



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**CASTLEMAN HASTALARINDA BRAF GEN
MUTASYON SIKLIĞININ SAPTANMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Mehmet TÜRKER
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet YILMAZ**

AĞUSTOS-2015

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**CASTLEMAN HASTALARINDA BRAF GEN
MUTASYON SIKLIĞININ SAPTANMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet TÜRKER
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet YILMAZ

AĞUSTOS-2015

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Dr. Mehmet TÜRKER

21.08.2015

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

(İmza).....

Prof. Dr. Levent ELBEYLİ

Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

(İmza).....

Prof. Dr. Ahmet Mesut ONAT

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

(İmza).....

Prof. Dr. Mehmet YILMAZ

Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. Ahmet Mesut ONAT

2. Prof. Dr. Mehmet YILMAZ

3. Yrd. Doç. Dr. Orçun ALTINÖREN

4. Doç. Dr. Zeynel Abidin ÖZTÜRK

5. Doç. Dr. Bünyamin KISACIK

I. ÖNSÖZ

Bu çalışmada bana destek veren, tez çalışmamı yöneten, bilgisi, tecrübesi, sınırsız sevgi, hoşgörü ve sabrıyla eğitimimde büyük emeği olan, değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Yılmaz'a, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet Mesut Onat başta olmak üzere asistanlık eğitimim süresince desteklerini eksik etmeyen, eğitimim ve yetişmemde büyük katkıları olan bütün bilim dallarındaki değerli öğretim üyelerine sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda bilgi ve kişisel desteğini esirgemeyen Prof. Dr. İbrahim Sarı'ya ve Doç. Dr. Serdar Öztuzcu'ya teşekkür ederim.

Çalışmama katkılılarından dolayı Dr. Salih Subari'ye, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Dr. Kadri Özer'e, ihtisasım boyunca yanımda olan Osman Hakan Demir başta olmak üzere tüm hekim arkadaşlarıma, İç Hastalıkları Anabilim Dalı bünyesinde büyük özveriyle çalışan hemşire ve personellere teşekkür ederim.

Yetişmemde ve bu günlere gelmemde en büyük emeği geçen annem ve babam Gülay-Şerif Türker'e sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mehmet Türker

Gaziantep 2015

II. İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGE VE KISALTMALAR.....	VI
TABLO LİSTESİ.....	VII
ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Unisentrik Castleman Hastalığı.....	3
2.1.1. Patogenez	3
2.1.2. Epidemiyoloji	3
2.1.3. Klinik Özellikler	4
2.1.3.1. Belirti ve Bulgular.....	4
2.1.3.2. Laboratuvar Çalışmaları.....	4
2.1.3.3 Görüntüleme.....	5
2.1.4. Patoloji.....	5
2.1.5. Ayırıcı Tanı.....	9
2.1.6. Tedavi.....	10
2.2. Multisentrik Castleman Hastalığı.....	10
2.2.1. Patogenez.....	10
2.2.2. Epidemiyoloji.....	11
2.2.3. Klinik Özellikler.....	11
2.2.3.1. Belirti ve Bulgular.....	11
2.2.3.2. Laboratuvar Çalışmaları.....	13
2.2.3.3. Görüntüleme.....	13
2.2.4. Patoloji.....	13
2.2.5. Ayırıcı Tanı.....	14
2.2.6. Tedavi.....	14
2.3. Mitojen Aktive Olmuş Protein Yolağı(MAPK) ve BRAF Geni	17
2.3.1 MAPK Yolağı	17

2.3.2. BRAF Geni ve Mutasyonu	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. Hastalar ve Takip.....	20
3.2. Örneklerin Hazırlanması.....	20
3.3. FFPE Doku Örneklerinden İzolasyonu.....	20
3.4. BRAF Geni PCR Reaksiyonu	22
3.5. BRAF Geni Pyrosekansı.....	22
3.6. İstatistiksel Analiz.....	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA.....	35
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
7. KAYNAKLAR.....	42
8. EKLER	52

III. ÖZET

CASTLEMAN HASTALARINDA BRAF GEN MUTASYON SIKLIĞININ SAPTANMASI

Dr. Mehmet TÜRKER
Uzmanlık tezi, İç Hastalıkları A.D
Tez danışmanı: Prof. Dr. Mehmet YILMAZ
Ağustos 2015

Giriş ve Amaç: Castleman Hastalığı nadir görülen bir lenfoproliferatif hastalıktır. Hastalığın IL-6 salınımı, HIV/HHV-8 ile ilişkisi bilinmektedir ancak patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. BRAF geni mitojen aktive olmuş protein kinaz (MAPK) yolağının önemli komponentelerinden biri olan B-Raf proteinini kodlar. Bu yolağın düzensizleşmesinde ve gen mutasyonlarında karsinom oluşumunda artış gözlenmiştir. BRAF mutasyonları malign melanom, kolorektal kanser, overyan karsinom, tiroid papiller karsinom ve tüylü hücreli lösemide gösterilmiştir. Kanser oluşumunda rolü olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada Castleman Hastalığında BRAF gen mutasyon varlığını belirlemeyi ve hastalığın bazı klinik verilerini ve bunların prognoz ile ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve yöntem: Çalışmamızda 8 farklı merkezde 2007-2014 yılları arasında Castleman Hastalığı tanısı almış 34 hastanın doku örnekleri kullanılmıştır. Hastaların bazı klinik ve labaratuvar bulguları retrospektif olarak tarandı. PCR yöntemi ile BRAF gen mutasyon varlığı değerlendirildi. Hastalara ait yaş, cinsiyet, histopatolojik tip, klinik tip, yaşam süresi ve bazı labaratuvar bulguları istatistiksel yöntem ile değerlendirildi.

Bulgular: Dokuların hiçbirinde BRAF gen mutasyonu saptanmadı. Vakaların büyük çoğunluğunu (%75.6) hiyalen vasküler varyant oluşturmaktaydı. Hastalar tutulum bölgesine göre servikal, torakal ve abdominal olarak 3'e ayrıldı. Hastaların çoğunluğunda (%61.7) servikal bölge tutulumu saptandı. Birden fazla bölge tutulumu olan hasta sayısı 10 (%29.4) idi. Plazma hücreli varyantın erkeklerde görülme sıklığı anlamlı oranda yüksekti ($p=0.006$). Plazma hücreli grupta yaş ortalaması anlamlı oranda yüksek bulundu ($p=0.006$). Plazma hücreli varyantta sedimantasyon ve CRP değerleri hiyalen vasküler varyanta göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($p<0.05$). Birden fazla bölge tutulumu olan hastalarda hepatomegali ve/veya splenomegali bulunması anlamlı oranda yüksekti ($p < 0.05$). Sadece radyoterapi veya radyoterapiye ek olarak kemoterapi alan hastaların 3 yıllık sağ kalımı sadece kemoterapi alan hastalara göre daha yüksek saptandı ($p=0.001$). Yaşam süresi hiyalen vasküler varyantta ve tek bölge tutulumu olanlarda anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.05$).

Sonuç: Bu çalışma Castleman Hastalığı ile ilgili ülkemizde yapılan en kapsamlı çalışma olmakla birlikte, çalışmamızda hastalığın klinik, histopatolojik ve prognositik özellikleriyle ilgili önemli bilgiler elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Castleman Hastalığı, HHV 8, BRAF

IV. ABSTRACT

BRAF GENE MUTATIONS IN CASTLEMAN DISEASE

Dr. Mehmet TÜRKER

Residency Thesis, Department of Internal Medicine

Supervisor: Dr. Mehmet YILMAZ

August 2015

Introduction and Objective: Castleman's Disease is a rare lymphoproliferative disorder. The association with IL-6 secretion, HIV / HHV-8 is well described, but the pathogenesis is not fully understood. BRAF gene encodes B-Raf protein which is an important component of mitogen activated protein kinase (MAPK) pathway. Occurrence of carcinomas is increased by dysregulation of this pathway and gene mutations. BRAF mutations are present in malignant melanoma, colorectal cancer, ovarian carcinoma, papillary thyroid carcinoma and hairy cell leukemia. It is involved in cancer formation. We aimed to determine the presence of BRAF gene mutation in Castleman's Disease and to assess some clinical data of disease and relationship with prognosis.

Materials and Methods: In our study tissue samples of 34 patients who were diagnosed as Castleman's Disease between 2007-2014 from 8 different centers are used. Some clinical and laboratory findings of the patients have been evaluated retrospectively. BRAF mutations were evaluated with PCR method. Patient's age, gender, histological type, clinical type, survival, and some laboratory findings were evaluated with statistical analysis.

Results: The BRAF gene mutation was not detected in all tissues. The majority of cases (75.6%) were hyaline vascular variant. According to involvement, cases were divided in 3 sites; thoracic, abdominal and cervical. The majority of patients (61.7%) had cervical involvement. 10 of patients had more than one region (29.4%) involvement. The plasma cell variant was significantly higher in men ($p=0.006$). The mean age was significantly higher in the plasma cell group ($p=0.006$). CRP and sedimentation levels were found significantly higher in plasma cell variant compared to hyaline vascular variant ($p<0.05$). Hepatomegaly and/or splenomegaly were presented significantly higher in patients with multiple site involvement ($p<0.05$). Compared to only chemotherapy, 3-year survival was significantly higher in patients treated with only radiotherapy or chemotherapy in addition to radiotherapy ($p=0.001$). Survival was significantly higher in patients with hyaline vascular variant and one site involvement ($p<0.05$).

Conclusion: This study is the most comprehensive study in our country about Castleman's Disease and we obtained important information about clinical, histopathological and prognostic features of the disease

Keywords: Castleman's Disease, HHV 8, BRAF

V. SİMGE VE KISALTMALAR

CH	: Castleman Hastalığı
HHV-8	: Human Herpes Virüs 8
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
MAPK	: Mitojen aktive olmuş protein kinaz
BRAF	: v-Raf fare sarkomu viral onkogen homologu B1
ART	: Anti-retroviral tedavi
POEMS	: Polinöropati, organomegali, endokrinopati, monoklonal protein, deri değişiklikleri
FFPE	: Formaline-fixed Parafine-embedded
LANA	: Latency-associated nuclear antigen
IL-6	: İnterlökin-6
VEGF	: Vasküler endotelial growth faktör
GTPaz	: Guanozin trifosfataz

VI. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. BRAF geni PCR protokolü	22
Tablo 2. Yaş, hemogram, sedimantasyon ve CRP değerleri için tanımlayıcı istatistikler	25
Tablo 3. Hastalığın tutulum bölgelerine göre dağılımı	26
Tablo 4. Histolojik tipe göre yaş ve cinsiyet dağılımları	27
Tablo 5. Histolojik tipe göre sedimantasyon, CRP ve B2 mikroglobulin değerleri.....	28
Tablo 6. Tutulum sayısına göre hepatomegali varlığı.....	28
Tablo 7. Tutulum sayısına göre splenomegali varlığı.....	29
Tablo 8. Takip sürelerine (yıl) göre tedavilerin karşılaştırılması.....	30
Tablo 9. Tutulum sayısına göre yaşam süreleri.....	31
Tablo 10. Histolojik tip ve tedaviye yanıt ilişkisi.....	32
Tablo 11. Histolojik tipe göre yaşam süreleri.....	33
Tablo 12. Tedaviye göre yanıtlar.....	33

VII. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Hiyalen vasküler tip Castleman Hastalığının histopatolojik görüntüsü...	7
Şekil 2. HHV-8 negatif plazma hücreli tip Castleman Hastalığının histopatolojik görüntüsü.....	8
Şekil 3. HHV-8 pozitif plazma hücreli tip Castleman Hastalığının histopatolojik görüntüsü.....	9
Şekil 4. BRAF proto-onkogenin hücre proliferasyonundaki rolü.....	19
Şekil 5. Hastaların aylara göre yaşam süreleri (Kaplan-Meier Yöntemi).....	31
Şekil 6. Hastaların tutulum sayısına göre yaşam süreleri (Kaplan-Meier Yöntemi).....	32
Şekil 7. Hastalığın histolojik tipine göre yaşam süreleri (Kaplan-Meier Yöntemi).....	34

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dr. Benjamin Castleman tarafından ilk olarak 1954 yılında mediastinal lenf nodu hiperplazisinin tipik patolojisinin tanımlandığı bir vaka raporu olarak yayınlanmıştır (1). Ardından 1956 yılında 13 hastalık bir vaka serisi olarak yayınlanan bu hastalık günümüzde yazarın kendi adı ile anılmaktadır (2). 1972 yılında Keller, Hochholzer ve Castleman, mediastinal lenf nodu hiperplazisinin hiyalen vasküler ve plazma hücreli şeklinde terimlerini ilk kez ortaya atarak Castleman Hastalığı (CH)'nın tiplerini tanımlamış oldular (3). Bu tarihlerde CH'nin sistemik bulguları tanımlanmış olmasına rağmen, 1978 yılında Gaba ve ark (4), retroperitoneal ve aksiler lenfadenopati ile birlikte splenomegali eşlik eden bir hastada tüm bu bölgelere plazma hücre infiltrasyonunun eşlik ettiği hiyalen vasküler tip dev lenf nodu hiperplazisini histolojik olarak göstermiş ve böylelikle ilk multisentrik CH'nı raporlamışlardır.

Chang ve arkadaşları (5), 1994 yılında kazanılmış immün yetmezlik sendromlu hastalardan elde edilen Kaposi Sarkomu dokularının %90'ında yeni bir gamma herpes protein gen sekansları tespit ettiler ve bunları daha sonradan Human Herpes Virüs 8 (HHV-8) olarak tanımlandılar. İlginç bir şekilde, Kaposi Sarkomu ve multisentrik CH birlikteliği Lachant ve arkadaşları (6) tarafından 1985 yılında kazanılmış immün yetmezlik sendromlu iki homoseksüel erkekte tanımlanmıştı. Bu bulgu, HHV-8 sekanslarının CH ile ilişkisini ortaya koymak ve bilim insanlarını teşvik etmek için yeterliydi. HHV-8 sekanslarının tanımlanmasından bir yıl sonra, 1995 yılında, Soulier ve arkadaşları (7), multisentrik CH'lı 31 hastadan aldıkları örnekleri incelemiş ve Human Immune deficiency Virus (HIV) pozitif 14 vakanın 14'ünde ve HIV negatif 17 vakanın 7'sinde bu sekansları tanımlamışlardır. Aynı çalışmacılar, multisentrik olmayan CH'lı 34 hastadan aldıkları lenf nodu örneklerini incelemiş (bu hastaların tamamı HIV-negatif olarak belirtilmiş) ve sadece 1 örnekte HHV-8 sekansını tespit etmişlerdir. Çalışmacılar, sonuç olarak saptadıkları bulguların multisentrik CH'ında özellikle HIV-pozitif hastalarda HHV-8 sekansının patogeneizde bir rol oynayabileceğini vurgulamışlardır (7). Bunu takiben, Aoki ve arkadaşları (8), kazanılmış immün

yetmezlikli ilişkili multisentrik CH’nda foskarnetin etkili olduğunu, Casper ve arkadaşları (9) ise, gansiklovirin etkili olduğunu vaka tedavileri ile raporlamışlardır.

Castleman Hastalığının patogenezi tam olarak anlaşılamamış olup, unisentrik Castleman Hastalığında interlökin 6’nın rolü, multisentrik Castleman Hastalığında ise hem interlökin 6 hem de HHV-8’in rolü tanımlanmıştır (5,7,10-12).

Mitojen aktive olmuş protein kinaz (MAPK) yolağının önemli komponentelerinden olan B-Raf proteini 7. kromozom üzerindeki BRAF geni tarafından eksprese edilir. Bu yolağın düzensizleşmesinde ve gen mutasyonlarında karsinom oluşumunda artış gözlenmiştir. BRAF mutasyonları malign melanom, kolorektal kanser, overyan karsinom, tiroid papiller karsinom ve tüylü hücreli lösemide gösterilmiştir. Kanser oluşumunda rolü olduğu düşünülmektedir (13-16).

