










SARKOM PATOGENEZİNDE ETKİLİ OLABİLECEK YENİ ADAY GENLERİN ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF NEW CANDIDATE GENES IN THE PATHOGENESIS OF SARCOMAS

Demet AKDENİZ ÖDEMiŞ¹ , Rejin KEBUDİ² , Fazilet YILDIZ ÖZDENOĞLU³ , Betül ÇELİK¹ ,
Şeref Buğra TUNÇER¹ , Seda KILIÇ ERCİYAS¹ , Özge ŞÜKRÜOĞLU ERDOĞAN¹ ,
Sema BÜYÜKKAPU BAY² , Hülya YAZICI⁴ 

¹İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Okan Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, İstanbul, Türkiye

⁴İstanbul Arel Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID ID: D.A.Ö. 0000-0002-2271-8481; R.K. 2-0000-0003-4344-8174; F.Y.Ö. 3-0000-0003-3988-0036; B.Ç. 0000-0001-5877-8753; Ş.B.T. 0000-0001-8023-3223; S.K.E. 0000-0003-4417-4005; Ö.Ş.E. 7-0000-0002-0893-1251; S.B.B. 0000-0002-2539-4662; H.Y. 0000-0002-8919-0482

Atf/Citation: Akdeniz Odemis D, Kebudi R, Yildiz Ozdenoglu F, Celik B, Tuncer SB, Kilic Erciyas S, et al. Sarkom patogenezinde etkili olabilecek yeni aday genlerin araştırılması. Journal of Advanced Research in Health Sciences 2023;6(1):23-32. <https://doi.org/10.26650/JARHS2023-1152477>

Öz

Amaç: Sarkomlar, yağ, kas, kan damarları, sinir, derin cilt dokuları ile fibröz dokular dahil olmak üzere kemiklerde ve yumuşak dokularda gelişen nadir kanserlerdir. Kişinin sarkom geliştirme riskini artırabilecek genetik yatkınlık, radyoterapi öyküsü ve kimyasal maruziyet gibi bazı faktörler olmasına rağmen, çoğu sarkomun bilinen bir nedeni yoktur ve günümüzde genetik temeli tam olarak aydınlatılmamıştır.

Gereç ve Yöntem: Ailesinde çeşitli sarkom tanıları bulunan yüksek risk taşıdığı düşünülen 2 farklı ailede seçilmiş hastalarda hastalığın hangi gen ya da genler aracılığı ile geliştiğini belirlemek amacıyla tüm ekzom dizileme (WES) işlemi yapılmıştır.

Bulgular: Çalışma sonunda ilk ailede patojenik kaydı bulunan toplam 17 varyant tanımlanırken bu varyantlardan *KLKB1*, *IRGM*, *PRSS1*, *MBL2*, *PTPRJ*, *FGFR4* ve *SLC34A3* olmak üzere 7 farklı gene ait toplam 8 patojenik varyant çeşitli kanser riskleri ile ilişkilendirilmiştir. İkinci ailede ise *FGFR4*, *MBL2*, *MUTYH*, *NQO1* olmak üzere 4 farklı gene ait 4 patojenik varyant tanımlanmıştır.

Sonuç: Sarkom açısından yüksek risk taşıyan kişilerin incelenmesi ve hastalık ile ilişkili olabilecek genlerin bulunması ile gerek hastaların gerekse riskli aile bireylerinin takip protokolüne önemli katkılar sağlanmıştır. Ayrıca çıkan sonuçlar doğrultusunda ailelerde yapılmış risk analizi sonrası kanser yatkınlığı olan aile bireyleri seçilmiş ve erken tanı avantajı sağlanabilmesi için gerekli tetkik ve taramalar önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler: sarkom, genetik, gen mutasyonu, tüm ekzom dizileme

ABSTRACT

Objective: Sarcomas are rare cancers that develop in the bones and soft tissues, including fat, muscles, blood vessels, nerves, deep skin tissues, and fibrous tissues. Most sarcomas have no known cause although there are several factors that can increase a person's risk of developing sarcoma, such as genetic predisposition due to the family history, previous history of radiation therapy, chemical exposure, and long-term swelling. The causes and genetic basis of sarcomas are not fully elucidated.

Materials and Methods: Whole-exome sequencing (WES) was performed in patients selected from 2 different families, who were thought to be at high risk, with various sarcoma diagnoses in their families, to determine which gene or genes caused the disease.

Results: At the end of the study, a total of 17 variants with a pathogenic record in the first family were identified, while a total of 8 pathogenic variants belonging to 7 different genes, including *KLKB1*, *IRGM*, *PRSS1*, *MBL2*, *PTPRJ*, *FGFR4* and *SLC34A3*, were associated with various cancer risks. In the second family, 4 pathogenic variants belonging to 4 different genes, namely *FGFR4*, *MBL2*, *MUTYH*, and *NQO1*, have been identified.

Conclusion: The examination of people at high risk for sarcoma and the discovery of genes that may be associated with the disease made important contributions to the follow-up protocol of both patients and risky family members. In addition, according to the results obtained, family members with cancer predisposition were selected after the risk analysis made in the families, and the necessary tests and screenings were recommended in order to provide the advantage of early diagnosis.

Keywords: sarcoma, genetics, gene mutation, whole exome sequencing

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hülya YAZICI E-mail: hulyayazici67@gmail.com

Başvuru/Submitted: 02.08.2022 • Revizyon Talebi/Revision Requested: 05.08.2022 • Son Revizyon/Last Revision Received: 21.12.2022 • Kabul/Accepted: 16.12.2022 • Online Yayın/Published Online: 15.02.2023



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

GİRİŞ

Kanser, yıllar içerisinde bir hücrede farklı genetik değişikliklerin birikmesinden kaynaklandığı bilinen habis bir hastalıktır. Bu değişiklikler, sonuçta diğer dokuları istila edebilen anormal hücre çoğalmasına ve klonal genişlemeye yol açar (1).

Tümör gelişimine neden olan çok sayıda gen tanımlanmıştır ve bu genler tümör baskılayıcı genler, proto-onkogenler ve genom stabilitesinde yer alan genler olmak üzere 3 farklı kategoride sınıflandırılmıştır. Tümör baskılayıcı genler hücre çoğalmasını kontrol eder, hücre döngüsünün ilerlemesini inhibe eder veya apoptozu indükler. Genellikle, genin tek bir fonksiyonel kopyası kanser gelişmesi için yeterlidir. Her iki allelin inaktivasyonu, kontrolsüz çoğalmaya izin verir ve böylece tümör gelişimine katkıda bulunur. Aksine, proto-onkogenler hücre çoğalmasını teşvik eder ve mutasyonlar sonucunda kalıcı olarak aktive olduklarında tümörün ilerlemesini sağlar. Bu durumda, tek bir alleldeki mutasyonlar kontrolsüz çoğalma için yeterlidir. DNA stabilitesine dahil olan genler, hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde doğrudan bir rol oynamaz, ancak bu genlerdeki disfonksiyon, artan mutasyon sayısına ve dolayısıyla tümör gelişim olasılığının artmasına katkıda bulunur (2).

Sarkomlar, yağ, kas, kan damarları, sinir, derin cilt dokuları ile fibröz dokular dahil olmak üzere kemiklerde ve yumuşak dokularda gelişen nadir kanserlerdir. Sarkomlar, vücutta nerede geliştiklerine bağlı olarak yumuşak doku veya kemik sarkomları olarak sınıflandırılır. Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsüne göre, ABD'de her yıl yaklaşık 12.000 yumuşak doku sarkomu vakası ve 900 kemik sarkomu vakası yeni tanı almaktadır (3). Kemik sarkomları çocuklarda daha sık görülürken yumuşak doku sarkomları yetişkinlerde daha sıktır (4-5). Bir kişinin sarkom geliştirme riskini arttıracak genetik yatkınlık, radyoterapi öyküsü, kimyasal maruziyet ve uzun süreli şişlik gibi bazı faktörler olmasına rağmen, çoğu sarkomun bilinen bir nedeni yoktur. Çocukluk çağı sarkomlarında son yapılan çalışmalarda vakaların yaklaşık %8,5'unda predispozan bir gen bildirilmiştir (6). Ailesinde Von Recklinghausen hastalığı (nörofibromatoz), Gardner sendromu, Werner sendromu, tüberoskleroz, nevroid bazal hücreli karsinom sendromu, Li-Fraumeni sendromu veya retinoblastom gibi kalıtsal kanser sendromu öyküsü olan hastalarda sarkom gelişme riski çok daha yüksektir (5-7).

