

■ Orjinal Makale

BRCA1/2 normal meme kanserli kadınlarda genotip-fenotip ilişkisinin araştırılması: Türkiye'den tek merkez deneyimi

Investigation of genotype-phenotype relationship in women with BRCA1/2 normal breast cancer: A single-center experience from Turkey

Neslihan DÜZKALE^{1*}, Aysun GÖKÇE², Tülay EREN³, Gökşen İnanç İMAMOĞLU³, Mustafa ALTINBAŞ³

¹Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Genetik Bölümü, Ankara/TÜRKİYE

²Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Patoloji Bölümü, Ankara/TÜRKİYE

³Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Kliniği,, Ankara/TÜRKİYE

ÖZ

Amaç: Meme kanserlerinin yaklaşık %10'unun kalıtsal olduğu ve bunların yaklaşık %20'sinden BRCA1/2 genlerinin sorumlu olduğu bilinmektedir. Yapılan araştırmalar, meme kanserinde BRCA1/2 dışındaki birçok genin mutasyonlarının da yatkınlığa neden olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada meme kanserli kadınlarda diğer kanser yatkınlık genlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Bu retrospektif çalışmaya Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genetik Bölümü'nde 2016-2020 yılları arasında değerlendirilen 66 kadın hasta dahil edildi. Hastaların kansere yatkınlık genleri, yeni nesil dizileme tekniği (NGS) kullanılarak incelendi.

Bulgular: Hastaların ortalama tanı yaşı 43 ± 8.0 idi. Genetik analiz ile 66 hastanın 9'unda (%13,63) nedensel gen tespit edildi. Bu genler ATM (%11), BRIP1 (%11), CHEK2 (%34), FANCC (%11), MUTYH (%11) ve PALB2 (%22). Nedensel varyantı olan hastalar ve diğerleri gruplandırılarak tanı yaşı, tümör lokalizasyonu, tümörün histopatolojik tipi, östrojen/progesteron reseptör durumu, c-erbB2, evre, tanı anındaki metastaz ve kanserli akraba sayısı gibi parametreler açısından karşılaştırıldı. Gruplar arasında istatistiksel bir ilişki bulunamadı.

Sonuç: Bu çalışmada Tıbbi Genetik bölümümüze başvuran meme kanserli kadınlarda BRCA1/2 dışındaki kansere yatkınlık genlerinin nedensel varyantlarının saptanma oranı %13,63 olarak belirlendi. Kanserli bireylerde NGS ile çoklu gen testlerinin yapılması, taşıyıcı bireylerin doğru tanı ve uygun tedavi almalarını ve gerekli taramalara yönlendirilmelerini sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri; BRCA1/2; kalıtsal kanser yatkınlık genleri; yeni nesil dizileme; çoklu gen paneli

Sorumlu Yazar*: Neslihan DÜZKALE, Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Genetik Bölümü, Ankara/TÜRKİYE

E-posta: neslihanduzkale@gmail.com

ORCID: 0000-0001-6122-5316

Gönderim: 05/06/2021 kabul: 20/09/2021

Doi: 10.18663/tjcl.948240

ABSTRACT

Aim: It is known that approximately 10% of breast cancers are hereditary, and BRCA1/2 genes are responsible for approximately 20% of these. Studies have shown that mutations of many genes other than BRCA1/2 in breast cancer also cause this predisposition. In this study, it was aimed to investigate other causative cancer susceptibility genes in women with breast cancer.

Material and Methods: In this retrospective study, 66 female patients who were evaluated in Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Training and Research Hospital Genetics Department between 2016-2020 were included. Cancer susceptibility genes of the patients were examined using next-generation sequencing technique (NGS).

Results: Mean age at diagnosis of the patients was 43 ± 8.0 . By genetic analysis, causative genes were identified in 9 (13.63%) of 66 patients. These genes are ATM (%11), BRIP1 (%11), CHEK2 (%34), FANCC (%11), MUTYH (%11) and PALB2 (%22). Patients with a causal variant and others were grouped, and compared in terms of parameters such as age at diagnosis, tumor localization, histopathological type of tumor, estrogen/progesterone receptor status, c-erbB2, stage, metastasis at diagnosis, and number of relatives with cancer. No statistical relationship was found between the groups.

Conclusion: This study determined the rate of detection of causal variants of cancer susceptibility genes other than BRCA1/2 in women with breast cancer who applied to the medical genetics department as 13.63%. Performing multiple gene tests with the NGS in cancer individuals will allow carrier individuals to receive correct diagnosis and appropriate treatment and to be directed to necessary screenings.

Keywords: Breast cancer; BRCA1/2; hereditary cancer susceptibility genes; next generation sequencing; multi-gene panel

Giriş

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen neoplazi türü olup, aynı cinsiyette kanser nedeniyle olan ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir. Meme kanserinin dünya genelindeki yıllık insidansının tahminen 1,4 milyon olduğu ve bunların yaklaşık üçte birinin ise kanser nedeniyle öldüğü bildirilmiştir [1]. 19. yüzyılın ortalarında meme kanserlerinin ailesel kümelenmelerinin tanımlandığı raporun bildirilmesinden bu yana, günümüzde tüm meme kanserlerinin %5-10'unun kalıtsal olduğu kabul edilmektedir. Pozitif aile öyküsü, meme kanserinin kalıtsal türünün gelişiminde en önemli risk faktörlerinden biridir. Meme kanser ailelerinde genellikle dominant bir kalıtım paterni hakimdir ve bireylerde erken tanı yaşı, kanserin bilateral olması, over kanseri ve erkek cinsiyet meme kanserinin artmış sıklığı gözlenmektedir [2,3]. Popülasyon temelli epidemiyolojik çalışmalarda, ailesel meme kanseri vakalarının yalnızca %16-20'sinde, BRCA1 ve BRCA2 genlerinin sorumlu olduğu gösterilmiştir [4]. Yüksek penetranslı BRCA1/2 genlerinden başka; TP53, CDH1, PTEN, STK11, RAD51C, RAD51D gibi diğer yüksek penetranslı genler ve ATM, CHEK2, BRIP1, PALB2 gibi düşük/orta penetranslı genler de, ailesel meme kanseri hikayesine sahip olgularda nedensel olabilmektedir. Bu genler çoğunlukla, genomik bütünlüğün ve DNA onarım mekanizmalarının sürdürülmesinde rol oynamaktadır [5]. Bu çalışmada, meme kanseri tanısı almış

