaqI polimorfizmleri polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphism yöntemi ile çoğaltılarak değerlendirildi. Kalsiyum, fosfor, alkalin fosfat, 25 Hidroksi Vitamin D, 1,25-Dihidroksi Vitamin D biyokimyasal parametreleri çalışıldı.

Bulgular:

1. Akut lenfoblastik lösemi tanılı çocuk hastalarda avasküler nekroz gelişimi ile BsmI, ApaI, TaqI polimorfizmleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmamıştır (sırasıyla $p=0.819$, $p=0.731$, $p=0.623$).

2. Akut lenfoblastik lösemi tanılı çocuklarda akut lenfoblastik lösemi tanı yaşının daha büyük olmasının avasküler nekroz gelişimi ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olduğu gösterilmiştir ($p<0.001$).

3. Akut lenfoblastik lösemi tanılı çocuklarda avasküler nekroz gelişme oranı kızlarda erkeklere göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak fazla bulunmuştur ($p<0.05$).

4. Avasküler nekroz tanılı hastalarda en sık kalça eklemi, ikinci sıklıkta diz eklemi, üçüncü sıklıkta ise ayak bileği eklemi tulumu olduğu görülmüştür.

5. Avasküler nekroz varlığı ile ortalama kalsiyum, fosfor, alkalin fosfat, 25 Hidroksi Vitamin D, 1,25-Dihidroksi Vitamin D değerleri arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir.

6. Avasküler nekroz tanısı alan grupta semptomatik avasküler nekroz tanısı almayan gruba kıyasla ortalama fosfor değeri anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (p=001).

7. Avasküler nekroz nedeniyle cerrahi uygulanan akut lenfoblastik lösemi hastalarının hepsi kız hastaydı ve tamamında kalça eklem tutulumu mevcuttu.

Sonuç: Çalışmamızda, akut lenfoblastik lösemi hastalarında bakılan vitamin D reseptör geninin BsmI, ApaI, TaqI polimorfizmleri ile avasküler nekroz gelişimi arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Ancak avasküler nekroz gelişiminde belirti göstermeyen lezyonların oranı yüksektir ve bu nedenle erken teşhis ve tedavi büyük öneme sahiptir. Akut lenfoblastik lösemi tedavisinde bireysel yaklaşım önemlidir, bu hastalarda özellikle farmakogenetik risk faktörlerinin kapsamlı çalışmalarda prospektif olarak araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

ABSTRACT

The Association of Avascular Necrosis with Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and Its Role in Diagnosing Asymptomatic Avascular Necrosis in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia

Background and Purpose: Avascular necrosis was seen to be an important complication in patients with acute lymphoblastic leukemia. It is thought to develop both due to leukemic process itself and also due to cellular toxicity and vascular damage of chemotherapies including corticosteroid treatment.

Our study aims to determine the association between avascular necrosis development and vitamin D receptor gene polymorphism in acute lymphoblastic leukemia patients, and to benefit from the results obtained in this study.

Method and Material: The study included 71 acute lymphoblastic leukemia patients aged 0-18 years, who were treated at Pediatric Hematology-Oncology departments of Bezmi Alem Vakıf University Medical Faculty and Oncology Institute of Istanbul University Medical Faculty. Deoxyribonucleic acid was isolated from blood samples and polymorphisms at vitamin D receptor gene sites BsmI, ApaI ve TaqI were established via the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method. Calcium, phosphor, alkalinephosphatase, 25 hydroxy vitamin D, 1,25-hydroxyvitamin D were studied as biochemical parameters.

Results:

1. There was no significant statistical relationship between avascular necrosis development and BsmI, ApaI, TaqI polymorphisms in acute lymphoblastic leukemia patients in our study (respectively $p=0.819$, $p=0.731$, $p=0.623$).
2. There was a significant relationship between higher age at acute lymphoblastic leukemia diagnosis and avascular necrosis ($p<0.001$).
3. Female gender was significantly higher among avascular necrosis patients ($p<0.05$).

4. Joint involvements of the hip, knee and ankle were significantly higher in patients with avascular necrosis.

5. There was no significant statistical relationship between avascular necrosis development and calcium, alkaline phosphatase, 25 hydroxy vitamin D and 1,25- hydroxy vitamin D parameters.

6. Phosphorus was found to be significantly low in avascular necrosis group compared to asymptomatic avascular necrosis group.

7. All patients who underwent surgery for avascular necrosis were all females and had hip joint involvement.

Conclusion: In our study, BsmI, ApaI, TaqI polymorphisms in the vitamin D receptor gene were not associated with avascular necrosis development in acute lymphoblastic leukemia patients. However, the ratio of asymptomatic lesions is high, thus early diagnosis and treatment is of great importance. Personalized therapy is getting increasingly important in acute lymphoblastic leukemia treatment, and specifically pharmacogenetic risk factors probably important in terms of treatment outcome should be investigated prospectively in comprehensive studies .

1. GİRİŞ

Akut lösemi, normal lenfoid ve miyeloid ana hücrelerin hematopoezin özgün bir evresinde durarak, klonal ekspansiyonu sonucu oluşan, çocukluk çağıının en sık görülen hematolojik malign hastalığıdır. Tüm çocukluk çağı lösemilerinin % 97'sini akut lösemiler kapsamaktadır. Bunların %75-80'ini akut lenfoblastik lösemi (ALL) oluşturmaktadır (1). ALL, yalnız çocukluk çağıının en sık görülen malign hastalığı olması açısından değil tedavide elde edilen başarılar açısından da bu yaş grubunun en önemli malign hastalığıdır.

Son yıllarda çocukluk çağı ALL tedavisinde başarı oranları arttıkça, tedavi sonrasında hayatta kalan çocuk sayısında da artış kaydedilmiştir. Sağkalım oranları arttıkça tedavinin erken ve geç yan etkilerinin ortaya çıkması yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemekte, bu yan etkilerin erken tespiti ve sağaltımı giderek önem kazanmaktadır. Hastanın yaşına, cinsiyete, genetik yatkınlığa ve kullanılan tedavi protokollerine göre geç yan etkiler de değişkenlik gösterebilmektedir. Kemoterapötik ajanlar ve radyoterapi (RT) çeşitli sistem ve dokuları etkileyerek nörolojik, nörokognitif, endokrin, kardiyak, metabolik, kas ve iskelet, immünolojik, gastrointestinal sistemle ilgili farklı yan etkiler oluşturabilmektedir.

Özellikle yüksek doz kortikosteroid (KS), metotreksat (MTX), ve kranial RT kullanımı sonucu kemik demineralizasyonu ve özellikle KS kullanımı sonucu gelişen avasküler nekroz (AVN) ALL tedavisinin en önemli kas ve iskelet sistemi toksisitesidir (2). AVN, infektif olmayan, iskemik olay sonucu epifizial ve subartiküler gelişen kemik değişiklikleridir. ALL hastalığının kendisi, kemoterapi (KT) ve özellikle KS tedavilerinin hücrel toksisitesi ve vasküler hasarı sonucunda geliştiği düşünülmektedir.

ALL hastalarında AVN gelişimi patogenezi tam olarak bilinmemektedir (3). KS tedavisinin kemik iliğinde osteoblastogeneziste büyük etkisi vardır. Osteoblast ve matür osteoklastlarda apoptozisi indükleyerek direk kemik hasarı oluşturduğu (4), osteoblastların işlevini azalttığı ve matrisi üretimini arttırdığı gösterilmiştir. KS, indirek olarak da kemik iliğinin yağ içeriğini arttırarak yağ embolisi, intraoseöz basınç artışı ve vasküler kompresyona yol açmaktadır. Sonuçta, tromboz riski artmakta ve kemik onarım mekanizması bozulmaktadır (5).

İlgili yayınlar; çoğunlukla AVN tanısı, AVN insidansı, ALL tedavi protokolleriyle AVN ilişkisi ve retrospektif olarak değerlendirilen risk faktörlerine

yönelik araştırmalardır. Mevcut alışmalar değerlendirildiğinde ALL hastalarında gelişen kas ve iskelet sistemi yan etkilerinin; lösemik süreç, yaş, cinsiyet, puberte evresi, KS tedavisi, uygulanan KS tipi, KS tedavisi dozu/uygulanma süresi, bazı kemoteröpatikler, RT, azalmış fiziksel aktivite, beslenme eksiklikleri gibi risk faktörlerine bağlı olduğundan bahsedilebilir.

AVN hastalığının oranı klinik olarak semptomatik olan hastalarda 1%-9% arasında saptanırken, bu oran tüm hastaların magnetik rezonans görüntülemesi (MRG) ile tetkik edildiği başka çalışmalarda %15 oranlarına çıkabilmektedir (6,7,8,9). AVN asemptomatik olabildiği gibi, ciddi eklem ağrısı, eklem şişliği, hareket kısıtlılığı ve sonunda eklem hasarı ve kollapsına kadar gidebilen bir klinik spektruma sahiptir (10,11). AVN'nin yaklaşık yarısı asemptomatiktir. Gelişebilecek büyük lezyonlar komşu eklemde artroz zemini hazırlayabilir. Bu yüzden erken teşhis ve tedavi önemlidir (12).

ALL hastalarında sağ kalımın artmasıyla gelişebilecek AVN komplikasyonunun hayat kalitesi üzerine uzun dönem etkilerinin prospektif olarak çalışılması gerekmektedir. Buna göre ALL tedavisi sırasında ve sonrasında uygulanabilecek kanıta dayalı tedavi rehberleri oluşturulmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tedavi rehberleri uygun KT ajanlarını, ameliyat endikasyonlarını ve kemik metabolizması düzenleyici destek tedavilerini kapsamalı gerekmektedir.

ALL tedavisi alan ve tedavisini bitirmiş olan hastalar, tedaviye bağlı yan etkiler açısından periyodik olarak değerlendirilmeli ve yaşamlarının geri kalanını daha sağlıklı yaşayabilmeleri için erken ve gerekli multidisipliner tedavi yaklaşımlarında bulunulmalıdır.

Aynı tedavi protokolüyle tedavi edilen çocuklarda vücut kompozisyonundaki etkilenme farklılığının belirgin olması, patogeneizde farmakogenetiğin önemli rol oynadığını düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda bazı gen polimorfizmlerinin ALL hastalarında AVN gelişimi ile ilişkilendirilmiştir.

ALL tedavisini etkileyebileceği düşünölen AVN ile ilişkilendirilmiş bazı gen polimorfizmleri bakılmıştır; ancak sonuçlar çelişkilidir. Bu nedenle ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu alışmada ALL hastalarında semptomatik AVN gelişiminin VDR 3'-end SNPs (tek nükleotid polimorfizmleri) olan BsmI/ApaI/TaqI haplotipleri ile ilişkisi ve asemptomatik AVN tanısını koymadaki rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Akut Lenfoblastik Lösemi

2.1.1. Tanım

Akut lösemiler, lenfohematopoetik hücrelerin matürasyon fazındaki duraklama sonucu klonların malign özellik kazanarak çoğalması ile karakterize olan heterojen bir hastalıktır. Çocukluk çağı kanserlerinin %30'unu akut lösemiler oluşturmaktadır. ALL ise akut lösemilerin yaklaşık %80'nini kapsamaktadır (1). ALL öncül lenfoid hücrelerin pek çok farklı gelişim basamaklarının birinde oluşan mutasyonlar nedeni ile meydana gelen neoplastik bir hastalıktır.

2.1.2. Epidemiyoloji

ALL, çocukluk çağının en sık malignitesidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık ALL görülme sıklığı 4/100.000'dir ve her yıl yaklaşık 2500-3000 yeni ALL tanısı konulmaktadır. Türkiye'de ise sağlık bakanlığı verilerine göre ALL insidansı 1,5/100.000 olarak belirtilmiştir (1). ALL'nin en sık görüldüğü yaş aralığı 2-5 yaş arasındadır. Kız/erkek oranı 1/1.2-1.3'dür (1,13,14). Sarı ve siyah ırka göre beyaz ırkta görülme oranı daha sıktır (1,14).

Son beş yıldaki sağ kalım %80-85 gibi yüksek oranlardadır. Bu oran ancak 1980'li yıllardan itibaren belirgin olarak artmaya başlamıştır (1,13). Tedavideki gelişmelere bağlı olarak; standart protokollerin geliştirilmesi, riske yönelik tedavilerin verilebilmesine imkan tanıyan prognostik faktörlerin tanımlanması ve destek bakımında ilerlemelerin sağlanması ile kür oranları yükselmiştir (15,16).

2.1.3. Etiyoloji

Akut lösemnin etiyolojisi tam olarak tanımlanamamıştır. Kimyasal maddeler (benzen, katekol vb.), elektromanyetik alan, radyasyon, ilaçlar (özl. alkilleyiciler), aile öyküsü, kromozom bozuklukları, ikiz eşi olma, bazı genetik ve immünyetmezlik sendromları (örn; Down sendromu, Nörofibromatozis tip1, Bloom sendromu, Ataksi telenjiektazi) lösemi eğilimindeki artıştan sorumlu tutulabilmektedir (17).

2.1.4. Patogenez

T lenfosit reseptörleri veya B hücre yüzeyel Ig'lerinin moleküler araştırılması sonucunda belirlenen özelliklerin tüm blastlarda benzer olduğunun gösterilmesi ile lösemnin tek bir hücreden gelişen bir hastalık olduğu yani klonal olduğu ispatlanmıştır (17). Tek bir mutasyonun olmasından ziyade ard arda gelen birçok mutasyon sonrası meydana gelmiş mutant hücrenin çoğalması sorumlu tutulmaktadır. Patogenezde kabul gören teoriler arasında en çok desteklenen Knudson'un "Two hit teorisi" dir. Bu düşüncede ilk mutasyonun çocuk henüz anne karnında iken olduğu savunulmaktadır. İkinci mutasyon ise postnatal dönemde çevresel faktörlerin (enfeksiyon, radyasyon, toksin, diyet, immün supresyon, vb) etkisi ile oluşur. Tüm bu mutasyonlar sonucunda 2 olay gelişmektedir; protoonkogenlerde fonksiyon kazanımı (mutasyon, translokasyon, amplifikasyon) ve tümör baskılayıcı genlerde fonksiyon kaybı (delesyon, hipometilasyon veya mutasyon). Tek bir hücrenin apoptoza karşı direnç kazanarak çoğalma yeteneği kaybolmaksızın farklılaşma özelliğini kaybetmesi sonucu ölümsüz lösemik klon gelişir.

2.1.5. Klinik Bulgular

Lösemnin klinik olarak bulgu vermesi sürekli çoğalan bu hücrelerin kemik iliği ve organları istila etmesi sonucu olur. Lösemi sıklıkla kemik iliğinden başlayıp diğer organlara yayılır, kemik iliği tutulumunun organ tutulumunu takip etmesi oldukça nadirdir (ekstramedüller başlangıç).

ALL'de gelişen klinik bulgular; kemik iliğinin infiltrasyonu sonucu oluşan bulgular, lenfoid sistemin tutulması ile oluşan bulgular ve ekstramedüller sistem bulguları olarak 3 farklı grupta değerlendirilebilmektedir.

Kemik iliğinin infiltrasyonu sonucu 3 serinin etkilenmesine bağlı olarak anemi, nötropeni, trombositopeni görülür. Lenfoid sistemin tutulması sonucu meydana gelen bulgular; hepato-splenomegali ve lösemik blastların yayılımı ile lenfadenopati (LAP) saptanmasıdır. Ekstramedüller sistem bulguları; kemik ve eklem, santral sinir sistemi (SSS), genitouriner sistem, gastrointestinal sistem, deri, kalp ve akciğer tutulumu olarak sınıflanabilir.

Kemik ve eklem bulguları tanı sırasında %25 olguda saptanır. Lösemik hücrelerin periostu tutması, kemik infarktı, yada kemik iliği mesafesinin artan blast yükü ile genişlemesi sebebi ile klinik bulgular oluşabilmektedir. En sık uzun kemiklerde ve sternumda saptanır. Hastalar sıklıkla artrit, artralji veya romatoid artrit tanısı ile

izlenir. Medüller veya korteksi kapsayan osteolitik lezyonlar, metafizde radyolusen bandlar, metafizde büyümenin durmasına bağlı artmış dansite, periost altında yeni kemik oluşumu radyolojik olarak saptanabilen durumlardır.

SSS bulguları tanı sırasında %5'den daha az olguda saptanır; artmış intrakranial bası bulguları, parenkimal tutulumu bağlı bulgular, arka hipofiz tutulumu ve kanama görülebilir. Genitoüriner sistemde tanıda saptanan testiste ağrısız şişlik sık bulgulardandır; erkek çocukların %10-23'ünde tanıdan sonraki ilk 1. Yılda bulunabilmektedir. Gastrointestinal sistem tutulumu ALL' de sık olabilmektedir, kanama en sık klinik bulgusudur. Deri tutulumuna AML ve yenidoğan lösemilerinde daha sık karşılaşılır. Kalp tutulumu % 50-66 olguda otopsilerde gösterilmesine rağmen klinik bulgu olguların < %5'inde saptanır. Patolojik olarak miyokard ve perikardda blast saptanır. Akciğer tutulumu lösemik infiltrasyon veya kanamaya bağlı olarak gelişir.

2.1.6. Tanı

ALL tanısı için tercih edilen yöntem kemik iliği aspirasyonudur. Kemik iliğinde >25 olarak saptanan blast sayısı lösemi ile ilişkilendirilir. Kemik iliğindeki blast sayısı ALL'de ise genellikle >60 olarak saptanır. Kemik iliğinden ayrıca hücre tipini belirlemek için immünofenotipleme, genetik inceleme ve histokimyasal boyalar yapılmalıdır.

2.1.7. Prognostik Faktörler

Çocukluk çağı ALL'sinde prognozu etkileyen faktörlerin başında lökosit sayısı, tanıdaki yaş, moleküler genetik ve tedaviye erken dönemdeki cevap gelmektedir (18).

Kızlarda erkeklere göre prognozun genel olarak daha iyi olduğu bilinmektedir. Erkeklerde testis nüksleri , ileri tanı yaşı, T-immünolojisi ve lökosit sayısı gibi yüksek risk faktörlerinin daha sık olması erkeklerdeki olumsuz prognozun nedenleri olarak gösterilmektedir (19).

2.1.8. Tedavi

Güncel tedavi protokolleri hastaları taşıdıkları risklere göre düşük, standart ve yüksek riskli olarak sınıflamaktadır. Bu sınıflamadaki amaç nüks beklenen hastalarda daha yoğun tedavi uygulayabilmek, düşük risk grubundaki hastaları ise tedavinin geç yan etkilerinden koruyabilmektir. Son zamanlarda hastanın lösemisinin taşıdığı özellikler ve risk faktörleri ile birlikte ilaç metabolizmasına etki eden enzimlerin genetik

polimorfizminin de (tiopürin metil transferaz, metilen tetra hidro folat redüktaz, timidilat sentetaz, glutatyon transferaz, multidrug resistans, RFC = reduced folat carier, sitokrom p-450, nikotinamid adenin dinüklotid, sistationin beta sentetaz) prognozu etkilediği saptanmıştır (20,21). ALL tedavisi genellikle belli kalıplar içinde geliştirilse de, giderek hastaya özel kişisel bir biçime sokulmaya çalışılmaktadır.