Kanser tanılı kişilerde yeni gen dizileme tekniklerinin uygulanması, tümörün moleküler temeli hakkındaki görüşümüzü genişletmemize olanak tanımaktadır. Geleneksel moleküler tekniklerin aksine, yeni nesil dizileme (NGS) gibi yüksek verimli teknikler, milyonlarca DNA parçasını, giderek azalan maliyetler ve daha kısa sürede dizileyebilir. Ayrıca tek bir testle farklı tipte genomik değişiklikler tespit edilebilir (8).

Aile hikâyesi incelendiğinde; sarkom tanıları mevcut ve yüksek riskli olarak tanımlanan ailelerde hastalığın hangi gen ya da genler aracılığı ile geliştiğini belirlemek amacıyla NGS teknolojisi kullanılarak tüm ekzom dizileme çalışması yapılmıştır. Çalışma içerisinde temel amacımız sarkom tanılı hastalarda kanser gelişimini etkileyebilecek aday genleri tanımlamaktır. Bu amaçla

osteosarkom tanılı ve akciğer metastazı olan çocuk hasta, yine osteosarkom ve fibrosarkom tanıları bulunan babası ile başka bir ailede yer alan retinoblastoma ve fibrosarkom tanılı çocuk hasta tüm ekzom dizileme ile incelenmiş ve bu ailelerde yüksek risk oluşturabilecek genler tespit edilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta popülasyonunun oluşturulması

İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Klinik Onkoloji ABD, Pediatrik Hematoloji-Onkoloji birimine başvuran yüksek riskli kanser profiline sahip, genetik danışma sonrası seçilmiş osteosarkom tanısı almış çocuk hasta ile osteosarkom ve fibrosarkom tanılı babası ve retinoblastoma ve fibrosarkom tanıları mevcut olan başka bir çocuk hastaya ait periferik kanlar kullanılarak tüm ekzom dizileme (WES) analizleri yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan testi kabul ettiklerine dair hasta onamı alınmış ve bu çalışma İstanbul Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (25.02.2020, 341). Çalışmaya dahil edilen hastalara ait tüm klinik bilgiler Tablo 1'de verilmiştir. Birinci (F1) ve ikinci (F2) ailelere ait aile ağacı Şekil 1 ve Şekil 2'de yer almaktadır.

Tablo 1: Hastalara ait klinik bilgiler

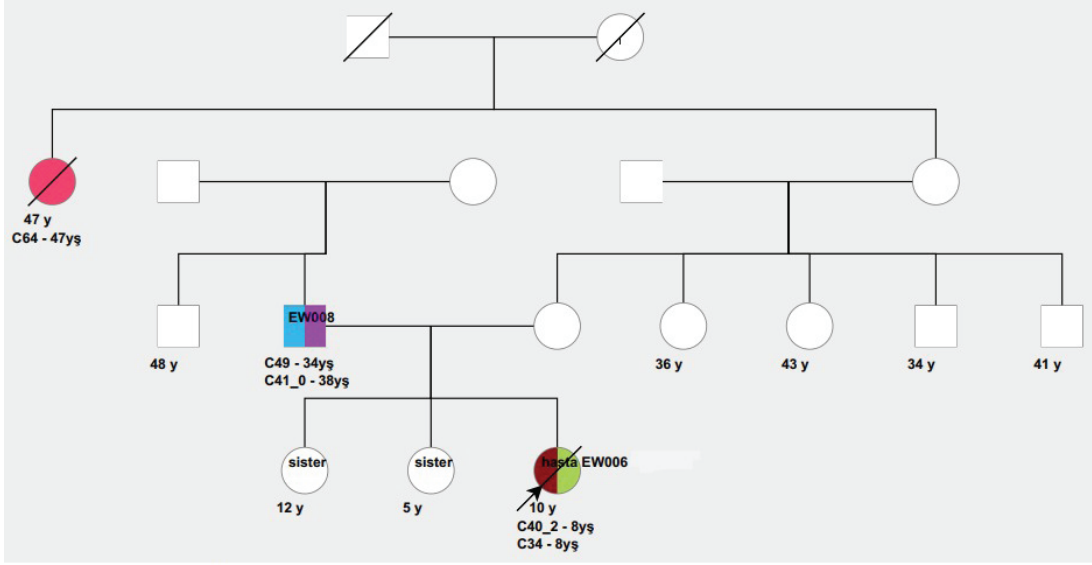
Aile kodu	Hasta kodu	Cinsiyet	Tanımlar	Son durumu	Yakınlık durumu
F1	EW006	Kız	Osteosarkom (8 y)+ Akciğer metastazı (8 y)	Ex	Proband
F1	EW008	Erkek	Fibrosarkom (34 y)+ Osteosarkom (38 y)	Yaşıyor	Baba
F2	XR660	Erkek	Retinoblastoma (8 aylık)+ Fibrosarkom (11 y)	Ex	Proband

DNA izolasyonu

Hastalardan onamlar alındıktan sonra EDTA'lı tüpe yaklaşık 10 mL periferik kanlar alındı ve Fikol (Sigma-Aldrich, Germany) yöntemi kullanılarak lenfosit hücreleri izole edildi. Kan örneklerinden elde edilen lenfositlerden QIAamp DNA mini kit (Qiagen, Germany) kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda DNA izole edildi. Öncelikle genomik DNA Qubit florimetre (Life Technologies) ile ölçüldü ve sonra genomik DNA konsantrasyonu 10 mM pH 8,5 Tris-HCl kullanılarak 10 ng/µL olacak şekilde ayarlandı. Tekrar fluorometrik ölçüm yapılarak ve aynı tampon çözelti ile konsantrasyonu 5 ng/µL olacak şekilde yeniden ayarlandı ve 50 ng'ı dizilemede kullanılmak üzere hazır hale getirildi. Elde edilen genomik DNA örnekleri Tüm Ekzom Dizileme işlemi gerçekleştirilene kadar -80°C derin dondurucuda ya da Azot tanklarında saklandı.

Tüm ekzom dizileme işlemi

WES, genomik kodlama bölgeleri ve ilgililenen diğer bölgelerdeki baz eşleşmelerinin araştırılmasını sağlayan bir DNA dizileme stratejisidir. Genomun kodlanan kısmı, tüm genomun sadece % 1-2'sini kapsadığı için, bu yaklaşım, protein fonksiyonunu de-



Kısaltma

Açılım

C34 C34 - Bronş ve akciğer malign neoplazmi

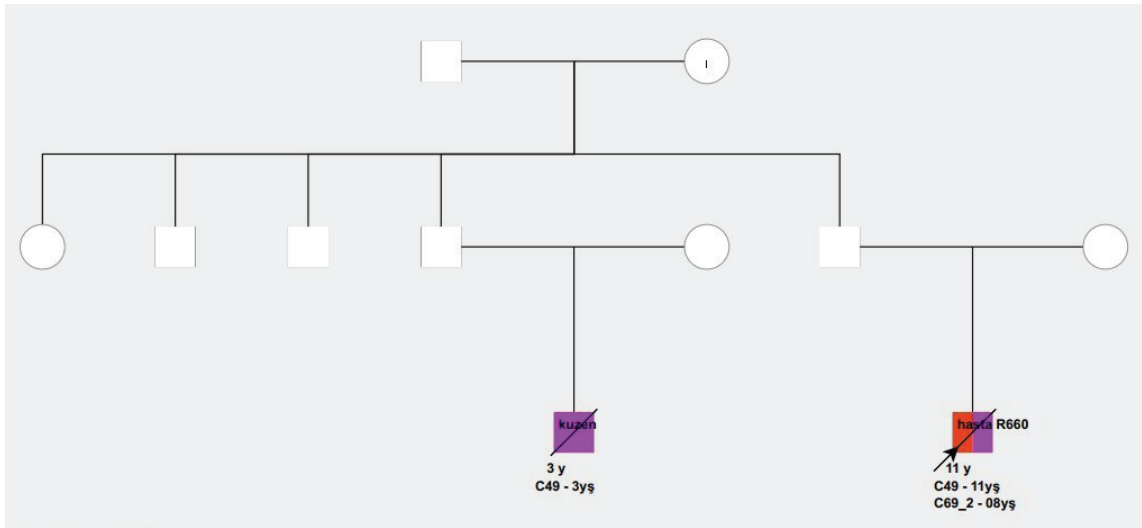
C40_2 C40,2 - Alt ekstremitte uzun kemiklerinin malign neoplazmi