ve BRCA1/2 genlerinde nedensel varyant saptanmayan kadınlarda, meme kanserine yatkınlık oluşturabilecek diğer genlerin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Bu retrospektif kohort çalışmasına, 2016-2020 yılları arasında Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genetik Bölümü'nde değerlendirilmiş olan, 18 yaşından büyük, aralarında akrabalık bulunmayan ve meme kanseri tanılı 66 kadın hasta dahil edilmiştir. Hastaların tamamı Ulusal Kapsamlı Kanser Ağ (NCCN) kılavuzlarının yönergeleri doğrultusunda BRCA1/2 gen testi için yeterli kriterleri sağlamış ve yeni nesil dizileme (NGS) tekniği kullanılarak sözkonusu genler incelenmiştir [6].

Bu analiz sonucunda normal olarak değerlendirilen hastalarda, BRCA1/2 genlerindeki olası geniş genomik yeniden düzenlenmelerin değerlendirilmesi amacıyla, multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu (MLPA) tekniği ile delesyon/duplikasyon araştırmaları yapılmıştır. Araştırmaya dahil edilen ve BRCA1/2 gen analizleri normal olarak sonuçlanmış olan 66 hastada BRCA1/2 dışında diğer kanser yatkınlık genleri incelenmiştir. Hastaların demografik özellikleri, klinik detayları ve tümörlerinin histopatolojik bulguları detayları ile ilgili bilgiler, hasta dosyaları ve tıbbi kayıtlarından retrospektif olarak elde edilmiştir. Tüm hastaların meme kanseri tanıları histolojik olarak doğrulanmış ve evreleme, Amerikan Ortak Kanser Komitesi'nin (AJCC) altıncı baskısına göre belirlenmiştir [7].

İmmünohistokimya (İHK) ile pozitif boyanan hücreler %1'den daha az ise östrojen ve progesteron reseptör durumları negatif olarak değerlendirilmiştir. İHK boyamasında c-erbB-2 (HER-2/neu) gen amplifikasyonu için membranöz boyama, 0'dan +3'e derecelendirilmiş ve boyama modeli +2 olan hastalar, floresan in situ hibridizasyon yöntemi kullanılarak tekrar değerlendirilmiş ve HER2 geninin <2 kopyası negatif kabul edilmiştir.

Hastaların üç kuşak pedigranalizlerinden kanserli akraba sayısı ve akrabalarındaki kanserlerin türleri incelenmiştir. Bu çalışma, Helsinki Bildirgesi'ne göre etik sorumluluklar dikkate alınarak yapılmış ve bağımsız bir etik kurul tarafından onaylanmıştır. Bu çalışmaya katılan tüm hastalar, çalışma ile ilgili bilgilendirilmiş ve yazılı onamları alınmıştır.

Etik Beyannamesi

Çalışmaya katılan hastalardan, çalışma ile ilgili tüm verilerin yayınlanması için çalışma öncesinde yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır. Bu çalışma Dünya Tabipler Birliği ve Helsinki Bildirgesi'ne göre etik sorumluluklar dikkate alınarak yapılmış ve bağımsız bir Etik Kurul tarafından onaylanmıştır.

Genetik Analiz

Hastaların periferik venöz kan örneklerinden DNA ekstrakte etmek için QIAcube® otomatik izolasyon sistemi (Qiagen Inc. Mississauga, Kanada) kullanılmıştır. Kalitesi ve konsantrasyonu spektrofotometrik olarak değerlendirilen ve uygun bulunan DNA örnekleri (OD260/OD280, 1.8-2.0) NGS çalışmasına dahil edilmiştir. Dizileme işleminde kullanılan platform, Illumina MiSeq sistemidir (Illumina Inc., San Diego, CA, ABD).

Bu çalışmada 59 gen içeren Qiagen geniş kalıtsal kanser paneli (Qiagen, Hilden, Almanya) ve 27 gen içeren Kalıtsal Kanser Solusyon v1.1 paneli (Sophia Genetics, Saint-Sulp) kullanıldı. 59 gen içeren geniş panelde; AIP, APC, ATM, ATR, AXIN2, BAP1, BARD1, BLM, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, BRIP1, BUB1B, CDH1, CDK4, CDKN2A, CHEK2, CTNNA1, EPCAM, FAM175A, FANCC, FLCN, GALNT12, GEN1, GPC3, GREM1, HOXB13, MET, MLH1, MRE11A, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, NTHL1, PALB2, PALLD, PIK3CA, PMS1, PMS2, POLD1, PRSS1, PTCH1, PTEN, RAD50, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RET, RINT1, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD4, SMARCA4, STK11, TP53, VHL, XRCC2 genleri mevcuttu. 27 gen içeren panel ise; ATM, APC, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, EPCAM, FAM175A, MLH1, MRE11A, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, PALB2, PIK3CA, PMS2, PMS2CL, PTEN, RAD50, RAD51C, RAD51D, STK11, TP53, XRCC2 genlerini kapsıyordu.

Analiz sonucunda elde edilen verilerin analizinde; Qiagen geniş kalıtsal kanser paneli için QIAGEN Clinical Insight (QCI™) yazılımı (QIAGEN, Hilden, Almanya) ve Kalıtsal Kanser Çözümü

v1.1 paneli için Sophia DDM yazılımı (Sophia Genetics, SaintSulp) kullanıldı. Araştırılan genlerin eksonik bölgelerine ek olarak, ekson-intron sınırındaki intron bölgelerinde de 20 baz çifti değerlendirildi. Çalışmada tespit edilen varyantlar, Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Koleji (ACMG) kılavuzundaki kriterlere göre sınıflandırıldı [8].