Klinik ve hematolojik remisyon sağlamak, remisyonun devamlılığını sistemik KT ve SSS ışınlaması ile sürdürmek, hastalık ve tedavi komplikasyonları ile baş etmek ALL tedavisinin amaçlarıdır.

2.1.8.1 Akut Lenfoblastik Lösemi Tedavi Bölümleri

1. İndüksiyon (başlangıç) tedavisi
2. Konsolidasyon (güçlendirme) tedavisi ve SSS tedavisi
3. Gecikmiş pekiştirme tedavisi
4. İdame tedavi

İNDÜKSİYON TEDAVİSİ

Bu tedavide amaç lösemik hücreleri ortadan kaldırmaktır. Tanı konulur konulmaz başlanılır. Kortizon, vinkristin, antrasiklin ve L-asparaginaz indüksiyon tedavisinde kullanılan ajanlardır. Son zamanlarda bazı protokollerde bu dört ilaca ilave olarak tedavinin ikinci bölümünde sitozin arabinozid, MTX, siklofosfamid ve etoposid (faz 2) eklenmiştir (22). Tüm bu ilaçların kullanılmasına rağmen remisyonun sağlanamadığı olguların oranı %2'dir. Hastaların tedavi komplikasyonları ve enfeksiyonlardan dolayı en sık kaybedildiği dönem yine bu dönemdir.

KONSOLİDASYON ve GECİKMİŞ PEKİŞTİRME TEDAVİSİ

ALL' den iyileşen hastalarda nükslerin SSS kaynaklı olduğunun tespit edilmesi, verilen KT'lerin BOS'a geçmediği fikrini ortaya atmış ve yapılan araştırmalar ile bu durum desteklemiştir. Bu verilerin ışığında SSS' ne yönelik tedavi ALL tedavisinin önemli bir kısmını oluşturmuştur (23). BOS tutulumu saptandığında tanı sırasında başlanan intratekal tedavilere daha yoğun bir şekilde devam edilmektedir. Halen bazı protokollerde kranyal ışınlama tedavi olarak kullanılmaktadır.

Tedavinin bu bölümünün amacı saptanabilen blastların temizlendiğini var sayarak ortalama dört aylık bir tedavinin ardından, saklı kalabilen tüm blastları temizleyerek olası nüksün önüne geçmektir (24). Güçlendirme tedavisinde Amerikan ve

Alman protokolleri arasında farklılıklar bulunmaktadır. Kimi protokoller güçlendirme tedavisini başlangıç tedavisinin hemen sonrasında SSS tedavisinden önce uygulamakta, veya hem başlangıçtan hemen sonra hem de SSS tedavisinden sonra olmak üzere 2 kez uygulamaktadır (25). Çoğunlukla tedavide başlangıç tedavisinde kullanılan ilaçlara benzer tedaviler (prednizolon, deksametazon, doksorubisin, daunorubisin, 6-merkaptopürin, 6-tioguanin vb) kullanılır.

İDAME TEDAVİSİ

Tedavide 6-merkaptopürin ve MTX kullanılır (26). Hastanın lökosit sayısını 2000-3000/mm³ arasında tutacak şekilde her gün 6-merkaptopürin 50mg/m² ve haftada bir gün oral olarak MTX 20mg/m² uygulanır. Amerikan protokollerinde tedaviye vinkristin, prednizolon ilave edilir.

2.1.8.2 Tedavi Komplikasyonları

Erken ve geç komplikasyonlar olarak ikiye ayrılarak incelenmesi uygundur. Erken komplikasyon olarak hiperürisemi ve böbrek yetersizliği, febril nötropeni, hemostaz-tromboz bozuklukları, nörolojik yan etkiler, pankreatit ve hiperglisemiden bahsedilebilir.

Geç komplikasyonları olarak da nörolojik, kardiyak, endokrin, ortopedik, psikiyatrik, seksüel ve fertilité ile ilgili komplikasyonlar saptanmaya başlamıştır. Ayrıca bu hastalarda ikincil tümör gelişme riski de bulunmaktadır. Geç komplikasyonlar hastanın yaşına, kanser tipine, takip süresine, genetik yatkınlığa ve kullanılan tedavi protokollerine göre de farklılıklar gösterebilmektedir. Bunlar arasında endokrin sisteme ait sorunlar (büyüme geriliği, gonadal yetmezlik, tiroide ait bozukluklar), karaciğere ait sorunlar (karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma, hepatit B ve C enfeksiyonu olanlarda kronik karaciğer hastalığı), kardiyak problemler, böbrek problemleri (tübülopati, elektrolit bozuklukları), ortopedik problemler (osteoporoz ve AVN), metabolik problemler, SSS problemleri (öğrenme güçlükleri, IQ'da azalma, psikomotor yeteneklerde azalma, psikolojik sorunlar) ve sekonder malignite gelişmesi sayılabilir.

Bu geç yan etkilerden ALL tedavisinde kullanılan birçok kemoterapötikten ancak birkaçı sorumlu tutulmaktadır. Bunlar, antrasiklinler (örn. doksorubisin, daunorubicin), alkilleiyici ajanlar (örn. siklofosfamid), KS'ler (örn. prednizon, deksametazon) ve yüksek doz MTX'dir (5,27). KT ilaçlarının (örn. 6-merkaptopürininin)

oluşturduğu yan etki duyarlılığında KT metabolizması ile ilgili bazı genlerdeki polimorfizmler de (örn. Tiopürin metiltransferaz) önemlidir (28,29).

Bizim çalışmamızla alakalı olarak; AVN ile ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken karşımıza çıkabilecek komplikasyonlar olarak kasa ait olanlar önem taşımaktadır. Kas gücünün normalin altına düşmesi tedaviden yıllar sonra bile karşılaşılabilecek bir durumdur. Hastaların aldıkları KT' ye göre kas gücü kayıpları değerlendirildiğinde KS'lerden sonra, en fazla güç kaybını L-asparaginazın yaptığı gösterilmiştir (30). KS'lere bağlı miyopati distal el-ayak kaslarını etkiler ve sıklıkla orta şiddette olur. Yüksek doz KS kullananların %3'ünde ağır steroid miyopatisi görülür (31). Bunun dışında vinkristin tedavisinin de bu konuda sorumlu olduğu bilinmektedir.

ALL tedavisi almış hastalarda kas güç kaybının ortaya çıkmasında kemikteki yapısal değişiklikler ve nörotoksik etkiler de son derece önemlidir. Ayrıca bu hastalarda kas gruplarında dorsifleksiyon kısıtlanmaları ile karşılaşılabilmekte, hatta bu durum zaman zaman cerrahi müdahale gerektirmektedir. Temel motor fonksiyonların büyük bölümünün ALL tedavisi almış olan hastalarda uzun dönemde korunduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ancak motor yeterlilik ve mobilite açısından performans puanlarının normal sağlıklı popülasyona kıyasla daha düşük olduğu gösterilmiştir (32). Yapılan bir çalışmada, lösemi tedavisi alan hastaların el kavrama güçlerinin ve alt ekstremite motor performanslarının sağlıklı çocuklara göre daha düşük olduğu belirtilmektedir (33). ALL tedavisi sırasında, nötropenik dönemde enfeksiyona bağlı olarak iskelet kaslarında apse oluşumu ile giden piyomyozit gelişebilir (34). Tanı ve tedavinin gecikmesi osteomyelit, artrit, kompartman sendromu, vücudun başka bölgelerinde apse oluşumu ve ölüme neden olabilir. Karşılaşılabilecek bir başka nadir kasa ait komplikasyon da rabdomyolizdir. Özellikle yüksek doz ARA-C, siklofosamid, 5-azacitidin'in rabdomyolize neden olabileceği bildirilmiştir. Myalji, kas hassasiyeti veya şişliği ya da asemptomatik hastada kreatin yüksekliği tespit edildiğinde KT' ye ara verilmeli hasta rabdomyoliz açısından değerlendirilmelidir (35).

ALL tedavisinin kemiğe ait en önemli geç komplikasyonu; yüksek doz KS, MTX, kraniyal RT ve siklofosamid kullanımının neden olabileceği kemik demineralizasyonu ile beraber özellikle KS kullanımı sonucu gelişen kemik toksisitesi; AVN'dir (2).

2.2. Akut Lenfoblastik Lösemi ve Avasküler Nekroz

2.2.1. Avasküler Nekroz Tanımı

AVN; infektif olmayan, iskemik olay sonucu epifizial ve subartiküler gelişen kemik değişiklikleridir. İngiliz literatüründe, AVN ve kemik enfarktı; osteonekroz olarak tanımlanır. Ağırıklı olarak alt ekstremitelerin yük taşıyan uzun kemiklerinde meydana gelir (8). Bu lezyonların uzun kemik shaftlarında olanları coğrafi şekilli, eklemlere yakın olanları ise daha düzenli sınırlıdır. Nekrozun oluşabileceği en tipik bölge femur başıdır ama humeral kemiklerde, alt ekstremitte distal bölgelerinde ve vertebrada da görülebilmektedir (36).

Lösemi rölapsı ile ayırımı önemlidir. Rölaps, ilk tanı esnasında görülen difüz tutulum dışında, daha çok nodüler tutulum ve iyi sınırlı şeklinde olmaktadır. İyi sınırlı olması ve kemik iliği ödemi neoplastik ve nonneoplastik lezyon ayırt etmede yardımcıdır (37).

Pediyatrik popülasyonda AVN sık araştırılan konu olmamakla birlikte, ALL tanılı hastalarda yeni tedavi rejimleriyle sağ kalımın artmasıyla tedavi boyunca oluşan önemli bir komplikasyon olduğu görülmüş ve buna yönelik araştırmalar son yıllarda artmaya başlamıştır. Bu hastalarda AVN; ALL hastalığının kendisi, KT ve KS tedavilerinin hücrel toksisite ve vasküler hasarları ile gelişmektedir.

2.2.2. Avasküler Nekrozda Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri

İlgili yayınlar genelde ALL hastalarında AVN tanı çalışmaları, AVN insidansı, ALL tedavi protokolleriyle AVN ilişkisi ve retrospektif olarak değerlendirilen risk faktörlerine yönelik araştırmalardır. Çoğu yayınlar retrospektif yapılmıştır, bu nedenle halen ALL hastalarında AVN gerçek prevalansı belirtilememektedir (38). ALL hastalarında AVN gelişim patogenezi de tam olarak bilinmemektedir (14). Bu nedenle risk faktörlerin prospektif olarak aydınlatılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

İnsidans oranları çalışmaların yapıldığı zaman ve kullanılan metotlar nedenli ciddi farklılıklar ile karşımıza çıkmaktadır (8,39). Mattano ve ark.nınyaptığı çalışmada ALL hastalarında 3 yıllık kümülatif AVN insidansını %9.3 bulurken başka bir çalışmada MRG ile %38 hastada AVN (1/3'ü asemptomatik olan) saptanmıştır (9). Asemptomatik hastalarda da AVN gelişimi olabileceği gösterildiğinden AVN gerçek insidansı ve risk faktörleri hala belirsizdir.

AVN hastalığının oranı klinik olarak semptomatik olan hastalarda %1- 9 arasında saptanırken, bu oran tüm hastaların MRG ile tetkik edildiği başka çalışmalarda %15 oranlarına çıkabilmektedir (6,8,9).

Bu çalışmalara kıyasen, Arico ve ark. 1995 ve 1999 yılları arasında ALL hastalarındaki yoğun bir şekilde KT görmelerine rağmen AVN oranını 1.6% olarak tespit etmişlerdir (40). Bu sonuçların farklı olması tedavi süresince verilen KS tedavi protokolüne ve/veya türüne bağlanmaktadır (41).

Patel B. ve ark. tarafından 2008'de yapılan başka büyük bir çalışmada; ALL tanılı 1053 hastada AVN araştırılmış. %4 hastada AVN, total 99 eklem tutulumu saptanmış. Yaş ve tedavi risk faktörleri olarak belirlenmiştir. Kemik iliği transplantasyonu (KIT) olanlara kıyasla, uzun dönem KT'ye maruz kalanlarda riskin en fazla olduğu görülmüş, <20 yaş hastalarda 10 yılda %29 AVN saptanırken, >20 yaş hastalarda 10 yılda %8 AVN saptanmıştır (36).

AVN oranlarındaki artış; tüm ALL tedavi rejimlerinde sadece yaygın ve yoğun olarak deksametazon tedavisine bağlı değildir. MTX ve asparaginaz tedavileri de neden olabilmektedir. Örneğin MTX özellikle alt ekstremitelerde osteopeni ve kırıklara neden olabilmektedir (42,43). Bu hastalarda kemik sağlığını; azalan fiziksel aktiviteler ve beslenme eksiklikleri de etkilemektedir (44).

2008 yılında Kadan-Lottick ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 9261 hasta retrospektif olarak çalışmaya alınmıştır. Bu büyük, çok yönlü ve retrospektif kohort çalışmada, kanser tanılı çocuklarda 6.2 kat daha fazla AVN saptanmıştır. Bu hastaların %57'sinde günlük aktivitelerinde kısıtlamalar olduğu görülmüş ve deksametazon alan hastaların prednizon tedavisi alanlara kıyasla AVN görülme sıklığı %30 daha fazla olduğu saptanmıştır.

Deksametazon seçimi genellikle gecikmiş pekiştirme tedavisi uygulayan gruplar tarafından yapılır, ama doz açısından tedavi programı değişken olup aralıklı yada sürekli olarak uygulanabilir. İdame tedavisinde KS uygulanmasındaki potansiyel yararı konusunda görüş birliği yoktur (45). ALL tedavisinde indüksiyon sürecinde bütün grupların protokollerinde KS'ler (deksametazon/prednizon) vardır ancak bu tedavi seçimini; sağ kalım oranlarına etkisi, enfeksiyon riskleri, diyabet, uzun süreli komplikasyon gibi durumlar etkilemektedir (45).

Kemik toksisitesi tedavi protokollerine göre gelişme zamanlarına bakılacak olursa; çoğunlukla prednizon ile indüksiyon tedavisi sırasında başlayıp, deksametazon tedavisi ile güçlendirme aşamasında arttığı gözlemlenmiştir.

Prednizon tedavisine kıyasla, deksametazon 6.5 kat daha potent KS etki ve kan beyin bariyerine daha fazla geçiş göstermektedir. Ancak deksametazonun kemik üzerine yan etkileri daha belirgindir (26,46). Yeni tedavi rejimlerinde deksametazon prednizon tedavisine kıyasla daha çok antilökemik etkiye sahip olduğu bilindiğinden daha çok kullanılmaya başlanmıştır.

KS tedavisine hassasiyet kişiye göre değişmektedir. KS tedavisine hassas olan hastalarda sadece lenfoblast cevabı değil aynı zamanda toksisite nedenli medüller kemik hasarı da önemlidir. Bu nedenle AVN predispozan faktörlerin bilinmesi ile AVN gelişim riski yüksek olan ALL subgruplarını belirlemek önemlidir. Bu hastalar özel takip ve tedavi ile değerlendirilmelidirler. Amaç; AVN riskini minimize ederek, antilösemik tedaviyi maksimum düzeyde tutabilmek olmalıdır.

Münster Children's Hospital'da 1989 yılında bir çalışmada, 1971-1985 tarihleri arasında takip edilen 551 ALL tanılı çocuk araştırmaya alınmıştır. Bu olguların altısında (%1.09) AVN gelişmiş, beşinde unilateral/bilateral femoral baş nekrozu görülmüştür. Primer tedavi sonrası 8-109 ay süresi içinde AVN geliştiği görülmüştür. Tüm hastalarda aynı KS tedavi protokolü uygulanmıştır. Hastaların sadece birinde sürekli KS tedavisi, total doz 20.5gr/m² olarak, bir yıl boyunca uygulanmış, dört hasta tedavi öncesi veya tedavi süresi boyunca birkaç hafta immobilize edilmiştir. İki hastada eklem ağrısı gelişmiş, ağrılı bölgede takiplerde AVN geliştiği görülmüştür. Gelişen AVN KS tedavisi nedenli oluşan immobilizasyona bağlanmıştır (47).

Mattano ve ark.nınyaptığı çalışmada yüksek dozda deksametazon alan hastalarda %23 AVN görülürken, düşük doz alanlarda %16 oranlarında AVN saptanmıştır (8). Aynı grubundaha sonra yaptığı başka bir çalışmada tedavi süresince sürekli olarak yüksek dozda deksametazon alan hastalarda, aralıklı düşük dozda deksametazon tedavisi alan hastalarla karşılaştırıldığında yine daha yüksek AVN riski olduğu gözlemlenmiştir (41).

AVN riski hastaların yaşlarına bağlıdır; 10 yaşından küçük olan hastalarda AVN oluşma riski daha düşükken 10 yaş üzeri olan çocuklar daha yüksek AVN riski taşımaktadırlar (8,48,49). On yaş üzeri ALL hastalarında gelişen AVN oranları %7.4 - %44.6 arası seyretmektedir (38,50,51). Bu yaş ile var olan neden-sonuç ilişkisi diğer bazı çalışmalarda da vurgulanmıştır (8,9,52).

Mattano ve ark.nın 2012'de yaptığı çalışmada erkek hastaların bir sene fazla idame tedavisi almalarına rağmen, kız hastalarda anlamlı olarak daha fazla AVN görülmüştür (kız:%15.7 vs erkek: %9.3) (57). Bu ve benzer çalışmalara karşın, daha geniş çaplı olan Kadan-Lottick ve ark.nın yaptığı çalışmada ALL hastası ve adolesan yaş grubundaki kız çocuklarında AVN oranları aynı bulunmuştur (40). Buna benzer başka çalışmalarda da cinsiyet farklılığı saptanmamıştır (53,36). Bu sonuçlardaki farklılık kullanılmış olan metotlara bağlanabilir.

Children's Oncology Group (COG) ilk olarak AVN yüksek riskini CCG-1882 çalışmasında başlangıç tedavisine yavaş erken cevap veren hastalarda; gecikmiş pekiştirme tedavinin standart tedaviyle kıyaslayarak araştırmıştır. Gecikmiş pekiştirme tedavisi gören hastalarda daha yüksek sağ kalım oranı saptanırken, her iki tedavi protokolünde de 10 yaş üzeri hastalarda tanı sırasında beklenmedik bir şekilde aynı yüksek AVN oranları saptanmıştır. Gecikmiş pekiştirme tedavisi alanlarda AVN oranını daha yüksek bulmuştur (%23.2 vs %16.4) (8,54). Bu durum gecikmiş pekiştirme tedavisinde ek olarak deksametazon tedavisi olmasına bağlanmıştır.