C41_0 C41.0 - Kafa ve yüz kemikleri malign neoplazmi

C49 C49 - Bağ dokusu ve yumuşak doku diğer malign neoplazmi

C64 C64 - Böbrek malign neoplazmi, renal pelvis hariç

Şekil 1: F1 ailesine ait aile ağacının şematik gösterimi



Kısaltma Açılım

C49 C49 - Bağ dokusu ve yumuşak doku diğer malign neoplazmi

C69_2 C69.2 - Retina malign neoplazmi

Şekil 2: F2 ailesine ait aile ağacının şematik gösterimi

ğıştirebilecek DNA değişikliklerini tespit etmek için, tüm genom sekansına kıyasla daha uygun maliyetli bir strateji olduğu için tercih edilmektedir. Her ne kadar araştırma topluluğu genomun kodlamayan bölgelerinde sekans değişikliklerinin fonksiyonel etkilerini ortaya koyuyor ve tanımlıyor olsa da WES, hem keşif araştırması hem de hassas tıp uygulamaları için değerli bilgiler sağlayan bir testtir (9). Tüm Ekzom Dizileme işlemi GenoXome_MGISEq G-400 Platformunda gerçekleştirildi. Panel protokolüne göre; DNA kalite tayini yapıldıktan sonra DNA fragmente edildi. Daha sonra bu fragmente DNA'ya ligasyon işlemi ile beraber adaptörler bağlandı. Dizileme kalitesinin optimum düzeyde olabilmesi için pürifikasyon ile non-spesifik DNA uzaklaştırıldı. Ardından amplifiye DNA elde edebilmek için 10 döngülük bir PCR işlemi ile işaretli kütüphane çoğaltıldı. Zenginleştirilmiş kütüphane cihaza koyulmadan önce "Flow Cell"e yüklendi ve örnekle yüklü "Flow Cell" dizileme işlemi için HiSeq cihazına yerleştirildi.

Veri analizi

Cihazdan elde edilen BCL formatındaki ham veri öncelikle VCF dosya formatına dönüştürüldü. Çıkan ham data sonuçlar VarAFT (<https://varaft.eu/>) ve VariED (<http://varied.cgm.ntu.edu.tw/>) gibi bilgisayar programları aracılığı ile filtre ve kalite kontrol skorlarına göre incelendi ve ardından gen bölgelerinde var olduğu görülen genomik değişiklikler değerlendirildi. Varyant Etki Prediktörü (VEP), transkript sonuçlarının anotasyonu için merkezi bir kaynaktır. VEP, NCBI Referans Dizisi Veritabanı (RefSeq) gibi veritabanlarını ve Polimorfizm Fenotipleme (PolyPhen) ve SIFT gibi algoritmaları da kullanmaktadır. Bilinen hastalık ilişkisi ile ilgili bilgi, Kanserde Somatik Mutasyonlar Kataloğu'ndan (COSMIC), ClinVar veri tabanından ve Online İnsan Mendel Kalıtım (OMIM) kataloğundan elde edildi. dbSNP, Ensembl 1000 Genom Projesi ve Ekzom Varyant Sunucusu gibi kaynaklar bir popülasyon içindeki varyantların oluşumu ve frekansları hakkında bilgi sağlamaktadır. Bu işlemlerin sonunda varyantların ilgili tüm veri tabanlarında ve algoritmalarda belirtilen açıklamaları elde edilmiş oldu. Anotasyon işlemine tabi tutulan varyantların fenotip ile ilişkilerini belirleyebilmek için çeşitli filtreleme seçenekleri ayrıca kullanıldı. Özellikle ClinVar patojenik kaydı bulunan varyantlar detaylı incelemeye alındı. Daha önce literatürde ya da veritabanlarında rapor edilmemiş varyantlar novel aday varyant olarak tanımlandı. Çalışmada elde edilen varyantlar >Q30 okuma kalitesi ve >50 güven skoru dikkate alınarak değerlendirildi. Çıkan patojenik varyantlara göre her kişi için detaylı bir genetik rapor klinik veriler eşliğinde hazırlandı.

BULGULAR

Çalışma sonunda F1 ailesinde patojenik kaydı bulunan toplam 17 varyant saptanmıştır. Bu varyantlardan *KLKB1*, *IRGM*, *PRSS1*, *MBL2*, *PTPRJ*, *FGFR4* ve *SLC34A3* olmak üzere 7 farklı gene ait toplam 8 patojenik varyant yapılan detaylı veri tabanı analizleri ile değerlendirilmiş ve çeşitli kanser riskleri ile ilişkilendirilmiştir. Tanımlanmış gen varyantlarının ClinVar veri tabanı kayıtları incelendiğinde; prekallikrein eksikliği, iltihaplı bağırsak hastalığı (Crohn hastalığı), kalıtsal pankreatit, mannoz bağlayıcı protein eksikliği, kolon kansinomu, kanser ilerlemesi ve tümör hücre

motilitesi, otozomal resesif hipofosfatemik kemik hastalığı gibi hastalıklar ile ilişkili olduğu görülmüştür. F1 ailesinde saptanmış patojenik gen mutasyonları ve veri tabanı kayıtları Tablo 2'de verilmiştir.

Çalışma sonunda F2 ailesinde patojenik kaydı bulunan toplam 8 varyant saptanmıştır. Bu varyantlardan *FGFR4*, *MBL2*, *MUTYH*, *NQO1* olmak üzere 4 farklı gene ait 4 patojenik varyant çeşitli kanser riskleri ile ilişkilendirilmiştir. Tanımlanmış gen varyantlarının ClinVar veri tabanı kayıtları incelendiğinde; kanser ilerlemesi ve tümör hücre motilitesi, mannoz bağlayıcı protein eksikliği, kolon kansinomu, akciğer kanseri, meme kanseri ve lösemi gibi hastalıklar ile ilişkili olduğu görülmüştür. F2 ailesinde saptanmış patojenik gen mutasyonları ve veri tabanı kayıtları Tablo 3'de verilmiştir.

TARTIŞMA

Çalışma sonucunda EW006,EW008 kodlu kişilerde *KLKB1* (*NM_000892*) geninin 5. ekzonunda heterozigot formasyonda *c.428G>A*, *p.(Ser143Asn)* varyantına rastlanmıştır. ClinVar veri tabanında Prekallikrein eksikliği ile ilişkilendirilmiştir. *KLKB1*, plazma Kallikrein enzimi, Kininojen'deki Lys-Arg ve Arg-Ser bağlarını keserek bradikinin salgılar ve kan pıhtılaşması, fibrinliz, hemostaz ve inflamatuvar yanıt ile ilgili işlevlere sahiptir (10). Çeşitli veri bankalarında *KLKB1* (*NM_000892*), *Exon5*, *HET*, *c.428G>A*, *p.(Ser143Asn)* varyantının Prekallikrein eksikliği ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (11). *KLKB1* geninin kanser ile ilişkisi araştırıldığında, akciğer kanseri hücrelerinde demetile edici ajan 5-Azasitidin ile tedavi edildiğinde ekspresyonunun arttığı ve bu nedenle bir tümör baskılayıcı gen olarak işlev görebileceği belirtilmiştir (12). Prostat kanserini tespit etmek ve kanser ölümlerini azaltmak için bir biyobelirteç olarak kullanılan PSA, *KLKB1* geninden kopyalanan bir protein ürünüdür ve prostatın epitel hücreleri tarafından salgılanır (13). Ailede kanser tanılı çocuk hasta ve babasında bu varyantın ortak olarak görülmüş olması kanser gelişimi ile ilişkili olabileceğini düşündürmekle birlikte; *KLKB1* (*NM_000892*), *Exon5*, *HET*, *c.428G>A*, *p.(Ser143Asn)* varyantının klinik etkisinin net olarak anlaşılabilmesi için daha geniş hasta ve kontrol grubunda ek çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır.