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için IBM SPSS 25 (Statistics Programme for Social Scientists) (USA) programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu için Kolmogorov Smirnov testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan sürekli veriler ortanca (aralık) olarak, kategorik veriler ise frekans (yüzde) olarak verildi. Bağımsız gruplar arasında normal dağılıma uymayan iki grup verilerinin karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Bağımsız kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare veya Fisher'ın Exact testi kullanıldı. Bu çalışmada istatistiksel analizler iki yönlü uygulandı ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Bu çalışmaya dahil edilen 66 hastanın yaş ortalaması $49 \pm 10,4$ (ortanca: 47 (26-77)) ve ortalama tanı yaşı ise $43 \pm 8,0$ (ortanca: 42 (24-69)) idi. Hastaların demografik ve klinikopatolojik özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. Genetik analizi gerçekleştirilen 66 hastadan 9'unda meme kanserine yatkınlık oluşturan çeşitli genlerde heterozigot durumda, patojenik ve muhtemel patojenik varyantlar tespit edildi (Tablo 2). Nedensel genler, 3 (%34) hastada CHEK2, 2 (%22) hastada PALB2 ve 1'er hastada (%11) ATM, MUTYH, FANCC ve BRIP1 genleri olarak saptandı (Şekil 1). Yapılan genetik analiz ile mutasyonların tespit edilme oranı %13,63 (9/66 hasta) olarak tespit edildi. Bu nedensel varyantlardan %44,4 (4/9 hasta)'u 59 gen içeren panel ile %55,6 (5/9 hasta)'u 27 gen içeren panel ile saptandı. 22 hastanın araştırılan genlerinde klinik önemi bilinmeyen varyantlar (VUS) olmasına rağmen hastalıklarının genetik arka planı aydınlatılamadı ve bu hastalar ilişkili VUS'ların netleşmesi amacıyla periyodik yeniden değerlendirme programına (ilgili VUS'un belirli intervallerle (6 ay-1 yıl) yeniden sınıflandırılması işlemi) dahil edildi. Kalan 35 hastanın araştırılan genleri normal olarak değerlendirildi.

Çalışmada nedensel varyantları taşıyan ve taşımayan hastalar istatistiksel karşılaştırma için ayrı ayrı gruplandırıldı. Bu gruplar arasında yaş, tanı yaşı, primer tümörün lokalizasyonu, tümörün histopatolojik tipi, östrojen/progesteron reseptör pozitiflik durumu, c-erbB2 skoru, grade, tanı anı metastaz, meme kanserli akrabaların sayısı ve kanserli (tüm türler) akraba sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 3).

Tablo 1. Hastaların demografik, klinik ve patolojik özellikleri

Değişken (n=66)	Birey sayısı (% değer)
Genetik analiz sonuçları	
Patojenik/Likely patojenik	9 (13,4)
VUS	22 (33,2)
Normal	35 (53,4)
İlk prezentasyon	
Rutin kontrol	13 (19,7)
Ele gelen kitle	53 (80,3)
Tümör yerleşimi	
Sağ meme	33 (50,0)
Sol meme	32 (48,5)
Bilateral meme	1 (1,5)
Histopatolojik sonuç	
İnvaziv duktal	47 (71,2)
DCIS	9 (13,4)
İnvaziv lobüler	1 (1,5)
LCIS	1 (1,5)
Mix	5 (7,6)
Müsinöz	2 (3,0)
Papiller	1 (1,5)
Östrojen reseptörü	
Pozitif	57 (86,4)
Negatif	9 (13,6)
Progesteron reseptörü	
Pozitif	54 (81,8)
Negatif	12 (18,2)
C-erbB2 skor	
0	12 (18,2)
1	9 (13,6)
2	13 (19,7)
3	32 (48,5)
Derece (Grade)	
1	8 (12,1)
2	25 (37,9)
3	33 (50,0)
Tanı anı metastaz	
Yok	44 (66,7)
Var	22 (33,3)
Medeni hali	
Bekar	10 (15,2)
Evli	51 (77,3)
Dul	5 (7,6)
Çocuk sayısı	
Yok	13 (19,7)
1-2	42 (63,6)
3 ve üzeri	11 (16,7)
Akrabalarda yalnız meme kanserli birey sayısı	
Yok	17 (25,8)
1-2 çocuk	38 (57,6)
3 çocuk ve üzeri	11 (16,7)
Akrabalarda kanserli birey sayısı (tüm kanser türleri)	
0	1 (1,5)
1-2	18 (27,3)
3-5	39 (59,1)
6 ve üzeri	8 (12,1)

Verilerin normal dağılıma uygunluğu için Kolmogorov Smirnov testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan sürekli veriler ortanca (aralık) olarak, kategorik veriler ise frekans (yüzde) olarak verildi.

Tablo 2: Çalışmada tespit edilen tüm gen varyantları.