Bu çalışmanın ana amacı Gaziantep, Erciyes, Malatya İnönü, Ege, Dicle, Süleyman Demirel, Harran, Van Yüzüncü Yıl Üniversiteleri İç hastalıkları-Hematoloji ve Patoloji Anabilim Dallarında Castleman Hastalığı tanısı almış 34 hastanın bazı klinik, laboratuvar özelliklerini değerlendirmek ve BRAF gen mutasyon sıklığını belirlemektir. Bu sayede etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış hastalığın genetik mekanizma temelleri ile ilgili önemli bilgiler elde etmeyi planladık. Bu çalışmadan elde edilen verilerle prognostik öngörü, yeni tanı metodu, tedavi modaliteleri geliştirilebileceğini düşündük. Bu çalışma yöntem ve hasta grubu açısından konuyla ilgili literatürdeki ilk çalışma olmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Unisentrik Castleman Hastalığı

2.1.1. Patogenezi

Unisentrik CH'nın patogenezi çok az anlaşılabilmektedir. CH'na sahip hastaların lenf nodlarının histopatolojik özelliklerine bakıldığında germinal merkez hiperplazisi, immunoblastlar ve plazma hücrelerinin birikimi, artmış vaskülarite gibi normal antijenik bir uyarıya cevap olarak izlenen aşırı ve abartılı olarak reaktif değişiklikler görülmektedir. Gerçekten de, benzer histolojik değişiklikler, romatoid artrit, otoimmün hastalıklar ve çeşitli konjenital immün yetmezlik durumları gibi kronik immün aktivasyon ile ilişkili diğer hastalıklarda da görülebilmektedir (17).

Hem unisentrik hem de multisentrik CH, IL-6 veya ilgili bazı peptidlerin (HHV-8 genomu içinde IL-6 homologu bir peptid kodlanmaktadır) aşırı salınımı ile ilgili görülebilmektedir. İlk çalışmalar, unisentrik CH'nın sistemik belirtilerini lokal üretilen IL-6 ile bağlantılı olarak belirtmişlerdir, çünkü lenf nodu eksizyonu, IL-6 seviyelerinde azalma ile birlikte belirtilerin kaybı ile sonuçlanmıştır (18). Yoshizaki ve arkadaşları (18), CH'lı hiperplastik lenf nodlarındaki germinal merkezlerde yer alan B hücrelerinin ürettiği IL-6'nın lenf nodu hiperplazisi, hipergamaglobulinemi, artmış akut faz proteinleri ve klinik anormallikler ile ilişkisi olduğunu göstererek IL-6'nın bu hastalıkta anahtar rol oynadığı sonucuna varmıştır. Yine de aşırı IL-6'nın üretiminden sorumlu hücrelere tam bir açıklık getirilememiştir (19). Aday hücreler olarak germinal merkezlerdeki blastik B hücreleri (18), folliküler dendritik hücreler veya interfolliküler bölgelerde yer alan hücreler gösterilmiştir (20).

2.1.2. Epidemiyoloji

Unisentrik CH nadir olarak görülmektedir ve popülasyondaki insidansı hakkında güvenilir bir veri mevcut değildir. Herhangi bir yaşta görülebiliyor olmasına rağmen,

genel olarak medyan yaşı 35 olduğu bir genç erişkin hastalığı olarak kabul edilir (3). Birçok seride erkek ve kadın insidansları eşit olarak belirtilmiştir (21).

Multisentrik CH'nın aksine, unisentrik CH'nın HHV-8 enfeksiyonu veya POEMS sendromu ile tipik bir ilişkisi gösterilememiştir (17).

2.1.3. Klinik Özellikler

2.1.3.1. Belirti ve Bulgular

Unisentrik CH olan hastalar genellikle asemptomatiktir ve fizik muayene esnasında veya görüntüleme çalışmaları yapıldığında büyümüş lenf nodu ile klinik olarak dikkat çekerler. Unisentrik CH, sıklıkla küçük, bölgesel satellit nodlarla birlikte sadece bir lenf nodu alanını etkiler. Ateş, gece terlemeleri, kilo kaybı, yorgunluk gibi sistemik belirtiler genel olarak daha az görülen plazma hücre varyantına sahip hastalarla sınırlıdır. Buna karşın, hiyalen vasküler varyantı ile ilişkili bulgu ve belirtiler, büyüyen kitlenin komşu yapılara (havayolu, damarlar) yaptığı bası ve komşu yapıları sıkıştırmasına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (17).

Lezyonlar genellikle orta büyüklükteki boyutlarda izlenmektedir. Talat ve arkadaşlarının (21) yaptığı bir derlemede 278 vakalık unisentrik CH'ndan bahsedilmiş ve medyan boyut olarak 5,5 cm olduğu bulunmuştur. En sık görülen bölgeler göğüs (%24), boyun (%20), abdomen (%18), ve retroperiton (%14) olarak raporlanmıştır (21). Daha nadir bölgeler ise, aksilla, inguinal bölge ve pelvistir. Solid organ tutulumu çok nadirdir, fakat tutulumda ise en sık olarak parotid bezi etkilenmiştir. Nadir vakalarda, unisentrik CH hipoalbuminemi ve yüksek VEGF seviyeleri, periferik ödem, plevral effüzyon ve asit ile ilişkili olabilmektedir. Daha çok multisentrik CH ile görülüyor olmasına rağmen, döküntü, hemanjiomata ve pemfigus gibi dermatolojik belirtiler de görülebilmektedir (17).

2.1.3.2. Laboratuvar Çalışmaları

Genel olarak görülen hiyalen vasküler varyantına sahip hastalarda laboratuvar bulguları genellikle normaldir. Buna karşın, daha az görülen plazma hücre varyantına

sahip hastalarda sıklıkla anemi, trombositopeni, yükselmiş eritrosit sedimentasyon hızı, hipoalbuminemi, artmış C-reaktif protein ve IL-6 seviyeleri, poliklonal hipergamaglobulinemi gibi laboratuvar anormallikleri izlenir (22).

2.1.3.3 Görüntüleme

Unisentrik CH, görüntülemelerde asemptomatik bir bulgu olarak görülebilir. En sık radyolojik prezentasyon hipervasküler mediastinal veya hiler kitle şeklindedir. Aşağıdaki bulgular, unisentrik CH'ni düşündürmesine rağmen, tanıyı doğrulamak için biyopsi gerekmektedir (23):

- Bilgisayarlı Tomografi (BT): BT genellikle iyi sınırlı bir yumuşak doku kitlesini gösterir. Daha küçük kitleler tipik olarak kontrast sonrasında homojenitede artış gösterirken, daha büyük kitleler heterojenitede artış gösterirler. Kalsifikasyon sık değildir ve varlığında, paterni değişikdir (noktasal, kaba, periferik, ışınal).
- Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRG): MRG genellikle kas ile kıyaslandığında T1'de hafifçe artmış ve T2'de hiperintens solid bir kitle olarak görülmektedir. T1 ve T2 görüntülerde intralezyonel akım boşlukları da izlenebilmektedir (bunlar lezyonun vaskülaritesini göstermektedir) ve ayrıca santral lineer hipointens septalar bulunabilir.
- Pozitron Emisyon Tomografi (PET): Lezyonlar genellikle FDG-PET tutulumu gösterir. PET boyut olarak artış göstermeyen nodların tutulup tutulmadığını da gösterebilir.

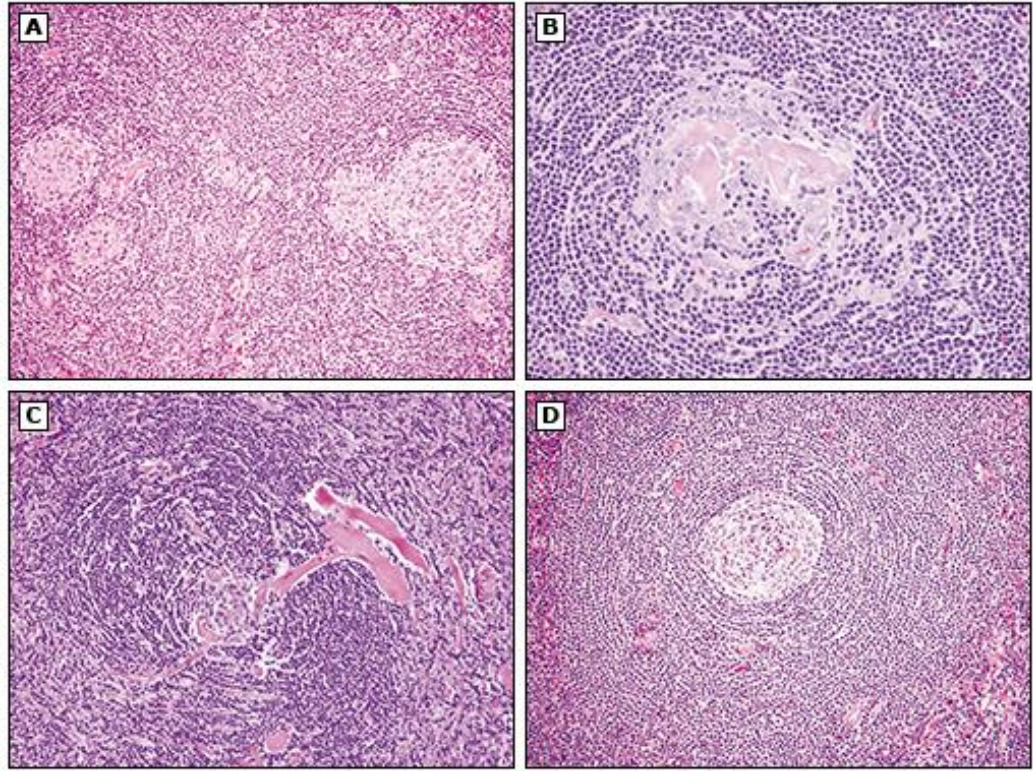
2.1.4. Patoloji

Unisentrik CH, lenf nodunun bir kısmını intakt bırakarak nodal genişlemeler ile karakterizedir. B hücreleri ve plazma hücreleri poliklonaldır ve T hücrelerinin normalden sapsmış bir immünofenotip gösterdiğine dair kanıt yoktur. Unisentrik CH'nın yaklaşık olarak %10 ile 20 kadarı plazma hücre varyantıdır. Hem plazma hücre varyantında hem de hiyalen vasküler varyantında manto zondaki lenfositler poliklonal IgM veya IgD eksprese eden hücrelerdir (24). Plazma hücreleri ise interfolliküler

alanlarda genelde mevcuttur ve poliklonaldır (25). Nadiren klonal genişlemeler olsa da lokalizedirler ve prognozu etkileyecek şekilde görülmezler (25). Üç majör varyant tanımlanmıştır:

Hiyalen vasküler varyant: Küçük lenfositlerin olduğu geniş manto (mantle) zonlar ile çevrelenen atrofik veya regrese germinal merkezlerin bulunduğu anormal folliküllerin varlığı ile karakterizedir (Şekil 1) (2). Sıklıkla iki veya daha fazla yakın birleşik atrofik germinal merkezler, tek bir manto zon tarafından sarılmaktadır (ikiz germinal merkezler). Çoğunlukla hiyalinize olarak izlenen regrese germinal merkezler, azalmış lenfositlere sahiptir ve çoğunlukla folliküler dendritik hücre kalıntılarının oluşturduğu belirgin bir popülasyondan oluşmaktadır. Hiyalen vasküler varyantında, dendritik hücreler CD21, CD23, CD35 ve epidermal büyüme faktörü reseptörlerini eksprese ederler. Karakteristik morfoloji bu folliküler dendritik hücrelerden oluşur. Bu hücreler konsantrik bir tarzda soğan kabuğu zarı görünümü oluşturur. İnterfolliküler lenfoid doku ise, aktive endotelial hücrelerin dizildiği yüksek endotelial venül olarak adlandırılan çok sayıda küçük kan damarları içerir. Özellikle CD123 gibi immünohistokimyasal işaretleyiciler ile boyanabilen sıkı plazmositik dendritik hücre toplanmaları da izlenebilmektedir. Lölipop lezyon olarak adlandırılan sklerotik kan damarlarının atrofik germinal merkezlere penetrasyonu da görülebilmektedir (2,3,19).

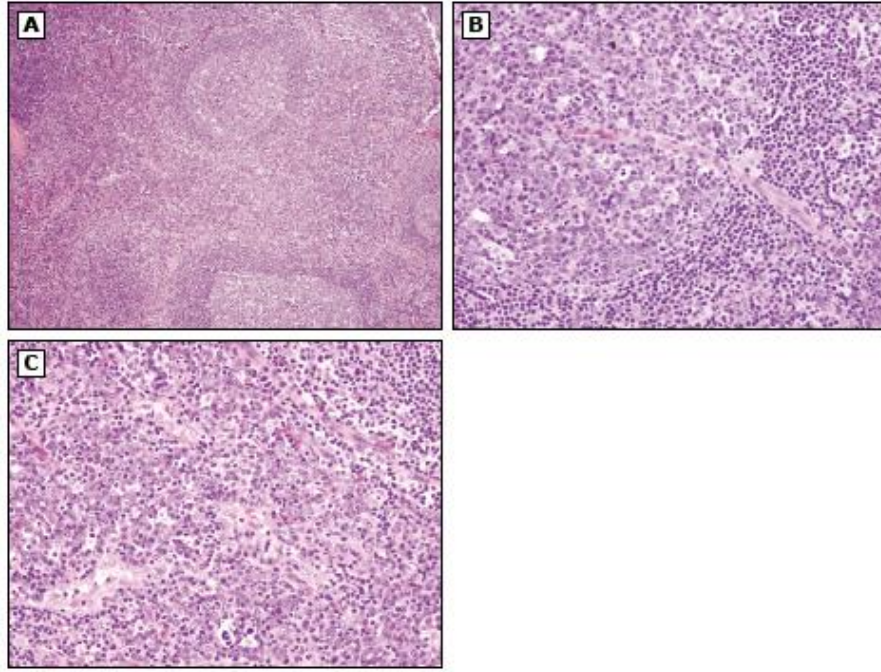
HHV-8 negatif plazma hücre varyantı: Hiperplastik B hücre follikülleri (germinal merkezler) izlenir ve sık olarak bazıları regrese veya hiyalen vasküler follikülleridir, fakat interfolliküler bölge hipervaskülerdir ve plazma hücrelerinden oluşan tabakalar izlenir (Şekil 2). Germinal merkezler tipik olarak reaktiftir ve polarizasyon gösterirler, sık mitotik figürlere sahiptirler ve çok sayıda apoptotik kalıntılar içeren makrofajlara sahiptirler (17).



Şekil 1 A. Bu alanda iki follikül mevcuttur. Alanın sol tarafındaki follikül birden fazla germinal merkez içermektedir. B. Hiyalen birikimleri germinal merkez içinde görülebilmektedir. C. Hiyalen vasküler lezyon bir follikül içinde sklerotik bir kan damarı içine doğru radial yönde penetre durumda izlenmektedir. Buna lollipop lezyon denmektedir. D. Folikül geniş bir manto zon tarafından sarılmıştır. Bu manto, konsantrik halkalar oluşturan küçük lenfositlerden oluşmaktadır. Bu yüzden soğan zarı görünümü denmektedir. (http://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=HEME%2F90402&topicKey=HEME%2F90340&rank=1~47&source=see_link&search=castleman+disease).

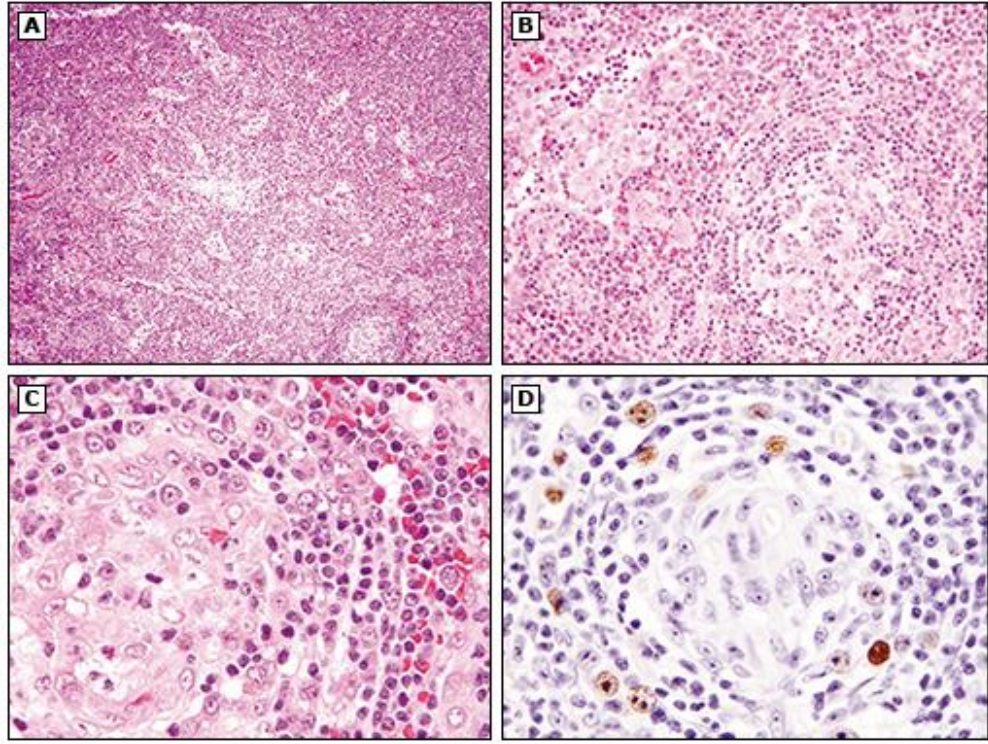
Şekil 1: Hiyalen vasküler tip Castleman Hastalığının histopatolojik görüntüsü.