Çalışma kapsamında EW006,EW008 kodlu kişilerde *IRGM* (*NM_001145805*) geninin 2. ekzonunda heterozigot formasyonda *c.313C>T*, *p.(Leu105Leu)* varyantına rastlanmıştır. ClinVar veri tabanında İltihaplı Bağırsak Hastalığı (Crohn hastalığı) (CD) ile ilişkilendirilmiştir. Crohn hastalığı (CD), kronik iltihaplı bağırsak hastalığının yaygın bir şeklidir. *IRGM* (*NM_001145805*), *Exon2*, *HET*, *c.313C>T*, *p.(Leu105Leu)* ile ilgili genetik kanıtlar, CD patogeneğinde erken bağışıklık tepkisinde, özellikle doğuştan gelen bağışıklık yollarında ve hücre içi bakterilerin işlenmesinde kusurlar olduğunu gösterir. Yapılan *IRGM* ekspresyon analizleri ile kolon, ince bağırsak ve periferik kan lökositleri dahil olmak üzere birçok dokuda transkripsiyon gösterdiği belirtilmiştir (14). İnsan genomunda yer alan üç IRG gen ailesinden (*IRGC*, *IRGQ* ve *IRGM*) yalnızca bağışıklıkla ilgili guanozin trifosfataz ailesine mensup olan *IRGM* geni fonksiyonel bir IRG'yi kodlar (15). Bağışıklıkla ilişkili guanozin trifosfataz, otofajinin ilerlemesini dü-

Tablo 2: F1 ailesinde saptanmış patojenik gen mutasyonları ve veri tabanı kayıtları

Vakalar	Mutasyon	ClinVar_ilişkili hastalıklar	dbSNP	Minör allel frekansı(MAF)
EW006,EW008	<i>KLKB1</i> (NM_000892), Exon5, HET, c.428G>A, p.(Ser143Asn)	Prekallikrein Eksikliği	rs3733402	G=0.395/783
EW006,EW008	<i>IRGM</i> (NM_001145805), Exon2, HET, c.313C>T, p.(Leu105Leu)	İltihaplı Bağırsak Hastalığı (Crohn hastalığı)	rs10065172	T=0.304/462
EW008	<i>PRSS1</i> (NM_002769), Exon2, HET, c.86A>T, p.(Asn29Ile)	Kalıtıl Pankreatit	rs111033566	-
EW006,EW008	<i>PRSS1</i> (NM_002769), Exon2, HET, c.161A>G, p.(Asn54Ser)	Kalıtıl Pankreatit	rs144422014	-
EW006	<i>MBL2</i> (NM_000242), Exon1, HET, c.154C>T, p.(Arg52Cys)	Mannoz bağlayıcı protein eksikliği	rs5030737	A=0.027/4
EW006,EW008	<i>PTPRJ</i> (NM_001098503), Exon5, HET, c.827A>C, p.(Gln276Pro)	Kolon Karsinomu	rs1566734	C=0.190/181
EW006,EW008	<i>FGFR4</i> (NM_001354984), Exon9, HET, c.1162G>A, p.(Gly388Arg)	Kanser İlerlemesi ve Tümör Hücre Motilitesi	rs351855	A=0.300/449
EW006,EW008	<i>SLC34A3</i> (NM_001177316), Exon7, HET, c.756G>A, p.(Gln252=)	Otozomal Resesif Hipofosfatemik Kemik Hastalığı	rs121918239	A=0.002/0

Tablo 3: F2 ailesinde saptanmış patojenik gen mutasyonları ve veri tabanı kayıtları

Vakalar	Mutasyon	ClinVar_ilişkili hastalıklar	dbSNP	Minör allel frekansı(MAF)
XR660	<i>FGFR4</i> (NM_002011.4), Exon9, HET, c.1162G>A (p.Gly388Arg)	Kanser İlerlemesi ve Tümör Hücre Motilitesi	rs351855	A=0.300/449
XR660	<i>MBL2</i> (NM_000242.2), Exon1, HET, c.161G>A (p.Gly54Asp)	Mannoz bağlayıcı protein eksikliği	rs1800450	T=0.122/75
XR660	<i>MUTYH</i> (NM_001128425.1), Exon12, HET, c.1171C>T (p.Gln391Ter)	Kolon karsinomu	rs587783057	-
XR660	<i>NQO1</i> (NM_000903.2), Exon6, HET, c.559C>T (p.Pro187Ser)	Akciğer kanseri, Meme kanseri, Lösemi	rs1800566	A=0.289/418

zenleyerek patojenlere karşı savunmada kritik öneme sahiptir (16). Otofaji, terminal degradasyon ve geri dönüşüm için hücre içi bileşenlerin sağlanmasında önemli bir rol oynayan "otodijestif" bir süreçtir (17). Bu süreç, doğuştan gelen ve adaptif bağışıklığın çeşitli yönleriyle ilişkilendirilmiştir ve otofajik yoldaki anormallikler, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus (SLE) ve multipl skleroz gibi çok sayıda otoimmün hastalıkta rol oynamıştır (18). *IRGM*, otofajide önemli bir rol oynar. *IRGM* genetik polimorfizmlerinin birçok türde inflamatuvar ve otoimmün hastalıkla ilişkili olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca *IRGM* (*NM_001145805*), *Exon2*, *HET*, *c.313C>T*, *p.(Leu105Leu)* varyantının Otoimmün tiroid hastalığı (AITD) ile ilişkili olduğu da bilinmektedir (19). Son araştırmalar, otofajinin tümörjenezde kritik rol oynayabileceğini öne sürdü. Bağışıklık ile ilgili GTPaz ailesi M (*IRGM*), iltihaplanma ve enfeksiyonlar üzerine otofajiye katkısı nedeniyle vurgulanan bir insan proteindir. Çalışmalar, *IRGM*'nin birkaç kanserin gelişiminde rol oynadığını göstermiştir. Bir çalışma, *IRGM*'deki genetik polimorfizmlerin mide kanserine yakınlıkla ilişkili olduğunu bildirmiştir (20). Başka bir çalışmada ise mide kanseri dokularında *IRGM*'nin upregülasyonu ve *IRGM* seviyesi ile kanser evreleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu belirtilmiş ve *IRGM* geninin mide kanserinin patogenezinde rol oynayabileceği ve hastalığın ilerlemesini yansıtabileceği vurgulanmıştır (21). Tüm bu bilgiler dahilinde aileye ait klinik bilgiler değerlendirildiğinde; osteosarkom tanılı çocuk hasta ve babasında gen varyantı ile ilişkili tanımlanmış bir kanser olmamakla birlikte kanser tanılı 2 bireyde de bu varyantın ortak görülmüş olması dikkat çekicidir. *IRGM* (*NM_001145805*), *Exon2*, *HET*, *c.313C>T*, *p.(Leu105Leu)* varyantının kanser oluşum sürecine ne düzeyde katkı sağladığının anlaşılabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