ID	Gen	Nük/AA Değişimi	Varyant tipi	ACMG	Yaş	Tanı yaşı	dbSNP	Akrabalarda kanser öyküsü
P5	XRCC2	c.450C>A p.(Ser150Arg)	MS	VUS	60	39	-	1 ^o 1 Bra, 1 Colon
								2 ^o 1 Bra
								3 ^o 3 Bre
P7*	BRIP1	c.2947delA (p.Ile983LeufsTer2)	FS	PAT	56	51	rs77468 4620	1 ^o 1 End, 1GB
								2 ^o 1 Leu, 1GB
								3 ^o 1 Sto
P8	CDHI	c.2359G>A (p.Val787Ile)	MS	VUS	35	35	rs76627 0336	1 ^o -
								2 ^o 2 Bre, 1 Lung
								3 ^o -
P9	POLDI	c.2293G>A (p.Val765Met)	MS	VUS	59	50	rs75919 0487	1 ^o 1 Pr, 1 Bre, 1 MM
								2 ^o 1 Bra, 1 Lung
								3 ^o -
P10	ATM	c.6869A>C (p.Glu2290Ala)	MS	VUS	63	54	rs15551 19842	1 ^o 1 Bre
								2 ^o 1 End, 1 Colon
								3 ^o 1 Bre, 1 Lung
P12	RET	c.224C>T (p.Thr75Met)	MS	VUS	33	33	rs14264 1173	1 ^o 1 Bre
								2 ^o 1 Colon
								3 ^o 1 Pa
P13*	MUTYH	c.545G>A (p.Arg182His)	MS	PAT	55	48	rs14335 3451	1 ^o 1 Bre
								2 ^o 1 MM
								3 ^o 1GB
P15	BRIP1	c.326A>G (p.Asn109Ser)	MS	VUS	62	49	rs58778 2734	1 ^o 1 HL+Bre, 1 Lrx
								2 ^o 1 End, 2 Bre, 1 Sto
								3 ^o 1Leu, 1Skin, 1Bre
P20	RINT1	c.1333+1G>A (p.?)	SE	VUS	43	38	rs37535 0359	1 ^o 1 Bre, 1Pr
								2 ^o 1 End
								3 ^o -
P21	MLH1	c.1876T>C (p.Phe626Leu)	MS	VUS	62	26	rs37724 1633	1 ^o 1 Bre, 1 Colon
								2 ^o 1 Bre, 1 MM+Lrx
								3 ^o -
P23*	FANCC	c.844-1G>C (p.?)	SE	PAT	60	52	rs77420 9201	1 ^o 1 Pr, 1 GB
								2 ^o 1 Ovary, 1 GB, 1 Es
								3 ^o 1 Colon, 1 Larenx
P24	MRE11A	c.818C>G (p.Ser273Cys)	MS	VUS	50	43	rs14340 0546	1 ^o 1 Pr
								2 ^o 1 Bre
								3 ^o -
P24	CHEK2	c.944G>A (p.Gly315Glu)	MS	VUS	50	43	rs15559 15471	1 ^o 1 Pr
								2 ^o 1 Bre
								3 ^o -
P25*	CHEK2	c.1389C>A (p.Cys463Ter)	NS	PAT	45	44	rs76220 5611	1 ^o 1 MDS, 1 Colon
								2 ^o 1 Bre, 1 Lung, 1 Sto
								3 ^o -
P26	BARD1	c.127C>G (p.Arg43Gly)	MS	VUS	52	45	rs75287 1324	1 ^o 1 Bre, 1 MM
								2 ^o -
								3 ^o 1 Colon
P27	RET	c.628G>A (p.Glu210Lys)	MS	VUS	44	39	rs10605 00762	1 ^o 1 Lung
								2 ^o 1 Bre, 1 Sto
								3 ^o 1 Bre
P36	RAD50	c.2177G>A (p.Arg726His)	MS	VUS	55	48	rs28903 092	1 ^o 1 Lung, 1 Pr
								2 ^o 1 Bre
								3 ^o -
P37	PMS2	c.1999G>A	MS	VUS	50	45	rs58778	1 ^o 1 Lung



		(p.Glu667Lys)					0045	2 ^o	1 Bre, 1 Sto, 1 Lrx
								3 ^o	-
P41	<i>ATM</i>	c.2573T>A (p.Phe858Tyr)	MS	VUS	46	45	-	1 ^o	2 Bre
								2 ^o	
								3 ^o	1 Bre
P42*	<i>PALB2</i>	c.211+1G>T (p.?)	SE	PAT	37	37	rs15554 62026	1 ^o	1 End
								2 ^o	2 End,1 Pa,1Pr
								3 ^o	-
P43	<i>MET</i>	c.142G>A (p.Ala48Thr)	MS	VUS	64	49	rs37405 0750	1 ^o	1 Bre
								2 ^o	1 Colon, 1 Sto
								3 ^o	
P45*	<i>ATM</i>	c.8124T>A (p.Asp2708Glu)	MS	PAT	51	33	rs58778 1990	1 ^o	1 Colon
								2 ^o	1 Thyroid
								3 ^o	2 Bre, 1 Colon
P47	<i>RAD51B</i>	c.1155A>T (p.Ter385Tyrext*64)	NS	VUS	56	42	rs89290 4253	1 ^o	1 Parathyroid
								2 ^o	1 End
								3 ^o	-
P48	<i>SMARCA4</i>	c.4930G>A (p.Gly1644Ser)	MS	VUS	43	43	rs37231 9442	1 ^o	1 End
								2 ^o	1 Larenx, 1 Bra
								3 ^o	2 Bra, 1 Colon
P48	<i>MSH6</i>	c.1729C>T (p.Arg577Cys)	MS	VUS	43	43	rs54283 8372	1 ^o	1 End
								2 ^o	1 Larenx, 1 Bra
								3 ^o	2 Bra, 1 Colon
P49	<i>POLE</i>	c.5668A>G (p.Ile1890Val)	MS	VUS	77	NA	rs74580 4149	1 ^o	1 Bre
								2 ^o	1 MaM
								3 ^o	-
P49	<i>GEN1</i>	c.482A>G (p.Tyr161Cys)	MS	VUS	77	NA	rs92290 5215	1 ^o	1 Bre
								2 ^o	1 MaM
								3 ^o	-
P51*	<i>CHEK2</i>	c.1427C>T (p.Thr476Met)	MS	L.PAT	39	36	rs14276 3740	1 ^o	NA
								2 ^o	NA
								3 ^o	NA
P52*	<i>CHEK2</i>	c.1427C>T (p.Thr476Met)	MS	L.PAT	42	40	rs14276 3740	1 ^o	1 Sto
								2 ^o	1 Sto
								3 ^o	-
P54	<i>CDH1</i>	c.2387G>A (p.Arg796Gln)	MS	VUS	42	39	rs58778 2549	1 ^o	-
								2 ^o	1 Bre, 1 Liver
								3 ^o	1 Sto
P57	<i>MSH2</i>	c.435T>G (p.Ile145Met)	MS	VUS	45	40	rs63750 124	1 ^o	1 Per, 1 Bre,
								2 ^o	1 Bre
								3 ^o	2 Bre
P58	<i>BRIP1</i>	c.3178G>A (p.Val1060Ile)	MS	VUS	46	43	rs14901 6505	1 ^o	-
								2 ^o	-
								3 ^o	1 End, 1 Bre
P63*	<i>PALB2</i>	c.557dup (p.Asn186fs)	FS	PAT	58	58	rs15554 61727	1 ^o	2 Bre
								2 ^o	2 Bre
								3 ^o	-
P64	<i>ATM</i>	c.2021A>G (p.His674Arg)	MS	VUS	73	69	rs20176 2714	1 ^o	-
								2 ^o	1 Colon
								3 ^o	-