Yapılan çalışmalara göre deksametazon tedavisi kümülatif etkisi ile tedavi gereksinimli AVN' ye sebep olmaktadır ve bu nedenle tedavi protokolü değişimi ile AVN riski azaltılabilir (55-57).

Mattano ve ark.nın 2012'de yaptığı kohort randomize çalışmasına 2056 yeni tanıli yüksek riskli hastalar (lökosit \geq 50*10⁹/L veya 10 yaş üzeri olanlar) alınmıştır. Yeni aralıklı-haftalık deksametazon tedavi programı (10mg/m²/gün 0-6 ve 14-20 günlerde) ile standart sürekli deksametazon tedavi programı (10mg/m²/gün 0-20 günlerde) kıyaslanmıştır. Hastalar prospektif olarak AVN kliniği (ağrı, hareket kısıtlılığı, eklem kollapsı, artrit) ve etkilenebileceği düşünülen bölgelerin görüntülemeleri ile değerlendirilmiştir. Ortalama 93 ay takip edilen 2056 hastanın 143'ünde semptomatik AVN saptanmıştır. Etkilenen bütün hastalarda tedavi boyunca semptomlar görülmüştür (57). Tedavinin ilk senesinde %41'inde, ikinci senesinde %47'sinde, üçüncü senesinde %9'unda, dördüncü senesinde %3'ünde AVN gelişmiştir. İdame tedavisi öncesi %22'sinde, %73'ünde idame tedavisi sırasında, %5'inde tedavinin sonunda AVN saptanmıştır. AVN ortalama görülme yaşı 14.6 yaş saptanırken kızlarda erkeklere göre daha erken olduğu görülmüştür (14.1 yaş vs 15.4 yaş). Sürekli deksametazon tedavisi alanlarda aralıklı deksametazon tedavisi alanlara kıyasla da daha erken yaşlarda (14 yaş vs 16.2 yaş) saptanmıştır. AVN insidansı ile hastaların laboratuvar veya hastaların ALL tipi ile anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Beş senelik takiplerde

AVN insidansı %7.7 (143/2056) ve insidans hasta yaşı ile güçlü korele bulunmuştur (1-9 yaş grubunda %1 vs 10-21 yaş grubunda %11.9). AVN oranları 16-21 yaş grubunda 10-15 yaş grubuna kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır (%20 vs %9.9). Erkek hastaların bir sene fazla idame tedavisi almalarına rağmen kız hastalarda daha fazla AVN görülmüştür. On yaş üstü AVN gelişen hastalarda AVN gelişmeyen gruba kıyasla daha iyi beş yıllık sağ kalım oranları olduğu saptanmıştır (%86.3 vs %68.8). Bu farklılık kız hastalarda da (%90.3 vs %69.9), erkek hastalarda da (%81.2 vs %68) görülmüştür. Çalışmaya alınan hastaların 62'sinde 139 ameliyat raporlanmış, çoğu ALL tedavisi bitiminden sonra gerçekleşmiştir. Ameliyat ihtiyacının 15 yaş ve altı grubuna kıyasla (%35), çoğunluğu 16 yaş ve üzeri hasta grubunda (%61) olduğu görülmüştür. Ameliyat gereksiniminin; tedavi rejimi veya deksametazon dozu ile ilişkisi saptanamamıştır. Sonuç olarak; aralıklı-haftalık deksametazon tedavisinde daha yüksek doz deksametazon veriliyor olmasına rağmen; tedaviye hızlı cevap veren 10 yaş üzeri hastalarda aralıklı-haftalık deksametazon tedavisi alanlardasürekli deksametazon tedavisi alanlara kıyasla AVN gelişme riskinde iki kat azalma olduğu gösterilmiştir.

Aralıklı-haftalık deksametazon tedavisi glukortikoid nedenli AVN gelişim patofizyolojisine; kemik iliği yağ infiltrasyonu, osteosit lipid hipertrofisi gelişimine, göre uygun bir tedavi seçeneğidir. KS maruziyetiyle intramedüller basınç artışı ile birlikte kan akımı stazı gelişir, bu da emboliye sebep olarak trombotik infarktla sonuçlanabilmektedir. KS'ler apoptozis ve kemik nekrozunu arttırarak da osteositlere direkt olarak da toksik etkililerdir. Aralıklı-haftalık tedavi protokolü tedavi uygulanmayan süre zarfında intramedüller basıncın ve osteosit ölümünün azalmasıyla bu etkiler hafifleyebilmektedir. Yapılan bir çalışmada fare modelinde 'steroid tatili' pozitif etkisi gösterilmiştir (56). AVN gelişimi multifaktöriyel olduğu düşünülmesine rağmen, yapılan bu çalışmada deksametazon dozunu azaltmakla AVN riskinde belirgin düşme olduğu gösterilmiştir (57).AVN semptomlarının başlangıç zamanı puberteye giren kızlarda erkeklere göre ve sürekli deksametazon tedavisi alanlarda daha erken saptandığı görülmüştür bu da AVN gelişiminin büyüme ve hormonal faktörlere bağlı olduğunu desteklemektedir.

AVN gelişmiş olan hastalarda daKSile idame tedavisi kesilmesi veya doz modifikasyonu yapılması; bu hastalarda ALL tedavisi sonuçlarını belirgin etkilemediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (57).

Mattano ve ark.nın 2000'de yaptığı çalışmada 10-20 yaş arası ALL tanılı hastalarda %14.2, 1-9 yaş arası %1 AVN saptanmıştır (8). Bu sonuçlar benzer olarak

adolesanlar kemik büyüme evresinde olduğundan AVN gelişimi için daha hassas oldukları sonucuna bağlanmıştır.

Mattano ve ark.nın 2012’de yaptığı çalışmada 10 yaşından küçük sadece yedi hastada AVN saptanmıştır. Ancak bunların birinde multiple eklem tutulumu (18 eklem tutulumu; 15’i yük taşıyan), ikisinde total kalça artroplasti ameliyatı gereksinimi olmuştur. Vurgulanması gereken; bu 10 yaşından küçük hastaların dördünün aralıklı-haftalık deksametazon tedavisi almalarına rağmen erken aşamada semptomatik olmalarıdır. Küçük hastalarda da tedaviye bağımsız ciddi AVN gelişebileceği ve bu durumun kişiye özel farmakogenetik veya başka predizpozan faktörlerin olabileceğini düşündürmekte ve daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir. AVN gelişen 10 yaşından büyük hastaların %95’inde, yük taşıyan eklemlerde semptomatik AVN gelişimi olduğu görülmüş. Buna rağmen özellikle 16 yaş ve üzeri grupta daha çok ameliyat gereksinimi olduğu saptanmıştır (%61 vs %35). Bu durumun hekim tercihinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür (57).

2000’de yayınlanan başka bir çalışmada 202 ALL tanılı hastanın %4’ünde AVN gelişmiştir. Total 27 eklem tutulumu (ortalama hasta başı 3.4 eklem) raporlanmıştır. Yüksek riskli ALL tanısı ile agresif KT uygulanan 58 hastanın ise %10.3’ünde AVN geliştiği saptanmıştır (58).

Patel ve ark.nın yaptığı çalışmada KT sonrası ilk üç yılda %11 AVN saptanırken, 10 yılda AVN görülme oranında %16 artış görülmüştür. Hastaların %71’inde multifokal tutulum görülmüş ve en sık kalça eklemi, ikinci sıklıkta omuz eklemi gibi yük taşıyan eklem tutulumları olduğu saptanmıştır. Hasta başı ortalama 2.4 eklem tutulumu olduğu görülmüştür. Hastaların %60’ında tedavinin ikinci yılından sonra AVN saptanmıştır. 42 hastanın dokuzunda konservatif tedavi, 28 hastada ameliyat gereksinimi olmuştur. Dört hastada dekompresyon, bir hastada artroskopik girişim uygulanmıştır. Otuzbir hasta uzun dönem takibe alınmış; sekiz hastada uzun dönem disabilite görülmemiş, 14’ünde minör, dokuzunda ise majör disabilite geliştiği saptanmıştır. Diğer yapılan araştırmalara kıyasla cinsiyet farklılığı AVN oluşma riskiyle ilişkilendirilememiştir. AVN ortalama görülme yaşı 18 yaş olarak bulunmuştur. Bu çalışmadaki önemli sonuç; KT alan hastaların KIT hastalarına kıyasla AVN geliştirme riskinin daha yüksek olduğudur (59).

2003’te yayınlanan bir çalışmada ALL tanılı 1421 çocuk hastanın 15’inde (%1.1) semptomatik AVN (29 bölgede), beş senelik tahmin edilen kümülatif AVN geliştirme riski %1.6 saptanmıştır. Kızlarda ve adolesanlarda AVN geliştirme riski daha fazla olduğu belirlenmiştir. En sık AVN rastlanan grubun 10-17 yaş arası kızlar olduğu

bulunmuştur. ALL tanısı aldıktan sonra ortalama 17 ayda AVN geliştiği saptanmıştır. Kalça eklemının en çok tutulan bölge (19/29) olduğu görülmüştür. Bu araştırmanın sonucunda AVN geliştirme riski yüksek olan çocuklarda (adolesanlarda; özellikle kızlarda) üç haftalık deksametazon tedavi protokolünü bir hafta aralıkla verilmesine karar verilmiştir. Böylece antilösemik etkiye belirgin azalma olmayacağından bununla birlikte AVN riskini belirgin azaltabileceği savunulmuştur(40).

Winkel ve ark. tarafından 2011 yılında yapılan prospektif bir çalışmada; ALL tanılı 694 hastada üç yıl içinde kümülatif AVN gelişim insidansı (deksametazon tedavisi protokolü alanlarda) %6.1 olarak saptanmıştır (38). Diğer yapılan büyük ama retrospektif çalışmalara benzer sonuç alınmıştır. Yapılan MRG'lerinde %17.6 evre 2-4 AVN saptanmıştır (38). MRG'sinde evre 3-4 AVN saptanan hastalarda serum deksametazon seviyelerinde yüksek olduğu görülmüş (50).

Akut lösemili hastalarda yapılan bir çalışmada ALL tanılı hastaların tanı sonrasında ortalama 1.8 sene içinde AVN ile komplike olduğu görülmüştür (60). Genel olarak AVN görülme insidansı %2.8, hematopoetik kök hücre nakli sonrası %6.8, KT sonrası %1.4 saptanmıştır. Çalışmadaki 943 hastanın 97'si AML tanılı hasta olduğu için, KS tedavisi almamışlardır ve bununla bağlantılı olarak bu hastalarda AVN gelişimi görülmemiştir.

Kawedia ve ark. tarafından 2011'de yapılan bir çalışmada ise; 364 ALL tanılı hastada AVN gelişiminin farmakokinetik, farmakodinamik ve farmakogenetik etkenleri araştırılmıştır. Tüm hastalara semptom varlığına bakılmaksızın kalça ve diz eklem MRG yapılmış; %71.8'inde evre 1-4 AVN bulunmuştur. Tedavinin birinci yılında semptomatik AVN %14.6 iken tedavi sonunda %17.6, asemptomatik AVN ilk yılında %35.4 iken tedavi sonunda %53.9 oranında saptanmıştır (50). Önceki araştırmalara benzer olarak yaş önemli bir risk faktörü olarak bulunmuştur (8,9,61). On yaş üzeri hastalarda %44.6 AVN bulunurken 10 yaş altında %10 AVN görülmüştür. Daha yoğun tedavinin risk faktörü olduğu saptanmıştır.

Özetle; mevcut tüm çalışmalar değerlendirildiğinde ALL hastalarında AVN gelişimi için risk faktörleri değerlendirildiğinde; lösemik süreç, yaş, cinsiyet, puberte evresi, KS tedavisi, uygulanan KS tipi, KS tedavisi dozu/uygulanma süresi, bazı kemoterapötikler, radyasyon, azalmış fiziksel aktivite, beslenme eksiklikleri gibi risk faktörlerinden bahsedilebilir. Bu bilgiler ışığında kemik korumaya yönelik etkin tedavilerin geliştirilmesi kolaylaşabilmektedir.

2.2.3. Avasküler Nekrozun Etiyolojisi ve Patogenezi

ALL hastalarında AVN gelişim patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Tanıdaki skeletal anomaliler lösemik sürece bağlanmıştır.

ALL tedavisi gören çocuklarda KS etkili ve gereklidirler; ancak, kemik dansitesinin azalmasında en önemli faktörün KS'lerin olduğu düşünülmektedir.

KS'lerin kemik iliğinde osteoblastogenezisde büyük etkisi vardır. Osteoblast ve matür osteoklastlarda apoptozisi indükleyerek direk kemik hasarı oluşturduğu, osteoblastların işlevini azalttığı ve kemik matrikse direk etkisi ile azalmış matriks üretimine, indirek olarak da kemik iliğinin yağ içeriğini arttırarak yağ embolisi, sekonder intraoseöz basınç artışı ve vasküler kompresyona, protrombotik durum artışına ve bozulan kemik onarım mekanizmasına neden oldukları düşünülmektedir (4,5,45). Gelişen osteopeni glukokortikoidlerin türü ve dozuna bağlıdır ve tedavinin ilk altı ayında belirgin olarak yan etkilerini göstermektedir (62,63).

KS'lerin var olan osteoklastların ömrünü uzatarak kemik erimesini hızlandırdıkları konusundabazı kanıtlar öne sürülmüştür.KS'ler böbreklerde ve bağırsaklarda kalsiyum (Ca) kaybına da sebep olurlar ve oluşan bu negatif Ca dengesi kemiklerin remodellingine, osteoklastik aktivitenin artmasına neden olmaktadır. KS'ler hem trabeküler hem kortikal kemikleri etkilemektedirler (48).

Hayvan deneylerinde yapılan bir çalışmada kısa süreli yüksek doz metilprednizolon maruziyeti sonrası femoral baş kan akımının azaldığı gösterilmiştir (64).

KS tedavisinin malignensi, böbrek hastalıkları, sistemik lupus eritematozus, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve buna benzer hastalıklarda kullanımı sonrasında da AVN riskini belirgin arttırdığı gösterilmiştir. Tedavinin; kan akımını kesmesiyle (kan pıhtısı, yağ, nitrojen kabarcıkları orak hücreler), artmış istraoseöz basınç, bozulmuş lipid metabolizması, artmış apolipoproteinler veya intravasküler koagulasyon mekanizmalarıyla AVN geliştirdiği gösterilmiştir (3).

KS'ler dışında bazı kemoterapötiklerinde kemik üzerine önemli yan etkileri vardır. En çok bilineni MTX olsa da, vincristine fiziksel aktivitede belirgin düşmeye neden olarak kemik sağlığını olumsuz etkileyebilmektedir. L-asparajinaz nedenli gelişen koagulopatinin de AVN ile bağlantısı olabileceği gösterilmiştir (50). MTX kemik üzerine etkileri; yüksek polyglutamat türevlerinin toksisitesiyle folat eksikliği veya osteoblast proliferasyon inhibisyonu olarak sayılabilir. Bu etkisi 1,25-Dihidroksi Vitamin D(1,25(OH)2D) düşüklüğü ile artmaktadır (65).

MTX kullanımı kemik formasyonunu engellemekle birlikte kemik rezorbsiyonuna da neden olur. Primitif mezenşim öncülleri üzerine olan antimetabolit etkisi ile osteoblast proliferasyon üzerine etkisi ve matriks mineralizasyonu üzerine direkt etkisi ile kemik formasyonunu inhibe eder. Artan kemik rezorbsiyonu mekanizması belirsizdir. Ancak kemik rezorbsiyonunun artması kısmen osteoklastlar üzerine direk etkisi ve kısmen azalan bağırsak absorbsiyonu ve idrarda artan Ca atılımına bağlanmıştır(66). Siklofosfamid ve doxorubisin gibi diğer ilaçların da skeletal etkilerinin olduğu belirtilmiştir.

Ayrıca KT ve kranial RT sonucu ortaya çıkan büyüme hormonu eksikliği de osteoblast ve kondrositlerin proliferasyon ve fonksiyonunu direk olarak etkileyerek osteopeniye zemin hazırlamaktadır (67).

2.2.4. Avasküler Nekrozda Klinik Bulgular

AVN asemptomatik olabildiği gibi, ciddi eklem ağrısı, eklem şişliği, hareket kısıtlılığı ve sonunda eklem hasarı ve kollapsına kadar gidebilen bir klinik spektruma sahiptir (11).

AVN genellikle eklem ve bacak ağırlarıyla başlar, daha nadir olarak eklem efüzyonu, denge bozuklukları ve olağandışı bölgelerde kırıklar da görülebilir ve %75 hastada birden fazla eklem etkilenebilir (68). Çoğunlukla yük taşıyan kalça ve diz gibi eklemlerde bulgular ortaya çıkar; bunların %25'inde de semptomatik olması ve mobilite sorunları nedeniyle operasyon ihtiyacı olduğu saptanmıştır (8).

AVN'nin %50 si asemptomatiktir. Aynı zamanda radyolojik AVN saptanmasının da her zaman klinik sekel ile birlikteliği olmayabilir (61). AVN şiddetini ve seviyesini öğrenmek için tüm vücut eklem muayenesi önemlidir. Büyük juxtra-artikular lezyonlar komşu eklemlerde artroz zemini hazırlayabilir. Bu yüzden erken teşhis ve tedavi önemlidir (12).

Lösemi en çok kemik iliğinde tekrarlamaktadır. Bu yüzden, kemik ve eklemlerle ilgili semptomları olan hastaların MRG ile takibi önemlidir. Rölaps mutlaka AVN, osteopeni ve osteomyelit nedenli stres kırıklarından ayırtedilmelidir (48).

Giard ve ark. tarafından 2013 yılında yapılan bir çalışmada 943 tanılı ALL hastada 24'ünde (%2.5) semptomatik AVN gelişmiştir(60). En sık diz eklemi, ikinci sıklıkta kalça eklemi tutulumu görülmüştür. Multiple tutulum da %29.2 gibi yüksek bir oranda görülmüştür. Sonuçlar ile benzer birçok çalışma (6,59,69) olmakla birlikte,

multiple tutulum oranının daha yüksek saptandığı başka çalışmalarda bulunmaktadır (8,48).