EW008 kodlu kişide *PRSS1* (*NM_002769*) geninin 2. ekzonunda heterozigot formasyonda *c.86A>T*, *p.(Asn29Ile)* varyantına; EW006,EW008 kodlu kişilerde ise *PRSS1* (*NM_002769*) geninin 2. ekzonunda heterozigot formasyonda *c.161A>G*, *p.(Asn54Ser)* varyantına rastlanmıştır. ClinVar veri tabanında hem *PRSS1* (*NM_002769*), *Exon2*, *HET*, *c.86A>T*, *p.(Asn29Ile)* hem de *PRSS1* (*NM_002769*), *Exon2*, *HET*, *c.161A>G*, *p.(Asn54Ser)* varyantı Kalıtsal pankreatitis ile ilişkilidir. Kalıtsal pankreatitis (HP), pankreatit ve pankreas kanseri riskinin bir ailede nesilden nesile aktarılabilirdiği genetik bir hastalıktır. HP ile en sık ilişkilendirilen gen *PRSS1* genidir. *PRSS1* genindeki mutasyonlar kişide artmış pankreatit ve pankreas kanseri riski oluşturur (22). *PRSS1* (*NM_002769*), *Exon2*, *HET*, *c.86A>T*, *p.(Asn29Ile)* varyantı sadece babada görülmüştür ama agresif bir tümörü bulunan çocuğunda bu varyanta rastlanılmamıştır. *PRSS1* (*NM_002769*), *Exon2*, *HET*, *c.161A>G*, *p.(Asn54Ser)* varyantı ise hem hasta çocuk hem de babasında ortak olarak görülmüştür. Aile hikayesi değerlendirildiğinde; ailede pankreas kanser tanılı hiçkimse olmadığı görülmektedir. *PRSS1* (*NM_002769*), *Exon2*, *HET*, *c.86A>T*, *p.(Asn29Ile)* ve *PRSS1* (*NM_002769*), *Exon2*, *HET*, *c.161A>G*, *p.(Asn54Ser)* varyantlarının kanser gelişim sürecindeki etkisinin anlaşılabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

EW006 kodlu kişide *MBL2* (*NM_000242.2*) geninin 1. ekzonunda heterozigot formasyonda *c.154C>T*, *p.(Arg52Cys)* varyan-

ta XR660 kodlu kişide ise *MBL2* (*NM_000242.2*) geninin 1. ekzonunda heterozigot formasyonda *c.161G>A*, *p.(Gly54Asp)* varyantına rastlanmıştır. *MBL2* (*NM_000242*), *Exon1*, *HET*, *c.154C>T*, *p.(Arg52Cys)* ve *MBL2* (*NM_000242.2*), *Exon1*, *HET*, *c.161G>A* (*p.Gly54Asp*) varyantları ClinVar veri tabanında Mannoza bağlayıcı protein eksikliği ile ilişkilidir. Mannoza bağlayıcı lektin eksikliği, bağışıklık sistemini etkileyen bir durumdur. Bu rahatsızlığa sahip kişilerin kanlarında mannoza bağlayıcı lektin adı verilen bir bağışıklık sistemi protein seviyelerinde eksiklik vardır. Bu eksikliğin, etkilenen bireyleri tekrarlayan enfeksiyonlara yatkın hale getirip getirmediği net değildir. Mannoza bağlayıcı lektin eksikliği olan kişiler, üst solunum yolu ve diğer vücut sistemlerinde enfeksiyonlar geliştirebilir. Bu rahatsızlığa sahip kişiler ayrıca zatürre ve menenjit gibi daha ciddi enfeksiyonlara da yakalanabilir. Enfeksiyonun türüne bağlı olarak, enfeksiyonların neden olduğu semptomların sıklığı ve şiddeti değişir. Mannoza bağlayıcı lektin eksikliği olan bebekler ve küçük çocuklar, etkilenen yetişkinlere göre enfeksiyonlara daha duyarlı görünmektedir, ancak yetişkinler de tekrarlayan enfeksiyonlar geliştirebilir (23). Ek olarak, kemoterapi gören veya bağışıklık sistemini baskılayan ilaçlar alan etkilenen kişiler özellikle enfeksiyonlara yatkındır. MBL eksikliği olan kişilerde sepsis ve kemoterapi ile ilişkili enfeksiyonlara karşı artan bir duyarlılık gösterilmiştir (24). Mannoza bağlayıcı lektin Kompleman yolunda anahtar bir aktivatör olan bir gendir. Kompleman yolunun son zamanlarda onkogenezinde rol oynadığı tespit edilmiştir (25). MBL genindeki genetik polimorfizmler, meme kanseri, mide kanseri, kolon kanseri ve rahim ağzı kanseri dahil birkaç kanser riski ile ilişkilendirilmiştir (26-28). Bu çalışmalarda, *MBL2* polimorfizmlerinin daha düşük serum seviyeleri ile sonuçlandırıldığı ve yüksek kanser riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Aksine, akciğer kanseri üzerine yapılan bir çalışmada, *MBL2* gen polimorfizmlerine bağlı düşük serum MBL seviyelerinin sağkalım üzerine olumlu etkiler yarattığı bildirilmiştir (29). *MBL2* geni ve kolon kanser sağkalımı ile ilgili yapılmış bir diğer çalışmada ise hiçbir ilişki bildirilmemiştir (30). Sarkom oluşum riski ile *MBL2* gen varyantları arasında nasıl bir ilişki olduğunun anlaşılabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır. MBL geninin onkogenezindeki etkileri göz önünde alındığında bu gen varyantlarını taşıyan kişilerin özellikle meme kanseri, mide kanseri, kolon kanseri gibi bazı kanserlere karşı klinik takibi önerilir. Ancak varyantları taşıyan iki kişinin de erken yaşta kansere bağlı ölümleri sebebiyle bu süreç takibi yapılamamaktadır.

EW006,EW008 kodlu kişilerde *PTPRJ* (*NM_001098503*) geninin 5. ekzonunda heterozigot formasyonda *c.827A>C*, *p.(Gln276Pro)* varyantına rastlanmıştır. ClinVar veri tabanında Kolon karsinomu ile ilişkilendirilmiştir. HGMD veri bankasında ise tiroit kanser riski ile ilişkisi gösterilmiştir. *PTPRJ*, kansere yatkınlık geni için iyi bir adaydır. Hücre büyümesinin engellenmesi, göç ve anjiyogenez dahil olmak üzere tümör baskılanması konusunda işlevsel rollere sahiptir (31). *PTPRJ* ayrıca insan kolorektal kanser gelişiminde de bir rol oynuyor gibi görünüyor (32). *PTPRJ*, diğer kanser türleri için de aday bir tümör baskılayıcı gendir. *PTPRJ*'yi barındıran lokus olan 11p11 kaybı, akciğer tümörlerinin %50'sinde, meme tümörlerinin %78'inde ve tiroit anaplastik karsinomlarının %38'inde görülür (31, 33, 34). Bu

bilgiler ışığında; ailede kanser tanılı her iki kişide bu varyantın görülmesi varyantın patojenik etkisi konusunda dikkat çekicidir. *PTPRJ* (NM_001098503), *Exon5*, *HET*, c.827A>C, p.(Gln276Pro) varyantının kanser oluşum riski açısından etkisinin net olarak anlaşılabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