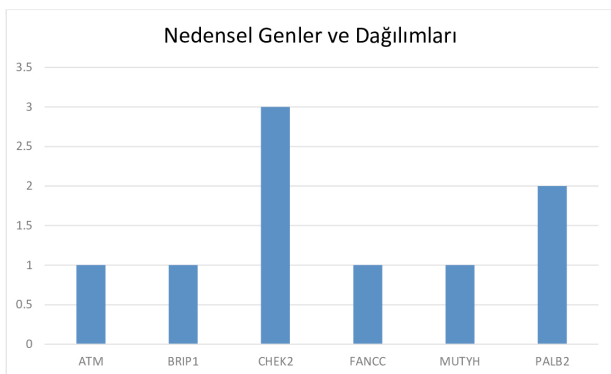
Tablo 3: Nedensel gen taşıyıcılığının, değişkenler ile ilişkisi

Değişken		Nedensel gen taşıyıcısı olmayanlar N=57	Nedensel gen taşıyıcısı olanlar N=9	İstatistiksel anlamlılık düzeyi (p)*
Yaş, ortanca (IQR)		42 (39-46)	44 (37-51)	0,594
Tümör lokalizasyon				
	Sağ	28 (49,1)	5 (55,6)	0,879
	Sol	28 (49,1)	4 (44,4)	
	Bilateral	1 (1,8)	0 (0)	
Histopatoloji				
	İnvaziv duktal	41 (71,7)	6 (66,7)	-
	Duktal in situ karsinoma	9 (15,8)	0 (0)	
	İnvaziv lobüler	1 (1,8)	0 (0)	
	Lobüler in situ karsinoma	1 (1,8)	0 (0)	
	Mikst karsinoma	3 (5,3)	2 (22,2)	
	Müsinöz	1 (1,8)	1 (11,1)	
	Papiller	1 (1,8)	0 (0)	
Ostrojen reseptörü				
	Pozitif	48 (84,2)	0 (0)	0,341
	Negatif	9 (15,8)	9 (100)	
Progesteron reseptörü				
	Pozitif	48 (84,2)	3 (33,3)	0,347
	Negatif	9 (15,8)	6 (66,7)	
c-erbB2				
	0	10 (17,5)	2 (22,2)	0,469
	1	9 (15,8)	0 (0)	
	2	10 (17,5)	3 (33,3)	
	3	28 (49,1)	4 (44,4)	
Grade				

ID, Hasta barkod numarası, yıldızlı işaretlenen nedensel varyant tespit edilen hastalardır; Nük, Nükleotid; AA, Aminoasit; Lok, Lokalizasyon; Family History, This column shows the number of individuals with retinopathy in relatives; AA, aminoacid; Lok:Varyantın gende yerleştiği bölge; E: Ekzon; I:Intron; FS, çerçeve kayması; MS, missense; NS, nonsense; RE, düzenleyici; SE, splice etki; S, sinonim, P, patojenik; LP, muhtemel patojenik; Akrabalarda kanser öyküsü sütunu, incelenen 3 kuşak pedigrı analiz notlarından elde edilmiştir. Bu sütunda, kanserli akrabaların sayısı ve kanserlerinin türü sunulmuştur; MM, Multipl Myeloma; MaM, Malign Melanoma; End, Endometrium; Pa, Pankreas; Es, Özofagus; GB, Safra kesesi; Per, Periton; Lrx, Larinks; Pr, Prostat; HL, Hodgkin Lenfoma; Bre, Meme; Bra, Beyin; Leu, Lösemi; Sto, Mide; Genomik varyantlar için tercih edilen transkript numaraları: NM_005431.2 (XRCC2), NM_032043.3 (BRIP1), NM_004360.5 (CDH1), NM_001256849.1 (POLD1), NM_000051.4 (ATM), NM_020975.6 (RET), NM_001128425.2 (MUTYH), NM_032043.3 (BRIP1), NM_021930.6 (RINT1), NM_000249.4 (MLH1), NM_000136.3 (FANCC), NM_005591.4 (MRE11A), CHEK2 (NM_007194.4), BARD1 (NM_000465.4), NM_020975.6 (RET), NM_005732.4 (RAD50), NM_000535.7 (PMS2), NM_000051.4 (ATM), NM_024675.4 (PALB2), NM_001127500.3 (MET), NM_006218.4 (PIK3CA), NM_133509.4 (RAD51B), NM_001128849.3 (SMARCA4), NM_000179.3 (MSH6), NM_006231.4 (POLE), NM_182625.5 (GEN1), NM_007194.4 (CHEK2), NM_130799.2 (MEN1), NM_000251.3 (MSH2), NM_032043.3 (BRIP1).