HHV-8 pozitif plazma hücre varyantı: Nodal yapının korunduğu ve hiperplastik folliküllerden regrese olmuş folliküllere çok sayıda artmış follikül sayısı ile karakterizedir. İnterfolliküler bölge proliferatif olmuş kan damarları ve olgun plazma hücreleri içerir (tıpkı HHV-8 negatif plazma hücre varyantı gibi). Fakat diğer varyantına karşın, HHV-8 pozitif CH, artmış immünoblast (bazıları bunları plasmablast olarak adlandırmıştır) sayıları ile karakterizedir ve bunlar hiperplastik folliküllerin dış manto zonlarında, bazen de germinal merkezlerde bulunur (Şekil 3) (26,27). Bu hücreler birleşerek “mikrolenfoma” olarak yanlış isimlendirilen plasmablastların birikimini tanımlayan poliklonal dizilişleri oluşturur. HHV-8 pozitif plazma hücre varyantında, HHV-8 viral proteinlere spesifik monoklonal antikorlar ile gösterilebilir (17).



Şekil 2 A. İnterfolliküler plazmositoz görülebilmektedir. B. Reaktif germinal merkez içine penetre olan kan damarı belirgin bir şekilde izlenmektedir. C.İnterfolliküler alanda olgun plazma hücrelerinin oluşturduğu tabakalar izlenmektedir. (http://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=HEME%2F90404&topicKey=HEME%2F90340&rank=1~47&source=see_link&search=castleman+disease).

Şekil 2: HHV-8 negatif plazma hücreli tip Castleman Hastalığının histopatolojik görüntüsü.



Şekil 3 A. İnterfolliküler bölgelerin çok sayıda plazma hücreleri ile genişlediği görülmektedir. Küçük lenfoid folliküller de görülmektedir. B. Follikülün manto zonu ile interfolliküler alan ayrımı yapılamamaktadır. C. Manto zonları büyük, atipik plazmablastlar içermektedir. D. HHV-8 pozitif hücreler manto zonlarında izlenmektedir (HHV-8 için latent nükleer antijen-1 ile boyama yapılmıştır). (<http://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=HEME%2F90403&topic>).

Şekil 3: HHV-8 pozitif plazma hücreli tip Castleman Hastalığının histopatolojik görüntüsü.

2.1.5. Ayırıcı Tanı

Unisentrik CH'nın ayırıcı tanısında büyümüş lenf nodunu içeren diğer hastalıklar değerlendirilmelidir. Genel bir kural olarak belirtilebilir ki, 2-3 cm büyüklüğünde ve izole reaktif lenf nodu büyümesi diğer nedenler için sık değildir.

Ayırıcı tanı, daha sık olarak hiyalen vasküler varyant içindir ve ayırıcı tanıda toxoplasma lenfadeniti, HIV lenfadeniti, folliküler hiperplazi, lenfoma (özellikle non-hodgkin subtiplerinden folliküler lenfoma, mantle hücreli lenfoma ve nodal marjinal B hücreli lenfoma) düşünülerek hareket edilmelidir.

Plazma hücre varyantı için ise romatoid artrit, plazmasitoma, lenfoma (özellikle non-hodgkin subtiplerinden lenfoplazmositik lenfoma, marjinal B hücreli lenfomalar ve anjiyoimmünoblastik T hücreli lenfoma) akılda tutulmalıdır (17).

2.1.6. Tedavi

Unisentrik CH teşhisi tutulan lenf nodunun patolojik değerlendirilmesi ile doğrulandıktan sonra tutulan lenf nodunun rezektif cerrahisi sonrasında komplet rezeksiyonu küratiftir ve unisentrik CH'nın altın standart tedavi yaklaşımı olarak kabul edilir. Literatürde bazı anekdotal rekürrens raporları var olsa da genellikle inkomplet rezeksiyona veya ilk değerlendirmede gözden kaçan lenf nodlarına bağlı olduğu kabul edilmektedir. Sistemik belirtiler ve laboratuvar anormallikleri de var ise bunlar rezeksiyon sonrası kaybolurlar (21).

Nadiren de olsa, büyük bir unisentrik CH kitlesi, büyüklüğünden dolayı veya daha çok lokasyonundan dolayı rezektabl olmayabilir. Bu durum özellikle mediastinal kitlelerde ana bronkusa veya majör damarlara çok yakın olması şeklinde olmaktadır. Bu gibi hastalarda, multisentrik CH'nda tanımlanan sistemik tedaviler (rituksimab (28) gibi) ile kitlenin küçültülmesi sonrasında daha güvenli cerrahi müdahale yapılabilir. Sistemik steroidler, semptomatik fayda sağlayabilir fakat tümör boyutunu küçültmesi tahmin edilebilir değildir. Benzer şekilde, 35 ile 45 Gy radyasyon tedavisi de kullanılabilmektedir fakat radyasyon sonrası gelişecek fibrosis cerrahi müdahaleyi genel pratikte zorlaştırabilmektedir (29).

2.2. Multisentrik Castleman Hastalığı

2.2.1. Patogenez

Multisentrik CH'nın patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Unisentrik CH'nın aksine, multisentrik CH, HHV-8 ile daha fazla ilişkili görülmektedir (30). HHV-8 Epstein-Barr virüsüne benzer şekilde bir gamma virüstür ve hem endemik hem de HIV-ilişkili Kaposi sarkomunda bulunmaktadır (31). Bu virüs ile ilişkili olabilecek iki majör lenfoproliferatif bozukluk mevcuttur: primer effüzyon lenfomalar (PEL) ve multisentrik CH. Multisentrik CH ve HHV-8 arasındaki patojenik ilişki araştırılmıştır çünkü Kaposi Sarkomu ve multisentrik CH arasında iyi tanımlanmış bir klinik ilişki mevcuttur (30). Bir çalışmada, HHV-8 DNA'sı HIV-ilişkili multisentrik CH'lı 14 hastadan alınan lenf nodu biyopsilerinin tamamında tespit edilmiştir (7). Aynı DNA, HIV negatif

multisentrik CH olan 17 vakanın 7'sinde saptanmışken, HIV negatif reaktif lenf nodu olan 51 vakadan sadece 1'inde ve HIV-pozitif reaktif lenf nodu olan 17 vakadan sadece 3'ünde saptanmıştır. Bu sebeple, diğer çalışmalar da HHV-8'in HIV-ilişkili multisentrik CH'nda evrensel olduğunu (32) ve HIV-negatif multisentrik CH'nda ise %40 ile 50 arasında olduğunu teyit etmiştir (7,24)

Interlökin-6'nın rolü üzerine bakıldığında, hem unisentrik hem de multisentrik CH'nda IL-6'nın veya benzer polipeptidlerin aşırı salınımı ile ilişki görülmüştür. Erken dönem çalışmaları, unisentrik CH'ndaki sistemik belirtilerin aşırı üretilen IL-6 kaynaklı olduğunu ve bunların lenf nodlarından kaynaklandığını, lenf nodunun eksizyonu ile IL-6 seviyelerinin düşüşe geçtiği ve dolayısıyla sistemik belirtilerin yok olduğu sonucunu göstermiştir (18). Fakat ilginç olarak farelerde hematopoetik progenitor hücrelerce transjenik olarak eksprese edilen IL-6'nın multisentrik CH'na benzer şekilde bir sendrom oluşturduğu görülmüştür (33): periferik lenfadenopati, lenfoid dokuların yaygın plazma hücre infiltrasyonu, splenomegali, anemi ve hipergamaglobulinemi.

2.2.2. Epidemiyoloji

Multisentrik CH'na sahip hastalarda HIV ile enfekte olanların daha genç olmasına rağmen medyan yaş 50-65 arasındadır (21). %50-65 arası erkek baskınlığı vardır. Antiretroviral tedavinin (ART) HIV tedavisinde ilerleme kaydetmesi ile HIV ilişkili multisentrik CH insidansı son yıllarda artış göstermiştir. 1983-1996 yılları arasında pre-ART döneminde insidans 10.000 hasta-yılda 0,6 iken; erken-ART dönemi olan 1997-2001 yılları arasında 2,8; geç-ART dönemi olan 2002-2007 yılları arasında 8,3 vaka olarak raporlanmıştır (34). İlginç olarak ise, Kaposi Sarkomu insidansının aynı periyotlardaki insidansı sırasıyla 520, 85 ve 63 vaka/10.000 hasta-yıl olarak düşüş göstermesidir (34). ART tedavisinin başlangıcı sonrasında multisentrik CH artışı arasındaki ilişki tam olarak açıklanamamıştır (30).

2.2.3. Klinik Özellikler

2.2.3.1. Belirti ve Bulgular

Multisentrik CH'nın klinik prezentasyonu değişken olup tutulan lenf nodu bölgesine, IL-6 ve VEGF gibi sitokinlerin seviyeleri ve üretimine ve HIV, HHV-8 gibi enfeksiyonların durumuna dayanmaktadır. Çoğu hasta inflamatuvar bir hastalığın

belirtileri gibi nonspesifik özellikler ile prezente olurlar. Sadece %10'dan az hasta asemptomatiktir. Ateş, neredeyse evrensel bir belirtidir ve çoğu hasta gece terlemeleri, kilo kaybı, halsizlik veya yorgunluk ve lenfadenopati ile başvurur. Bir hasta grubunda ise ödem, vücut kavitelerinde effüzyonlar, cilt bulguları ve nörolojik değişiklikler görülebilir. Cilt bulguları döküntü, hemanjiomata ve pemfigustur (30).

Multisentrik CH, POEMS'in bir parçası olarak da görülebilir. Polinöropati, organomegali, endokrinopati, monoklonal bir immunoglobulin artışı ve hipertrikoz veya hiperpigmentasyon gibi cilt değişiklikleri bu sendromun özellikleridir. Multisentrik CH ayrıca otoimmün hemolitik anemi, immün trombositopeni ve kazanılmış faktör VIII eksikliği gibi otoimmün hastalıklarla da ilişkili olabilir (30) .

Periferal lenfadenopati neredeyse her zaman multisentrik CH'da mevcuttur (19,29). Sıklıkla generalizedir ve hastaların çoğunluğunda hepatosplenomegali ile ilişkilidir (35). Yaklaşık olarak sadece HIV-negatif vakaların %10'unda başvuru zamanında mediastinal ve abdominal lenfadenopati vardır, fakat hastalığın ilerlediği hastaların veya HIV ile enfekte hastaların yaklaşık %50'sinde bu bölgelerdeki lenf nodu tutulumu vardır (19).

Multisentrik CH'nın gelişimi değişkendir. Bazı hastalarda birkaç yıl içinde yavaş bir başlangıç raporlanmışken diğerlerinde aniden hastalık oluşmuştur (19). HIV-enfekte hastalar daha akut bir seyir gösterme eğilimdedir, bu hastalarda belirtilerin teşhis zamanında bulunduğu sürenin ortancası üç aydır (36).

HIV-ilişkili multisentrik CH olan 72 hasta üzerinde yapılan bir sistematik derleme, başvuru esnasında şu belirtilerin olabileceğini raporlamıştır (37):

- Ateş - %100
- Lenfadenopati - %96
- Splenomegali - %86
- Hepatomegali - %63
- Pulmoner bulgu ve belirtiler- %35
- Ödem - %29
- Asit - %6

Bu hastaların %72'sinde Kaposi Sarkomu olduğu da raporlanmıştır (37). Multisentrik CH olan HIV-enfekte hastalarda görülen pulmoner belirtiler sık olarak öksürük veya nefes darlığını içermektedir.

2.2.3.2. Laboratuvar Çalışmaları

Multisentrik CH'nda tipik laboratuvar anormallikleri neredeyse tüm hastalarda anemi, trombositoz, hipoalbuminemi, poliklonal hipergamaglobulinemi ve yükselmiş eritrosit sedimentasyon hızını içermektedir (38). Tüm bu özellikler IL-6'nın yüksek seviyeleri ile ilgilidir. Anemi genellikle hafiften orta seviyeye değişir ki 8 g/dl altındaki değerler çok nadirdir. Hastaların çoğunluğunda trombosit sayıları normal ile hafif artmıştır ve çok azında $500.000/mm^3$ 'ün üzerindedir. Diğer bulgular ise artmış serum IL-6, VEGF, laktat dehidrogenaz ve C-reaktif protein seviyeleridir (30).

HHV-8 enfeksiyonu multisentrik CH olan hastalarda sık olmasına rağmen, HHV-8 enfeksiyonu için serolojik çalışmalar sınırlı klinik kullanıma sahiptir, çünkü immüsuprese HHV-8 ilişkili multisentrik CH olan hastalar HHV-8 antikorları geliştirmeyebilirler. Buna karşın, lenf nodunda, HHV-8 viral yük çalışması veya lenf nodunda HHV-8 LANA için immünhistokimya çalışması teşhis koymada yardımcı olabilmektedir (30).

2.2.3.3. Görüntüleme

Multisentrik CH olan hastalarda göğüs radyografisi bilateral retiküler veya cam yüzey opasiteleri, mediastinal genişleme ve/veya bilateral plevral effüzyonlar gösterebilir. Bilgisayarlı tomografide ise çoğu hasta multiple büyümüş mediastinal ve hiler lenf nodları (1 ile 3 cm çapında) görülebilir (39). Akciğer parankimal bulguları, subplevral nodüller, interlobülerseptal kalınlaşmalar, peribronkovasküler kalınlaşma, cam yüzey opasiteleri ve yamalı, yuvarlak konsolidasyon alanları gibi bir spektrum gösterebilir. Fakat tüm bu bulgular, multisentrik CH için nonspesifiktir (30).

2.2.4. Patoloji

Multisentrik CH, lenf nodunun bir kısmını intakt bırakarak nodal genişlemeler ile karakterizedir. B hücreler ve plazma hücreleri poliklonaldır ve T hücrelerinin normalden sapmış bir immünofenotip gösterdiğine dair kanıt yoktur (30). Tıpkı

unisentrik CH'nda olduğu gibi, üç patolojik varyant mevcuttur. Unisentrik CH'nın aksine plazma hücre varyantları hiyalen vasküler varyantından daha sıktır, multisentrik CH'nın %75 kadarını oluşturmaktadır. HIV-enfekte hastalardan alınan lenf nodları neredeyse her zaman HHV-8 yönünden pozitifdir ve %40 kadarı eşzamanlı Kaposi Sarkomu içermektedir (40). Kaposi Sarkomu ve multisentrik CH birlikteliği, HIV-negatif hastalardan alınan lenf nodlarında da görülebilir.

2.2.5. Ayırıcı Tanı

Multisentrik CH teşhisi, periferik lenfadenopati, ateş, splenomegali ve artmış C-reaktif protein ile başvuran hastalarda şüphelenilmelidir. Tanı, tipik olarak eksizyonel biyopsi uygulanmış bir lenf nodunun patolojik değerlendirilmesi ile doğrulanır. Biyopsi için en anormal lenf nodu seçilir. Eğer baskın bir nod yoksa seçim sırasıyla supraklaviküler, boyun, aksilla ve inguinal bölge şeklinde gider. Multisentrik CH teşhisi, aktif hastalığın klinik özelliklerine ek olarak biyopsi ile patolojik doğrulamaya ihtiyaç duyar (30). Artmış sayıdaki plazma hücrelerini içeren hiperplastik lenf nodları ile ilişkili diğer hastalıklar; romatoid artrit, diğer bağ doku hastalıkları, HIV enfeksiyonu ayırıcı tanıda akılda tutulmalıdır (30).