Bürger ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise AVN gelişen hastalarda diğer çalışmalardan farklı olarak hastaların genelde semptomatik olduğu saptanmıştır. Gelişen ilk bulgunun eklem efüzyonu olduğu görülmüştür. 20/31 hastada ≥ 2 eklem tutulumu, en çok diz eklemi tutulumu (14 hastada; 24 etkilenmiş diz eklemi) ve ikinci sırada kalça eklemi (11 hastada; 20 etkilenmiş kalça eklemi) tutulumu olduğu saptanmıştır. Çoğu hastada (18/31) ameliyat gereksinimi olmamış, fizik tedavi, ağır kaldırmaktan uzak durmak ve analjezi tedavileri gibi semptomatik tedavilerle ile takip edilmiş. üç hastada bifosfonat, Ca ve vitamin D tedavileri uygulanmıştır. (6)

Elmanteser ve ark.nın 2010'da yaptığı bir çalışmada 1997-2007 arasında ALL tanılı ve UKALL tedavi rejimi (yüksek doz dexamethasone ve MTX tedavilerini kapsar) ile takip edilen 296 çocuk skeletal morbidite açısından retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Bu hastaların %47'sinde skeletal morbidite; kas iskelet ağrıları (%55), kırıklar (%30) ve AVN (%20) gelişimi saptanmıştır. Sadece semptomatik olan hastaların görüntülemeleri yapılmış, yaklaşık yarısının MRG'sinde kırık veya AVN saptanmıştır (51). Bu sonuçlara göre kemik ağrısı olan ALL hastalarının kırık veya AVN açısından MRG'nin yapılması gerektiği vurgulanmıştır. Bu çalışmada bulunan ALL hastalarında AVN ve kırık riski oranları yapılan buna benzer olan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (70,71).

2.2.5. Avasküler Nekrozda Laboratuvar Bulgular

ALL hastalarında tanı sırasında ve/veya süresince ve/veya tedavi sonrası yıllar içinde kemik mineral dansitesi(KMD) düşüşü gelişebilmektedir. Ancak osteopeninin veya kemik mineralizasyonunun seyri öngörülememektedir.

Yeni ALL tanısı alan çocukların yaklaşık %10'da tanı anında osteopeniye rastlanmakla birlikte geçmişinde ALL tedavisi görmüş olan kişilerin genel popülasyonla karşılaştırıldığında nispeten daha düşük KMD'ye sahip oldukları bulunmuştur (68). KMD'nin en çok düşük saptandığı zaman tedavinin ilk altıncı ayı olduğu yapılan erişkin çalışmalarında görülmüştür (73). KMD'deki azalma, lösemi tedavisinin kemikler üzerindeki diğer bir morbidite nedeni olup, birkaç nedene bağlı olarak ortaya çıkabilir. KS'ler bu etkenlerden en önemlisidir. MTX tedavisi de KS'lerle sinerjistik çalışarak osteoblastlara sitotoksik etki eder. ALL hastalarında bu nedenle ilk tanı konulduğu anda ve tedavi bitiminden iki yıl sonraya kadar KMD takipleri önerilmektedir (5).

Tedavinin remisyon süresinde (ikinci yıl), KMD düşüklüğünün görülme oranındaki dramatik artış; KT'nin de KMD düşüşünde önemli rol oynadığını göstermektedir (68).

Farelerle yapılan çalışmalarda MTX tedavisinin kemik üzerine olan yan etkisinin; düşük trabeküler KMD ve osteoblast aktivitesine yol açarak olduğu gösterilmiş, ancak kortikal kemiğe olan etkisi bilinmemektedir.

KS nedenli kemik kaybı intestinal Ca absorpsiyonun bozulması, üriner Ca atılımının artması veya bozulmuş 1,25(OH)₂D sentezi gibi mekanizmalara bağlanmıştır (74).

Halton ve ark.nın yaptığı çalışmada tanı esnasında normal Ca düzeyi saptanmışken, tedavinin ikinci yılında hafif hipokalsemi geliştiği görülmüştür. Birinci yılın sonunda biyokimyasal durum; kırık insidansı ve kemik mineral içerikle kıyaslandığında önemli farklılık gözlemlenmemiştir. Tedavinin birinci yılında hafif hipokalsemi ve düşük 1,25(OH)₂D saptanmıştır. Kırık ve/veya düşük KMD biyokimyasal sonuçlar ile ilişkilendirilememiştir. 25 Hidroksi Vitamin D (25(OH)D) normal düzeylerde iken 1,25(OH)₂D düzeyi düşüklüğü tam olarak açıklanamamıştır. 1,25(OH)₂D lösemik lenfoblastlara reseptör aracılı tutunması dolaşan seviyesinde düşüklüğe sebebiyet verebileceği düşünülmüştür. Buna karşın lökosit sayıları ile 1,25(OH)₂D düzeyleri ilişkilendirilememiştir (68,75).

Miyeloid hücre diferansiyasyonu için 1,25(OH)₂D gerektiği düşünülmektedir. Haftalık myelosupresif tedavi alan ALL hastalarında dolaşan aktif hormon seviyelerinin tedavi süresi boyunca düşüklüğünün de buna bağlanabileceği savunulmuştur. Ama yapılan çalışmalarda 1,25(OH)₂D seviyesiyle; monosit, nötrofil veya platelet sayısı arasında ilişki bulunamamıştır.

Sluis ve ark.nın yaptığı çalışmada ilk bakılan Ca seviyeleri normalken tedavi süresince önemli ölçüde yükseldiği görülmektedir. Teşhis sırasında fosfor (P) seviyeleri normal seviyede iken tedavinin ilk 32 haftasında kayda değer bir düşüş görülüyor. Teşhis sırasında kemik formasyonu belirteci alkalen fosfatazın (ALP) seviyesinin düşük olduğu görülürken takiplerde önemli derecede yükseldiği saptanmıştır. Teşhis sırasında ortalama 1,25(OH)₂D seviyesi hastaların %20'sinde normalin altında bulunmuşken, tedavinin ilk 32 haftasında büyük oranda normale yükselmiş, tedavinin son yılında tüm hastalarda normal seviyelere ulaşmıştır (74).

Buna karşın, Halton ve ark.nın yaptığı çalışmada tedavi başlangıcından bir yıl sonrasında %70'inde düşük 1,25(OH)₂D seviyeler saptanmıştır. Ama bu fark çalışma

popülasyon farklılığına bağlı olabilir. Bu çalışmada yüksek riskli ve daha yüksek riskli (%55) hastaların olduğu, ve bu hastaların daha yüksek doz KS tedavisi aldıkları bildirilmektedir. Sadece 1,25(OH)2D düzeyleri, KMD değişimi ile pozitif orantılı bulunmuştur. Sonuç olarak ALL tanılı çocuklarda teşhis sırasında lomber KMD'nin azaldığı ve lomber KMD'nin tedavi süresince düşük seyrettiği, hastalığın kendisinin de osteopeni oluşturduğu saptanmıştır. Total vücut KMD seviyesi teşhis sırasında normalken, tedavinin ilk 32 haftasında, KT'nin en yoğun ve yüksek dozda deksametazon ve MTX içerdiği zaman hızlıca azaldığı saptanmıştır (68). Diğer çalışmalara benzer olarak bu çalışmada da tanıda kemik formasyonu belirteçleri düşük bulunmuş ancak kemik rezorpsiyonu belirteçleri normal seviyelerde saptanmıştır (76,77). Bu nedenle tanı esnasında kemik formasyonu, kemik rezorpsiyonuna göre daha çok etkilenmektedir.

Tanıda düşük kemik döngüsü hastalığın kendisinden dolayı gelişmekte ve lomber KMD düşüklüğüyle sonuçlanmaktadır. Çocuklarda kemik döngüsünü hem kemik formasyonu hem kemik rezorpsiyonu göstermektedir. KT sırasında, özellikle ilk aylar, kemik rezorpsiyon ve kemik formasyon belirteçleri artmaktadır. Artan kemik rezorpsiyonu sonucu gelişen KMD düşüklüğü nedeniyle bu süreçte boy hızında azalma görülmektedir.

Boot ve ark. 1999 yılında yaptığı araştırmada ALL tanılı hastalarda tanı sırasında çalışmaya katılan 14 hastanın altısında düşük ALP seviyeleri saptanmıştır. Bir sene sonraki tetkiklerinde normal seviyelere yükseldiği görülmüştür. Tedavi sırasında veya sonrasında ALP düzeylerinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (78). Bu hastaların ikisinde hipokalsemi, ikisinde hiperfosfatemide, birinde düşük 25(OH)D ve ikisinde düşük 1,25(OH)2D seviyeleri saptanmıştır. İki yıllık tedavi süresi boyunca; 25 hastanın yedisinde düşük serum Ca, ikisinde yüksek P, dördünde düşük 25(OH)D ve ikisinde düşük 1,25(OH)2D seviyesi en az bir tetkikte saptanmıştır. Ortalama 1,25(OH)2D ve serum Ca değerlerinin tedavinin birinci senesinin sonunda normal seviyelerine yükseldiği görülmüştür. P ve 25(OH)D seviyelerinde önemli değişim görülmemiştir. Tedavi bitiminden bir yıl sonra tümünde normal serum Ca, P ve 1,25(OH)2D seviyeleri saptanmıştır. İki hastada düşük 25(OH)D olduğu görülmüştür.

Teşhis sırasında 1,25(OH)2D seviyelerinin düşük seyretmesi lomber vertebra ve total vücut KMD'sini olumsuz olarak etkilediği saptanmıştır (75). 1,25(OH)2D'nin düşük seyretmesi düşük IGF-I seviyelerine bağlanmaktadır. Tedavi süresince, kemik

döngüsü parametreleri normal seviyeye tedricen yükseldiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, bazı hastalarda hipokalsemi, düşük 25(OH)D seviyeleri tespit edilmiştir (78).

Atkinson ve ark.nın yaptığı bir çalışmada ALL tedavisinin Ca ve vitamin D metabolizması üzerine yan etkilerinin olduğu gösterilmiştir (79). Hastaların %50'sinde hipokalsemi tespit edilirken, 13 hastanın 12'sinde düşük 1,25(OH)2D seviyesi saptanmıştır (75). Sonuç olarak bu çalışmada, lomber vertebra KMD ve kemik döngüsü bazı hastalarda tanı esnasında düşük bulunurken, total vücut KMD tedavinin birinci yılında düşük bulunmuştur. Tedavi sürecinde kemik döngüsünün giderek arttığı saptanmıştır. Tedavi bitiminin bir yıl sonrasında dokuz hastanın dördünde hala düşük KMD'nin devam ettiği görülmüştür. Bu gibi hastalarda gelişen düşük KMD'nin uzun dönem etkileri araştırılmalı ve KMD düşüşünü engellemek için neler yapılabileceği üzerine araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Halton ve ark.nın yaptığı prospektif bir çalışmada ALL tanılı hastaların %65'inde düşük KMD ve %39'unda kırık gelişimi saptanmıştır. Artmış kemik rezorpsiyonu ve artmış idrar cross-linked N-telopeptide saptanmıştır (80). Düşük serum vitamin D seviyeleri ve hipomagnezemi yapılan çalışmalara benzer olarak tespit edilmiş (44). ALL tanılı çocukların çoğunda; tedavi başlangıcından 10 yıl sonra KMD'de iyileşme görülmüştür. Fakat, üç yıldan fazla süren tedavilerde yüksek doz MTX (>50,000 mg/m²) ve/veya yüksek dozda kortikostteroid (>9,080 mg/m²) tedavisi alan hastalar risk grubunda olmakla birlikte onların femoral KMD taramaları yapılması gerekmektedir sonucuna varılmıştır.

KMD'de iyileşme olmayan hastalarda etiyojoloji açısından daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. 18 Gy üzeri radyasyon tedavisi alan hastaların uzun dönem takiplerinde vertebra/femur KMD taramaları yapılmalıdır. Sonuç olarak yüksek tedavi oranını sağlayabilecek ama en az kemik toksisitesine neden olan tedavi protokolleri uygulanmalıdır.

2004'de Marinovic ve ark.nın yaptığı prospektif bir çalışmada; ALL tedavisi tamamlandıktan sonra ortalama 2.2 yıl içinde kontrol grubuna kıyasla total vücut KMD'sinde önemli derecede artma saptanmıştır. Vücut yağ oranı bakılan hastalarda kontrol grubuna kıyasen takiplerinde hafif bir artma saptanmıştır. ALL tanılı hastaların tedavi bitiminde sonraki takiplerinde KMD, kemik döngüsü ile ilişkili biyokimyasal parametreler ve fiziksel aktivite açısından kontrol grubuyla kıyaslamasında önemli bir farklılık saptanmamıştır (81). Tanı sırasında ALP, IGF-1 ve IGF binding protein 3 seviyeleri düşük saptanmıştır; bu düşüklük hastalığın kendisi nedenli azalan kemik

döngüsüne bağlanmaktadır. Tedavi boyunca düşük seyreden ALP seviyesinin tedavi bitiminden bir ay sonra normale döndüğü görülmüştür (82). Tedavinin bitmesinden sonra ortalama 3.2 yıl içinde fiziksel aktivitenin artmasıyla birlikte KMD düşüklüğünün, kemik metabolizması ile ilgili biyokimyasal parametrelerin (serum Ca, P, ALP, 25(OH)D, 1,25(OH)2D) kontrol grubuna göre aynı şekilde normal seviyelerde olduğu saptanmıştır. Cinsiyet, yaş veya puberteye bağlı olarak sonuçlarda anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. İlk olarak Kawedia ve ark.nın yaptığı bu çalışmada düşük albümin seviyeleri ve yüksek kolesterol seviyelerinin semptomatik ve ciddi AVN ile bağlantılı ve bunların düşük deksametazon klirensiyle ilişkili olduğu saptanmıştır (50).

Özetle, yapılan araştırmaların %80 inde ALL teşhisinde vitamin D seviyesinin düşük olduğu saptanmıştır (74,75). Düşük vitamin D oranı genellikle serum 25(OH)D < 40 nmol/L olarak kabul edilmiştir. Vitamin D seviyesi hastalığın kendisinden; KT sırasında gelişen intestinal müközit nedeniyle D vitamininin malabsorpsiyonuna sebep olabilese bile çevresel faktörlere de bağlı gelişebilmektedir (beslenme, mevsim değişiklikleri gibi). ALL teşhisinde serum 25(OH)D normal seviyede olsa bile aktif D vitamini hormonu 1,25(OH)2D %70 oranında normalin altında olduğu tespit edilmiştir (68,74). D vitaminindeki bu azalma, tedavide kullanılan KS'lere bağlı hücre döngüsünün artmasına veya aktif hormon sentezlenmesinde azalma veya tümörün doğrudan D vitamini reseptörünü etkilemesine bağlı olarak VDR'de ve insan osteosarkom hücrelerinde gösterilmiş olan mRNA'da azalmaya sebep olarak gelişmektedir. Bazı çalışmalarda kanser tanılı çocuklarda serum 25(OH)D oranının düşük saptanırken (83), buna karşın bazı çalışmalarda bu düşüklük görülmemiştir (84).

2.2.6. Avasküler Nekrozda Görüntüleme

Düz grafi ve kemik sintigrafileri erken lezyon saptamada yetersizdir (85). MRG erken epifizial AVN tanınmasında histopatoloji ile uyumlu, noninvazif, erken tanıda %100 sensitif ve spesifiktir ve önemli avantajı radyasyon maruziyetinin olmamasıdır. (86).

Radyolojik bulgular; metafizyel parlaklık, litik ve sklerotik lezyonlar, periastal elevasyonlar, osteopeni ve kırıklardır (71).

Tedavi nedenli gelişen multifokal kemik AVN günden güne daha fazla ilgi odağı olmaktadır (61). Hasta asemptomatikken bile olası kemik tutulumu düşünüldüğü zaman belli bir bölgeye yapılan MRG, hasta semptomatik olmadan bu lezyonları belirlemede sensitivitesi çok yüksek bulunmuştur (12).

ALL hastaların çoğunda mutiple bölgede AVN görülmekte ve bunların %55'i asemptomatik seyretmektedir. Persistan ağrısı olanların %80'inde ise total vücut MRG'de multifokal AVN varlığı saptanmıştır. Büyük jukstaartikular lezyonlar daha riskli bölgelerdir, yapılan son çalışmalarda kalça ve eklem gibi bölge tutulumları %22-80 arası eklem kollapsına sebebiyet verebildiği vurgulanmaktadır. Erken tanı bu gibi durumlarda kritiktir; eklem hasarını engellemek ve total artroplastiyi geciktirmek AVN sonrası kollaps gelişmemişse fayda sağlayabilmektedir.

Ojala ve ark. 1999 yılında yaptığı prospektif bir çalışmada 24 ALL tanılı hastada KT başlangıcında, tedavi altında ve tedaviyi kestiği zamanlarda alt ekstremitte MRG yapılmıştır. Tedavi altında %38'inde AVN geliştiği görülmüş ve bu hastaların çoğunun asemptomatik olduğu saptanmıştır. MRG lezyonlarının, deksametazon ile yapılan güçlendirme tedavisinden hemen sonra veya birkaç ay içinde görülmeye başladığı saptanmıştır. MRG lezyonlarında dokuz hastanın altısında kendiliğinden gerileme, üç hastada ise tamamen kaybolduğu görülmüştür. Bu araştırmanın sonucuna göre ALL hastalarında tedaviyle birlikte AVN sık gelişmekte ama genelde asemptomatik ve kendini sınırlayıcıdır sonucu elde edilmiştir (87). Bu çalışmanın kısıtlayıcılığı az hasta olması ve ortalama yaşın 5.9 yaş olması denebilir.

2008 yılında ALL tanılı beş çocukta uygulanan AVN'ye yönelik tüm vücut MRG çalışmasının ilk defa yapıldığı küçük çapta bir çalışmada, 24 farklı eklemde 29 AVN bölgeleri saptanmıştır. Sadece beş (%21) bölge semptomatikken çoğu bölgenin (%79) asemptomatik olduğu belirtilmiştir. Bu lezyonların hiçbiri klasik radyografide tespit edilememiştir. Yapılan çoğu çalışmalar bir bölgeye yönelik MRG ile (alt ekstremitte; diz ve kalça eklemleri) yapılmış ve sadece bu eklemlerdeki tutulumlar değerlendirilmiştir. Belirti göstermeyen lezyonların oranı yüksektir; ve bu nedenle erken teşhis ve tedavi için total vücut MRG kanser tanılı (özellikle ALL) hastalarda büyük öneme sahiptir (88).

Miettunen ve ark. tarafından 2012'de yapılan bir çalışmada 11 ALL tanılı hastalara AVN açısından yine tüm vücut MRG uygulanmış; 11 hastanın dokuzunda AVN saptanmıştır. Tüm hastalarda multiple bölgede AVN olduğu görülmüş (sekiz hastada uzun kemik epifizyal bölgesinde; tüm lezyonların %55'i), %10'unda el ve ayak küçük kemiklerinde AVN saptanmıştır. Alt ekstremitte tutulumunun üst ekstremitte tutulumuna kıyasla daha simetrik dağılım gösterdiği ve semptomatik olduğu görülmüştür. Humeral ve femoral yüzeylerin 1/3'ünden fazlasının tutulumu mevcut ama tüm hastaların asemptomatik olduğu ve eklem kollapsı olmadığı saptanmıştır. AVN'nin

alt ekstremitelerde daha belirgin olduğu saptanmıştır. Yürümeyi reddetme ve ağrıya sebebiyet veren bu lezyonların çoğu düz grafilerde saptanamamıştır (89). Hasta sayısı az olmasına rağmen diğer başka bir çalışmayla sonuçlar benzerdir (90).