	1	7 (12,3)	1 (11,1)	0,485
	2	20 (35,1)	5 (55,6)	
	3	30 (52,6)	3 (33,3)	
Tanı anında metastaz				
	Yok	39 (68,4)	5 (55,6)	0,467
	Var	18 (31,6)	4 (44,4)	
Akrabalarda yalnız meme kanserli birey sayısı				
	Yok	13 (22,8)	4 (44,4)	0,383
	1-2	34 (59,7)	4 (44,4)	
	3 ve üzeri	10 (17,5)	1 (11,1)	
Akrabalarda kanserli birey sayısı (kanserin tüm türleri)				
	0	1 (1,8)	0 (0)	0,545
	1-2	17 (29,8)	1 (11,1)	
	3-5	33 (57,9)	6 (66,7)	
	6 ve üzeri	6 (10,5)	2 (22,2)	

*Bağımsız kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare veya Fisherin Exact testi kullanıldı ve normal dağılıma uymayan iki grup verilerinin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olan p değeri, karşılaştırılan tüm parametreler açısından anlamlı bulunamadı.



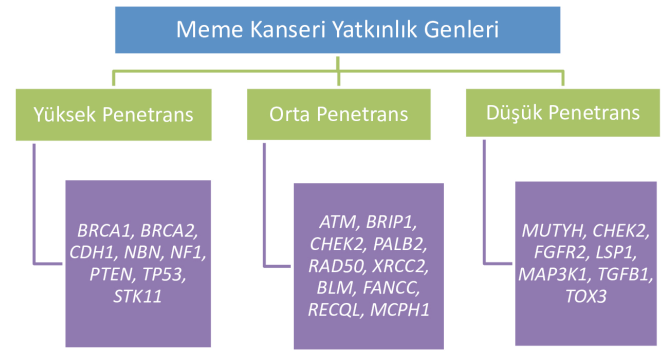
Şekil 1: Çalışmada saptanan nedensel genler. Çalışmada saptanan nedensel genler; ATM (1/9, %11), BRIP1 (1/9, %11), CHEK2 (3/9, %34), FANCC (1/9, %11), MUTYH (1/9, %11) ve PALB2 (2/9, %22) olarak saptandı.

Tartışma

Genel toplum insidansı %12 olan meme kanseri ile ilgili gerçekleştirilen epidemiyolojik çalışmalar, meme kanserli olan kadınların birinci derece kadın akrabalarının, genel popülasyona kıyasla, hastalığa yakalanma riskinin yaklaşık iki kat daha fazla olduğunu göstermiştir [9, 10]. Bu kanser türünün paylaşılan çevresel, genetik faktörlerden veya her ikisinden de kaynaklanabileceği düşünülse de, yapılan ikiz çalışmaları ile ailesel riskin çoğunlukla kalıtsal yatkınlık nedeniyle olduğunu kanıtlanmıştır [4, 10]. Güçlü meme kanseri öyküsü olan ailelerde, kalıtsal yatkınlık faktörlerinden en iyi bilinenleri BRCA1 ve BRCA2 genleridir [11]. BRCA1/2, tümör baskılayıcı genler olarak işlev görür ve genomik stabilitenin korunmasını sağlarlar. Her iki gen de, RAD51 ile etkileşime girerek homolog rekombinasyon yoluyla çift sarmal kırılmaların onarımında rol oynarlar [12]. Yapılan

çalışmalarda BRCA1/2 genlerinden başka, meme kanserine yakınlık oluşturan birçok gen tanımlanmıştır. Bu genler meme kanserinde penetrasyon seviyelerine göre (sözkonusu genin, fenotipik olarak ifade edilmesinin istatistiksel oranı); yüksek, orta ve düşük penetrasyonlu olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 2). BRCA1/2 ve TP53 gibi yüksek penetranslı genlere ait nedensel varyantlar, popülasyonda %0,1'den daha az taşıyıcılık frekansı ile nadir görülen ve meme kanseri riskini 10-20 kat artıran genomik değişimlerdir. Buna karşın ATM, BRIP1, CHEK2, PALB2 gibi orta düzeyde meme kanser yakınlık genlerinin nedensel varyantlarının popülasyon taşıyıcılık frekansları %0,6'dan daha az sıklıktadır ve meme kanser riskinde 2-4 kat artışa neden olmaktadır [4]. Yüksek ve orta düzeyde penetrasyon gösteren bu genler dışında, bazı genlere ait daha yaygın gözlenen (popülasyon frekansı %5-50 civarında olan), bazı düşük penetranslı meme kanser yakınlık alleleri de literatürde tanımlanmıştır. Bu alleler, son yıllarda gerçekleştirilen "genom çapında etiket SNP (genome-wide tag SNP) araştırmaları" sonucunda keşfedilmiştir. Günümüzde çok sayıda vaka/kontrolden oluşan birleşik setlerden elde edilen veriler, yedi allelin, düşük penetranslı meme kanser yakınlık alleli olduğunu onaylamıştır. Bunlardan beşi, bilinen protein kodlayan genleri kapsayan "bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium)" bölgelerinde ve kalan ikisi ise, bilinen protein kodlayan genlerin olmadığı bölgelerde lokalizedir. Bu alleler; rs2981582 (FGFR2, 10q), rs3803662 (TOX3, 16q), rs889312 (MAP3K1, 5q), rs3817198 (LSP1, 11p), rs13281615 (8q), rs13387042 (2q), rs1045485 (CASP8_D302H) olarak sıralanabilir. Düşük penetranslı alleleri heterozigot olarak taşıyanlarda meme kanseri göreceli riskinin yaklaşık 1,25 kat, homozigot olarak taşıyanlarda ise 1,65 kat artmış olduğu düşünülmektedir [13, 14]. Çalışmamızdaki mutasyon taşıyıcısı olan 9 hastanın 3'ünün nedensel geni CHEK2 idi. Bu gen tarafından ifade edilen ve bir serin/treonin kinaz olan CHEK2 kinaz, DNA hasarına yanıt veren hücresel ağın ayrılmaz bir bileşeni olarak genomik bütünlüğün korunmasına ve potansiyel olarak zararlı mutasyonların önlenmesine yardımcı olur. Yapılan çalışmalar, CHEK2'nin bir tümör baskılayıcı rolü olduğunu ve mutasyonlarının çeşitli kanser türlerine yakınlık oluşturabileceğini güçlü bir şekilde göstermektedir. Moleküler düzeyde, CHEK2 geninin mutasyonları ya CHEK2 ekspresyonunun kaybına yol açar ya da CHEK2'nin bir sinyal molekülü olarak işlevini zayıflatır [15]. CHEK2 mutasyonları, meme kanseri dahil olmak üzere, kolorektal kanser, testis germ hücre tümörleri, renal hücreli kanser, prostat kanseri gibi diğer kanserlerle de ilişkili bulunmuştur [16]. Mevcut Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (NCCN) kılavuzları, bu nedenle CHEK2 mutasyon