2.2.6. Tedavi

Nadir olmasından ötürü, sadece bir randomize çalışma mevcuttur. Multisentrik CH'na ait tedavi bilgileri literatürdeki sistematik derlemelerden, vaka serilerinden ve vaka raporlarından gelmektedir. Bu yüzden standart bir tedavi mevcut değildir ve klinik pratik değişmektedir. Multisentrik CH'nda tedavi seçimi, ilk olarak hastanın HIV/HHV-8 pozitiflik durumuna ve sonrasında hastalığın klinik agresifliğine dayanmaktadır. Seçenekler, IL-6 yönelimli tedavi, anti-CD20 monoklonal antikor olan rituksimab ile birlikte veya steroidler ve/veya sitotoksik kemoterapi; ve HIV/HHV-8 pozitif vakalarda gansiklovirin olduğu antiviral tedavi ve antiretroviral tedaviyi (ART) içermektedir (30).

Organ yetmezliği olmayan semptomatik HIV/HHV-8 negatif hastalarının çoğunluğunda, sadece kemoterapi veya kemoterapi ile birlikte immunoterapinin yerine sadece immunoterapi önerilmektedir. Bu, sitotoksik kemoterapinin yaratacağı toksisitelerden kaçınılmasını sağlamıştır. İmmunoterapi olarak ise direkt IL-6 monoklonal antikor olan siltuksimab veya IL-6 reseptör monoklonal antikor olan

tocilizumab kullanılabilmektedir. Bu yaklaşım ile iki yıllık total ve relapssız yaşam oranları sırasıyla, %94-95 ve %79-85 bulunmuştur. Bu ajanlar arasındaki seçim ise primer olarak uygulanabilirliğine ve klinisyenin deneyimine bağlıdır. Eğer her iki ajan da mevcut ise tek randomize çalışmaya göre siltuksimab tercih edilmelidir. Eğer ikisi birden yoksa anti-CD20 monoklonal antikoru olan rituksimab önerilmektedir. Tocilizumab 2005 yılından beri Japonya’da onay almıştır fakat Avrupa ve Amerika’da almamıştır. Siltuksimab ise Amerika’da almış ve Avrupa’da halen düzenleme aşamasındadır (30).

Kemoterapi olarak tek ajanlı veya kombinasyon kemoterapisi, eş zamanlı rituksimablı veya rituksimabsız olarak kullanılır. Kemoterapi çoğunlukla, organ yetmezliğine dair bulguları olan hastalar için veya hastalığa bağlı olduğu düşünülen kötü performans durumları için saklanmaktadır. Rituksimab ile birlikte etoposide 100mg/m² intravenöz, dört hafta süreli tedavi ile ilişkili deneyim en mükemmel olanı göstermektedir. Tek ajan olarak ise vinblastin ve etoposid kullanılabılır, kısmi bir yanıt ve hastaların çoğunda semptomatik düzelme sağlarlar (41), fakat tek ajanlı tedavi durdurulduğunda, belirtiler genellikle iki ile üç hafta içinde tekrar eder ki aralıklı devam tedavilerine ihtiyaç doğar (sıklıkla ömür boyu) (40-42). Bu yüzden kemoterapi verildiğinde, kombinasyon kemoterapisi, genellikle monoterapiye göre tercih edilir (30).

Bir çalışmada, klorambusile prednison eklendiğinde tam yanıt alınan hastaların arttığı görülmüştür. Bu yüzden glukokortikoid eklenmesi yanıt oranını arttırabilmektedir (29,43-45).

Seçilmiş hastalar, daha agresif kombinasyon tedavilerinden fayda görebilmektedirler. Dört ilaçlı kombinasyon tedavileri olan CHOP (siklofosamid, doksorubisin, vinkristin, prednison) veya CVAD (siklofosamid, vinkristin, doksorubisin, deksametazon) ile yapılan iki çalışmada hastaların yaklaşık %50 kadarı sürdürülebilir tam yanıtı ulaşmıştır (29,43).

IL-6’yı inhibe eden bortezomib gibi başka ajanlar da kullanılmıştır. Bortezomib plazma hücre bozukluklarında kullanılan bir ajandır. Fazlasıyla anekdotal raporlarda, bu ajan, tek başına veya antiviral ajanlarla kombinasyonunda multisentrik CH olan hastalarda etkili olarak bulunmuştur (46-50). Fakat kullanımı konusunda dikkatli

olunmalıdır çünkü nöropati potansiyel yan etkisi olarak akılda tutulmalıdır. Benzer şekilde küçük ve yine anekdotal çalışmalar, thalidomide, lenalidomide gibi immünmodülatör ilaçların etkin olduklarını tek başına veya rituksimab ile kombinasyonları durumunda belirtmişlerdir. Bu ajanlar sadece kurtarıcı olarak düşünülmelidir (30).

Multisentrik CH olan üç hastada yapılan hematopoietik hücre transplantasyonu, kemoterapi ile tedavinin başarısızlığından sonra yapılmıştır (bir hasta POEMS sendromu ile birlikte ve biri non-Hodgkin lenfoma ile birlikte) ve başarılı şekilde tedavi edilmişlerdir (51-53).

Glukokortikoidler sistemik tedavi olarak multisentrik CH olan hastalarda sıklıkla kullanılmaktadır. HIV-ilişkili multisentrik CH'nda etkinliği üzerine raporlama olmamıştır (40,42).

HIV/HHV-8 pozitif hastaların çoğunluğunda, gansiklovir artı rituksimab kombinasyonuna agresif hastalığı olanlar veya daha semptomatik olanlarda da eklenen etoposide kullanılmaktadır. Eğer hastalar düşük CD4 sayısına sahipler ise ve/veya yüksek HIV yükü ve/veya aktif Kaposi Sarkomu varsa, sonrasında antiretroviral tedavi, yukarıdaki kombinasyon tedavisine eklenir. Her aşamada, rituksimab tekrar edilir ve gansiklovir devam tedavisi olarak uygulanır (30).

İlk tedavi sonrasında, hastalar tedaviye yanıt için değerlendirilmelidir. Genel olarak dört siklus tedavi sonrasında hastalığın durumu değerlendirilir. Eğer cevap var fakat persistan hastalık aktivitesi yönünde bulgular var ise, ikinci basamak tedavi iki ya da üç ay sonra tekrarlanabilir. Eğer IL-6'ya yönelik tedavi kullanılmışsa, devamlı olarak verilmelidir. Sadece rituksimab veya rituksimab artı çeşitli kombinasyon kemoterapileri relaps zamanında verilebilmektedir. Tedavi sonrası surveylans değerlendirilmesi ile hastalar iki ile üç ay aralıklar ile takip edilmelidir. Bu vizitlerde hikaye ve fizik muayene ile birlikte IL-6, C-reaktif protein, serum serbest hafif zincir ve kantitatif immunoglobulinler gibi serum biomarkerlar bakılabilir (30).

Multisentrik CH ile ilgili ölümcül vakalar, fulminan enfeksiyon, progresif hastalık veya ilgili malignansiler ile ilişkilidir. HIV durumu bilinmeyen 50 vakalık bir çalışmada hastaların %38'i ciddi enfeksiyonlar geçirmiş ve bu enfeksiyonların %70'i

ölüme direkt yol açan neden olarak görülmüştür. Çoğu hasta, çoklu organ yetmezliği ile ilişkili olan ilerleyici hastalığa bağlı ölüm olarak raporlanmıştır (43-45,55).

Tedavisiz bırakılan multisentrik CH'nın prognozu kötüdür. HIV ile ilişkili olup olmadıkları bilinmeksizin median sağkalım 26 ile 30 aydır. HIV ilişkili multisentrik CH olanlarda toplam mortalite %70-85 iken median sağkalım 8 ile 14 aydır (26,40).

2.3. Mitojen Aktive Olmuş Protein Yolağı (MAPK) ve BRAF Geni

2.3.1. MAPK Yolağı

Mitojen aktive olmuş protein kinaz (MAPK) yolağı büyüme sinyallerine karşı hücrel cevabı düzenlemektedir. Bu yolda RAS, RAF, MEK ve ERK proteinleri yer almaktadır. Bu proteinler hücreye gelen sinyalin çekirdeğe aktarılmasında rol almaktadır. Hücrenin birçok yaşamsal fonksiyonun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar (56). RAS proteinleri hücre içerisinde önemli bir sinyal ağını kapsayan küçük guanozin bağı GTPaz'lardır. RAS genleri KRAS, HRAS ve NRAS'tan oluşan bir multigen ailesidir. Bu genler reseptör tirozin kinazlara bağlanan büyüme faktörleri sonrası aktive olurlar. RAS aktivasyonu sonrasında RAF (ARAF, BRAF ve/veya CRAF) aktivasyonu gerçekleşir. RAF proteini MEK1 ve/veya MEK2'yi fosforile ve aktive eder. Bu aktivasyon sonrasında ise ERK1 ve/veya ERK2 aktivasyonu gerçekleşir. ERK1/2 hücre siklusu, farklılaşması ve hücrel büyümenin kontrolü gibi çok önemli görevleri olan protein kinazları ve membran proteinlerini, transkripsiyon faktörlerini ve nükleer komponentleri içerir. (57). Sonuç olarak MAPK yolağı reseptör aracılı uyarının hücre içine iletiminden sorumlu bir kinaz kaskadı olarak çalışır. Sinyalin iletimi RAS aktivasyonu ile başlar ve sonuç olarak MAPK (MAP kinaz) aktive olur. MAPK ise sitoplazmik substratlarını ve/veya nükleusta transkripsiyon faktörlerini fosforilasyon yoluyla aktive eder ve böylece hücrenin biyolojik cevabı oluşur (58). Bu yolağın düzensizleşmesi kanser oluşunda sık görülen bir olaydır. RAS insan kanserinde en sık mutasyona uğramış onkojendir. KRAS mutasyonları akciğer kanserinde ve pankreatik kanserlerde değişik sıklıklarda görülmektedir. (13,14). Bir mutasyon olmaksızın MAPK yolağının aktive olması düşük dereceli over seröz karsinomlarının %41'inde görülmektedir (59).

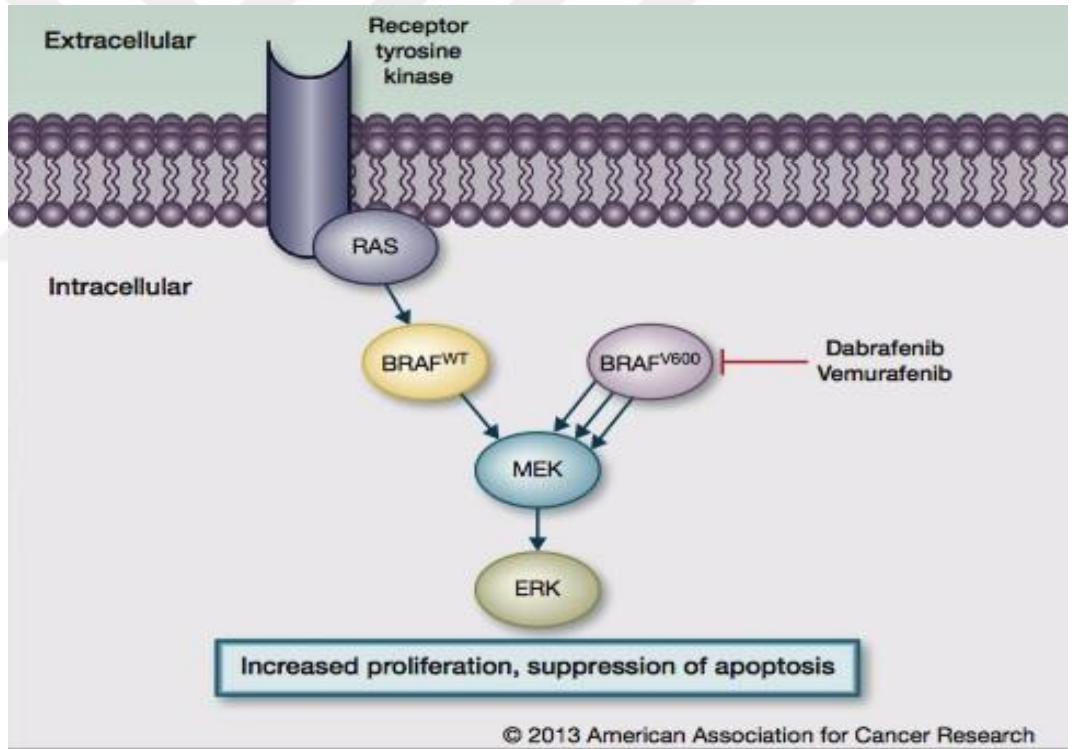
Yaklaşık insan kanserlerinin %15'inde RAS onkojeni mutasyona uğramıştır. BRAF geni sitoplazmik bir serin-treonin kinazı kodlar, bu protein de RAS bağlanması ile regule olmaktadır (56,60-61). MAPK yolağı ile BRAF aktivasyonunun hücre proliferasyona neden olduğu ve apoptozis inhibisyonunda rol oynadığı bilinmektedir (62).

2.3.2. BRAF Geni ve Mutasyonu

BRAF 7. kromozomun 7q34 pozisyonu üzerinde lokalizedir. Bir protoonkogen olan BRAF (v-Raf fare sarkomu viral onkogen homoloğu B1) geninin eksprese ettiği B-Raf proteini hücre büyüme döngüsünde etkilidir. Hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozunda kritik rol oynayabilmektedir (15). BRAF geninde yaygın olan V600E mutasyonu; genin 1799. pozisyonunda timinin adenine dönüşümüyle sonuçlanan bir mutasyondur. Bunun sonucunda 600. pozisyonda valin yerine glutamat geçer ve mutasyon meydana gelir (63). Bu mutasyon B-Raf'ı sürekli aktif hale getirir ve sonucunda yolağın aktivasyonu ve hücreler proliferasyon ortaya çıkmaktadır (64).

B-Raf proteini aynı zamanda bir serin treonin kinazdır. Birçok malignitenin etyolojisinde BRAF geninde var olan mutasyonlar sorumlu tutulmaktadır. Özellikle malign melanom hastalarında BRAF gen mutasyonu iyi tanımlanmıştır. Ayrıca kolorektal ve overyaryan karsinomda görülmektedir. Son çalışmalarda papiller tiroid karsinomunun %29-83'ünde BRAF mutasyonlarının varlığı gösterilmiştir. İleri malign melanom vakalarının %40-60'ında glutamik asit ile valin değişiminden kaynaklanan V600E mutasyonu saptanmaktadır (15). Kolorektal kanserlerin yaklaşık %15'inde görülür (65). Ayrıca pleomorfik ksantoatsrositom'larda yaklaşık % 66 oranında, safra yolları karsinomlarında akciğer adenokarsinomlarında % 4.6 oranında, bazı over tümörlerinde % 13 oranında saptanmıştır (66-68). Langerhas hücreli histiositozis lezyonlarının %57'sinde BRAF V600E mutasyonu tanımlanmıştır (69). Papiller tiroid karsinomu, küçük hücre dışı akciğer kanserlerinde BRAF gen mutasyonlarının rolü olduğu düşünülmektedir (70). 2011 yılında bu mutasyonun hairy cell lösemide varlığı gösterilmiştir (16). BRAF geninde özellikle V600E mutasyonu hairy cell lösemisinin tanısı ve rezidüel hastalığın saptanmasında kullanılabilir bir marker olarak yerini yavaş yavaş almaktadır (71).

Bu yolağın karsinom gelişimindeki rolü ortaya çıktıktan sonra bu yolağı inhibe eden tedaviler üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Vemurafenib bu amaçla 2011 yılında FDA tarafından onay aldı ve şu anda özellikle ileri malign melanom hastalarında kullanılmaktadır. Vemurafenib mutant BRAF geni taşıyan hastalarda başarılı bir şekilde potent kinaz inhibisyonu yapmaktadır. Malign melanom hastalarında progresyondan uzak ve toplam yaşam süresi üzerine pozitif etkiler göstermektedir. 2013 Yılında FDA tarafından 2. Mutant BRAF kinaz inhibitörü dabrafenib onay aldı. BRAF gen mutasyonu hematolojik maligniteler içinde özellikle hairy cell lösemide tanımlanmıştır (72) (Şekil 4).



Şekil 4: BRAF proto-onkogenin hücre proliferasyonundaki rolü

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastalar ve Takip

Çalışmamızda Gaziantep, Erciyes, Malatya İnönü, Ege, Dicle, Süleyman Demirel, Harran, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesiteleri İç hastalıkları-Hematoloji ve Patoloji Anabilim Dallarında Castleman Hastalığı tanısı almış 34 hastadan alınan doku örnekleri kullanılmıştır. Çalışma, Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 10.11.2014/341 kararıyla uygun bulunmuştur. 2007-2014 yılları arasında bahsedilen üniversite hastanelerinde tanı alan 13-71 yaşları arası toplam 34 hasta dahil edilmiştir.