Önceki çalışmalarda, AVN lezyonları genelde KT idame tedavisi aşamasında ve indüksiyon fazında geliştiği ve eski çalışmalara göre yeni çalışmalarda insidansın giderek arttığı görülmüştür.

Sansgiri ve ark.nın yaptığı çalışmada yine göre tüm vücut MRG epifizyal ve diğer bölgelerdeki nekrozu saptamada yeterlidir ve skeletal prognozda belirleyici olarak kullanılabilir sonucu elde edilmiştir (91). Bu sonuca göre tedavi süresinde dört haftadan uzun süren persistan ağrı veya idame tedavisi süresinde yeni başlayan veya tekrarlayan ağrı varlığında hasta AVN açısından görüntülemeleri yapılmalıdır. Ancak yapılan diğer çalışmalarda da asemptomatik hastalarda da yapılan tüm vücut MRG'de kollapsa gidebilecek riskli bölgelerde tutulum saptandığından bu hastalarda AVN doğal seyrini anlama açısından total vücut MRG prospektif olarak daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (92).

2.2.7. Avasküler Nekroz Tedavisi

AVN'nin evresine, hastanın yaşına, lösemi tedavisinin evresine göre hastalar fizik tedavi, ağrı palyasyonu veya cerrahi olarak tedavi edilirler (5). Antilipid ilaçlar, hiperbarik oksijen ile birlikte ağırlık taşıma kısıtlaması bazı grup hastalarda AVN gelişim riskini azaltmak amaçlı kullanılmış yöntemlerdir (93).

KMD düşüklüğü tespit edilen hastalar predispozan faktörlerin değerlendirilmesi ve kalsitonin, D-vitamini, Ca ve bifosfonat kullanımı gerekliliği açısından bir pediatrik endokrinolog tarafından değerlendirilmelidirler.

Hastalarda skeletal immatürite ortopedik tedavileri daha kompleks hale getirmektedir (3). Görüntüleme yapılan çalışmalarda kemik nekrozunun en yaygın görüldüğü kısımlar eklemlere yakın bölgelerdir. Eklemlerde meydana gelen hasarlar ilerleyebilir ve bu durum operasyon ihtiyacına, dekompresyon ve eklem replasmanlarına neden olabilmektedir (8).

Ancak Winkel ve ark.nın yaptığı çalışmada semptomatik AVN %95 yük taşıyan eklemlerde saptanmış ve bu hastaların %40'ında semptomların beş yıl içinde tamamen gerilediği saptanmıştır. Bu nedenle bu hastalarda ameliyat kararının dikkatli verilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (38).

2.3. Akut Lenfoblastik Lösemi'de Avasküler Nekroz ve Genetik

İlgili yayınlar genelde ALL hastalarında AVN tanı çalışmaları, AVN insidansı, ALL tedavi protokolleriyle AVN ilişkisi ve retrospektif olarak değerlendirilen risk faktörlerine yönelik araştırmalardır. AVN gelişim riskinin genetik ile ilişkilendirildiği çalışmalar azdır. Yapılan bu çalışmalarda tedaviye bağliyan etkilerin KT farmokodinamiğine ilişkin gen polimorfizmleri ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (50).

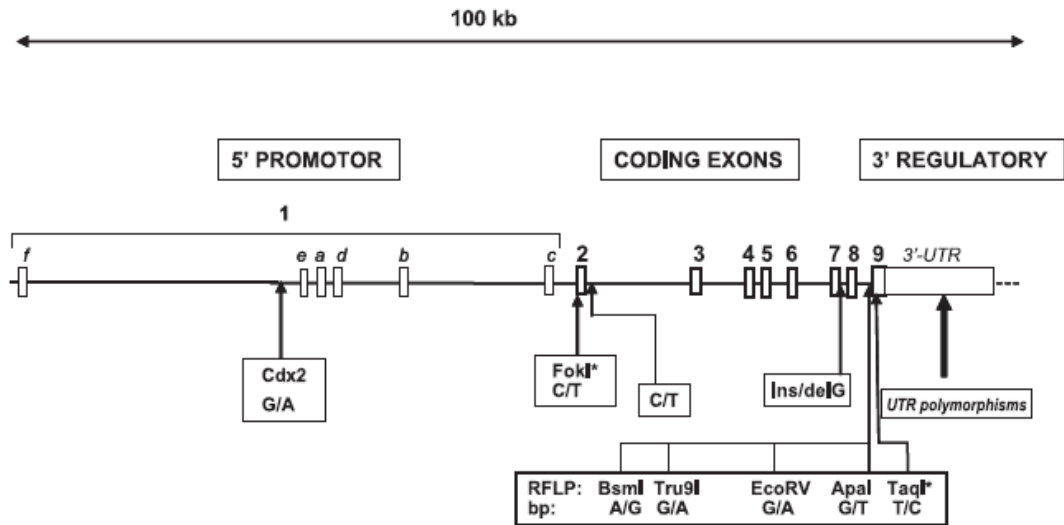
Lösemnin kendisi ve tedavisi; özellikle KS ve MTX'ın, KMD'de düşüşe neden olduğu aşıkardır. Ancak, aynı protokolle tedavi edilen çocuklarda vücut kompozisyonundaki etkilenme farklılığının dikkat çekici olması, KMD düşüşü ve kırık oranlarının belirgin farklılığı, patogeneizde farmakogenetiğin önemli rol oynadığını düşündürmektedir.

Literatürde ALL hastalarında AVN gelişimi ile; VDR: BsmI/ApaI/TaqI, Fok1, CYP3A4/5, MDR1, RFC, MTHFR, TYMS, UGT1A1, GSTM1, NR3C1, GSTP1, TPMT, GSTT1, ABCB1, BGLAP, ACP1/5, LRP5, ESR1, PAI-1, PTHR, APAI-1 gibi polimorfizmler ile ilgili çalışmalar mevcuttur (50).

2.3.1. Vitamin D Reseptör Gen ile İlişkisi

VDR, Ca hemostazına ve ayrıca kemik döngüsüne katılan bir proteindir; hücreler arasında yer almaktadır, 1,25 (OH)₂ D₃ vitaminini bağlar ve onun etkilerinin aracılığını yapar. Yapısal olarak tiroid hormon reseptörlerinin benzeridir (Şekil 1).

Şekil 1. VDR ekzon-intron yapısı ve bilinen polimorfizmleri



* polimorfizmlerin kodlama bölgesinde olduğunu göstermektedir.

VDR'yi 12. kromozomunun uzun kolu üzerinde yer alan gen kodlamaktadır. Bu gen 11 ekzon içerir ve 75 kb'lik bir uzunluğa sahiptir; birinci ekzon transkripsiyonlu değildir, 2. ve 3. Ekzon deoksiribonukleik asitin (DNA) bağlanmasına, 7.,8. ve 9.ekzonlar ise D vitaminin bağlanmasına katılırlar. VDR geninin polimorfizmlerinin KMD'nin belirlenmesindeki rolü üzerine yapılan çalışmalar, çelişkili sonuçlar vermiştir. Morrison ve ark.nın 1992 yılında yaptığı çalışmada VDR geni bölgesinde 8. ve 9.ekzonlar arasında bulunan ve BsmI, ApaI ve TaqI restriksiyon enzimlerini kullanarak tanınan üç polimorfizmi tanımlamıştır. Morrison ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmanın sonucunda ise BsmI ve restriksiyon endonükleazı ile tanınan ve femur başı ve lomber omurgasında ölçülen VDR polimorfizmi arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (94). VDR gen polimorfizmi ve AVN arasındaki ilişki üzerine birçok çelişkili veriler vardır. Bu tutarsızlıkların, yaş ve diyete göre genetik bileşenlerinin etkisinin değişimi ile izah edilmesi mümkündür.

Çoğu SNPs erişkinlerde KMD'yi etkilediği, özellikle VDR genindeki SNPs (94) bildirilmiştir ve değişimler yaş ve menopozal durumla ilişkilendirilmiştir. Vücut kompozisyonunun (kas gücü ve vücut yağ oranı) VDR BsmI SNP ile bağlantısı premenopozal kadınlarda saptanmıştır (95). Sağlıklı çocuklarda VDR 3'-end SNPs (BsmI, ApaI, TaqI) ile KMD etkileşimi ile alakalı az sayıda ve çelişkili çalışmalar vardır (96) ve bu çelişkili sonuçlar çevresel faktörlere veya Ca alımı gibi farklılıklara bağlanmıştır. Bu çalışmada Ca alımı aynı seviyede olduğu halde taşıyıcı ve taşıyıcı olmayanlarda anlamlı farklılık bulunamamıştır. VDR 5'-end SNPs sağlıklı çocuklarda hiç bakılmamıştır.

2004'te Reilling ve ark.tarafından yapılan bir çalışmada 64 çocuk hastada ALL tedavisini etkileyebileceği düşünülen 16 polimorfizm (CYP3A4/5, MDR1, RFC, MTHFR, TYMS, VDR FokI, VDR intron8/exon9 (BsmI ve ApaI sites/TaqI site), UGT1A1, GSTM1, NR3C1, GSTP1, TPMT, GSTT1) araştırılmıştır. Tüm hastalara AVN açısından MRG yapılmıştır. AVN; VDR FokI ve TYMS polimorfizmleri ile ilişkili bulunmuştur (9). VDR intron8/exon9 (BsmI/ApaI/TaqI) AVN ile ilişkilendirilememiştir. Literatür araştırmamıza göre; VDR geninin bu haplotiplerinin ALL çocuk hastalarda AVN ile ilişkisi araştırıldığı başka çalışma yoktur.

Winkel ve ark. tarafından 2009'da yapılan çalışmada ALL hastalarında KMD ve vücut kompozisyonunun farmakogenetik risk faktörleri; VDR (VDR: BsmI/ApaI/TaqI ve Cdx-2/GATA), collagen type I alpha 1 (SpI), eostrogen receptor 1 (ESR1), glucocorticoid receptor (GR Bc1I) araştırılmıştır. VDR, COLIA1, ESR1 ve GR ALL

hastalarında KMD açısından ilk defa bu araştırmada bakılmış. Sadece tanı sırasında saptanan VDR 5'-end (Cdx-2/GATA) haplotip 3 taşıyıcılarında; bu durumun vücut yağ oranının fazla artmasında koruyucu olduğu ama alt lomber KMD için risk faktörü olduğu saptanmıştır. VDR 3'-end SNPs (BsmI/ApaI/TaqI) haplotiplerinin ALL hastalarında KMD düşüşü ile ilişkisi saptanmamıştır. Cdx-2 A-allel ince bağırsaklarda VDR transkripsiyonunu artırır ve Ca absorpsiyonunun artmasına neden olduğu düşünülmektedir (97). Bu nedenle VDR 5'-end haplotip 3 (Cdx-2 A-allel olmadan) serum Ca'unu düşürür ve adipositler içindeki Ca artarak lipogenezi uyarır. Buna karşın bu çalışmada VDR 5'-end haplotip taşıyıcılarında serum Ca düzeylerinde anlamlı farklılık saptanmamıştır.

2.3.2. Diğer Genlerle İlişkisi

Winkel ve ark. tarafından 2009'da yapılan aynı çalışmada bakılan ESR1 geni taşıyıcılarında tedavi sonrası KMD'de düşüşün olduğu bulunmuştur. ESR1 geni dışındaki genlerin (VDR, COLIA1 ve GR) tedavi sonrası vücut kompozisyonuna etkileri görülmemiştir. Kırık saptanan hastalarda bakılan genetik polimorfizmleriyle ilişki saptanamamıştır. Bakılan serum Ca,1,25(OH)2D seviyeleri ile polimorfizmlerin bağlantısı görülmemiştir (97). Düşük KMD ile bağlantılı olduğu düşünülen başka bir gen collagen type I alpha gene (COLIA1); kemik matriksinde kollajen tip I alfa 1'i arttırarak kollajen sentez bozukluğuna neden olabilmektedir. Erişkinlerde yapılan çalışmalarda GR gen polimorfizminin KS sensitivitesiyle bağlantılı olduğu, KMD düşüşüne ve vücut kompozisyonu bozukluğuna neden olabileceği bildirilmiştir (98).

French ve ark. tarafından 2008'de yapılan bir çalışmada, CCG1882 protokol tedavisi alan 10 yaş ve altı ALL tanılı çocuklarda AVN gelişimi açısından bağlantısı olabileceği düşünülen 12 polimorfizm (TYMS, MTHFR, ABCB1, BGLAP, ACP5, LRP5, ESR1, PAI-1 ve PTHR) araştırılmıştır (99). Önceki bir yayında CCG1882 tedavi protokolüyle (yüksek doz deksametazon içeren) tedavi edilen 10 yaş ve üzeri hastalarda AVN gelişim riski yüksek bulunması üzerine (8), özellikle bu tedavi protokolü uygulanan hastalar araştırmaya alınmıştır. Sadece PAI-1 gen polimorfizmi AVN riski ile bağlantılı bulunmuştur(100).

Zalavras ve ark.nın yaptığı bir çalışmada idiopatik AVN gelişen hastalarda %26.1'inde MTHFR geninde 677C-T mutasyonunu pozitif saptanmıştır (101).

APAI-1 (16) ve CYP3A4 (102) genlerininAVN ile ilişkisi araştırılmış, sonuçlar çelişkili bulunmuştur.

Kawedia ve ark.nın yaptığı çalışmada ise; lipit seviyelerini ve osteoblast diferansiyasyonunu regüle eden acid phosphatase 1 (ACP1) polimorfizminin önemli olduğunu saptamışlar, ve bunu yüksek doz deksametazon maruziyeti ile ilişkilendirmişlerdir. Aynı zamanda bu hastalarda bakılan serum albümin düşüklüğü ve yüksek lipit seviyeleri ACP1 polimorfizmi ile ilişkili bulunmuştur (50).

Yapılan bu çalışmalar genetik faktörlerin AVN gelişimi açısından önemli predispozan faktörler olduğunu göstermektedir (97, 99).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Tanı ve KT uygulanması sırasında ALL hastalarında AVN gelişme riskinin VDR gen polimorfizmleri ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlı hastalardan kan örnekleri alındı.

3.1. Örnek Toplama

Bezmi Alem Vakıf Üniversitesi Tıp fakültesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Bölümünde ve İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Çocuk Hematoloji-Onkoloji Bölümünde takipli olan ALL tanılı 71 hasta çalışmaya alındı. Rutin inceleme sırasında alınan kanın 2 ml'si EDTA'lı tüplere, 5 ml'si ise kuru tüplere aktarıldı.

3.2. Saklama Koşulları

Toplanan kanlar +4 °C'de saklandı, uygun DNA izolasyon yöntemi ile DNA'ları izole edildi ve elde edilen DNA'lar +4 °C'de muhafaza edildi. Hastalara ayrıca bir girişim uygulanmadı. Kan örnekleri alındıktan hemen sonra santrifüj edildi ve ayrılan plazma ve serum örnekleri -80°C'de muhafaza edildi.

3.3. Vitamin D Reseptör Gen Çalışması

Bezmi Alem Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji laboratuvarında çalışıldı. Alınan kan örneklerinin DNA izolasyonu yapıldıktan sonra VDR geni için uygun primerler ile belirlenen gen bölgeleri (*BsmI* and *ApaI* sites in intron 8 and *TaqI* site in exon 9) amplifiye edildi. *BsmI* (rs154410), *Apa I* (rs7975232) ve *Taq I* (rs731236) polimorfizmlerine ait bölgeler uygun primerler ile PCR-RFLP yöntemi ile çoğaltıldı ve jel görüntüleme sistemi ile değerlendirildi.

3.4. Kullanılan Malzemeler

DNA izolasyonu, polymerase chain reaction (PCR), restriksiyon çalışmalarında kullanılan malzemeler; DNA İzolasyon Kiti, Taq DNA polimeraz, 100 bp DNA marker, 50 bp DNA marker, dNTP seti, Etidyum Bromür, 6x loading dye, Agaroz, Primerler, 10x TBE, *ApaI* enzimi, *BsmI* enzimi, *TaqI* enzimi

Serum, plazma alma ve ayrıca DNA izolasyonu, PCR ve kesim işlemlerinde kullanılan diğer sarf malzeme; 1000 µl'lik pipet ucu, 200 µl'lik pipet ucu, 10 µl'lik pipet ucu, 1,5 mL, 0,2 mL ve 0,5 mL'lik ependorf

Saklama Kutuları: Serum, plazma ve DNA'ların uygun koşullarda saklanmasında kullanılmıştır.

3.5. İstatistiksel Yöntemler

Araştırma veri seti SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Sciences) paket programında analiz edilmiştir. İki grup karşılaştırılması için Mann Whitney U testi, üç ve üçten fazla grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi uygulanmış, anlamlı bulunanlarda Dunn testi ile ikili kıyaslamalara bakılmıştır. Kategorik değişkenlerde ise Ki-kare testi uygulanmıştır.

