



T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**BRCA1 VE BRCA2 GENLERİNDE MUTASYON
SAPTANMAYAN MEME KANSERİ TANISI ALMIŞ
OLGULARDA AİLESEL KANSER GENLERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DUYGU ÇINAR

DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ OĞUZ ÇİLİNGİR

2020



T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**BRCA1 VE BRCA2 GENLERİNDE MUTASYON
SAPTANMAYAN MEME KANSERİ TANISI ALMIŞ
OLGULARDA AİLESEL KANSER GENLERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DUYGU ÇINAR

DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ OĞUZ ÇİLİNGİR

2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

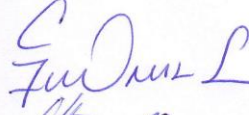
DUYGU ÇINAR'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı “**BRCA1 ve BRCA2 Genlerinde mutasyon saptanmayan Meme Kanseri Tanılı Olgularda Ailesel Kansere Genlerinin İncelenmesi**” başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek “**KABUL**” edilmiştir.

28.01.2020

Üye : Prof.Dr. Sevilhan ARTAN



Üye : Doç.Dr. Onur EROĞLU



Üye : Dr.Öğr.Üy. Oğuz ÇİLİNGİR



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
.../.../ tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Özkan ALATAŞ
Enstitü Müdürü

ÖZET

BRCA1 ve BRCA2 Genlerinde Mutasyon Saptanmayan Meme Kanseri Tanısı Almış Olgularda Ailesel Kanser Genlerinin İncelenmesi

Meme kanseri, kadınlarda en sık gözlenen kanser tipidir ve kanser tanısı almış her 4 kadından 1'inin tanısı meme kanseridir. Meme kanseri gelişimi için yaş, sigara / alkol / radyasyon maruziyeti, obezite, üreme ve adet öyküsü ile ilişkili risk faktörleri bulunmasının yanı sıra meme kanserine yatkınlık oluşturan genetik risk faktörleri de söz konusudur. Meme kanseri vakalarının yaklaşık %10-30'u kalıtsal faktörlere atfedilse de, vakalarının sadece %5-10'unda güçlü kalıtsal bir bileşen tespit edilmiştir. Patojenik değişimleri ailevi meme kanseri ile en sık ilişkilendirilmiş genler *BRCA1* ve *BRCA2* iken güncel bilimsel bilgiler diğer bir grup genin patojenik değişimlerinin de meme kanserine yatkınlıktan sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda meme kanseri tanısı almış ve risk faktörleri değerlendirildiğinde ailevi meme kanseri yatkınlığından şüphelenilmiş, fakat *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde yeni nesil dizileme (YND) yöntemi ile herhangi bir patojenik değişim saptanmayan otuz sekiz olguda meme kanserine yatkınlıktan sorumlu diğer genlerde genetik incelemeler yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla YND ile rutinde çalışılan ailesel kanser paneli içerisinde bulunan *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *MRE11*, *MSH6*, *NBN*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51*, *RAD51C*, *STK11*, *TP53* genleri dizilenmiş ve tespit edilen varyantlar kılavuzlara uygun olarak sınıflandırılarak patojenik (P), olası patojenik (OP) ve klinik önemi belirsiz (KÖB) olarak sınıflandırılmış varyantlar değerlendirmeye alınmıştır.

Çalışma sonucunda otuz sekiz olgunun 8 (%21)'inde 9 adet P / OP veya KÖB olarak sınıflandırılmış varyant tespit edilmiştir. Bu değişimlerin 4'ü *ATM* geninde, 2'si *BRIP1* geninde, 2'si *CHEK2* geninde, 1'i *MRE11* geninde, 1'i *MSH6* geninde bulunmuştur. Çalışmamız sayesinde patojenik değişim tespit edilen olgular ile aileleri koruyucu tedavi olanaklarına yönlendirilmiş, hangi genlerde daha sık olarak patojenik değişimler bulunduğu tespit edilmiş ve literatürde

daha önce bildirilmemiş yeni varyantlar meme kanseri yatkınlığı ile ilişkilendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, Ailesel Kanser, Yeni Nesil Dizileme