Hastaların ulaşılabilen eski laboratuvar ve görüntülemeleri bilgisayar kayıtlarına bakılarak elde edildi. Tam kan sayımı, immunolojik testler, viral markerlar, tedavi türleri, takip süreleri, kemik iliği biyopsi sonuçları, hepatomegali, splenomegali ve görüntüleme sonuçlarına göre hastalığın tutulum yerleri kaydedildi.

Alınan doku örneklerinden BRAF gen mutasyon varlığı Gaziantep Üniversitesi Hastanesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda çalışıldı.

3.2. Örneklerin Hazırlanması

İlk olarak hematoksilen ve eozin boyalı prepatlar incelenerek uygun blok seçimi yapıldı. Sonrasında Leica RM 2145 model mikrotomla 6 mikron kalınlığında formalin ile fikse edilmiş parafine gömülü doku (formaline-fixed parafine-embedded(FFPE)) kesitleri ependorf tüpüne yerleştirildi.

3.3. FFPE Doku Örneklerinden İzolasyonu

FFPE doku örneklerinden DNA izolasyonu için Qiamp DNA FFPE tissue Kit (Qiagen, kat no.56404) kullanıldı. Hazırlık olarak; örnekler oda sıcaklığına (15 °C-25 °C) getirildi. Su banyosu veya ısı bloğu 56 °C ve 90 °C ye ayarlandı. Elüsyon işlemi için Buffer ATE oda sıcaklığına getirildi. Buffer AW1 ve Buffer AW2 protokole göre

hazırlandı. Buffer AL içinde kristallenme varsa 56 °C inkübe edildi. Tüm santrifüj basamakları oda sıcaklığında yapıldı.

5-10 mikron kalınlığında en fazla 8 kesit ependorflara alındı. Ölçekler üzerine 1 ml ksilen eklendi ve iyice vortekslendi. En yüksek hızda 2 dakika santrifüj edildi. Süpernatant dikkatlice pellete değmeden alındı. Pellet üzerine 1 ml %96-%100 lük etanol eklenip kısaca vortekslendi. En yüksek hızda 2 dk santrifüj edildi. Süpernatant dikkatlice pellete değmeden alındı. Tüpler kapağı açık halde oda sıcaklığında ya da 37 °C 10 dk tüm alkol uzaklaşana kadar bekletildi. Örnek üzerine 180 µl Buffer ATL eklendi. 25 µl Proteinase K eklenip iyice vortekslendi. 56 °C de doku tamamen lize olana kadar inkübe edildi. İnkübasyon sırasında örnek bir saatte birkaç kez iyi şekilde vorteks yapıldı.

Örnek 90°C de 1 saat inkübe edildi. Tüp kapaklarının iç tarafındaki damlaları tüpün içine almak için kısaca santrifüj edildi. 200 µl Buffer AL eklendi. 200 µl ethanol (%96-100) eklendi. 10 sn vortekslendi. Tüplerin içindeki karışım QIAamp Mın Elute spin colona aktarıldı. Tüplerin kapağı kapandıktan sonra 6000xg (9000rpm) hızda 2 dk santrifüj edildi. Spin colonun yerleştiği tüp atıldı. QIAamp Mın Elute spin colon temiz 2 ml'lık toplama tüpüne yerleştirildi.

QIAamp Mini Elute spin colon dikkatlice açıldı ve tüplerin içine 500 µl Buffer AW1 eklendi. Tüplerin kapağı kapandıktan sonra 6000xg(9000rpm) hızda 2 dk santrifüj edildi. Spin colonun yerleştiği tüp atıldı. QIAamp spin colon temiz 2 ml lik toplama tüplerine yerleştirildi. QIAamp Mini Elute spin colon dikkatlice açılıp colon içine 500 µl Buffer AW2 eklendi. Tüplerin kapağını kapattıktan sonra 6000xg (9000rpm) hızda 2 dk santrifüj edildi. Spin colonun yerleştiği tüp atıldı. QIAamp Mini Elute spin colon temiz 2 ml lik toplama tüplerine yerleştirildi. 20.000xg (14000rpm) hızda 4 dk santrifüj edildi. QIAamp Mini Elute spin colonu yerleştiği tüp atıldı. QIAamp Mini Elute spin colon 1,5 ml lik ependorf tüplere yerleştirildi. QIAamp Mın Elute spin colonu dikkatlice açılıp 30- 50 µl Buffer ATE colonun tam ortasına gelecek şekilde aktarıldı. Colonun kapağı kapatıldı. 1 dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve 20.000xg (14000rpm) hızda 2 dk santrifüj edildi.

3.4. BRAF Geni PCR Reaksiyonu

BRAF geni mutasyon analizi için Thrascreen BRAF Pyro Kit V2 (Qiagen, kat no.971470) kiti kullanıldı. PCR primerleri, master mix, coral load ve kitin içindeki H₂O oda sıcaklığına çıkarıldı. Her bir primer için miks hazırlandı (2 ayrı primer için 2 ayrı mix). Aşağıdaki PCR protokolü uygulandı (Tablo 1). Toplam 2 saat 10 dk sürdü.

Tablo 1: BRAF geni PCR protokolü

Süre	Sıcaklık	
15 dk	95°C	1 döngü
20 sn	95°C	
30 sn	53°C	
20 sn	72°C	42 döngü
5 dk	72°C	1 döngü

3.5.BRAF Geni Pyrosekansı

Isı bloğu 80 °C ye ayarlandı. Q24 plate holder üzerine kondu. Reaktifler dolaptan çıkarıldı. Pyromark Q24 cihaz kartuşu yıkandı. Ultra saf su kabı dolduruldu. Vakum istasyonu açıldı. H₂O -2 ye su dolduruldu. H₂O- 2 deki tüm su çektilirdi. Vakum kapatıldı. El ünitesini parka alındı. Costar plate in 3 sırasının tüm kuyuları su dolduruldu. El ünitesi ile tüm su çekildi. 1x Wash Buffer hazırlandı(5 ml wash buffer + 45 ml saf su)%70 lik etanol hazırlandı. (35 ml etanol+ 15 ml saf su) Pyro Mark software de liste hazırlandı. Costar plate kesildi (3 sıra). PCR tüpleri termal cycler dan çıkarıldı. Kızağa yerleştirildi. Bağlanma için 2 ml lik tüpe mix hazırlandı.

Costar plate 70 µl mix dağıtıldı. Üzerine 10 µl ilgili PCR ürünü eklendi. Mix dağıtılırken her 4 kuyuda bir alt üst edildi.

Plate üzeri film ile kaplandı. Çalkalayıcıya konuldu (en az 10 dk). Vakum istasyonu hazırlandı.

Bunun için;

1. H₂O-2'ye su dolduruldu.
2. H₂O-1'e su dolduruldu.
3. Denatürasyon solüsyon şişesi çalkalanıp ilgili küveze yarım çizgisinin biraz altına kadar konuldu.
4. 1xwash Buffer ilgili küveze yarım çizgisinin biraz üstüne gelecek kadar konuldu (alkol en son eklendi).
5. Oda ısısındaki pyromark Q24 plate holder alındı. Üstüne plate konuldu.
6. Sekans primerleri vorteks- spin yapıldı. Mix hazırlandı. (2 tane) her örnek için;
 - a) Annealing buffer 24.2 µl
 - b) İlgili sekans primeri 0.8 µl
7. Q24 Plate'e 25 µl dağıtıldı

Vakum istasyonunda ilgili küveze yarım çizgisine kadar %70lik ethanol eklendi. El ünitesi park pozisyonundayken vakum açıldı. Pyromark Q24 plate vakum istasyonunun sağındaki yerine konuldu. Shaker den costar plate alındı, sol tarafa yerleştirildi. Seal açılıp el ünitesi ile hızlıca çektirildi. El ünitesi ilk küveze konuldu. Sıvı akışını gördükten sonra 5 sn çektirildi. İkinci küveze konuldu. Sıvı akışını gördükten sonra 5sn çektirildi. Üçüncü küveze konuldu. Sıvı akışını gördükten sonra 10 sn çektirildi. Ünite ters çevrildi 3 sn beklenip vakum kapatıldı. El ünitesi pyromark plate'e yerleştirildi. 15 sn tutuldu. Ünite H₂O-1 küvezine konup sallandı. Q24 plate ısı bloğuna yerleştirildi. El ünitesi H₂O-1de biraz daha sallandı. El ünitesi H₂O-2ye konulup vakum açılıp, tüm su çektirildi. El ünitesi park pozisyonuna alınıp hortum temizletildi. Vakum kapatıldı. 2 dk bitiminde holder ısı bloğundan alındı. Oda sıcaklığında 10 dk soğutuldu. Nükleotidler vortekslendi ve spin yapıldı. Nükleotidler enzim ve substrat kartuştaki ilgili yerlerine kondu. Kartuş pyromark Q24 cihazına yerleştirildi. Q24 plate'i de pyromark a yerleştirildi. İşlem bitiminde analiz yapıldı.

3.6. İstatistiksel Analiz

Kategorik değişkenler arasındaki ilişkilerin test edilmesinde Ki-kare testi kullanılmıştır. Ki-kare testinde alt grup karşılaştırmaları Bonferroni düzeltmesi ile hesaplanmıştır. Yaşam olasılıkları Kaplan Meier yöntemi ile tahmin edilmiştir ve yaşam olasılıklarının karşılaştırılmasında Log-rank testi kullanılmıştır. Tanıtıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için ortalama±std.sapma, sözel değişkenler için ise sayı ve % değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için “SPSS for Windows version 22.0” paket programı kullanılmış ve $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen hasta sayısı 34 olup; 17'si erkek (%50) ve 17'si (%50) kadın hasta, yaş ortalaması 42.09 ± 17.198 olarak saptandı. Hastaların ortalama hemoglobin (Hb) değerleri 12.504 ± 2.375 , ortalama beyaz küre (BK) 7278 ± 2506 ortalama trombosit (Plt) değerleri 263290 ± 117741 ve ortalama sedimantasyon değerleri 44.17 ± 30.521 olarak saptandı (Tablo 2).

Tablo 2. Yaş, hemogram, sedimantasyon ve CRP değerleri için tanımlayıcı istatistikler.

	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma
Yaş	13	71	42.09	17.198
Hb	7.0	16.5	12.504	2.3757
BK	3630	14300	7278.39	2506.204
Plt	80000	580000	263290.32	117741.580
Sedimantasyon	2	120	44.17	30.521
CRP	0.18	72	19.519	25.830

Hb: Hemoglobin

BK: Beyaz küre

Plt: Trombosit

CRP: C-reaktif protein

Hastaların viral serolojilerine bakıldığında 2 hastada Hbs Ag pozitif saptandı. anti-HCV ve HIV pozitifliği saptanmadı. Çalışmamızdaki hastaların sadece 5 tanesinde HHV-8 bakılabilmiş olup, bunların 2'sinde pozitiflik, 11 hastada ANA çalışılmış olup, 2 hastada ANA pozitifliği saptandı. Hastaların 2'sinde hepatomegali, 5'inde

splenomegali saptandı. Hastalıkların histolojik tiplerine bakıldığı zaman 24 hastada hiyalen vasküler (%75.6), 8 hastada plazma hücreli (%23.6), 2 hastada ise mikst varyant saptandı (%5.8). Mikst varyant olan 2 hasta istatistiksel değerlendirmeye alınmadı. Kemik iliği biyopsilerine bakıldığında 16 hastanın kemik iliği patolojileri değerlendirilmiş olup, 3 hastada (%8.8) hipersellüler, 1 hastada hiposellüler (%2.9), 12 hastada da normosellüler (%35.3) kemik iliği saptandı. Lenf nodu tutulumuna göre hastalar servikal, torakal ve abdominal bölge olarak üç gruba ayrıldı. Hastaların 21'inde (%61.7,) servikal, 12'sinde (%35.3) torakal ve 17'de (%50) ise abdominal bölge tutulumu saptandı. Birden fazla bölge tutulumu olan hasta sayısı 10 (%29.4) idi (Tablo 3).

Tablo 3. Hastalığın tutulum bölgelerine göre dağılımı

Tutulum Bölgesi	Sayı	%
Abdominal	9	26.5
Servikal	11	32.4
Torakal	4	11.8
Servikal+Abdominal	2	5.9
Servikal+Torakal	2	5.9
Servikal+Torakal+Abdominal	6	17.5
Toplam	34	100

Çalışmaya katılan hastaların tamamında BRAF gen mutasyonu saptanmadığı için Castleman Hastalığı ile BRAF gen mutasyonu arasında herhangi bir ilişki saptanmadı.

Çalışmamızdaki hastaların histolojik tipe göre cinsiyetleri değerlendirildiğinde hiyalen vasküler varyant olanların %33.3'ü erkek. %66.7'si kadın, plazma hücreli varyant olan hastaların ise %87.5'i erkek %12.5'i ise kadındı. Histolojik tipe göre cinsiyet karşılaştırıldığında plazma hücreli varyantın erkeklerde görülme oranında, hiyalen vasküler varyantın ise kadınlarda görülme oranında anlamlı bir yükseklik saptandı ($p=0.006$) (Tablo 4). Histolojik tipe göre hastaların yaş ortalamalarına bakıldığında hiyalen vasküler varyant hastaların yaş ortalaması 37.83 ± 16.898 , plazma

hücreli varyant olanların ise yaş ortalaması 56.75 ± 11.336 saptandı. Plazma hücreli grupta yaş ortalaması anlamlı oranda yüksek bulundu ($p=0.006$) (Tablo 4).

Tablo 4. Histolojik tipe göre yaş ve cinsiyet dağılımları

		Hiyalen Vasküler	Plazma Hücreli	Toplam	P
Erkek	Sayı	8	7	15	0.006
	%	33.3	87.5	46.9	
Kadın	Sayı	16	1	17	
	%	66.7	12.5	53.1	
Toplam	Sayı	24	8	32	
	%	100	100	100	
Ortalama(Yaş)		37.83	56.75		0.006
Std.Sapma		16.898	11.336		

Histolojik tipe göre hastaların hemoglobin değeri ortalaması karşılaştırıldığında hiyalen vasküler varyantta ortalama hemoglobin değerleri 12.51 ± 2.29 , plazma hücreli varyantta ortalama hemoglobin değerleri 12.62 ± 1.92 saptandı. İki grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.906$). Aynı şekilde histolojik tipe göre hastaların sedimantasyon, CRP ve b2 mikroglobulin değerlerine bakıldığında plazma hücreli varyantta sedimantasyon ve CRP değerleri hiyalen vasküler varyanta göre anlamlı oranda yüksek bulundu ($p<0.05$) (Tablo 5). Benzer şekilde tutulan bölge sayısına göre tek bölge ile birden fazla bölge tutulumlu hastalar karşılaştırıldığında ortalama hemoglobin, sedimantasyon, b2 mikroglobulin düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Hgb değeri 12 altında olacak şekilde anemi açısından değerlendirildiğinde ise hiyalen vasküler varyant ile plazma hücreli varyant arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.578$). Benzer şekilde anemi ile tutulan bölge sayısı açısından hastalar değerlendirildiğinde tek ve birden fazla bölge tutulumu olan hastalar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.446$).

Tablo 5. Histolojik tipe göre sedimantasyon, CRP ve B2 mikroglobulin değerleri

		Ortalama	Std. Sapma	P
ESR	Hiyalen Vasküler	32.93	23.393	0.039
	Plazma Hücreli	62.43	34.004	
CRP	Hiyalen Vasküler	11.3771	18.36270	0.020
	Plazma Hücreli	47.2000	31.28407	
B2	Hiyalen Vasküler	3.2750	1.33332	0.114
	Plazma Hücreli	4.5450	0.98273	

ESR: Sedimantasyon

CRP: C-reaktif protein

B2: Beta 2 mikroglobulin

Hepatomegali ve splenomegali açısından hastalar değerlendirildiğinde; histolojik tipe göre hastalarda hepatomegali ve splenomegali saptanması açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Ancak tutulan bölge sayısına göre hastalarda hepatomegali ve/veya splenomegali bulunmasına bakıldığında; birden fazla bölge tutulumu olan hastalarda hepatomegali ve/veya splenomegali bulunması anlamlı oranda yüksekti ($p < 0.05$) (Tablo 6,7). Hastalarımızın histolojik tipe göre odak sayısı karşılaştırıldığında; hyalen vasküler varyantın yüksek oranda tek odakta olduğu saptandı ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.059$).