4. .BULGULAR

4.1. Hastalar

Çalışmaya toplam yetmiş bir hasta dahil edildi. Hasta grubunu 42 erkek (%59.2), 29 kız (%40.8) çocuk (kız/erkek oranı 0.7/1) oluşturuyordu. Hastalar 2,5 yaş ile 24 yaş arasında olup, yaş ortalamaları 11,06 yaştı. Erkek hastaların yaş ortalaması 10.94 yaş, kız hastaların 11.22 yaştı. Çalışmaya alınan hastalara Children's Oncology Protocol (COG) tedavi protokolleri; CCG 1991 (standart risk), CCG 1961 (yüksek risk), COG 0331 (standart risk), COG 932 (standart risk), COG 0232 (yüksek risk), COG 1132 (yüksek risk) uygulanmıştır. Hastalara tedavinin kaçınıcı yılında oldukları, bittiyse ne zaman bittiği sorgulanmıştır. Çalışmaya alınan hastalar ile ilgili klinik bilgiler tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Çalışmaya katılan ALL tanılı hastalarda yaş, cinsiyet, ALL tanı yaşı ve remisyonunda devam eden süre

SIRA NO	Yaş	CinsiyEt	Tanı Yaşı	CCR
1	14	K	3,50	13
2	17	K	4	13
3	12	K	4	12
4	13	E	2,5	10,5
5	14,5	E	4	10,5
6	13	E	3,50	9,5
7	13	K	4	9
8	12	E	3	9
9	11	E	2	9+
10	23	E	15	8
11	23	K	15	8
12	10	K	2	8
13	24	E	16,5	7,5
14	15	K	8	7
15	12	K	6	6
16	10	E	4	6
17	14	K	9	5
18	21	K	16	5+
19	14,5	E	10	4,5
20	8	K	4	4
21	8	K	4	4
22	17	E	13	4
23	9	E	5	4
24	9	E	5	4

SIRA NO	Yaş	CinsiyEt	Tanı Yaşı	CCR
25	11	E	7	4
26	19	K	15	4
27	13	E	9	4
28	11	K	7	4
29	14	K	10,5	3,5+
30	10	E	6,5	3,5
31	6	K	3	3+
32	10,5	E	7,5	3+
33	9	E	6	3+
34	17	K	14	3+
35	9	E	6	3
36	22	E	19	3
37	4,5	E	1,5	3+
38	14	E	11	3
39	19	E	16	3
40	6	E	3	3+
41	10	E	7	3+
42	14	K	11,5	2,5
43	14	K	11,5	2,5+
44	8	E	6,5	2,5+
45	3,5	E	1	2,5+
46	7	E	4,5	2,5+
47	8	E	6	2
48	7,5	E	5,5	2+
49	6	E	4	2+
50	20	E	18	2+
51	5	K	3	2+
52	6	E	4	2+
53	5,50	K	3,50	2+
54	16	K	14	2+
55	6	E	4	2+
56	5	K	3	2+
57	16	E	14	2+
58	5	K	3	2+
59	7	K	5,5	1,5+
60	9	K	7,5	1,5+
61	5	E	4	1+
62	3	K	2	1+
63	4	K	3	1+
64	8	E	7,50	1+
65	2,5	E	1,5	1+
66	8	E	7	1+
67	7	E	7	1+
68	14	E	13	1+
69	4	K	3,5	0,5+
70	3,5	E	3	0,5+
71	15,5	E	15	0,5+

+: Tedavisi devam etmektedir, CCR: Remisyonda devam eden süre (yıl)

4.2. Genetik Dağılım

Çalışmada BsmI, ApaI ve Taq I olmak üzere üç SNP çalışıldı. ApaI ve TaqI SNP'leri ile ilgili izole edilen tüm DNA'ların genotiplenmeleri yapıldı ve her iki SNP'de de wildtype genotip, heterozigot genotip ve homozigot mutant genotipler tespit edildi. BsmI polimorfizmi ile ilgili ise wildtype genotip (BB, polimorfizm yok) ve heterozigot genotip (Bb) saptandı. Çalıştığımız hasta grubunda (BsmI için) homozigot genotip (bb) tespit edilmedi. BsmI polimorfizminde A alleli G allele: ApaI polimorfizminde T alleli G allele ve TaqI polimorfizminde ise T alleli C allele değişmekteydi. Referans makaleye göre genotipleme yapıldı (103). Çalışmamızdaki hastaların genotip dağılımı ve AVN varlığı tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2: Hastaların genotip dağılımı ve AVN varlığı

SIRA NO	BsmI	ApaI	TaqI	AVN
1	Bb	Aa	TT	Yok
2	BB	AA	Tt	Yok
3	BB	AA	Tt	Yok
4	BB	AA	Tt	Yok
5	BB	AA	tt	Yok
6	Bb	Aa	Tt	Yok
7	Bb	Aa	Tt	Var
8	Bb	Aa	TT	Yok
9	Bb	Aa	TT	Yok
10	Bb	Aa	TT	Var
11	Bb	Aa	Tt	Yok
12	BB	AA	TT	Yok
13	BB	AA	TT	Var
14	Bb	Aa	TT	Var
15	Bb	Aa	Tt	Yok
16	Bb	Aa	TT	Yok
17	Bb	Aa	TT	Var
18	Bb	Aa	Tt	Yok
19	Bb	Aa	Tt	Yok
20	Bb	Aa	TT	Var
21	BB	AA	Tt	Var
22	Bilinmiyor	AA	TT	Yok
23	BB	AA	Tt	Var
24	Bilinmiyor	Aa	TT	Yok
25	BB	AA	tt	Yok

SIRA NO	BsmI	ApaI	TaqI	AVN
26	BB	AA	TT	Var
27	BB	AA	Tt	Yok
28	Bb	Aa	Tt	Yok
29	Bb	Aa	Tt	Var
30	Bb	Aa	TT	Yok
31	BB	AA	tt	Yok
32	Bb	Aa	Tt	Yok
33	BB	AA	TT	Yok
34	Bb	Aa	TT	Var
35	BB	AA	Tt	Yok
36	Bb	Aa	Tt	Var
37	Bb	Aa	Tt	Yok
38	Bb	Aa	Tt	Yok
39	Bb	Aa	TT	Yok
40	BB	AA	Tt	Yok
41	BB	AA	tt	Var
42	Bb	Aa	Tt	Yok
43	BB	AA	tt	Var
44	Bb	Aa	Tt	Yok
45	Bb	Aa	Tt	Yok
46	Bb	Aa	Tt	Yok
47	Bb	Aa	TT	Yok
48	Bb	Aa	Tt	Yok
49	BB	AA	Tt	Yok
50	Bb	Aa	Tt	Var

SIRA NO	BsmI	ApaI	TaqI	AVN
51	BB	AA	Tt	Yok
52	Bb	Aa	TT	Yok
53	Bb	Aa	TT	Yok
54	Bilinmiyor	AA	Tt	Var
55	Bb	Aa	TT	Yok
56	Bilinmiyor	aa	TT	Yok
57	Bilinmiyor	AA	TT	Yok
58	Bb	Aa	Tt	Yok
59	Bb	Aa	TT	Yok
60	BB	AA	Tt	Yok
61	Bb	Aa	TT	Yok
62	Bb	Aa	TT	Yok
63	Bb	Aa	Tt	Yok
64	Bb	Aa	TT	Yok
65	Bb	Aa	TT	Yok
66	BB	AA	Tt	Yok
67	Bb	Aa	TT	Yok
68	Bilinmiyor	aa	TT	Yok
69	Bb	Aa	Tt	Yok
70	Bb	Aa	Tt	Yok
71	Bb	Aa	TT	Yok

BsmI: BB (AA) genotip: wildtype genotip, polimorfizm yok, Bb (AG) genotip: Heterozigot genotip, bb (GG) genotip: Homozigot mutant genotip. Apa I : AA (TT) genotip: wildtype genotip, polimorfizm yok, Aa (TG) genotip: Heterozigot genotip, aa (GG) genotip: Homozigot mutant genotip. Taq I : TT (TT) genotip: wildtype genotip, polimorfizm yok, Tt (TC) genotip: Heterozigot genotip, tt (CC) genotip: Homozigot mutant genotip

4.3. Avasküler Nekroz ile İlişki

4.3.1. Avasküler Nekroz ve Klinik Bilgiler ile İlişki

Çalışmamıza alınan 71 hastanın geçmiş kayıtlarına bakılarak 16'sında (%22) AVN olduğu saptanmıştır. AVN gelişenlerde en küçük tanı yaşı 4 yaş iken en büyük tanı yaşı 19 yaştı. AVN gelişen grupta ortanca tanı yaşı 11 yaş, semptomatik AVN tanısı almayan grupta ise ortanca tanı yaşı 4.5 yaştı. Tanı yaşının daha büyük olmasının AVN gelişimi ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olduğu gösterilmiştir ($p<0.001$).

AVN gelişen hastaların altısı (%37.5) tedavisine devam etmekteydi. Bu grupta ortalama tedavi yılı 2.6 yıl idi. Bu hastaların 10'u (%62.5) ise tedavisini tamamlamıştı, tedavi biteli ortalama üç yıl olduğu saptandı. Semptomatik AVN tanısı almayan 32 (%59.3) hastanın tedavisi devam etmekteyken, 22 (%40.7) hastanın ise tedavisi bitmişti. AVN varlığına göre hastaların yaşı, tanı yaşı ve tedavi yılları tablo 3'te gösterilmiştir

Tablo 3: AVN varlığına göre hastaların yaş, tanı yaşı ve tedavi yılı dağılımları

AVN		Yaş	Tanı Yaşı	Tedavi Yılı
Yok	N	55	55	54
	Ortalama	9,800	6,073	2,6481
	Ortanca	9,000	4,500	2,2500
	Min.	2,5	1,0	,50
	Max.	23,0	16,0	9,00
Var	N	16	16	16
	Ortalama	15,375	10,906	2,6094
	Ortanca	14,500	11,000	2,7500
	Min.	8,0	4,0	1,00
	Max.	24,0	19,0	4,00
p		,001	,001	,454

AVN gelişen hastaların altısı (%37.5) erkek, 10'u ise (%62.5) kızdı. Semptomatik AVN tanısı almayan hastaların 36'sı (%65.5) erkek, 19'u (%34.5) kızdı. AVN gelişme oranı kızlarda erkeklere göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak fazla bulundu ($p<0.05$).

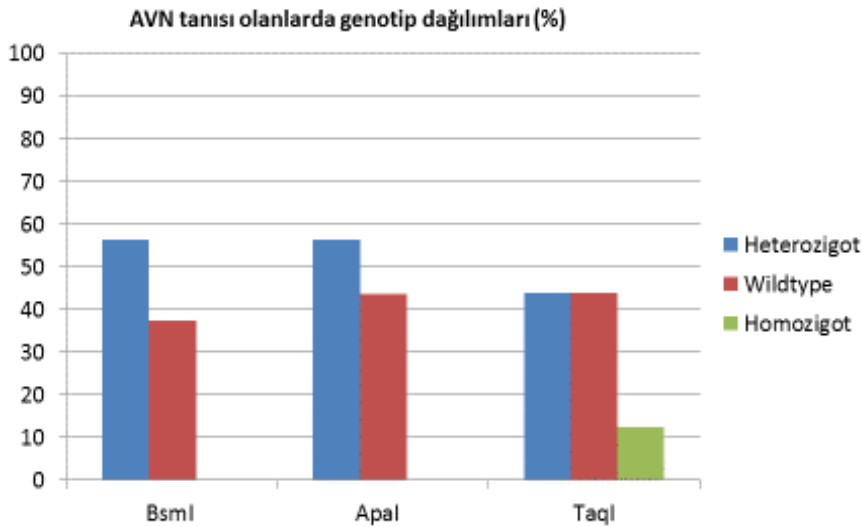
4.3.2. Avasküler Nekroz ve Vitamin D Reseptör Polimorfizmleri ile İlişki

AVN saptanmış 16 hastanın dokuzunda (%56.3) BsmI heterozigot genotip, altısında (%37.5) wildtype genotip saptandı. Semptomatik AVN tanısı almayan hastaların 35'inde (%63.6) BsmI heterozigot genotipi, 15'inde (%27.3) BsmI wildtype genotip saptandı. AVN gelişimi ile BsmI polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p=0.819$).

AVN tanılı hastaların dokuzunda (%56.3) ApaI heterozigot genotipi, yedisinde (%43.7) wildtype genotip saptandı, mutant genotipe rastlanmadı. Semptomatik AVN tanısı almayan hastaların ikisinde (%3.6) homozigot mutant genotip görüldü. Semptomatik AVN tanısı almayan hastaların 36'sında (%65.5) ApaI heterozigot genotipi, 17'sinde (%30.9) ApaI wildtype genotip saptandı. AVN gelişimi ile ApaI polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p=0.731$).

AVN saptanmış olan hastaların ikisinde (%12.4) TaqI homozigot mutant genotip, yedisinde (%43.8) TaqI heterozigot genotipi, yedisinde (%43.8) wildtype genotip saptandı. Semptomatik AVN tanısı almayan hastaların üçünde (%5.5) TaqI homozigot mutant genotip, 28'inde (%50.9) TaqI heterozigot genotipi, 24'ünde (%43.6) TaqI wildtype genotip saptandı. AVN gelişimi ile TaqI polimorfizmi arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p=0.623$). AVN gelişimine göre hastaların genotip dağılımı Şekil 2'de gösterilmiştir.

Şekil 2: AVN tanısı alan hastaların genotip dağılımı



4.3.3. Avasküler Nekrozda Manyetik Rezonans Görüntüleme Bulguları

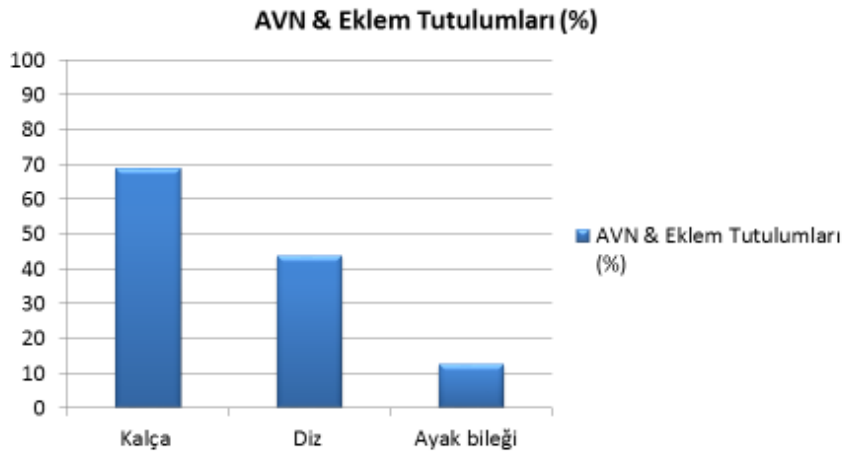
AVN tanısı olan hastalardaki kalça eklem tutulum oranı %68,8 (11/16) iken, kalça eklem tutulumu görülmeyen hastaların oranı %31,2 (5/16) olarak saptandı.

AVN tanısı olan hastalardaki diz eklemi tutulum oranı %43,8 'di (7/16). Bu bulgu kalça eklemi avasküler nekroz tanısı olanların yarısında diz eklemi tutulumunda olduğunu göstermiştir.

AVN tanısı olan hastalardaki ayak bileği eklemi tutulum oranı %12,5 (2/16) olarak bulundu.

Çalışma grubumuzdaki AVN olan hastalarda değerlendirilen eklem tutulum oranları şekil 3'te gösterilmiştir.

Şekil 3: AVN saptanan hastalarda eklem tutulum oranları



4.3.4. Avasküler Nekroz ve Biyokimyasal Değerler ile İlişki

alışmamızda değerlendirilen hastalarda AVN gelişimi mekanizmasıyla ilgili olduğu düşünülen 25(OH)D, 1,25(OH)2D, ALP, Ca, P parametreleri çalışıldı.

AVN gelişen hastaların ortalama 25(OH)D ve 1,25(OH)2D değerleri sırasıyla 29.88 ng/ml (RD: 0-10; ciddi eksiklik, 10-24; orta düzey eksiklik, 25-80; optimal düzey, >150; toksisite), 77.05 pg/ml (RD: 17.6-109,4 pg/ml) ve semptomatik AVN tanısı almayan gruptaki değerler sırasıyla 23.6 ng/ml, 72.5 pg/ml olarak ölçüldü (Tablo 4). Bu parametreler açısından, iki grup arasında istatistiksel açıdan bir fark saptanmadı (sırasıyla p = 0.283 ve p = 0.869).

AVN tanılı hastalarda ortalama ALP değeri 149.75 U/L (RD: 0-269 U/L) iken, semptomatik AVN tanısı almayan hastalarda bu değer 172.4 U/L bulundu. Ortalama Ca

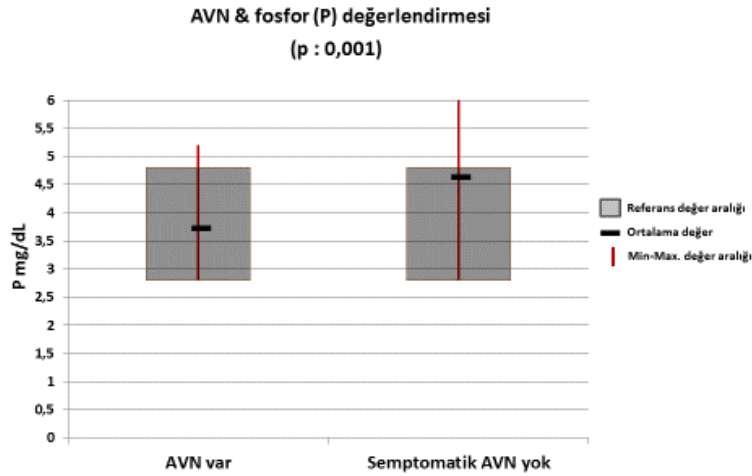
değeri 9.6 mg/dl (RD: 8.8-10.8 mg/dl) iken, diğer grupta 9.3 mg/dl saptandı. Her iki parametre için de iki grup arasında istatistiksel açıdan bir fark saptanmadı (Tablo 4).

Tablo 4: AVN varlığına göre biyokimyasal parametreler değerlendirilmesi

AVN		VitD25	VitD125	ALP	Ca
Yok	N	55	55	55	55
	Ortalama	23,6	72,5	172,3	9,3
Var	N	16	16	16	16
	Ortalama	29,8	77	149,7	9,6
p		0,283	0,869	0,07	0,793

AVN gelişen grupta ortalama P değeri 3.85 mg/dl (RD: 3.3-5.6 mg/dl) iken semptomatik AVN tanısı almayan grupta bu değer 4.62 mg/dl olarak bulunmuştur (Şekil 4). Bakılan ortalama P değerinin AVN bakımından anlamlı olduğu gözlemlenmiştir (p=001).

Şekil 4: AVN varlığına göre P seviyeleri ilişkisi



4.3.5. Avasküler Nekrozda Genotip ve Cerrahi ile İlişki

AVN nedenli opere edilen hastaların tamamını kız hastalar oluşturmaktaydı. VDR gen polimorfizmi ile AVN nedenli cerrahi gereksinimi arasındaki ilişki bu grupta az sayıda hasta bulunması nedeni ile değerlendirilmedi.

5. TARTIŞMA

5.1. Avasküler Nekroz ve Vitamin D Reseptör Polimorfizmleri ile İlişki

ALL tanılı çocuklarda AVN gelişim riskinin genetik ile ilişkilendirildiği çalışmalar azdır ve belli bir sonuca varılamamıştır (9,50,97,99,104,105,106,107).

Çoğu SNPs'in erişkinlerde KMD'yi etkilediği, özellikle VDR genindeki SNPs ile anlamlı ilişkisi bildirilmiştir ve değişimler yaş ve menopozal durumla ilişkilendirilmiştir (94). Erişkinlerde yapılmış çalışmalara bakıldığında VDR BsmI SNP ile premenopozal kadınlarda vücut kompozisyonunun (kas gücü ve vücut yağ oranı) bağlantısı saptanmıştır (95).

ALL hastalarında AVN gelişiminin VDR polimorfizmleri ile ilişkisi 2004'te Reilling ve ark. tarafından ilk defa araştırılmıştır (9). VDR intron8/exon9 (BsmI ve ApaI sites/TaqI site) ve VDR FokI polimorfizmlerinin bakıldığı çalışmada; AVN gelişimi ile VDR FokI polimorfizmi ilişkili bulunmuştur (9). Ancak bizim çalışmamızda da araştırılmış olan VDR intron8/exon9 (BsmI ve ApaI sites/TaqI site) polimorfizmleri ile ilişki saptanmamıştır. Literatür araştırmamıza göre; VDR geninin bu haplotiplerinin ALL tanılı çocuk hastalarda AVN ile ilişkisi araştırıldığı başka çalışma yoktur.