SUMMARY

An Association Research for the Hereditary Cancer Genes in Breast Cancer Patients with No Mutation in *BRCA1* and *BRCA2*

Breast cancer is the most common cancer type in women and every 1 in 4 women diagnosed with cancer has breast cancer. There are several risk factors for breast cancer development including age, cigarette / alcohol / radiation exposure, obesity, conception and menstruation related risks, but in addition to that, genetic factors are responsible for susceptibility to breast cancer. It is estimated that 10-30% of breast cancer patients have hereditary risk factors but high-risk genetic component is identified in only 5-10% of the patients. Pathogenic variants of *BRCA1* and *BRCA2* genes are the most frequently identified genetic risk factors in breast cancer, but recent scientific discoveries demonstrates that pathogenic variants of other group of genes are causing predisposition to breast cancer.

In this study, we planned to perform genetic analyses for those other group of genes in thirty eight breast cancer patients with the suspicion of hereditary breast cancer syndroms who were found to carry no mutations in *BRCA1* and *BRCA2* genes by next generation sequencing (NGS) method. With this aim, *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *MRE11*, *MSH6*, *NBN*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51*, *RAD51C*, *STK11*, *TP53* genes are sequenced by NGS and identified variants are classified according to current guidelines. Variants classified as pathogenic (P), likely pathogenic (LP) and uncertain significance (VUS) are included to the results.

As a result 8 (21%) of the thirty eight patients were found to carry 9 variants classified as either P, LP or VUS. Among these variants, 4 were in *ATM* gene, 2 were in *BRIP1* gene, 2 were in *CHEK2* gene, 1 was in *MRE11* gene, 1 was in *MSH6* gene. By this study, patients carrying pathogenic variants and their family members are referred to preventive medicine opportunities, pathogenic variant frequencies in related genes are identified and novel variants associated with breast cancer are discovered.

Key Words: Breast Cancer, Hereditary Cancer, Next Generation Sequencing

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	II
ÖZET.....	III
SUMMARY.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VII
TABLolar DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIII

1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1. Ailesel Meme Kanseri ve Yatkınlık Genleri	4
2.1.1. BRCA1 VE BRCA2 genleri.....	5
2.1.2. ATM (Ataxi Telangiectasia Mutated) geni	7
2.1.3. BARD1 (BRCA1 Associated RING Domain 1) geni	9
2.1.4. BRIP1 (BRCA1-Associated C-Terminal Helicase 1) geni	10
2.1.5. CDH1 (Cadherin 1) geni.....	11
2.1.6. CHEK2 (Checkpoint Kinase 2) geni	12
2.1.7. MRE11 (Meiotic Recombination 11 Homolog) geni.....	13
2.1.8. MSH6 (MutS Homolog 6) geni	14
2.1.9. NBN/NBS1 (Nijmegen Breakage Syndrome 1) geni	15
2.1.10. PALB2 (Partner And Localizer Of BRCA2) geni.....	16
2.1.11. PTEN (Phosphatase And Tensin Homolog) geni.....	17
2.1.12. RAD51 (RAD51 Recombinase) ve RAD51C (RAD51 Paralog C) genleri	18
2.1.13. STK11 (Serine/Threonine Kinase 11) Geni	19
2.1.14. TP53 (Tumor Protein P53) geni	20
2.2. Analiz Yöntemleri Genel Bilgisi	21