Tablo 6. Tutulum sayısına göre hepatomegali varlığı

			Tek odak	Çok odak	Toplam	P
Hepatomegali	Yok	Sayı	15	4	19	0.018
		%	100	66.7	90.5	
	Var	Sayı	0	2	2	
		%	0	33.3	9.5	
Toplam		Sayı	15	6	21	
		%	100	100	100	

Tablo 7. Tutulum sayısına göre splenomegali varlığı

			Tek odak	Çok odak	Toplam	P
Splenomegali	Yok	Sayı	14	2	16	0.005
		%	93.3	33.3	76.2	
	Var	Sayı	1	4	5	
		%	6.7	66.7	23.8	
Toplam		Sayı	15	6	21	
		%	100	100	100	

Tüm hastaların takip sürelerine bakıldığında 27 hastanın yaşam sürelerine ulaşılmış olup, ortalama yaşam süresi 75.26 ± 6.23 ay olarak saptandı, bu süre içinde 5 hasta kaybedildi (Şekil 5). Cerrahi uygulanan hasta sayısı 12 (%35.3), sadece kemoterapi alan hasta sayısı 8 (%23.5), radyoterapi veya radyoterapiye ek olarak kemoterapi alan hasta sayısı 6 (%17.6) olarak saptandı. 27 hastanın yaşam süreleri 0-3 yıl, 3-5 yıl ve 5 yıl üzeri olarak sınıflandı. 27 hastanın 9 tanesi 0-3 yıl arasında (%26.5), 10 tanesi 3-5 yıl arasında (%29.4), 8 tanesi ise 5 yıl üzerinde (%23.5) takip edildi. 26 hastanın tedavi kayıtlarına ulaşıldı. Hastaların aldıkları tedaviler; cerrahi, sadece kemoterapi ve radyoterapi veya radyoterapiye ek olarak kemoterapi olarak üç sınıfa ayrıldı (Tablo 8).

Tedavi grupları ile takip süreleri arasında anlamlı ilişki saptandı ($p=0.001$). Radyoterapi veya radyoterapiye ek olarak kemoterapi alan grubun tamamı 3-5 yıl arasında takip edilmiştir, Buna karşın KT tedavisi alan hastaların %62.5 i 0-3 yıl aralığında takip edilmiştir. (Tablo 8).

Tablo 8. Takip sürelerine (yıl) göre tedavilerin karşılaştırılması.

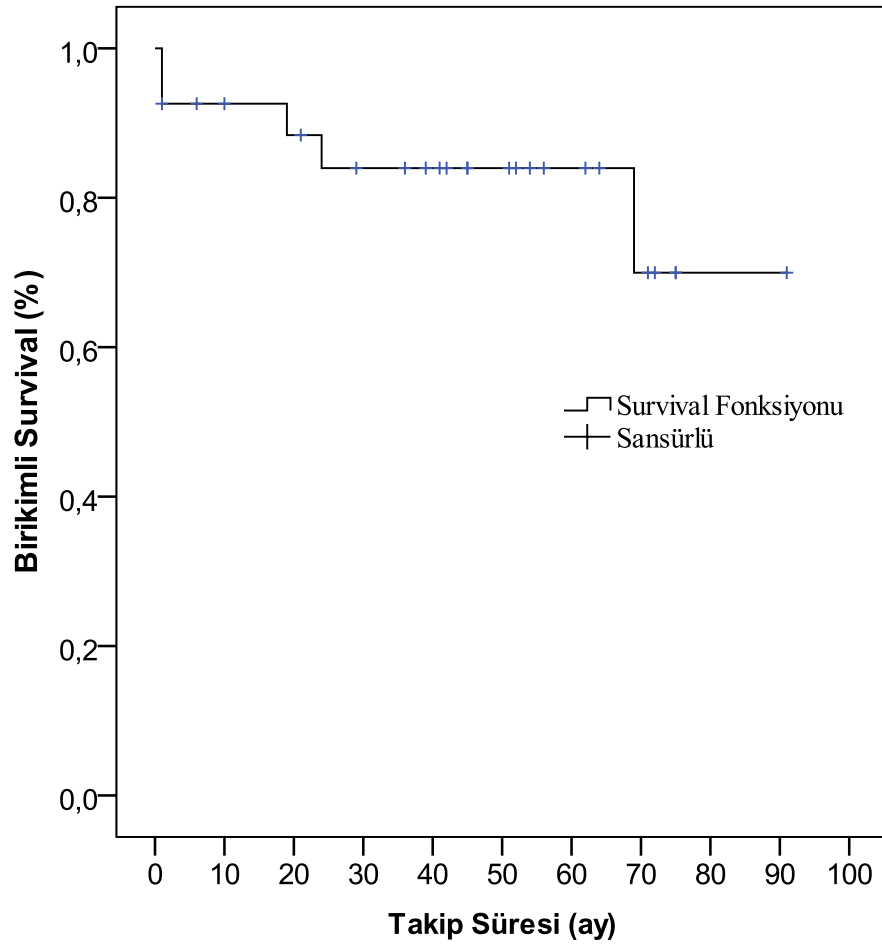
TAKİP ARALIĞI(YIL)		KT	KT+RT	Cerrahi	Toplam
0-3	Sayı	5 _a	0 _b	2 _{a, b}	7
	%	62.5	0	22.2	30.4
3-5	Sayı	1 _a	6 _b	2 _a	9
	%	12.5	100.0	22.2	39.1
5>	Sayı	2 _a	0 _a	5 _a	7
	%	25.0	0	55.6	30.4
Toplam	Sayı	8	6	9	23
	%	100	100	100	100

KT: sadece kemoterapi alan hastalar

KT+RT: radyoterapi veya radyoterapiye ek olarak kemoterapi alan hastalar

23 hastanın tedavi yanıtları değerlendirilmiş olup, hastaların 2'sinde (%8.7) tedaviye yanıt alınmadı. Altı'sında (% 26.1) tedaviye kısmi yanıt, 15'inde (%67.6) tedaviye tam yanıt alındı.

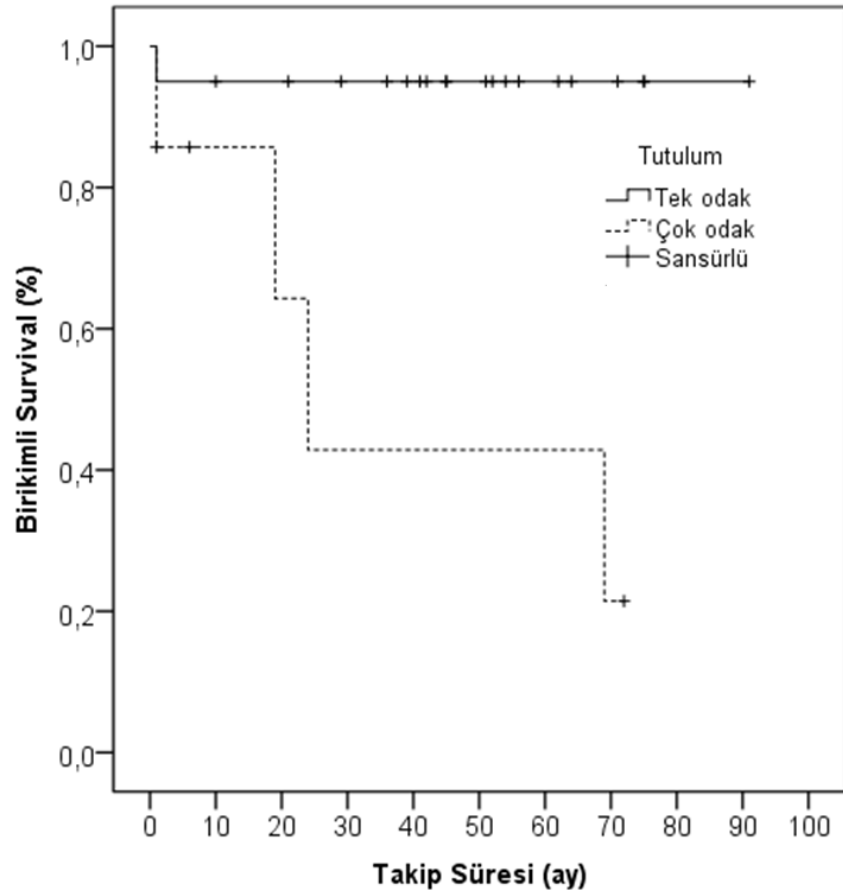
Tek bölge tutulumu olan hastaların ortalama yaşam süreleri 86.50 ± 4.386 ay, birden daha fazla bölge tutulumu olan hastaların ortalama yaşam süreleri 39.571 ± 12.102 ay olarak saptandı (Şekil 6). Tek bölge tutulumu olan grupta ortalama yaşam süresi anlamlı olarak yüksek bulundu ($P=0.003$) (Tablo 9) .



Şekil 5: Hastaların aylara göre yaşam süreleri (Kaplan-Meier Yöntemi).

Tablo 9. Tutulum sayısına göre yaşam süreleri

Tutulum	Ortalama				P
	Ortalama	Std.hata	% 95 Güven aralığı		
			Alt Sınır	Üst Sınır	
Tek bölge	86.500	4.386	77.903	95.097	0.003
Birden Fazla bölge	39.571	12.102	15.852	63.291	
Tümü	75.263	6.234	63.045	87.482	



Şekil 6 : Hastaların tutulum sayısına göre yaşam süreleri (Kaplan-Meier Yöntemi).

Histolojik tip ile tedaviye yanıt değerlendirildiğinde hiyalen vasküler varyanta tam yanıt ile plazma hücreli varyanta tam yanıt arasında düşük anlamlı bir ilişki gözlemlendi ($p=0.057$) (Tablo 10).

Tablo 10. Histolojik tip ve tedaviye yanıt ilişkisi

		Hiyalen Vasküler	Plazma Hücreli	Toplam	P
Yanıt yok	Sayı	0	1	1	
	%	0	12.5	4.8	
Kısmi yanıt	Sayı	2	4	6	
	%	15.4	50	28.6	
Tam yanıt	Sayı	11	3	14	0.057
	%	84.6	37.5	66.7	
Toplam	Sayı	13	8	21	
	%	100	100	100	

Histolojik tipe göre yaşam sürelerine bakıldığında. hiyalen vasküler varyantta ortalama yaşam süresi 85.706 ± 5.136 ay olarak, plazma hücreli varyantta ise 48.625 ± 11.019 ay olarak saptandı (Şekil 7). Hiyalen vasküler varyantta ortalama yaşam süresi plazma hücreli gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.013$) (Tablo 11).

Tablo 11. Histolojik tipe göre yaşam süreleri

Histolojik tip	Ortalama				P
	Ortalama	Std. Hata	% 95 Güven aralığı		
			Üst Sınır	Üst Sınır	
Hiyalen Vasküler	85.706	5.136	75.639	95.773	0.013
Plazma Hücreli	48.625	11.019	27.028	70.222	
Tümü	73.904	6.679	60.812	86.995	

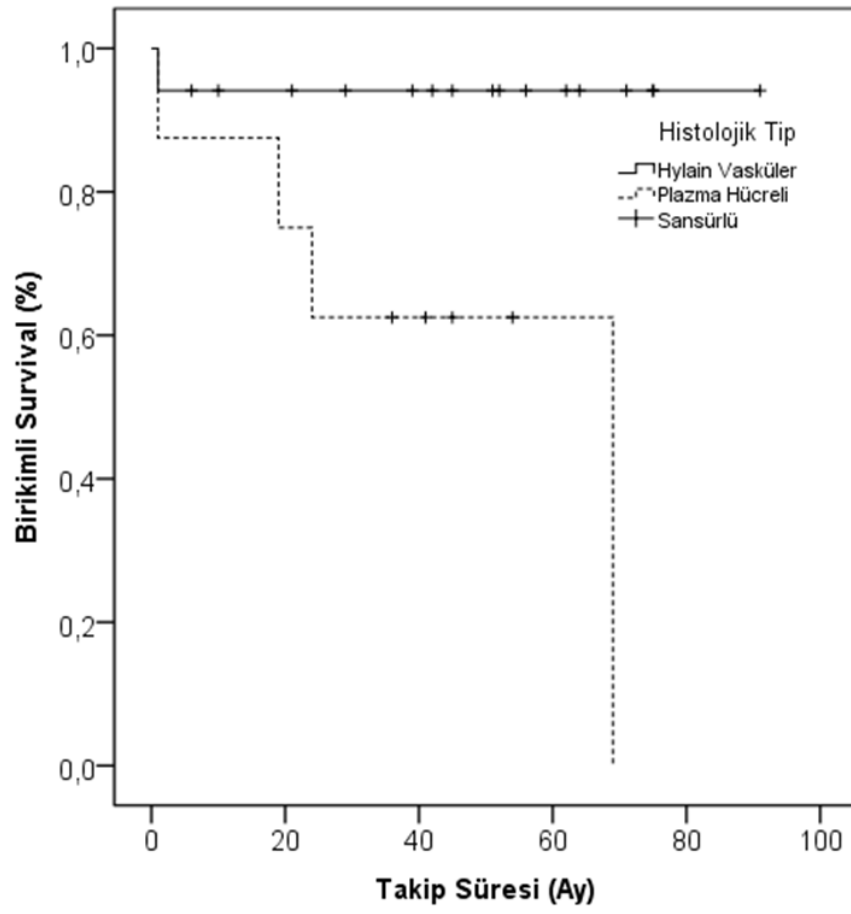
Tedavi tipi ile tedaviye yanıt değerlendirildiğinde cerrahi olan grupta tedaviye tam yanıt kemoterapi grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu($p=0.027$). Bu durum cerrahi olan grubun yüksek oranda tek bölge tutulumu olmasına bağlandı (Tablo 12).

Tablo 12. Tedaviye göre yanıtlar

YANIT		TEDAVİ			Toplam	P
		KT	KT+RT	Cerrahi		
Yanıt Yok	Sayı	2 _a	0 _a	0 _a	2	
	%	25	0	0	9.1	
Kısmi Yanıt	Sayı	3 _a	2 _a	0 _a	5	
	%	37.5	33.3	0	22.7	
Tam yanıt	Sayı	3 _a	4 _{a, b}	8 _b	15	0.027
	%	37.5	66.7	100	68.2	
Toplam	Sayı	8	6	8	22	
	%	100	100	100	100	
P>0.05 olan alt gruplar aynı harf ile gösterilmiştir.						

KT: sadece kemoterapi alan hastalar

KT+RT: radyoterapi veya radyoterapiye ek olarak kemoterapi alan hastalar



Şekil 7: Hastalığın histolojik tipine göre yaşam süreleri (Kaplan-Meier Yöntemi).

5. TARTIŞMA

Castleman Hastalığının patogenezi tam olarak anlaşılamamış olup, unisentrik Castleman Hastalığında interlökin 6'nın rolü, multisentrik Castleman Hastalığında ise hem interlökin 6 hem de HHV-8'in rolü tanımlanmıştır (5,7,10-12).

Mitojen aktive olmuş protein kinaz (MAPK) yolağının önemli komponentelerinden olan B-raf proteini, 7. kromozom üzerindeki BRAF geni tarafından eksprese edilir. Bu yolağın düzensizleşmesinde ve gen mutasyonlarında karsinom oluşumunda artış gözlenmiştir. BRAF mutasyonları malign melanom, kolorektal kanser, overyan karsinom, tiroid papiller karsinom ve tüylühücreli lösemide gösterilmiştir. Kanser oluşumunda rolü olduğu düşünülmektedir. (13-16).

Çalışmamızın ana amacı etyopatogenezi tam olarak anlaşılamamış bu hastalığın genetik mekanizmalarıyla ilgili bilgi edinmektir. Bu sayede yeni tedavi modaliteleri ve tanı metodu geliştirilebileceğini düşündük. Çalışmamızda farklı merkezlerde CH tanısı almış 34 hastanın doku örnekleri ve retrospektif olarak taranan bazı klinik özellikleri değerlendirilmiştir. Hastalarımızın doku örneklerinin hiçbirinde BRAF gen mutasyonu saptanmamıştır. Bu bulgu Castleman Hastalığının patogenezinde MAPK yolağı veya BRAF geninin rolü olmadığını düşündürmektedir. Ancak bu çalışma hastalığa ait bazı klinik, demografik ve laboratuvar özellikleri açısından değerlendirme yapmamıza olanak sağlamıştır.