taşıyıcısı olan kadınlarda 40 yaşından itibaren yıllık mamografi ve meme MRI değerlendirilmesini önermektedir. Aynı kılavuz, ne kendisinde ne de birinci derece akrabasında kolorektal kanser bulunmayan CHEK2 mutasyon taşıyıcılarının da, 40 yaşından başlayarak her 5 yılda bir kolonoskopi taramasını önermektedir [17]. Bizim çalışmamızda da CHEK2 mutasyonu bulduğumuz hastalara genetik danışmanlık verilerek takip altına alınmıştır.



Şekil 2: Meme kanserinde penetrasyon düzeylerine göre, yakınlık genlerinin sınıflandırılması

Çalışmadaki 2 hastada PALB2 geninde mutasyon saptanmıştır. PALB2, nükleer odaklarda BRCA2'ye bağlanarak birlikte lokalize tümör baskılayıcı olarak işlev gören bir proteini kodlar. PALB2, çekirdekte BRCA2'nin lokalizasyonuna izin verir ve BRCA1-PALB2-BRCA2 kompleksi için moleküler yapı iskeleti sağlar. PALB2, hücrelerin DNA hasarını biriktirmesini önlemek için yalnızca BRCA2 ile çalışmakla kalmaz, aynı zamanda BRCA2 ile etkileşime girerek replikasyon proteini A'yı işlenmiş tek sarmallı DNA ucunda RAD51 ile değiştirir. PALB2'nin monoallelik mutasyonları kanserlerle sonuçlanabilirken, bialelik mutasyonları "Fanconi anemisi komplementasyonu (tamamlayıcı) grup N'ye yol açar [18]. Heterozigot PALB2 mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri ve pankreas kanseri riski artmıştır. Yapılan çalışmalar PALB2 germ hattı mutasyonları yaşam boyu meme kanseri için orta derecede artmış bir risk sağlarken, 30 yaş ve altındakilerde yaşa özgü göreceli riskte büyük ölçüde bir artış gözlenmiştir. PALB2 mutasyon taşıyıcılarındaki pankreas kanseri riski ise henüz tam olarak belirlenmemiştir [19-21]. Çalışmamızdaki hastalardan birinde, BRIP1 geninde nedensel bir varyant tespit edilmiştir. BRIP1 (BRCA1 ile etkileşime giren protein C-terminal helikaz 1), Fanconi anemisi (FA) yolağının bir üyesidir ve DNA çapraz bağlarının onarımı için bu genin aktivitesi gereklidir ve genom stabilitesinin sürdürülmesinde oldukça önemlidir. FA yolağının diğer üyeleri olan BRCA1 ve BRCA2'deki mutasyonların yol açtığı gibi, BRIP1 mutasyonlarının da over ve meme kanseri

gelişimi için risk artışına yol açtığı düşünülmektedir [22]. Çalışmadaki bir hastada MUTYH geninde, muhtemel patojenik bir varyant tespit edilmiştir. MUTYH geni, baz eksizyon onarım mekanizması yoluyla DNA hasarını onaran MYH glikozilaz enzimini ifade etmektedir. MUTYH, DNA hasarına yanıt olarak baz eksizyon onarımı ve apoptozu başlatsa da, birincil işlevi oksidatif DNA hasarını onarmaktır [23]. Bu genin homozigot ve bialelik mutasyon taşıyıcılarının kolorektal kanser açısından yüksek riske sahip olduğu bildirilmiştir, ancak heterozigot taşıyıcı kadınlarda meme kanseri riskiyle alakalı literatürde çelişkili yayınlar bulunmaktadır [24]. Bu çelişkili sonuçlara rağmen, MUTYH heterozigot taşıyıcı kadınlara, olası artan meme kanseri riskleri ve bu kanseri önlemeye yönelik genel önlemler hakkında danışmanlık verilmesi gerektiği düşünülmektedir [24].

Çalışmada bir diğer hastada ise, FANCC geninde nedensel bir varyant tespit edilmiştir. FANCC geni; protein ürünleri bir multiprotein çekirdek kompleksinde fiziksel olarak etkileşime giren, bir grup klasik Fanconi anemi genlerinden biridir. Bu genin, diğer bazı Fanconi anemi genleri ile birlikte toll benzeri reseptör yolunu modüle ettiği ve hematopoietik hücrelerde hücre döngüsünün bütünlüğünü koruduğu tespit edilmiştir. FA genlerinde heterozigotluğun meme ve diğer kanserlerle ilişkileri bildirilmiş olmasına rağmen, FANCD1/BRCA2 dışındaki Fanconi genlerinden herhangi birinin heterozigot taşıyıcılarının kanser gelişimi açısından yüksek risk altında olup olmadığı halen gizemini korumaktadır [3,4,9].