Bizim çalışmamızda ALL tanılı 71 hastanın 16'sında AVN saptanmıştır. Bu hastalarda VDR intron8/exon9 (BsmI ve ApaI sites/TaqI site) çalışılmıştır. Bunların dokuzunda (%56.3) BsmI heterozigot genotip (Bb), dokuzunda (%56.3) ApaI heterozigot genotip (Aa), yedisinde (%43.8) TaqI heterozigot genotip (Tt), ikisinde (%12.4) TaqI homozigot mutant genotip (tt) saptanmıştır. Ancak şimdiye kadar yapılan çalışmalarda da olduğu gibi bu tek nükleotid polimorfizmleri ile AVN arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmamıştır (9,96) .

Literatürde sağlıklı çocuklarda bakılan VDR 3'-end (BsmI, ApaI, TaqI) tek nükleotid polimorfizmleri ve KMD etkileşimi ile alakalı çalışmalar mevcuttur ancak az sayıda ve çelişkili sonuçlanmıştır (96). Bu çelişkili sonuçlar çevresel faktörlere veya Ca alımı gibi farklılıklara bağlanmıştır. Ca alımı aynı seviyede olduğu halde taşıyıcı ve taşıyıcı olmayanlarda anlamlı farklılık bulunamamıştır (97).

5.2. Avasküler Nekroz İnsidansı ile İlişki

Bizim çalışmamızda geçmiş kayıtları değerlendirilen hastalarda sadece belirli bölgeye yönelik MRG bulunmasına rağmen %22.5 (16/71) gibi yüksek bir oranda AVN olduğu saptanmıştır. Mattano ve ark.nın yaptığı çalışmada ALL hastalarında üç yıllık kümülatif AVN insidansını %9.3 bulurken, başka bir çalışmada çalışmamızda bulunan insidansa daha yakın olarak asemptomatik hastalara da MRG yapılarak %38 hastada AVN (1/3'ü asemptomatik olan) saptanmıştır.

Daha düşük oranlarda AVN saptanan çalışmalarda vardır. Bu oranlar sadece semptomatik hastalara görüntüleme yapılmasına bağlanmıştır. AVN hastalığının oranı klinik olarak semptomatik olan hastalarda 1% (6, 7) - %9 (8)arasındadır. Giard ve ark. tarafından 2013 yılında yapılan bir çalışmada 943 ALL tanılı hastanın 24'ünde (%2.5) semptomatik AVN geliştiği gösterilmiştir (60). Tüm hastaların MRG ile tetkik edildiği başka çalışmalarda ise bu oran %15'e çıkabilmektedir (9).

Mattano ve ark.nın 2012'de yaptığı çalışmada tedavinin ilk senesinde %41'inde, ikinci senesinde %47'sinde, üçüncü senesinde %9'unda, dördüncü senesinde %3'ünde AVN gelişmiştir (57). Patel ve ark.nın yaptığı çalışmada ise KT sonrası ilk üç yılda %11 AVN saptanırken, 10 yıl içinde AVN oranında %16 artış görülmüştür. Bizim çalışmamızda da benzer olarak AVN gelişen hastaların 10'u (%62.5) tedavisini tamamlamıştı ve tedavi bitim sürelerinin ortalama üç yıl olduğu bulundu. Altısı (%37.5) tedavisine devam etmekteydi ve bu grupta AVN gelişme zamanı tedavinin ortalama 2.6 yılında idi. Hastaların tedavi bitimi sonrasında AVN gelişim oranının daha fazla olduğu görüldü.

5.3. Avasküler Nekroz ve Yaş/Cinsiyet ile İlişki

Bizim çalışmamızda AVN gelişen grupta ortalama yaş 15.3 yaş, ortalama tanı yaşı ise 10.9 yaş iken semptomatik AVN tanısı almayan grupta ise ortalama yaş 9.8 yaş, bulunmuştur. Tanı yaşının daha büyük olmasının AVN gelişimi ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olduğu gösterildi. Yapılan çalışmalarla benzer sonuçlar elde edilmiştir (52, 53).Bu sonuçlara göre adolesanların kemik büyüme evresinde olduğundan bu yaş grubunun AVN gelişimi için daha hassas olabileceği vurgulanabilir (84, 85).

AVN gelişiminde yaş en önemli risk faktörü olarak çoğu çalışmada gösterilmiştir, bu çalışmalara göre 10 yaşından küçük olan hastalarda AVN oluşma riski daha düşükken 10 yaş üzeri olanlar daha yüksek AVN riski taşımaktadırlar (8, 48, 49). On yaş altında % 10 AVN görülürken, 10 yaş üzeri ALL hastalarında gelişen AVN

oranları %7.4 - %44.6 arası seyretmektedir (8). Bu yaş ile var olan neden-sonuç ilişkisi diğer bazı çalışmalarda da vurgulanmıştır (52, 53).

Mattano ve ark.nın 2000 yılında yaptığı çalışmada 10-20 yaş arası ALL tanılı hastalarda %14.2, 1-9 yaş arası ise %1 AVN saptanmıştır (8). Aynı araştırmacının 2012'de yaptığı çalışmada AVN'nin ortalama görülme yaşı 14.6 yaş ve kızlarda daha erken olduğu saptanmıştır (14.1 yaş vs 15.4 yaş) (57). AVN oranlarının 16-21 yaş grubunda 10-15 yaş grubuna kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır (%20 vs %9.9).

Bizim çalışmamızda AVN saptanan hastaların altısı (%37.5) erkek, 10'u ise (%62.5) kızdı. Cinsiyete göre ortalama yaş dağılımları benzer (Erkek: 10.94 yaş/Kız: 11.22 yaş) olan hastalarımızda AVN gelişme oranı kızlarda erkeklere göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak fazla bulunmuştur ($p < 0.05$). Benzer olarak Mattano ve ark. tarafından 2012'de yapılan çalışmada erkek hastaların bir sene fazla idame tedavisi almalarına rağmen kız hastalarda anlamlı olarak daha fazla AVN görülmüştür (kız:%15.7 vs erkek: %9.3).

Mattano ve ark. tarafından yapılan (8)ve benzer çalışmalara (40) karşın, daha geniş çaplı olan Kadan-Lottick ve ark.nın yaptığı çalışmada ALL tanılı adolesan yaş grubundaki kız çocuklarda AVN oranının daha yüksek olduğu görülmemiştir, cinsiyet veya yaş ile anlamlı ilişki saptanmamıştır. Buna benzer başka çalışmalarda da cinsiyet farklılığı saptanmamıştır (36,53). Bu sonuçlardaki farklılık kullanılmış olan araştırma metotlarına bağlanabilir.

5.4. Biyokimyasal Değerler ile İlişki

Bizim çalışmamızda ortalama 2.6 tedavi yılında olan hastalarımızın çoğunda 1,25(OH)2D normal seviyede saptanmıştır. Sadece 71 hastanın ikisinde 1,25(OH)2D $< 6 \text{ pg/ml}$ ölçülmüştür. Bu hastalardan biri tedavisinin birinci yılında, diğeri ise üçüncü yılındaydı. Atkinson ve ark.nın yaptığı bir çalışmada ise ALL tedavisinin vitamin D metabolizması üzerine olan etkilerinden bahsedilmiştir (79) ve 13 hastanın 12'sinde düşük 1,25(OH)2D seviyesi saptanmıştır (75). Sluis ve ark.nın yaptığı çalışmada tedavi başladıktan sonra düşen ortalama 1,25(OH)2D seviyesi tedavinin 32. haftasında büyük oranda normale yükseldiği görülmüştür. Teşhis sırasında hastaların %20'sinde 1,25(OH)2D seviyesi normal seviyenin altındayken, 32. haftadan sonra %4.5 hastada düşük seviyede, terapinin son yılında ise tüm hastalarda normal seviyelerde tespit edilmiştir.

Çalışmamızda tedavinin ortalama 2,6. yılında olan ve AVN tanılı olan hastalardabakılan 25(OH)D ve 1,25(OH)2D değerleri ile AVN gelişimi arasında anlamlı ilişkisi bulunmamıştır. Halton ve ark.nın çalışmasında hastalardaki Vitamin D durumu 25(OH)D konsantrasyonlara bakılarak normal olduğu gösterilmiş ama vitamin D aktif komponenti olan 1,25(OH)2D'nin tanı ve tedavinin ilk bir yılında normal sınırların altında seyrettiği saptanmıştır (68).

Çalışmamızda ortalama 2,6. tedavi yılında ortalama ALP değeri normal sınırlarda bulunmuştur ve AVN gelişimi ile anlamlı olarak ilişkilendirilmemiştir. Sluis ve ark.nın yaptığı çalışmada ise teşhis sırasında kemik formasyonu belirteci ALP' nin seviyesinin düşük olduğu görülürken takiplerde önemli derecede yükseldiği saptanmıştır (74). Boot ve ark.nın 1999 yılında yaptığı araştırmada da AVN saptanan ALL tanılı hastalarda 14 hastanın altısında düşük ALP seviyeleri saptanmış ancak takipte 1 sene sonraki tetkiklerinde yükseldiği görülmüştür. Tedavi sırasında veya sonrasında ALP düzeylerinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (78).

Bizim çalışmamızda 71 hastanın üçünde hipokalsemi görülmüştür. AVN gelişen, tedavinin ortalama 2,6. yılında olan hastalarımızda; ortalama Ca değeri normal sınırlarda sonuçlanmıştır, AVN oluşumu ile anlamlı ilişki bulunmamıştır. Atkinson ve ark.nın yaptığı bir çalışmada ALL tedavisinin Ca metabolizması üzerine yan etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Hastaların yaklaşık %50 sinde hipokalsemi tespit edildiği belirtilmiştir (79). Halton ve ark.nın 1996 yılında yaptığı çalışmada ise ALL tanılı hastalarda tanı esnasında normal Ca düzeyleri saptanırken, tedavinin ikinci yılında hafif hipokalsemi görülmüştür. Bir yılın sonunda biyokimyasal durum; kırık insidansı ve KMD ile kıyaslandığında önemli farklılık gözlemlenmemiştir (68).

Çalışmamızda bakılan ortalama P değerinin AVN gelişimi ile anlamlı ilişkisi olduğu gözlemlenmiştir. AVN gelişen grupta ortalama P değeri 3.85 mg/dl iken semptomatik AVN tanısı almayan grupta ise bu değer 4.62 mg/dl olarak AVN gelişen gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Sluis ve ark.nın yaptığı çalışmada ise değerlendirilen tüm ALL hastalarında teşhis sırasında P seviyeleri normal seviyedeysen tedavinin 32. haftasında kayda değer bir düşüş olduğu görülmektedir (74).

Çalışmamızda AVN ile 25(OH)D, 1,25(OH)2D, ALP, Ca değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlılık saptanmamıştır. Mattano ve ark.nın 2012'de yaptığı çalışmada da benzer olarak AVN insidansı ile hastaların bu laboratuvar değerleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (57).

Çalışmamızda değerlendirilen tüm biyokimyasal parametrelerin ortalama seviyeleri ile tedavi altında ya da tedavinin bitmesi arasında anlamlı sonuçlar saptanmamıştır.

5.5. Avasküler Nekroz Tutulum Bölgeleri ile İlişki

Bizim çalışma grubumuzda AVN tanısı alan hastalarda en sık tutulum görülen bölge kalça eklemi (%68.8), ikinci sıklıkta diz eklemi (%43.8) olarak bulunmuştur. Multiple tutulumun (≥ 2 eklem) 16 hastanın dördünde (%25) olduğu ve bu hastaların üçünde femur ve diz eklemleri tutulumu birlikteliği, birinde ise femur ve ayak bileği tutulum birlikteliği olduğu görülmüştür.

Münster Children's Hospital'da 1989 yılında yapılan prospektif bir çalışmada ALL tanılı AVN gelişen çocuklarda %83 oranında çalışmamıza benzer olarak en sık kalça eklemi tutulumu (unilateral/bilateral femoral baş nekrozu) görülmüştür (47). Yapılan daha yeni bir çalışmada ise en sık diz eklemi, ikinci sıklıkta kalça eklemi tutulumu görülmüştür. Multiple tutulum da %29.2 gibi yüksek bir oranda saptanmıştır (60). Bu sonuçlar ile benzer birçok çalışma (6, 59, 69) olmakla birlikte, multiple tutulum oranının daha yüksek saptandığı başka çalışmalar da bulunmaktadır (8, 48).

Bürger ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada gelişen ilk bulgunun eklem efüzyonu olduğu görülmüştür. 31 hastanın 20'sinde ≥ 2 eklem tutulumu, en çok diz eklemi tutulumu (14 hastada; 24 etkilenmiş diz eklemi) ve ikinci sırada kalça eklemi (11 hastada; 20 etkilenmiş kalça eklemi) tutulumu olduğu saptanmıştır(108).

Çalışmamızda 16 hastada toplam eklem tutulum sayısı 20 idi, hasta başı ortalama 1.25 eklem tutulumu olduğu saptanmıştır. Patel ve ark.nın yaptığı çalışmada ise hasta başı ortalama 2.4 eklem tutulumu olduğu görülmüştür ve hastaların %71'inde multifokal tutulum ve en sık kalça eklemi, ikinci sıklıkta omuz eklemi gibi yük taşıyan eklem tutulumu olduğu saptanmıştır (59).

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. ALL tanılı çocuk hastalarda AVN gelişimi ile BsmI, ApaI, TaqI polimorfizmleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmamıştır (sırasıyla $p=0.819$, $p=0.731$, $p=0.623$).
2. ALL tanılı çocuklarda ALL tanı yaşının daha büyük olmasının AVN gelişimi ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olduğu gösterilmiştir ($p<0.001$).
3. ALL tanılı çocuklarda AVN gelişme oranı kızlarda erkeklere göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak fazla bulunmuştur ($p<0.05$).
4. AVN tanılı hastalarda en sık kalça eklemi, ikinci sıklıkta diz eklemi, üçüncü sıklıkta ise ayak bileği eklemi tulumu olduğu görülmüştür.
5. AVN varlığı ile ortalama 25(OH)D, 1,25(OH)2D, ALP, Ca değerleri arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir.
6. AVN tanısı alan grupta semptomatik AVN tanısı almayan gruba kıyasla ortalama P değeri anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p=0.001$).
7. AVN nedenli cerrahi uygulanan ALL hastaların hepsinin kız hasta olduğu saptanmış ve tamamında kalça eklem tutulumunun olduğu görülmüştür.

Son yıllarda çocukluk çağı ALL tedavisinde başarı oranları arttıkça, ALL tedavisi gören hayatta kalan çocuk sayısında da artış kaydedilmiştir. Sağ-kalım oranları arttıkça tedavinin erken ve geç yan etkilerinin ortaya çıkması yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemekte, sonuçta tedavi ilişkili yan etkilerin erken tespiti ve sağaltımı giderek önem kazanmaktadır. Bu nedenle ALL tanılı hastalar periyodik olarak değerlendirilmeli ve yaşamlarının geri kalanını daha sağlıklı yaşayabilmeleri için erken ve gerekli multidisipliner tedavi yaklaşımlarında bulunulmalıdır.

ALL tedavi sırasında ve sonrasında uygulanabilecek, bireysel sitogenetik özelliklere uygun ve kanıta dayalı, uygun KT ajanlarını, ameliyat endikasyonlarını ve kemik metabolizması düzenleyici destek tedavilerini kapsayan tedavi rehberleri oluşturulmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle AVN gelişiminin ALL hastalarındaki farmakogenetik mekanizmasını araştırarak daha kapsamlı çalışmaların yapılması büyük öneme sahiptir.

KAYNAKLAR

1. Ward E, DeSantis C, Robbins A, et al. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64:83.
2. Mostoufi -Moab S, Brodsky J, Isaacoff EJ, Tsampalieros A, Ginsberg JP, Zemel B, et al. Longitudinal assessment of bone density and structure in childhood survivors of acute lymphoblastic leukemia without cranial radiation. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:3584-92
3. Mankin HJ: Nontraumatic necrosis of bone (osteonecrosis). *N Engl J Med* 326:1473-1479, 1992
4. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, et al. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone. *J Clin Invest* 1998;102:274–282.
5. Nathan PC, Wasilewski-Masker K, Janzen LA. Long-term outcomes in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am* 2009;23:1065-82.
6. Burger B, Beier R, Zimmermann M, et al. Osteonecrosis: A treatment related toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) Experiences from trial ALL-BFM 95. *Pediatr Blood Cancer* 44:220-225, 2005
7. Bomelburg T, von Lengerke HJ, Ritter J. Aseptic osteonecroses in the treatment of childhood acute leukaemias. *Eur J Pediatr* 149:20-23,1989
8. Mattano LA Jr, Sather HN, Trigg ME, et al. Osteonecrosis as a complication of treating acute lymphoblastic leukemia in children: A report from the Children's Cancer Group. *J Clin Oncol* 18:3262-3272, 2000
9. Relling MV, Yang W, Das S, et al. Pharmacogenetic risk factors for osteonecrosis of the hip among children with leukemia. *J Clin Oncol* 22: 3930-3936, 2004
10. Collaborative Osteonecrosis Group. Symptomatic multifocal osteonecrosis: A multicentere study. *Clin Orthop* 1999;369:312–326
11. Scherer A, Engelbrecht V, Krauth KA, et al. MRI follow-up study of aseptic osteonecrosis (AON) in children treated with chemotherapy for malignant diseases. *Klin Pädiatr* 2001;213:56–62.
12. Karimova EJ, Rai SN, Ingle D, et al. MRI of knee osteonecrosis in children with leukemia and lymphoma: Part 2, clinical and imaging patterns. *AJR Am J Roentgenol* 2006;186:477–82.

13. Svendsen AL, Feychting M, Klaeboe L, et al. Time trends in the incidence of acute lymphoblastic leukemia among children 1976-2002: a population-based Nordic study. *J Pediatr* 2007; 151:548.
14. Dores GM, Devesa SS, Curtis RE, et al. Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001-2007. *Blood* 2012; 119:34.
15. Conter V, Arico M, Valsecchi MG, et al. Long-term results of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) acute lymphoblastic leukemia studies, 1982-1995. *Leukemia* 2000;14:2196-204.
16. Igarashi S, Manabe A, Ohara A, et al. No advantage of dexamethasone over prednisolone for the outcome of standard- and intermediate-risk childhood acute lymphoblastic leukemia in the Tokyo Children's Cancer Study Group L95-14 protocol. *J Clin Oncol*. 2005;23:6489-6498.
17. Buffler PA, Kwan ML, Reynolds P, Urayama KY. Environmental and genetic risk factors for childhood leukemia: appraising the evidence. *Cancer Invest* 2005; 23:60.
18. Silverman BL, Sallan SE. Acute lymphoblastic leukemia. In: Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look TA, Eds. *Hematology of infancy and childhood*, 6th ed, Philadelphia, WB Saunders Co, 2003; 1135-1166.
19. Miller DR, Leikin SL, Albo VC. Three versus five years of maintenance therapy are equivalent in childhood acute lymphoblastic leukemia: A report from the Childrens Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 1989; 7: 316-325 66
20. Davies SM, Bhatia S, Ross JA, et al. Glutathione S-transferase genotypes, genetic susceptibility, and outcome of therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;100:67-71.
21. Lauten M, Asgedom G, Welte K, Schrappe M, Stanulla M. Thymidylate synthase gene polymorphism and its association with relapse in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2003;88:353-4.
22. Mitchell CD, Richards SM, Kinsey SE, et al. Benefit of dexamethasone compared with prednisolone for childhood acute lymphoblastic leukaemia: results of the UK Medical Research Council ALL 97 randomized trial. *Br J Haematol*. 2005;129:734-745.
23. Clarke M, Gaynon P, Hann I, et al. CNS-directed therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: Childhood ALL Collaborative Group overview of 43 randomized trials. *J Clin Oncol*. 2003;21:1798-1809.