CH histopatolojik olarak tutulan lenf nodu etkilenmesine göre hiyalen vasküler varyant, plazma hücreli varyant ve mikst varyant olarak sınıflanmıştır. Vakaların çoğunda hiyalen vasküler varyant görülmektedir (3). Bizim çalışmamızda da hastalarımızın % 75.2'sini hiyalen vasküler varyant oluşturmaktadır. CH ayrıca lenf nodu tutulumuna göre unisentrik CH ve multisentrik CH olarak sınıflanmıştır. Çoğu unisentrik CH vakasında hastalar asemptomatiktir veya sadece anemi saptanmıştır ve etkilenen lenf nodunun rezeksiyonu ile kür sağlanmıştır (73). Multisentrik CH'da ise anemi, hepatosplenomegali, genel kırgınlık, kilo kaybı, gece terlemeleri ve ateş gibi sistemik semptomlar vardır. Bu vakaların laboratuvar testlerinde artmış CRP seviyeleri,

poliklonal hipergammaglobulinemi, anemi, düşük albumin düzeyi ve hipokolestrolemi görülmektedir. Batı ülkelerinde özellikle HIV pozitif kişilerde HHV-8 enfeksiyonu multisentrik CH patogeneziyle ilişkili bulunmuş olup, bu hastalarda prognoz kötüdür (7,73). Multisentrik CH'da tedavi seçimi öncelikle hastaların HIV/HHV-8 durumuna dayanmaktadır (30). Bizim çalışmamıza katılan 34 hastanın sadece 5 tanesinde HHV-8 çalışılmış olup bunların sadece 2 tanesinde pozitif saptanmıştır. Bu 2 hasta anti-viral tedavi almış olup; yaşam süreleri 72 ve 69 ay olarak saptanmıştır. Hastalardan bir tanesi 72. ay sonunda kaybedilmiştir. İki hastada da hastalık birden fazla bölgede saptanmıştır. Çalışmamızda birden fazla bölgede tutulumu olan hastaların ortalama yaşam süresine bakıldığında iki hastanın da yaşam süreleri bu ortalamanın üzerindedir. Bu bulgu özellikle multisentrik CH tanısı almış HHV-8 pozitif hastalara anti-viral tedavi verilmesinin yaşam süresini uzatacağını düşündürmüştür. Ancak değerlendirme daha fazla HHV-8 pozitif hasta üzerinde yapılabilirse istatistiksel olarak daha kesin sonuçlar alınabilir.

CH %70 oranında toraksta görülmesine (74,75) rağmen çalışmamızda literatürün aksine hastalarda servikal bölge tutulumu daha yüksek oranda bulunmuştur. Hastalarımızın % 61.7'sinde servikal bölge tutulumu saptanmıştır. Bu bulgu hasta sayısının az olması ile açıklanabileceği gibi hastalığı başlatan tetikleyici etkenlerin de farklı olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca hastalığın farklı merkezlerde farklı lokasyon gösterebileceğini de düşündürmüştür. Hiyalen vasküler varyant unisentrik CH vakalarının çoğunluğunu oluşturmaktadır ve plazma hücreli varyant sıklıkla multisentrik CH ile karakterizedir (43). Klasik hiyalen vasküler varyant sadece tek lenf nodunu veya lokalize bir grup lenf nodunu tutarak prezente olur. Lokalize CH'da %71-%91 oranında hiyalen vasküler varyant saptanmıştır. Kabaca erkek ve kadın oranları yakındır. Ortaya çıkmasının median yaşı 4. Dekaddadır (2,3,76-78). Plazma hücreli varyant sıklıkla multisentrik CH ile ilişkili olup unisentrik tipte görülme oranı %9-24'tür (3,76,77). Plazma hücreli varyantın unisentrik formu hiyalen vasküler varyantın hasta popülasyonu ile benzer özelliktedir. Ancak unisentrik plazma hücreli varyant sıklıkla sistemik semptomlar ve anormal laboratuvar değerleriyle birliktedir (3,77,79). Plazma hücreli varyantta ateş, gece terlemesi, kırınglık, splenomegali, hipergammaglobulinemi, anemi ve trombositopeni en sık klinik bulgulardır (3,76,77). Bizim çalışmamızda hiyalen vasküler varyantta kadın erkek oranı 2:1 saptanmış ve

plazma hücreli varyantta erkek oranı % 87.5 saptanmış olup histolojik tip açısından değerlendirildiğinde plazma hücreli varyantın erkeklerde daha sık görüldüğü gösterilmiştir. Yine önemli bir bulgu olarak; yaş açısından hastalar değerlendirildiğinde plazma hücreli varyantın daha ileri yaşlarda ortaya çıktığı saptanmıştır. Çalışmamızda tedavi yanıtı açısından hiyalen vasküler varyant ile plazma hücreli varyant karşılaştırıldığında hiyalen vasküler varyanta tedaviye yanıtın daha iyi olduğuna dair zayıf anlamlı bir ilişki bulundu. Bunun nedeni hiyalen vasküler varyantta sistemik etkilerin daha az oranda görülmesi olabilir, çünkü hastalığın bu varyantı sıklıkla toraksta lokalize bir kitle olarak prezente olmaktadır (2,3,76,77). Hasta sayısı artırıldığı takdirde bu bulgu istatistiksel olarak daha anlamlı olabilir. Çalışmamızda istatistiksel analize alınmayan 2 miks varyantta da tutulum birden fazla bölgedeydi. Hastalardan birinde HHV-8 pozitif saptandı. Bu iki hastaya da kemoterapi uygulandı. Bu açıdan değerlendirildiğinde miks varyant tanısı almış olanlar plazma hücreli varyant gruba klinik olarak benzetilmektedir. Literatür ile benzer olarak (7,73) çalışmamızdaki birden fazla bölge tutulumuna sahip hastalarda tek bölge tutulumu olan hastalara göre hepatomegali ve splenomegali görülme sıklığı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla bulunmuştur. Hastalarımız retrospektif tarandığında yeterli immünglobulin tetkikine ulaşamadığımız için hipergammaglobulinemi açısından değerlendirilememiştir.

2012 yılında yapılan 404 yayınlanmış vakanın bulunduğu bir meta-analizde Castleman Hastalığının büyük oranda unisentrik (n:278) olduğu saptanmıştır. Hastaların sağ kalımlarına bakıldığında unisentrik hastalıkta sağ kalım anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (%95.5 vs. %61.1, $p<0.0001$). 3 yıllık ve 5 yıllık hastalıksız sağ kalımları unisentrik hastalarda daha yüksek bulunmuştur. Hastaların HIV ile ilişkisiz HHV-8 pozitifliğine bakıldığında 49 hastanın HHV-8 sonuçlarına ulaşılmış olup, bu hastaların 46 tanesinde (% 93.9) multisentirik hastalık saptanmıştır (21). Bizim çalışmamızda da hastalığın tek bölgeden fazla tutulumu olan hasta grubunda ortalama yaşam süresi çok bölge tutulumu olan hasta grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Histolojik tip ile yaşam süresi değerlendirildiğinde de hiyalen vasküler varyantta yaşam süresinin daha uzun olduğu bulundu. HHV-8 pozitif saptanan hastalarımızın 2'sinde de birden fazla odak tutulumu mevcuttur. Histopatolojik olarak bunlardan bir tanesi plazma hücreli varyant, diğeri ise mikst varyant saptandı. Hastalarımızın büyük kısmında HHV-

8 çalışılmamış olması hastaların tanı aldıkları dönemlerde HHV-8'in tanı aldıkları merkezlerde çalışamıyor olmasına bağlandı.

Seyoung Seo ve ark (80), yaptığı 32 multisentrik Castleman Hastalığının değerlendirildiği çalışmada median takip süresi 67 ay bulunmuştur. Aynı çalışmada median yaş 54 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada farklı olarak multisentrik CH'da histolojik tip olarak hiyalen vasküler varyant hastalık çoğunlukta bulunmuştur. Hiyalen vasküler varyantın multisentrik CH'da çok da nadir görülmediği gösterilmiştir. HIV açısından tetkik edilen hastaların tamamında negatif sonuç bulunmuştur. Büyük çoğunluğuna kemoterapi verilen hastalarda 5 yıllık toplam sağ kalım daha önceki çalışmalara göre daha olumlu sonuçlanmıştır. Ekstravasküler sıvı birikimi ve diyaframın iki tarafında da tutulum olan hastalarda prognoz daha kötü olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda tutulan bölge sayısı ile yaş arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Odak sayısına bakıldığında ise hiyalen vasküler varyantın büyük oranda tek bölgede saptandığı görüldü, ancak istatistiksel olarak plazma hücreli varyanta göre fark saptanmadı. Seyoung Seo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer şekilde bizim çalışmamızda da tek bölge tutulumu olan hastalarda ortalama yaşam süresi çok bölge tutulumuna göre daha yüksek bulundu. Çalışmamızda tedavilere göre sağ kalımlara bakıldığında 3 yıllık sağ kalım kemoterapi alan gruba göre sadece radyoterapi veya ek olarak kemoterapi alan grupta (n:6) anlamlı olarak yüksek bulundu. Bu 6 hastanın 3'ünde tek bölge tutulumu mevcuttu ve 2 hasta sadece radyoterapi almıştı. Bu bulgu özellikle multisentrik vakalarda kemoterapiye ek olarak radyoterapi de uygulanabileceğini düşündürdü. Ancak bildiğimiz üzere unisentrik CH'da radyoterapi uygulanabildiği ve sağ kalımı daha iyi olduğu göz önüne alınınca (21,29); çalışmamızda tedavi kayıtlarına ulaşılan hasta sayısı azlığı ve sadece radyoterapi alan grubun tek bölgede hastalığı olması nedeniyle sonuç bu şekilde çıkmış olabilir. Yanıt açısından bakıldığında; çalışmamızda tedaviye tam yanıt cerrahi olan grupta diğer gruplara göre anlamlı oranda yüksek bulundu. Bu bulgu cerrahi olan grubun tek bölgede hastalık tutulumu olan vakalardan oluşmasına bağlandı.

Luo ve arkadaşlarının (81) yakın zamanda intratorasik Castleman Hastalığını değerlendirdiği 48 hastalık bir çalışmada benzer şekilde literatürden farklı olarak hastaların çoğunluğu multisentrik CH olarak tanı almıştır. Unisentrik CH yaşlarının daha genç olduğu saptanmıştır, multisentrik CH'de semptomların daha fazla olduğu ve

hepatomegali ve/veya splenomegalinin daha sık saptandığı gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde bu hastalarda da HHV-8 çalışmamıştır. Unisentrik CH ve multisentrik CH arasında cinsiyet farkı saptanmamıştır. Benzer şekilde çalışmamızda tutulan bölge sayısı açısından cinsiyet farkı saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda bölge sayısı ile yaş arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ancak Luo ve arkadaşlarının çalışmasına benzer olarak hepatomegali veya splenomegali görülme sıklığı çok bölge tutulumu olan hasta grubunda anlamı olarak artmıştır. Bu sonuçlar ile unisentrik veya multisentrik hastalığın görülme sıklığının bölgeye veya merkeze göre değişmekte olduğu düşünüldü.

Kawabata H. ve arkadaşlarının (82) 21 multisentrik CH bulunan retrospektif çalışmada hastalılık karakteristiklerinin batı ülkelerine göre farklı olduğu bulunmuştur. Çalışma süresince bakılan hastaların sadece 3 tanesinde unisentrik CH saptanmıştır. Medyan yaş 46 bulunmuştur. 21 hastanın tamamı HIV açısından negatif bulunmuştur. Anemi hastalarda en sık bulgu olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da ortalama yaş 42 saptanmıştır. Ancak histopatolojik tip göz önüne alındığında çalışmamızda plazma hücreli varyant olanlarda ileri yaşta görülme sıklığı daha fazla bulunmuştur. Çalışmamızda ortalama hemoglobin düzeyi 12.5 saptanmıştır. Patolojik tip veya odak sayısı ile anemi varlığı açısından anlamlı ilişki bulunmamıştır. Benzer şekilde çalışmamızda batı ülkelerinin aksine HIV pozitifliği görülmemiştir. Bu açıdan bakıldığında uzak doğu ile benzer özellik taşımaktadır. Son zamanlarda yapılan başka bir çalışmada 33 CH tanısı alan vaka değerlendirilmiş, hastaların %39'unda anemi saptanmıştır. Multisentrik CH olan vakalarda anemi varlığı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (83). Bizim çalışmamızda birden fazla bölge tutulumu olan hastaların sadece 7 tanesi anemi açısından değerlendirilebilmiş olup ortalama Hgb 11.88 ± 3.23 bulunmuştur. Tek bölge tutulumu ile arasında anemi açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak daha geniş hasta grubunda yapılabilirse sonuçların farklı çıkabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak yaptığımız çalışma Castleman Hastalığı ile ilgili ülkemizde yapılan en kapsamlı çalışma olup bazı epidemiyolojik faktörler açısından fikir sahibi olmamızı sağlamış ve bazı klinik özellikleri daha kapsamlı değerlendirmemize yardımcı olmuştur. Histopatolojik tip sıklığı, klinik tip ve yaşam süreleri açısından literatürle uyumlu görülmektedir, ancak hastalık tutulum bölgesi, HIV enfeksiyonu pozitifliği,

histopatolojik tipin görülme yaşı ve cinsiyetlere göre görülme sıklığı açısından farklı sonuçlar bulunmuştur.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamız nadir görülen bir lenfoproliferatif hastalık olan Castleman Hastalığı ile ilgili ülkemizde yapılan en kapsamlı çalışma olup hastalığın etiyolojik temeline yönelik birçok solid organ malignitesi ve bazı hematolojik malignitelerde saptanan BRAF mutasyon sıklığı açısından yapılmıştır. BRAF gen mutasyonu saptanmamasına karşın çalışmamızdaki hastaların epidemiyolojik ve bazı klinik özellikleri değerlendirilmiştir.

Hastalığı histolojik tipine göre değerlendirdiğimizde hiyalen vasküler varyant daha sık görülmektedir. Plazma hücreli varyant ileri yaşta ve erkeklerde daha sık görülmektedir. Hastalık ile HIV pozitifliği arasında ilişki bulunmamıştır. Topladığımız vakalarda hastalık sıklıkla servikal bölgede prezente olmaktadır. Sedimentasyon ve CRP gibi akut faz yanıt yüksekliği plazma hücreli varyantta, hepatomegali ve/veya splenomegali gibi bulgular çok odak tutulumu olan hastalarda daha yüksek bulundu. Hiyalen vasküler varyant veya tek odaklı hastalıkta ortalama yaşam süresi daha yüksek bulundu. Tedavi açısından cerrahi yapılan hastalarda kemoterapiye göre daha iyi yanıt gözlemlendi, ancak hasta sayısı az olduğu için tedavi türleri, klinik ve histopatolojik olarak ayrı ayrı değerlendirilemediğinden bu sonucun ortaya çıktığı düşünüldü.

Çalışmamızdaki hasta sayısı az olduğu ve hastaların takip edildiği dönemde yapılabilen tetkiklerin kısıtlı olduğu göz önüne alındığında daha geniş gruplarla yapılacak yeni çalışmalar hastalığın bazı klinik ve epidemiyolojik özellikleri açısından daha kesin sonuçlar verebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Castleman B, Towne VW. Case records of the Massachusetts General Hospital; weekly clinicopathological exercises; founded by Richard C. Cabot. N Engl J Med. 1954;251(10):396-400.
2. Castleman B, Iverson L, Menendez VP. Localized mediastinal lymphnode hyperplasia resembling thymoma. Cancer. 1956; 9(4):822-30.
3. Keller AR, Hochholzer L, Castleman B: Hyaline-vascular and plasma-cell types of giant lymph node hyperplasia of the mediastinum and other locations. Cancer. 1972; 29:670-83.
4. Gaba AR, Stein RS, Sweet DL, et al. Multicentric giant lymph node hyperplasia. Am J Clin Pathol. 1978;69(1):86-90.
5. Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. Science. 1994;266(5192):1865-69.
6. Lachant NA, Sun NCJ, Leong LA, et al. Multicentric angiofollicular lymph node hyperplasia (Castleman's disease) followed by Kaposi's sarcoma in two homosexual males with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Am J Clin Pathol. 1985;83(1):27-33.
7. Soulier J, Grollet L, Oksenhendler E, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in multicentric Castleman's disease. Blood. 1995;86(4):1276-80.
8. Aoki Y, Tosato G, Fonville T, et al. Serum viral interleukin-6 in AIDS-related multicentric Castleman disease. Blood. 2001;97(8):2526-27.