Çalışmadaki hastalardan birinde ATM nedensel varyantı tespit edilmiştir. ATM (Ataksi telenjipektazi ile mutasyona uğramış) gen, hasarlı DNA'nın onarımında ve hücre döngüsünün düzenlenmesinde oynar. Yetişkin popülasyonun %1-2'sinde patojenik ATM varyantları, heterozigot olarak taşınmaktadır [25]. Yapılan meta-analiz sonuçları, ATM geni nedensel varyantlarının meme kanseri insidansını artırdığını ve bu varyantları taşıyan kişilerin meme kanserine yakalanma riskinin arttığını göstermektedir. Bu heterozigot kadınlarda yaşam boyu meme kanseri riskinin %25'den fazla olabileceği tahmin edilmektedir. Bundan dolayı, bu kadınlara 40 yaşından itibaren yıllık mamografi taramaları önerilmektedir. Aile öyküsüne göre, hem mamografi hem de MRI ile taramanın daha erken başlaması düşünülebilir [25].

Sonuç

Günümüzde, aynı anda birden fazla genin dizilenmesine olanak veren çoklu gen testleri sayesinde gerçekleştirilen detaylı ve yoğun moleküler araştırmalara rağmen, halen

meme kanserli ailelerin %70'inden fazlasında genetik etiyopatogenez açıklanamamaktadır. Güçlü bir kanserli akraba geçmişine sahip bu ailelerde hastalığın nedeni tam olarak açıklanamamaktadır. Bu vakaların bir kısmı, çevresel risk faktörlerine atfedilebilir veya meme kanseri yaygın bir hastalık olduğundan, sporadik meme kanseri vakaları rastgele bir araya gelmiş de olabilir. Çalışmamızda, BRCA1/2 normal olan meme kanserli kadınlarda, incelenen diğer kanser yatkınlık genleri %13,63 oranında tespit edilmiştir. Bu araştırmada 59 ve 27 gen içeren 2 ayrı panel kullanılmış olup bu panellerin kapsadıkları genler sayıca oldukça farklı olmasına rağmen her iki panelin nedensel genleri tespit edebilme başarı oranları (%44 ve %55) birbirine yakın olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, çoklu gen testleri ile kalıtsal kanserlerde risk altındaki hastaların tespit edilmesi bu bireylerin uygun tanı, izlem, tarama ve tedavi programına dahil edilmesinde avantaj sağlar.

Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların herhangi bir çıkar dayalı ilişkisi yoktur.

Kaynaklar

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90.
2. Broca P. *Traité des tumeurs*. Vols. 1 and 2. Paris: Asselin; 1866-9
3. Honrado E, Benítez J, Palacios J. The molecular pathology of hereditary breast cancer: genetic testing and therapeutic implications. *Mod Pathol* 2005; 18: 1305-20
4. Stratton MR, Rahman N. The emerging landscape of breast cancer susceptibility. *Nat Genet* 2008; 40: 17-22.
5. Vargas AC, Reis-Filho JS, Lakhani SR. Phenotype-genotype correlation in familial breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2011; 16: 27-40.
6. Beck AC, Yuan H, Liao J et al. Rate of BRCA mutation in patients tested under NCCN genetic testing criteria. *Am J Surg* 2020; 219: 145-9.
7. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991; 19: 403-10.
8. Richards S, Aziz N, Bale S et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015; 17: 405-24.



9. Thompson D, Easton D. The genetic epidemiology of breast cancer genes. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2004; 9: 221–36.
10. Peto J, Mack TM. High constant incidence in twins and other relatives of women with breast cancer. *Nat Genet* 2000; 26: 411-4.
11. Gerdes AM, Cruger DG, Thomassen M, Kruse TA. Evaluation of two different models to predict BRCA1 and BRCA2 mutations in a cohort of Danish hereditary breast and/or ovarian cancer families. *Clin Genet* 2006; 69: 171-8.
12. Roy R, Chun J, Powell SN. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. *Nat Rev Cancer* 2011; 12: 68-78.
13. Easton DF, Pooley KA, Dunning AM et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 2007; 447: 1087-93.
14. Cox A, Dunning AM, Garcia-Closas M et al. A common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk. *Nat Genet* 2007; 39: 352-8.
15. Nevanlinna H, Bartek J. The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility. *Oncogene* 2006; 25: 5912-9.
16. Rainville I, Hatcher S, Rosenthal E et al. High risk of breast cancer in women with biallelic pathogenic variants in CHEK2. *Breast Cancer Res Treat.* 2020; 180: 503-9.
17. NCCN clinical practice guidelines in oncology, genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian (version 3. 2019). https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_bop.pdf. (5 Haziran 2021).
18. Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T et al. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med* 2014; 371: 497-506.
19. Zhou J, Wang H, Fu F et al. Spectrum of PALB2 germline mutations and characteristics of PALB2-related breast cancer: Screening of 16,501 unselected patients with breast cancer and 5890 controls by next-generation sequencing. *Cancer* 2020; 126: 3202-8.
20. Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T et al. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N Engl J Med* 2014; 371: 497-506.
21. Janatová M, Borecká M, Soukupová J et al. PALB2 jako další kandidátní gen pro genetické testování u pacientů s hereditárním karcinomem prsu v České republice [PALB2 as Another Candidate Gene for Genetic Testing in Patients with Hereditary Breast Cancer in Czech Republic]. *Klin Onkol* 2016; 29: 31-4.
22. Weber-Lassalle N, Hauke J, Ramser J et al. BRIP1 loss-of-function mutations confer high risk for familial ovarian cancer, but not familial breast cancer. *Breast Cancer Res* 2018; 20: 7.
23. Mazouzi A, Battistini F, Moser SC et al. Repair of UV-Induced DNA Damage Independent of Nucleotide Excision Repair Is Masked by MUTYH. *Mol Cell* 2017; 68: 797-807.
24. Rennert G, Lejbkowitz F, Cohen I, Pinchev M, Rennert HS, Barnett-Griness O. MutYH mutation carriers have increased breast cancer risk. *Cancer* 2012; 118: 1989-93.
25. Jerzak KJ, Mancuso T, Eisen A. Ataxia-telangiectasia gene (ATM) mutation heterozygosity in breast cancer: a narrative review. *Curr Oncol* 2018; 25: 176-80.