EW006,EW008, XR660 kodlu kişilerde *FGFR4* (NM_001354984) geninin 9. ekzonunda heterozigot formasyonda c.1162G>A, p.(Gly388Arg) varyantına rastlanmıştır. Clinvar veri tabanında kanser ilerlemesi ve tümör hücre motilitesi ile ilişkilendirilmiştir. *FGFR4* geni, fibroblast büyüme faktör (FGF) ailesinin bir üyesidir. Fibroblast büyüme faktörleri için hücre yüzey reseptörü olarak davranır ve hücre proliferasyonu, farklılaşma, doku tamiri, invazyon, yağ metabolizmasının düzenlenmesi, safra asiti biyosentezi, glikoz alımı, D vitamini metabolizması ve fosfat dengesi gibi birçok mekanizmada rol oynamaktadır (35). Bange ve ark. 2002 yılında; *FGFR4* genindeki c.1162G>A (p.Gly388Arg) varyantının ve *FGFR4* ekspresyonundaki artışın meme ve kolon kanser gelişimi ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca lenf nodu metastazı ve artmış TNM evresi ile istatistiksel olarak ilişkili olduğunu belirtmişler ve böylece kanser progresyonunu tetiklediğini göstermişlerdir (36). Leung ve ark. 1994 yılında yapmış oldukları çalışmada; *FGFR4* ekspresyonunun pankreatik kanserler ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır (37). Bange ve ark. 2002 yılında; kanser progresyonu ve tümör hücre motilitesinin *FGFR4* genindeki c.1162G>A (p.Gly388Arg) değişikliği ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (36). Wang ve ark. 2004 yılındaki çalışmalarında; prostat kanserinin başlaması ve progresyonunda *FGFR4* genindeki bu varyantın etkili olduğunu belirtmişlerdir (38). Brito ve ark. 2010 yılında yaptıkları çalışmada; *FGFR4* genindeki bu varyantın Cushing hastalığında marker olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (39). Onkogenik transformasyon aktivitesi ile de bilinen bir gen olan *FGFR4* genindeki c.1162G>A (p.Gly388Arg) varyantının ileri evre retinoblastomlu hastalarda klinik gelişimi tahmin etmek ve hastalığın evresini değerlendirmek için aday bir gen olduğu bildirilmiştir (35, 40). Bu bilgiler ışığında değerlendirildiğinde; *FGFR4* (NM_001354984), *Exon9*, *HET*, c.1162G>A, p.(Gly388Arg) varyantının her iki ailede sarkom tanılı tüm kişilerde görülmüş olması patojenik etkisi konusunda ek çalışmalar yapılması gerektiğini göstermektedir.

EW006,EW008 kodlu kişilerde *SLC34A3* (NM_001177316) geninin 7. ekzonunda heterozigot formasyonda, c.756G>A (p.Gln252=) varyantına rastlanmıştır. Clinvar veri tabanında Otozomal Resesif Hipofosfatemik Kemik Hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. HGMD veri bankasında Kalıtsal Hiperkalsiüriyel hipofosfatemik raşitizm (HHRH) hastalığı ile ilişkili olarak hastalık yapıcı mutasyon olarak veri bankalarında kayıtlıdır. HHRH, hipofosfatemi ve raşitizm/osteomalazi ile karakterize, serum 1,25-dihidroksivitamin D [1,25-(OH)(2)D] ile hiperkalsiüriye neden olan nadir bir metabolik bozukluktur. Ek olarak, HHRH'li bireyler sıklıkla kemik ağrısı, kas zayıflığı ve büyüme geriliği yaşarlar (41). Osteosarkom (OS), tanıları bulunan EW006,EW008 kodlu hastalarda *SLC34A3* (NM_001177316), *Exon7*, *HET*, c.756G>A, p.(Gln252=) varyantına rastlanmış olması hastalık oluşumunda etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Osteosarkom düşük sağkalımlı olan

ve kötü prognozlu bir kemik neoplazmıdır. Saldırgan doğası ve metastatik potansiyeli ile bilinir. Birkaç çalışma, 1,25-Dihidroksivitamin D (1,25(OH)2D)'nin kemiğin büyümesinde ve farklılaşmasında kritik bir rolü olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, 1,25(OH)2D'nin osteosarkom hücrelerinin progresyonu ve istilası üzerindeki rolü hakkında bilgi çok azdır. Tahbazlahafi ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada OS hastalarında serum 1,25-dihidroksivitamin D 'nin farklı konsantrasyonlarının OS hücrelerinin çoğalması ve ilerlemesi üzerindeki etkisini analiz etmişler ve hastalığın yoğunluğunu azaltabilen ve prognozu iyileştirebilen 1,25(OH)2D'nin etkili dozlarını doğrulamışlardır. Çalışma sonucunda; 1,25(OH)2D'nin etkili dozlarının OS hücre hattının agresif potansiyelini azaltabileceğini öne sürmüşlerdir (42). Bununla birlikte, daha fazla araştırma ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır. Ichikawa ve ark. yapmış oldukları çalışmada sodyum-fosfat kotransporter tip IIc'yi kodlayan *SLC34A3* genindeki mutasyonların HHRH oluşumundan sorumlu olup olmadığını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, *SLC34A3* genindeki mutasyonların HHRH'nin ortaya çıkmasından sorumlu olduğu doğrulanmış ve genin, intragenik homolog dizilerin varlığından dolayı delesyonlara özellikle duyarlı olabileceği öne sürülmüştür (43). Ayrıca Hureau ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada *SLC34A3* (NM_001177316), *Exon7*, *HET*, c.756G>A, p.(Gln252=) varyantının yetişkinlerde ailesel hiperkalsemi hipokalsiüri gelişiminde etkili olduğunu göstermişlerdir (44). Hiperkalsemili hastalarda, özellikle hiperkalsemili aile üyeleri varsa veya endokrin pankreas, tiroid, hipofiz, adrenal bez veya çene kemiği tümörüne sahipse genetik bir bozukluktan şüphelenilmeli ve tüm hiperkalsemi formları, paratiroid hormonunun (PTH) serum düzeyine göre yorumlanmalıdır. Genetik formlar bu nedenle bir paratiroid bezi bozukluğu ile ilişkili veya ilişkiz olarak sınıflandırılır. Hiperkalsemiye rağmen PTH düzeyi yükseldiğinde veya baskılanmadığında, genetik bir nedene bağlı ailede hiperkalsemi öyküsü olduğunu düşündüren bulgular arasında hasta veya aile üyelerinde sendromik belirtiler, paratiroid kanseri (ameliyattan önce şüphelenilen veya paratiroidektomi sırasında doğrulanan), çoklu veya tekrarlayan paratiroid tümörleri, ailede primer hiperparatiroidizm öyküsü ve 50 yaşından önce primer hipertiroidizm başlangıcı gibi durumlar sayılabilir. Aile bireylerinde tanımlanmış bir hiperkalsemi durumu söz konusu olmamakla birlikte *SLC34A3* (NM_001177316), *Exon7*, *HET*, c.756G>A, p.(Gln252=) varyantının hastalık oluşumundaki etkisinin anlaşılabilmesi için ek çalışmalara gerek duyulmaktadır.

Çalışmamızda XR660 kodlu hastada *MUTYH* (NM_001128425.1) geninin 12 ekzonunda heterozigot formasyonda, c.1171C>T (p.Gln391Ter) varyantına rastlanmıştır. *MUTYH* geni oksidatif DNA hasar tamirinde rol alan MYH glikosilaz adı verilen bir enzimin üretilmesinde görevlidir. Bu enzim, hücre bölünmesine hazırlık aşamasında DNA kopyalanırken (DNA replikasyonu) yapılan hataları düzeltir. Normal hücresel aktiviteler sırasında, guanin bazen oksijen tarafından değiştirilir ve sitozin yerine adenin ile eşleşmesine neden olur. MYH glikosilaz bu hatayı düzelterek DNA'da mutasyon birikimini ve tümör oluşumunu engeller. Bu tip tamirat, baz eksizyon tamiri olarak bilinir. *MUTYH* genindeki mutasyonlar ailesel adenomatöz polipozis'in (MYH-ilişkili polipozis) otozomal resesif formu ile ilişkilidir (45).

Bu mutasyonu taşıyan kişinin ilerki yıllarda kolon kanser gelişim riski bulunmaktadır. Ancak mutasyon taşıyıcısı kişi erken yaşta kaybedildiğinden bu süreç değerlendirilememiştir.