9. Casper C, Nichols WG, Huang ML, et al. Remission of HHV-8 and HIV-associated multicentric Castleman disease with ganciclovir treatment. *Blood*. 2004;103(5):1632-34.
10. An J, Lichtenstein AK, Brent G, et al. The Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) induces cellular interleukin 6 expression: role of the KSHV latency-associated nuclear antigen and the AP1 response element. *Blood*. 2002;99(2):649-54.
11. Keller SA, Hernandez-Hopkins D, Vider J, et al. NF-kappaB is essential for the progression of KSHV- and EBV-infected lymphomas in vivo. *Blood*. 2006;107(8):3295-3302.
12. Polizzotto MN, Uldrick TS, Wang V, et al. Human and viral interleukin-6 and other cytokines in Kaposi sarcoma herpesvirus-associated multicentric Castleman disease. *Blood*. 2013;122(26):4189-98.
13. Mascaux C, Iannino N, Martin B, et al. The role of RAS oncogene in survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Br. J. Cancer*. 2006;92:pp. 131–39.
14. Dergham ST, Dugan MC, Kucway R, et al. Prevalence and clinical significance of combined K-ras mutation and p53 aberration in pancreatic adenocarcinoma. *Int. J. Pancreatol*. 1997;21:pp. 127–43.
15. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002; 417:949–54.
16. Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med*. 2011; 364: 2305-15.
17. Brown JR, Aster JC, Munshi NC. Unicentric Castleman's disease. UpToDate. 2015. Available at: http://www.uptodate.com/contents/unicentric-castlemans-disease?source=related_link. Accessed August 8, 2015.

18. Yoshizaki K, Matsuda T, Nishimoto N, et al. Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castleman's disease. *Blood*. 1989;74, 1360-67
19. Frizzera G. Atypical lymphoproliferative disorders. In: Knowles DM, ed. *Neoplastic Hematopathology*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:595.
20. Leger-Ravet MB, Peuchmaur M, Devergne O, et al. Interleukin-6 gene expression in Castleman's disease. *Blood*. 1991;78(11):2923-30.
21. Talat N, Belgaumkar AP, Schulte K-M. Surgery in Castleman's disease: a systematic review of 404 published cases. *Ann Surg*. 2012;255(4):677-84.
22. Jongsma TEF, Verburg RJ, Geelhoed-Duijvestijn PHLM. Castleman's disease: A rare lymphoproliferative disorder. *Eur J Intern Med*. 2007;18(2):87-89.
23. Madan R, Chen J-H, Trotman-Dickenson B, et al. The spectrum of Castleman's disease: Mimics, radiologic pathologic correlation and role of imaging in patient management. *Eur J Radiol*. 2012;81(1):123-31.
24. Soulier J, Grollet L, Oksenhendler E, et al. Molecular analysis of clonality in Castleman's disease. *Blood*. 1995;86(3):1131-38.
25. Radaszkiewicz T, Hansmann ML, Lennert K. Monoclonality and polyclonality of plasma cells in Castleman's disease of the plasma cell variant. *Histopathology*. 1989;14(1):11-24.
26. Dupin N, Diss TL, Kellam P, et al. HHV-8 is associated with a plasmablastic variant of Castleman disease that is linked to HHV-8-positive plasmablastic lymphoma. *Blood*. 2000;95(4):1406-12.

27. Du MQ, Liu H, Diss TC, et al. Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infects monotypic (IgM λ) but polyclonal naive B cells in Castleman disease and associated lymphoproliferative disorders. *Blood*. 2001;97(7):2130-36.
28. Estephan FF, Elghetany MT, Berry M, et al. Complete remission with anti-CD20 therapy for unicentric, non-HIV-associated, hyaline-vascular type, Castleman's disease. *Cancer investigation*. 2005; 23, 191.
29. Chronowski GM, Ha CS, Wilder RB, et al. Treatment of unicentric and multicentric Castleman disease and the role of radiotherapy. *Cancer*. 2001;92(3):670-76.
30. Aster JC, Brown JR, Munshi NC. Multicentric Castleman's disease. UpToDate. 2015. Available at: <http://www.uptodate.com/contents/multicentric-castleman-s-disease#H26>. Accessed August 4, 2015.
31. Moore PS, Chang Y. Detection of herpesvirus-like DNA sequences in Kaposi's sarcoma in patients with and without HIV infection. *N Engl J Med*. 1995;332(18):1181-85.
32. Gessain A, Sudaka A, Brière J, et al. Kaposi sarcoma-associated herpes-like virus (human herpesvirus type 8) DNA sequences in multicentric Castleman's disease: is there any relevant association in non-human immunodeficiency virus-infected patients? *Blood*. 1996;87(1):414-16.
33. Brandt SJ, Bodine DM, Dunbar CE, et al. Dysregulated interleukin 6 expression produces a syndrome resembling Castleman's disease in mice. *J Clin Invest*. 1990;86(2):592-99.
34. Powles T, Stebbing J, Bazeos A, et al. The role of immune suppression and HHV-8 in the increasing incidence of HIV-associated multicentric Castleman's disease. *Ann Oncol*. 2009;20(4):775-79.

35. Shin D-Y, Jeon YK, Hong Y-S, et al. Clinical dissection of multicentric Castleman disease. *Leuk Lymphoma*. 2011;52(8):1517-1522.
36. Bower M, Newsom-Davis T, Naresh K, et al. Clinical features and outcome in HIV-associated multicentric Castleman's disease. *J Clin Oncol*. 2011;29(18):2481-86.
37. Mylona EE, Baraboutis IG, Lekakis LJ, et al. Multicentric Castleman's disease in HIV infection: A systematic review of the literature. *AIDS Rev*. 2008;10(1):25-35.
38. Bower M, Powles T, Williams S, et al. Brief communication: Rituximab in HIV-associated multicentric Castleman disease. *Ann Intern Med*. 2007;147(12):836-39.
39. Guihot A, Couderc L-J, Rivaud E, et al. Thoracic radiographic and CT findings of multicentric Castleman disease in HIV-infected patients. *J Thorac Imaging*. 2007;22(2):207-11.
40. Oksenhendler E, Duarte M, Soulier J, et al. Multicentric Castleman's disease in HIV infection: a clinical and pathological study of 20 patients. *AIDS*. 1996;10(1):61-67.
41. Scott D, Cabral L, Harrington WJ Jr. Treatment of HIV-associated multicentric Castleman's disease with oral etoposide. *Am J Hematol*. 2001; 66:148-50.
42. Oksenhendler E, Carcelain G, Aoki Y, et al. High levels of human herpesvirus 8 viral load, human interleukin-6, interleukin-10, and C reactive protein correlate with exacerbation of multicentric castleman disease in HIV-infected patients. *Blood*. 2000; 96(6):2069-73.

43. Herrada J, Cabanillas F, Rice L, et al. The clinical behavior of localized and multicentric Castleman disease. *Ann Intern Med.* 1998;128(8):657-62.
44. Frizzera G, Peterson BA, Bayrd ED, et al. A systemic lymphoproliferative disorder with morphologic features of Castleman's disease: clinical findings and clinicopathologic correlations in 15 patients. *J Clin Oncol.* 1985; 3:1202-16.
45. Weisenburger DD, Nathwani BN, Winberg CD, et al. Multicentric angiofollicular lymph node hyperplasia: a clinicopathologic study of 16 cases. *Hum Pathol.* 1985; 16:162-72.
46. Hess G, Wagner V, Kreft A, et al. Effects of bortezomib on pro-inflammatory cytokine levels and transfusion dependency in a patient with multicentric Castleman disease. *Br J Haematol.* 2006; 134:544-45.
47. Yuan ZG, Dun XY, Li YH, et al. Treatment of multicentric Castleman's Disease accompanying multiple myeloma with bortezomib: a case report. *J Hematol Oncol.* 2009; 2:19.
48. Sobas MA, Alonso Vence N, Diaz Arias J, et al. Efficacy of bortezomib in refractory form of multicentric Castleman disease associated to pooms syndrome (MCD-POEMS variant). *Ann Hematol.* 2010; 89:217-19.
49. Wang X, Ye S, Xiong C, et al. Successful treatment with bortezomib and thalidomide for POEMS syndrome associated with multicentric mixed-type Castleman's disease. *Jpn J Clin Oncol.* 2011; 41:1221-24.
50. Sbenghe MM, Besa E, Mahipal A, et al. HHV-8-associated multicentric Castleman's disease in HIV-negative patient: a novel therapy for an orphan disease. *Oncologist.* 2012; 17:145.

51. Repetto L, Jaiprakash MP, Selby PJ, et al. Aggressive angiofollicular lymph node hyperplasia (Castleman's disease) treated with high dose melphalan and autologous bone marrow transplantation. *Hematol Oncol.* 1986; 4:213.
52. Advani R, Warnke R, Rosenberg S. Treatment of multicentric Castleman's disease complicated by the development of non-Hodgkin's lymphoma with high-dose chemotherapy and autologous peripheral stem-cell support. *Ann Oncol.* 1999; 10:1207.
53. Ganti AK, Pipinos I, Culcea E, et al. Successful hematopoietic stem-cell transplantation in multicentric Castleman disease complicated by POEMS syndrome. *Am J Hematol.* 2005; 79:206.
54. Maslovsky I, Uriev L, Lugassy G. The heterogeneity of Castleman disease: report of five cases and review of the literature. *Am J Med Sci.* 2000; 320:292.
55. Kessler E. Multicentric giant lymph node hyperplasia. A report of seven cases. *Cancer.* 1985; 56:2446.
56. Peyssonnaud, C. & Eyche`ne, A. The Raf/MEK/ERK pathway: new concepts of activation. *Biol. Cell.* 2001 93,53–62.
57. Yoon S, Seger R. The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors.* 2006;24:21–44.
58. Kolch W. Meaningful relationships: The regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. *Biochem J.* 2000; 351:289-305
59. C Hsu CY, Bristow R, Cha MS, et al. Characterization of active mitogen-activated protein kinase in ovarian serous carcinomas. *Clin. Cancer Res.* 2004;10:pp. 6432–36.

60. Avruch, J. A, Khokhlatchev A, Kyriakis JM, et al. Ras activation of the Raf kinase: tyrosine kinase recruitment of the MAP kinase cascade. *Recent Prog. Horm. Res.* 2001; 56, 127–55.
61. Greco A, Pierotti MA, Bongarzone I, et al. TRK-T1 is a novel oncogene formed by the fusion of TPR and TRK genes in human papillary thyroid carcinomas. *Oncogene.* 1992; 7:237–42
62. Pratilas CA, Solit DB. Targeting the mitogen activated protein kinase pathway: physiological feedback and drug response. *Clin Cancer Res.* 2010;16:3329-34
63. Bhaijee F, Nikiforov E. Molecular Analysis of Thyroid Tumors. *Endocr Pathol.* 22(3):126-33.
64. Minoo P, Moyer MP, Jass JR. Role of BRAF-V600E in the serrated pathway of colorectal tumourigenesis. *J Pathol.* 2007;212:124-33.
65. Hagan S, Orr MC, Doyle B. Targeted therapies in colorectal cancer-an integrative view by PPPM. *EPMA J.* 2013;4(1):3
66. Schindler G, Capper D, Meyer J, et al. Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytomas, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol.* 2011; 121: 397-405
67. Tannapfel A, Sommerer F, Benicke M, et al. Mutations of the BRAF gene in cholangiocarcinoma but not in hepatocellular carcinoma. *Gut.* 2003; 52:706-12
68. Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol.* 2011; 29:3574-79
69. Badalian-Very,G., Vergilio,J.A., Degar,B.A, et al. Recurrent BRAF mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood.* 2010; 116, 1919-23.

70. Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, et al. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J ClinEndocrinolMetab*. 2003; 88: 5399-5404.
71. Wang XJ, Kim A, Li S. Immunohistochemical analysis using a BRAF V600E mutation specific antibody is highly sensitive and specific for the diagnosis of hairy cell leukemia. *Int J ClinExpPathol*. 2014;7(7):4323-8
72. Chapman P, et al. Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation. *N Engl J Med*. 2011; 364:2507-16
73. Bowne WB, Lewis JJ, Filippa DA, et al.: The management of unicentric and multicentric Castleman's disease : A report of 16 cases and a review of the literature. *Cancer*. 1999;85:706-17,
74. Kim JH, Jun TG, Sung SW, et al. Giant lymph node hyperplasia (Castleman's disease) in the chest. *Ann Thorac Surg*. 1995;59:1162–5.
75. Ko SF, Wan YL, Ng SH, et al. Imaging features of atypical thoracic Castleman disease. *Clin Imaging*. 2004;28:280–5.
76. Menke DM, Camoriano JK, Banks PM. Angiofollicular lymph node hyperplasia: a comparison of unicentric, multicentric, hyaline vascular, and plasma cell types of disease by morphometric and clinical analysis. *Mod Pathol*. 1992;5: 525–530.
77. Frizzera G. Castleman's disease and related disorders. *Semin Diagn Pathol*. 1988;5:346–64.
78. Martin JM, Bell B, Ruether BA. Giant lymph node hyperplasia (Castleman's disease) of hyaline vascular type. Clinical heterogeneity with immunohistologic uniformity. *Am J Clin Pathol*. 1985;84:439–46.
79. Flendrig JA, Schillings PHM. Benign giant lymphoma: the clinical signs and symptoms. *Folia Med Neerl*. 1969;12:119–20

80. Seo S, Yoo C, Yoon DH, et al. Clinical features and outcomes in patients with human immunodeficiency virus negative, multicentric Castleman's disease: a single medical center experience. *Blood*. 2014;49(4):253-8.

81. Luo JM, Li S, Huang H, et al. Clinical spectrum of intrathoracic Castleman disease: a retrospective analysis of 48 cases in a single Chinese Hospital. *BMC pulm Med*. 2015;15(1):34.

82. Kawabata H, Kadowaki N, Nishikori M, et al. Clinical features and treatment of multicentric castleman's disease: a retrospective study of 21 Japanese patients at a single institute. *J Clin Exp Hematop*. 2013;53(1):69-77.

83. Sun DP, Wang L, Zhang R, et al. Clinical Analysis of Anemia in Castleman Disease. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2015;23(3):696-701.

8. EKLER

Ek:1- Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Castleman Hastalığında BRAF Gen Mutasyon Sıklığının Saptanması
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	341

ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimler Fakültesi 2. Kat Şehitkamil/Gaziantep
	TELEFON	0342 360 07 53 / 77704
	FAKS	0342 360 39 27
	E-POSTA	gaunetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Mehmet Yılmaz
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Hematoloji BD
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji BD
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	
	DESTEKLEYİCİ	
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 ☐
		FAZ 2 ☐
		FAZ 3 ☐
		FAZ 4 ☐
		Gözlemsel ilaç çalışması ☐
		Tıbbi cihaz klinik araştırması ☐
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları ☐
		İlaç dışı klinik araştırma ☒
		Diger ise belirtiniz
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐ ÇOK MERKEZLİ ☒ ULUSAL ☒ ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	ILAN	☐		

Etik Kurul Başkanının

Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Belgin ALAŞEHİRLİ

İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Castleman Hastalığında BRAF Gen Mutasyon Sıklığının Saptanması
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	341

KARAR BİLGİLERİ	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	
	Karar No: 2014/341	Tarih: 10.11.2014	
Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr.Belgin ALAŞEHİRLİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr.Belgin ALAŞEHİRLİ	FARMAKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K x ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr.Ercan SIVASLI	PEDİATRİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E x ☐ K ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Prof.Dr. Mehmet KESKİN	PEDİATRİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E x ☐ K ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr.Feridun IŞIK	GÖĞÜS CERRAHI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E x ☐ K ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Prof. .Dr. İlker SEÇKİNER	ÜROLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E x ☐ K ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Ramazan BAL	FİZYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E x ☐ K ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Bünyamin KISACIK	İÇ HASTALIKLARI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E x ☐ K ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Doç.Dr.Yasemin ZER	MİKROBİYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K x ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Doç. Dr. Kemal ÜSTÜN	DIŞ HEKİMLİĞİ	Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E x ☐ K ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Doç.Dr.Seval KUL	BİYİSTATİSTİK	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K x ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Uzm.Dr. Cahide Elif ORHAN	FARMAKOLOJİ	Gaziantep İl Sağlık Müdürlüğü	E ☐ K x ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Eyüp ÇELİK	AVUKAT	Gaziantep Barosu	Ex ☐ K ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	
Baha Günhan GÜNGÖRDÜ	İNŞ.MÜH (sivil Üye)	GASKİ	E x ☐ K ☐	E ☐ H x ☐	E ☐ H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr.Belgin ALAŞEHİRLİ
İmza:



Elden Teslim Aldım.
Dr. Solih SIVASLI



Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.