24. Hutchinson RJ, Gaynon PS, Sather H, et al. Intensification of therapy for children with lowerrisk acute lymphoblastic leukemia: long-term followup of patients treated on Children's Cancer Group Trial 1881. *J Clin Oncol*. 2003;21:1790-1797.
25. Lange B, Bostrom B, Cherlow JM, et al. Doubledelayed intensification improves event free survival for children with intermediate-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *Blood*. 2002;99:825-833.
26. Bostrom BC, Sensel MR, Sather HN, et al. Dexamethasone versus prednisone and daily oral versus weekly intravenous mercaptopurine for patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *Blood*. 2003;101:3809-3817.
27. Pakakasama S, Veerakul G, Sosothikul D, Chainansamit SO, Laosombat V, Thanarattanakorn P, et al. Late effects of childhood acute lymphoblastic leukemia: A study from Thai Pediatric Oncology Group. *Int J Hematol* 2010;91:850-4.
28. Kager L, Evans WE. Pharmacogenomics of acute lymphoblastic leukemia. *Curr Opin Hematol* 2006;13:260-5.
29. Relling MV, Hancock ML, Boyett JM, Pui CH, Evans WE. Prognostic importance of 6-mercaptopurine dose intensity in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1999;93:2817-23.
30. Hovi L, Era P, Rautonen J, Siimes MA. Impaired muscle strenght in female adolescents and young adults surviving leukemia in childhood. *Cancer* 1993;72:276-81.
31. Lee HJ, Oran B, Saliba RM, Couriel DM, Shin K, Massey P, et al. Steroid myopathy with acute graft-versus host disease treated with high-dose steroid therapy. *Bone Marrow Transplant* 2006;38: 299-303.
32. Wright MJ, Halton JM, Martin RF, Barr RD. Long-term gross motor performance following treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 1998;31:86-90.
33. Akyay A. Çocuklarda Akut Lenfoblastik Lösemi Tedavisinin Çizgili Kas Sistemi Üzerine Erken ve Geç Dönem Etkileri. Yayınlanmamış yan dal tezi, S.B. Ankara Onkoloji Hastanesi, Ankara. 2011
34. Corden TE, Morgan ER. Pyomyositis during induction chemotherapy for acute lymphocytic leukemia. *J Am Pediatr Hematol Oncol* 1996;18:323-6.
35. Truica CI, Frankel SR. Acute rabdomyolysis as a complication of cytarabine chemotherapy for acute myeloid leukemia: Case report and review of literature. *Am J Hematol* 2002;70:320-3.

36. Tauchmanova L, De Rosa G, Serio B et al. Avascular necrosis in long-term survivors after allogeneic or autologous stem cell transplantation. A single center experience and a review. *Cancer*, 2003; 97: 2453–61
37. Herman Kan J, Hernanz-Schulman M, Frangoul HA et al. MRI diagnosis of bone marrow relapse in children with ALL. *Pediatr Radiol*, 2008; 38: 76–81
38. te Winkel ML, Pieters R, Hop WC, et al. Prospective study on incidence, risk factors, and long-term outcome of osteonecrosis in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011; 29(31):4143–50. Epub 2011/09/29. [PubMed: 21947829]
39. Ojala AE, Lanning FP, Pa`a`kko` E, et al. Osteonecrosis in children treated for acute lymphoblastic leukemia: a magnetic resonance imaging study after treatment. *Med Pediatr Oncol*. 1997;29:260–265.
40. Arico M, Boccalatte MF, Silvestri D, et al. Osteonecrosis: An emerging complication of intensive chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 88:747-753, 2003
41. Mattano L, Sather HN, Nachman JB, et al. Modified dexamethasone (DXM) reduces the incidence of treatment-related osteonecrosis (ON) in children and adolescents with higher risk acute lymphoblastic leukemia (HR ALL): A report of CCG- 1961. *Blood* 102:221a, 2003 (abstr 777)
42. Bernard EJ, Nicholls WD, Howman-Giles RB et al. Patterns of abnormality on bone scans in acute childhood leukemia. *J Nucl Med*, 1998; 39: 1983–86
43. Marchese VG, Connolly BH, Able C et al. Relationships among severity of osteonecrosis, pain, range of motion, and functional mobility in children, adolescents, and young adults with acute lymphoblastic leukemia. *Phys Ther*, 2008; 88: 341–50
44. Atkinson SA, Halton JM, Bradley C, et al. Bone and mineral abnormalities in childhood lymphoblastic leukemia: Influence of disease, drugs and nutrition. *Int J Cancer Suppl* 11:35-39, 1998
45. McNeer J, Nachman J. The optimal use of steroids in paediatric acute lymphoblastic leukaemia: no easy answers. *British Journal of Haematology*, 2010; 149, 638–652
46. Ito C, Evans WE, McNinch L, et al. Comparative cytotoxicity of dexamethasone and prednisolone in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1996; 14(8):2370–6. [PubMed: 8708730]

47. Bömelburg T, von Lengerke HJ, Ritter J. Aseptic osteonecroses in the treatment of childhood acute leukaemias. *Eur J Pediatr*. 1989 Oct;149(1):20-3.
48. Strauss, A.J., Su, J.T., Dalton, V.M., Gelber, R.D., Sallan, S.E. & Silverman, L.B. (2001) Bony morbidity in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 19, 3066–3072.
49. Kadan-Lottick N, Dinu I, Wasilewski-Masker K, Kaste S, et al. Osteonecrosis in Adult Survivors of Childhood Cancer: A Report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 2008;26:3038-3045.
50. Kawedia JD, Kaste SC, Pei D, et al. Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and pharmacogenetic determinants of osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2011; 117(8): 2340–7. quiz 556. Epub 2010/12/15. [PubMed: 21148812]
51. Elmantaser M, Stewart G, Young D, Duncan R, Gibson B, Ahmed SF. Skeletal morbidity in children receiving chemotherapy for acute lymphoblastic leukaemia. *Archives of disease in childhood*. 2010; 95(10):805–9. Epub 2010/06/26. [PubMed: 20576660]
52. Bernbeck B, Mauz-Korholz C, Zotz RB, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and glucocorticoid intake in children with ALL and aseptic osteonecrosis. *Klin Padiatr* 215:327-331, 2003
53. Lackner H, Benesch M, Moser A, et al. Aseptic osteonecrosis in children and adolescents treated for hemato-oncologic diseases: A 13-year longitudinal observational study. *J Pediatr Hematol Oncol* 27:259-263, 2005
54. Nachman JB, Sather HN, Sensel MG, et al. Augmented post-induction therapy for children with high-risk acute lymphoblastic leukemia and a slow response to initial therapy. *N Engl J Med*. 1998; 338(23):1663–71. [PubMed: 9614257]
55. Seibel NL, Steinherz PG, Sather HN, et al. Early postinduction intensification therapy improves survival for children and adolescents with high-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children’s Oncology Group. *Blood*. 2008; 111(5):2548–55. [PubMed: 18039957]
56. Yang L, Boyd K, Kaste SC, Kamdem Kamdem L, Rahija RJ, Relling MV. A mouse model for glucocorticoid-induced osteonecrosis: effect of a steroid holiday. *J Orthop Res*. 2009; 27(2):169–75. [PubMed: 18683891]
57. Mattano Jr , Devidas M. Alternate-Week versus Continuous Dexamethasone Scheduling on the Risk of Osteonecrosis in Acute Lymphoblastic Leukemia:Results from the CCG-1961 Randomized Cohort Trial *Lancet Oncol*. 2012 September ; 13(9): 906–915. doi:10.1016/S1470-2045(12)70274-7.

58. Wei SY, Esmail AN, Bunin N, Dormans JP. Avascular necrosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Orthop*. 2000;20(3):331–335.
59. Patel B, Richards SM, Rowe JM, Goldstone AH, Fielding AK. High incidence of avascular necrosis in adolescents with acute lymphoblastic leukemia: a UKALL XII analysis. *Leukemia*. 2008;22(2):308-12.
60. Girard P, Auquier P et al. Symptomatic osteonecrosis in childhood leukemia survivors: prevalence, risk factors and impact on quality of life in adulthood *Haematologica* 2013;98. doi:10.3324/haematol.2012.081265. The online version of this paper has a Supplementary Appendix.
61. Ribeiro RC, Fletcher BD, Kennedy W, et al. Magnetic resonance imaging detection of avascular necrosis of the bone in children receiving intensive prednisone therapy for acute lymphoblastic leukemia or non-Hodgkin lymphoma. *Leukemia*. 2001;15(6):891-897.
62. Crofton PM, Ahmed SF, Wade JC, et al. Effects of intensive chemotherapy on bone and collagen turnover and the growth hormone axis in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(9):3121–3129.
63. Mushtag T, Ahmed SF. The impact of corticosteroids on growth and bone health. *Arch Dis Child* 2002;87:93–96.
64. Drescher W, Schneider T, Becker C, Hobolth J, Ruther W, Hansen ES et al. Selective reduction of bone blood flow by short-term treatment with high-dose methylprednisolone. An experimental study in pigs. *J Bone Joint Surg Br* 2001; 83: 274–277.
65. Scheven BAA, vander Veen MJ, Damen CA, Lafcbcr FPJG, VanRijn HJM, Bylsma JWJ and Drunsm SA 1995 Effects of methotrexate in human osteoblasts in vitro: Modulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Bone Miner Res* 10:874-880.
66. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone: implications to glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Clin Endocrinol* 81:3441-3447, 1996
67. Thomas IH, Donohue JE, Ness KK, Dengel DR, Baker KS, Gurney JG. Bone mineral density in young adult survivors of acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 2008;113:3248-56
68. Halton JM, Atkinson SA, Fraher L, Webber C, Gill GJ, Dawson S, et al. Altered mineral metabolism and bone mass in children during treatment for acute lymphoblastic leukemia. *J Bone Miner Res* 1996;11:1774-83.

69. Tragiannidis A, Athanassiadou F, Papageorgiou T, Petsatodis G, Sidi V, Kolouskas D. Osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia : a 10 year study from Northern Greece. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;49(5):764.
70. Högler W, Wehl G, van Staa T, et al. Incidence of skeletal complications during treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: comparison of fracture risk with the General Practice Research Database. *Pediatr Blood Cancer* 2007;48:21–7.
71. Rogalsky RJ, Black GB, Reed MH. Orthopaedic manifestations of leukemia in children. *J Bone Joint Surg Am* 1986;68:494–501.
72. van der Sluis IM, van den Heuvel-Eibrink MM, Hahlen K, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM. Bone mineral density, body composition, and height in long-term survivors of acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Med Pediatr Oncol* 2000;35:415-20.
73. Gennari C 1985 Glucocorticoids and bone. In: Peck WA (ed.) *Bone and Mineral Research*, 3rd ed. Elsevier Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands, pp. 213-232.
74. van der Sluis IM, van den Heuvel-Eibrink MM, Hahlen K, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM Altered bone mineral density and body composition, and increased fracture risk in childhood acute lymphoblastic leukemia doi:10.1067/mpd.2002.125728
75. Halton JM, Atkinson SA, Fraher L, Wehber CE, Cockshott WP, Tam C, Barr RD 19YS Mineral homeostasis and bone mass at diagnosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr* 126:557-564.
76. Gundberg CM, Markowitz ME, Mizruchi M, Rosen JF 1985 Osteocalcin in human serum: A circadian rhythm. *J Clin Endocrinol Metab* 60:736-739.
77. Arikoski P, Komulainen J, Riihonen P, Voutilainen R, Knip M, Kroger H. Alterations in bone turnover and impaired development of bone mineral density in newly diagnosed children with cancer: a 1-year prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3174-81.
78. Boot AM, van den Heuvel-Eibrink MM, Hahlen K, et al. Bone mineral density in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Cancer*. 1999;35(12):1693–1697.
79. Atkinson SA, Fraher L, Gundberg CM, Andrew M, Pai M, Barr RD. Mineral homeostasis and bone mass in children treated for acute lymphoblastic leukaemia. *J Pediatr* 1989, 114, 793±800.

80. Johnston C, Brennan S, Ford S, et al. Whole body MR imaging: applications in oncology. *Eur J Surg Oncol* 2006;32:239–46.
81. Marinovic D, Dorgeret S, Lescoeur B, et al. Improvement in bone mineral density and body composition in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: A 1-year prospective study. *Pediatrics* 2005;116:e102–e108.
82. Crofton PM, Ahmed SF, Wade JC, et al. Bone turnover and growth during and after continuing chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Pediatr Res.* 2000;48:490–496
83. Othman F, Guo CY, Webber C, et al. Osteopenia in survivors of Wilms tumor. *Int J Oncol* 2002;20:827–833.
84. Alikasifoglu A, Yetgin S, Cetin M, et al. Bone mineral density and serum bone turnover markers in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: Comparison of megadose methylprednisolone and conventional-dose prednisolone treatments. *Am J Hematol* 2005;80:113–118.
85. Mont MA, Ulrich SD, Seyler TM, Smith JM, Marker DR, McGrath MS, Hungerford DS, Jones LC. Bone scanning of limited value for diagnosis of symptomatic oligofocal and multifocal osteonecrosis. *J Rheumatol.* 2008;5:1629–1634
86. Glickstein MF, Burk DL Jr, Schiebler ML, Cohen EK, Dalinka MK, Steinberg ME, Kressel HY. Avascular necrosis versus other diseases of the hip: sensitivity of MR imaging. *Radiology.* 1988; 169:213–215.
87. Ojala AE, Paakko E, Lanning FP, Lanning M. Osteonecrosis during the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: a prospective MRI study. *Med Pediatr Oncol.* 1999;32(1):11–17.
88. Darge K, Jaramillo D, Siegel MJ. Whole-body MRI in children: current status and future applications. *Eur J Radiol* 2008; 68:289-298.
89. Miettunen PM, Lafay-Cousin L, Guilcher GM, et al. Widespread osteonecrosis in children with leukemia revealed by whole-body MRI. *Clin Orthop Relat Res.* 2012;470(12):3587–3595.
90. Beer M, Stenzel M, Girschick H, Schlegel PG, Darge K. [Wholebody MR imaging in children with suspected osteonecrosis after intensive chemotherapy: preliminary results] [in German]. *Rofo.* 2008;180:238–245.
91. Sansgiri KR, Neel M, et al. Unique MRI Findings as an Early Predictor of Osteonecrosis in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *AJR* 2012; 198:W432–W439

92. Pui CH, Campana D, Pei D, et al. Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *N Engl J Med* 2009; 360:2730–2741
93. Wang GJ, Rawles JG, Hubbard SL, Stamp WG. Steroid-induced femoral head pressure changes and their response to lipid-clearing agents. *Clin Orthop Relat Res* 1983; 174: 298–302.
94. Morrison N, Qi JC, Tokita A et al. Prediction of bone density from Vitamin D Receptor Alleles. *Nature*, 1994; 367:284-287.
95. Grundberg E, Brandstrom H, Ribom EL, Ljunggren O, Mallmin H, Kindmark A. Genetic variation in the human vitamin D receptor is associated with muscle strength, fat mass and body weight in Swedish women. *Eur J Endocrinol*. 2004;150(3):323-8.
96. Sainz J, Van Tornout JM, Loro ML, Sayre J, Roe TF, Gilsanz V. Vitamin D-receptor gene polymorphisms and bone density in prepubertal American girls of Mexican descent. *N Engl J Med*. 1997;337(2):77-82.
97. te Winkel ML, van Beek RD, de Muinck Keizer-Schrama SMPF, Uitterlinden AG, Hop WCJ, Pieters R, and van den Heuvel-Eibrink MM. Pharmacogenetic risk factors for altered bone mineral density and body composition in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2010;95:752-759. doi:10.3324/haematol.2009.016303.
98. van Schoor NM, Dennison E, Lips P, Uitterlinden AG, Cooper C. Serum fasting cortisol in relation to bone, and the role of genetic variations in the glucocorticoid receptor. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007; 67(6):871-8.
99. French D, Hamilton LH, Mattano LA, Jr, et al. A PAI-1 (SERPINE1) polymorphism predicts osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood*. 2008;111(9):4496–4499.
100. Glueck CJ, Glueck HI, Mieczkowski L, et al. Familial high plasminogen activator inhibitor with hypofibrinolysis, a new pathophysiologic cause of osteonecrosis? *Thromb Haemost*. 1993;69:460-465
101. Zalavras CG, Malizos KN, Dokou e, Vartholomatos G. The 677C –T mutation in the methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in the pathogenesis of osteonecrosis in the femoral head. *Hematologica* 2002;87:111-2.
102. Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, et al. Genetic analysis of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head. *J Orthop Sci*. 2003;8(3):329-333.
103. Israni N, Goswami R, Kumar A, Rani R. Interaction of vitamin D receptor with HLA DRB1 0301 in type 1 diabetes patients from North India. *PLoS ONE* 4 2009:e8023.

104. Bernbeck B, Mauz-Körholz C, Zotz RB, Göbel U. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and glucocorticoid intake in children with ALL and aseptic osteonecrosis. *Klin Padiatr.* 2003 Nov-Dec;215(6):327-31.
105. Bond J, Adams S, Richards S, Vora A, Mitchell C, Goulden N. Polymorphism in the PAI-1 (SERPINE1) gene and the risk of osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2011 Sep 1;118(9):2632-3. doi: 10.1182/blood-2011-05-355206.
106. van Beek RD, Bezemer DD, Meijerink JP, de Muinck Keizer-Schrama SM, Haas OA, Te Winkel L, Pieters R, van den Heuvel-Eibrink M. Repeats in the kringle IV encoding domains in the Apo(a) gene and serum lipoprotein(a) level do not contribute to the risk for avascular necrosis of the bone (AVN) in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2006 May;20(5):879-80.
107. Kechli AM, Wilimas JA, Pui CH, Park VM, Tonkel S, Deitcher SR. Factor V Leiden and other hypercoagulable state mutations are not associated with osteonecrosis during or after treatment for pediatric malignancy. *J Pediatr.* 1999 Mar;134(3):310-4.
108. Bürger et al. Osteonecrosis: A Treatment Related Toxicity in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL)—Experiences From Trial ALL-BFM 95 17. *Lit.*