Çalışmamızda XR660 kodlu kişide *NQO1* (*NM_000903.2*) geninin 6. ekzonunda heterozigot formasyonda c.559C>T, p.(Pro187Ser) patojenik varyantına rastlanmıştır. *NQO1* geni NAD(P)H dehidrogenaz (kinon) ailesinin bir üyesidir ve sitoplazmik 2-elektron redüktazı kodlar. Bu FAD-bağlayıcı protein homodimerler oluşturur ve kinonları hidrokinonlara indirger. Bu proteinin enzimatik aktivitesi, radikaller üreten kinonların bir elektron indirgemelerini engeller. Bu yolla hücreleri oksidatif hasardan korur. Bu nedenle antikanser enzimi olarak adlandırılır. Karsinogenezdeki koruyucu rolüne ek olarak *NQO1* geni antitümör tedavide ilaç metabolize eden enzim görevi de görür. Bu gendeki mutasyonlar, tardif diskinezi (TD), benzene maruz kaldıktan sonra hematotoksisite riskinde artış ve çeşitli kanser türlerine yatkınlık ile ilişkilendirilmiştir (46-47). Bu proteinin değişmiş ifadesi akciğer, mesane, meme, hepatoselüler karsinom, akut miyeloid lösemi (AML), kolorektal kanser, gastrointestinal kanserler gibi birçok tümörde görülmüştür ve ayrıca Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirilmiştir (48-50). Chao ve ark. 2006 yılında *NQO1* genindeki c.559C>T (p.Pro187Ser) varyantının enzimatik aktiviteyi azaltarak akciğer kanser riskini arttırdığını belirtmişlerdir. Ayrıca bu varyantın mesane ve kolorektal kanserine yatkınlığa da sebep olduğunu vurgulamışlardır (49). Bu mutasyonu taşıyan kişinin ilerki yıllarda akciğer, mesane, meme, hepatoselüler karsinom, akut miyeloid lösemi (AML), kolorektal kanser, gastrointestinal kanserler gibi birçok kanser gelişim riski bulunmaktadır. Ancak mutasyon taşıyıcısı kişi erken yaşta öldüğünden bu süreç değerlendirilememiştir.

Tüm yapılan araştırmalar sonucunda tespit edilen aday varyantlar göz önünde bulundurularak hazırlanan klinik rapor sonrası sarkom tanılı hastalar ve diğer aile bireyleri karşı karşıya kalabilecekleri riskler konusunda uyarıldı ve bu riskleri minimum düzeye indirebilmek için klinik takip ve tarama önerileri sunuldu. Bu kapsamda riskli aile bireylerinde rutin aralıklarla klinik fizik muayene eğer şüpheli bir belirtiye rastlanırsa da çeşitli görüntüleme teknikleri ile takibi önerildi. Ancak ailelerde yer alan çocuk hastalar erken yaşta kaybedilmiş olduğundan takip ve kontrolleri yapılamadı. Saptanmış olan aday varyantların hastalık oluşum sürecinde ne yönde patojenik etki yaratacakları ancak gelecekte yapılacak olan daha geniş hasta grubu ve sağlıklı kontrollerin bulunduğu çalışmalarla anlaşılabilir.

Teşekkür: Yazarlar Türk Pediatrik Onkoloji Grubu'na (TPOG) teşekkürlerini sunar.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih: 25.02.2020, No: 341).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- D.A.Ö., R.K., H.Y.; Veri Toplama- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., Ş.B.T., S.K.E., Ö.Ş.E., S.B.B., H.Y.; Veri Analizi/

Yorumlama- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., B.Ç., H.Y.; Yazı Taslağı- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., B.Ç., H.Y.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., B.Ç., Ş.B.T., S.K.E., Ö.Ş.E., S.B.B., H.Y.; Son Onay ve Sorumluluk- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., B.Ç., Ş.B.T., S.K.E., Ö.Ş.E., S.B.B., H.Y.; Malzeme ve Teknik Destek- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., B.Ç., Ş.B.T., S.K.E., Ö.Ş.E., S.B.B., H.Y.; Süpervizyon D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., B.Ç., Ş.B.T., S.K.E., Ö.Ş.E., S.B.B., H.Y.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma Türk Pediatrik Onkoloji Grubu'nun (TPOG) araştırma bursu ile desteklenmiştir.

Acknowledgements: Authors would like to thank Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG).

Ethics Committee Approval: This study was approved by Istanbul Faculty of Medicine Clinical Research Ethics Committee (Date: 25.02.2020, No: 341).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- D.A.Ö., R.K., H.Y.; Data Acquisition- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., Ş.B.T., S.K.E., Ö.Ş.E., S.B.B., H.Y.; Data Analysis/Interpretation- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., B.Ç., H.Y.; Drafting Manuscript- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., B.Ç., H.Y.; Critical Revision of Manuscript- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., B.Ç., Ş.B.T., S.K.E., Ö.Ş.E., S.B.B., H.Y.; Final Approval and Accountability- D.A.Ö., R.K., F.Y.Ö., B.Ç., Ş.B.T., S.K.E., Ö.Ş.E., S.B.B., H.Y.; Material and Technical Support- D.A.Ö., F.Y.Ö.; Supervision- H.Y., R.K., D.A.Ö.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: This study was supported by Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG)'s research grant.

KAYNAKLAR

1. Carrasco Salas P, Lapunzina P, Perez-Martinez A. Genetic predisposition to childhood cancer. *An Pediatr (Barc)* 2017;87(3):125-7.
2. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 2004;10(8):789-99.
3. Mirabello L, Troisi RJ, Savage SA. International osteosarcoma incidence patterns in children and adolescents, middle ages and elderly persons. *Int J Cancer* 2009;125(1): 229-34.
4. Savage, SA and L Mirabello, Using epidemiology and genomics to understand osteosarcoma etiology. *Sarcoma* 2011;2011:548151.
5. Rickel K, Fang F, Tao J. Molecular genetics of osteosarcoma. *Bone* 2017;102:69-79.
6. Brodeur GM, Nichols KE, Plon SE, Schiffman JD, Malkin D. Pediatric Cancer Predisposition and Surveillance: An Overview, and a Tribute to Alfred G. Knudson Jr. *Clin Cancer Res* 2017;23(11):e1-e5.
7. Czarnecka AM, Synoradzki K, Firliej W, Bartnik E, Sobczuk P, Fiedorowicz M et al. Molecular Biology of Osteosarcoma. *Cancers (Basel)* 2020;12(8):2130.
8. Stoppa-Lyonnet D, Houdayer C. New generation sequencing in medical genetics. *Med Sci (Paris)* 2012;28(2):123-4.
9. Liang WS, Stephenson K, Adkins J, Christofferson A, Helland A,

- Cuyugan L, et al. Whole Exome Library Construction for Next Generation Sequencing. *Methods Mol Biol* 2018;1706:163-74.
10. Chung DW, Fujikawa K, McMullen BA, Davie EW. Human plasma prekallikrein, a zymogen to a serine protease that contains four tandem repeats. *Biochemistry* 1986; 25(9):2410-7.
 11. Barco S, Sollfrank S, Trincherio A, Adenaueer A, Abolghasemi H, Conti L et al. Severe plasma prekallikrein deficiency: Clinical characteristics, novel KLKB1 mutations, and estimated prevalence. *J Thromb Haemost* 2020;18(7):1598-617.
 12. Wong J, Sia YY, Misso NL, Aggarwal S, Ng A, Bhoola KD. Effects of the demethylating agent, 5-azacytidine, on expression of the kallikrein-kinin genes in carcinoma cells of the lung and pleura. *Patholog Res Int* 2011;2011:167046.
 13. Hasegawa T, Lewis H, Esquela-Kerscher A. Chapter 12 - The Role of Noncoding RNAs in Prostate Cancer, in *Translating MicroRNAs to the Clinic*, J. Laurence, Editor. Academic Press: Boston, 2017.p.329-69.
 14. Parkes M, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Anderson CA, Fisher SA et al. Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet* 2007;39(7):830-2.
 15. Song JH, Kim SY, Chung KS, Moon CM, Kim SW, Kim EY et al. Association between genetic variants in the IRGM gene and tuberculosis in a Korean population. *Infection* 2014;42(4):655-60.
 16. Singh SB, Davis AS, Taylor GA, Deretic V. Human IRGM induces autophagy to eliminate intracellular mycobacteria. *Science* 2006;313(5792):1438-41.
 17. Crotzer VL, Blum JS. Autophagy and adaptive immunity. *Immunology* 2010;131(1):9-17.
 18. Virgin HW, Levine B. Autophagy genes in immunity. *Nat Immunol* 2009;10(5):461-70.
 19. Yao QM, Zhu YF, Wang W, Song ZY, Shao XQ, Li L et al. Polymorphisms in Autophagy-Related Gene IRGM Are Associated with Susceptibility to Autoimmune Thyroid Diseases. *Biomed Res Int* 2018;2018:7959707.
 20. Burada F, Plantinga TS, Ioana M, Rosentul D, Angelescu C, Joosten LA et al. IRGM gene polymorphisms and risk of gastric cancer. *J Dig Dis* 2012;13(7):360-5.
 21. Song Z, Guo C, Zhu L, Shen P, Wang H, Guo C et al. Elevated expression of immunity-related GTPase family M in gastric cancer. *Tumour Biol* 2015;36(7):5591-6.
 22. Zou WB, Tang XY, Zhou DZ, Qian YY, Hu LH, Yu FF et al. SPINK1, PRSS1, CTSC, and CFTR genotypes influence disease onset and clinical outcomes in chronic pancreatitis. *Clin Transl Gastroenterol* 2018;9(11):204.
 23. Bouwman LH, Roep BO, Roos A. Mannose-binding lectin: clinical implications for infection, transplantation, and autoimmunity. *Hum Immunol* 2006;67(4-5):247-56.
 24. Peterslund NA, Koch C, Jensenius JC, Thiel S. Association between deficiency of mannose-binding lectin and severe infections after chemotherapy. *Lancet* 2001;358(9282):637-8.
 25. Rutkowski MJ, Sughrue ME, Kane AJ, Mills SA, Parsa AT. Cancer and the complement cascade. *Mol Cancer Res* 2010;8(11):1453-65.
 26. Bernig T, Boersma BJ, Howe TM, Welch R, Yadavalli S, Staats B et al. The mannose-binding lectin (MBL2) haplotype and breast cancer: an association study in African-American and Caucasian women. *Carcinogenesis* 2007;28(4):828-36.
 27. Baccarelli A, Hou L, Chen J, Lissowska J, El-Omar EM, Grillo P et al. Mannose-binding lectin-2 genetic variation and stomach cancer risk. *Int J Cancer* 2006;119(8):1970-5.
 28. Zanetti KA, Haznadar M, Welsh JA, Robles AI, Ryan BM, McClary AC et al. 3'-UTR and functional secretor haplotypes in mannose-binding lectin 2 are associated with increased colon cancer risk in African Americans. *Cancer Res* 2012;72(6):1467-77.
 29. Pine SR, Mechanic LE, Ambs S, Bowman ED, Chanock SJ, Loffredo C et al. Lung cancer survival and functional polymorphisms in MBL2, an innate-immunity gene. *J Natl Cancer Inst* 2007;99(18):1401-9.
 30. Ytting H, Christensen IJ, Steffensen R, Alsner J, Thiel S, Jensenius JC et al. Mannan-binding lectin (MBL) and MBL-associated serine protease 2 (MASP-2) genotypes in colorectal cancer. *Scand J Immunol* 2011;73(2):122-7.
 31. Toland AE, Rozek LS, Presswala S, Rennert G, Gruber SB. PTPRJ haplotypes and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17(10):2782-5.
 32. Ruivenkamp CA, van Wezel T, Zanon C, Stassen AP, Vlcek C, Csikos T et al. Ptprij is a candidate for the mouse colon-cancer susceptibility locus Scc1 and is frequently deleted in human cancers. *Nat Genet* 2002;31(3):295-300.
 33. Iuliano R, Le Pera I, Cristofaro C, Baudi F, Arturi F, Pallante P et al. The tyrosine phosphatase PTPRJ/DEP-1 genotype affects thyroid carcinogenesis. *Oncogene* 2004;23(52):8432-8.
 34. Lesueur F, Pharoah PD, Laing S, Ahmed S, Jordan C, Smith PL et al. Allelic association of the human homologue of the mouse modifier Ptprij with breast cancer. *Hum Mol Genet* 2005;14(16):2349-56.
 35. Akdeniz Odemis D, Tuncer SB, Adamnejad Ghafour A, Jabbarli K, Gider Y, Celik B et al. FGFR4 c.1162G > A (p.Gly388Arg) polymorphism analysis in Turkish patients with retinoblastoma. *J Oncol* 2020;2020:9401038.
 36. Bange J, Prechtel D, Cheburkin Y, Specht K, Harbeck N, Schmitt M et al. Cancer progression and tumor cell motility are associated with the FGFR4 Arg(388) allele. *Cancer Res* 2002;62(3):840-7.
 37. Leung HY, Gullick WJ, Lemoine NR. Expression and functional activity of fibroblast growth factors and their receptors in human pancreatic cancer. *Int J Cancer* 1994;59(5): 667-75.
 38. Wang J, Stockton DW, Ittmann M. The fibroblast growth factor receptor-4 Arg388 allele is associated with prostate cancer initiation and progression. *Clin Cancer Res* 2004;10(18 Pt 1):6169-78.
 39. Brito LP, Lerario AM, Bronstein MD, Soares IC, Mendonca BB, Fragoso MC. Influence of the fibroblast growth factor receptor 4 expression and the G388R functional polymorphism on Cushing's disease outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(10):E271-9. doi: 10.1210/jc.2010-0047.
 40. Akdeniz D, Tuncer SB, Kebudi R, Celik B, Kuru G, Kilic S et al. Investigation of new candidate genes in retinoblastoma using the TruSight One "clinical exome" gene panel. *Mol Genet Genomic Med* 2019;7(8):e785. doi: 10.1002/mgg3.785
 41. Tieder M, Modai D, Samuel R, Arie R, Halabe A, Bab I et al. Hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria. *N Engl J Med* 1985;312(10):611-7.
 42. Tahbazlahafi B, Paknejad M, Khaghani S, Sadegh-Nejadi S, Khalili E. Vitamin D Represses the Aggressive Potential of Osteosarcoma. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2021;21(7):1312-8.
 43. Ichikawa S, Sorenson AH, Imel EA, Friedman NE, Gertner JM,

- Econs MJ. Intronic deletions in the SLC34A3 gene cause hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(10):4022-7.
44. Hureaux M, E Ashton, K Dahan, P Houillier, A Blanchard, C Cormier, et al., High-throughput sequencing contributes to the diagnosis of tubulopathies and familial hypercalcemia hypocalciuria in adults. *Kidney Int* 2019;96(6):1408-16.
45. Ali M, Kim H, Cleary S, Cupples C, Gallinger S, Bristow R. Characterization of mutant MUTYH proteins associated with familial colorectal cancer. *Gastroenterology* 2008;135(2):499-507.
46. Zai CC, AK Tiwari, V Basile, V de Luca, DJ Muller, AN Voineskos, et al., Oxidative stress in tardive dyskinesia: genetic association study and meta-analysis of NADPH quinone oxidoreductase 1 (NQO1) and Superoxide dismutase 2 (SOD2, MnSOD) genes. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2010;34(1):50-6.
47. Smith MT. Benzene NQO1 and genetic susceptibility to cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96(14):7624-6.
48. Chhetri J, AE King, and N Gueven, Alzheimer's Disease and NQO1: Is there a Link? *Curr Alzheimer Res* 2018;15(1):56-66.
49. Chao C, Zhang ZF, Berthiller J, Boffetta P, Hashibe M. NAD(P) H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) Pro187Ser polymorphism and the risk of lung, bladder, and colorectal cancers: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15(5): 979-87.
50. Valenzuela M, Glorieux C, Stockis J, Sid B, Sandoval JM, Felipe KB, et al., Retinoic acid synergizes ATO-mediated cytotoxicity by precluding Nrf2 activity in AML cells. *Br J Cancer* 2014;111(5):874-82.