2.2.1. Ion Torrent yeni nesil dizileme	21
3. GEREÇLER ve YÖNTEM.....	23
3.1. Araştırma Grubu	23
3.2. Gereçler.....	23
3.2.1 Kullanılan aletler	23
3.2.2 Kullanılan kimyasal malzemeler.....	24
3.3. Yöntem	24
3.3.1. Materyal alımı	24
3.3.2. Periferik kandan DNA elde edilmesi.....	24
3.3.3. Yeni nesil dizileme yöntemi	25
3.3.3.1. Kütüphane oluşturulması	25
3.3.3.2. Template oluşturma, zenginleştirme, çipe yükleme	27
3.3.3.3. Dizileme reaksiyonu	27
3.3.3.4. Dizileme sonuçlarının analizi	27
4. BULGULAR	30
4.1. Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri	30
4.2. Yeni Nesil Dizileme (YND) Bulguları	30
4.2.1. ATM genine ait bulgular	31
4.2.2. BRIP1 genine ait bulgular	35
4.2.3. CHEK2 genine ait bulgular.....	37
4.2.4. MRE11 genine ait bulgular	39
4.2.5. MSH6 genine ait bulgular	41
5. TARTIŞMA.....	43
5.1. Varyant Tespit Edilen Genlerdeki YND Verilerinin Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması	44
5.1.1. ATM geni varyantları.....	44

5.1.2. BRIP1 geni varyantları.....	46
5.1.3. CHEK2 geni varyantları.....	47
5.1.4. MRE11 geni varyantları.....	48
5.1.5. MSH6 geni varyantları.....	49
5.2. Varyant Tespit Edilmeyen Genler	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	55

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1 Olgularda Saptanan ATM Geni Varyantları	31
Tablo 4.2 Olgularda Saptanan BRIP1 Geni Varyantları	35
Tablo 4.3 Olgularda Saptanan CHEK2 Geni Varyantları	37
Tablo 4.4 Olgularda Saptanan MRE11 Geni Varyantları	39
Tablo 4.5 Olgularda Saptanan MSH6 Geni Varyantları	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Ailesel Meme ve Over Kanseri için önemli olan olayların zaman çizelgesi ve predispozan HBOC genlerinin tanımlanması	4
Şekil 2.2. Çift zincirli DNA kırıklarının onarımında ATM işlevi.....	8
Şekil 2.3. BARD1, BRCA1 ve BRCA2'nin protein yapıları.....	10
Şekil 2.4. Dinamik E-kadherinin bir örneği ve CDH1 ekspresyonu	12
Şekil 2.5. CHEK2'deki mutasyonlar ve bunların meme kanserinin proliferasyon ve metastazı üzerindeki etkileri	13
Şekil 2.6. NBN geninin MRN Kompleksine Katılması	15
Şekil 2.7. PALB2 geni ve ürünü	17
Şekil 2.8. PI3K-PTEN-Akt yolu	18
Şekil 2.9. TP53'ün DNA hasarına yanıtındaki fonksiyonları	21
Resim 4.1. Olgu A1'de saptanan ATM geni c.8428A>G varyantının YND görüntüsü	32
Resim 4.2. Olgu A2'de saptanan ATM geni c.6027C>G varyantının YND görüntüsü.....	33
Resim 4.3. Olgu A3'te saptanan ATM geni c.5882A>G varyantının YND görüntüsü.....	34
Resim 4.4. Olgu A4'te saptanan ATM geni c.6527delT varyantının YND görüntüsü.....	35
Resim 4.5. Olgu B1'de saptanan BRIP1 geni c.736A>G varyantının YND görüntüsü	36

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam ediyor)

Resim 4.6. Olgu C1'de saptanan CHEK2 geni c.917G>C varyantının YND görüntüsü	38
Resim 4.7. Olgu C2'de saptanan CHEK2 geni c.1111C>T varyantının YND görüntüsü	39
Resim 4.8. Olgu M1'de saptanan MRE11 geni c.1726C>T varyantının YND görüntüsü	40
Resim 4.9. Olgu MS1'de saptanan MSH6 geni c.2092C>G varyantının YND görüntüsü	42

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

μ l	:Mikro litre
Ng	:Nanogram
ATM	:Ataxi Telangiectasia Mutated
BARD1	:BRCA1 Associated RING Domain 1
BRCA1	:Breast Cancer 1
BRCA2	:Breast Cancer 2
BRIP1	:BRCA1-Associated C-Terminal Helicase 1
CDH1	: Cadherin 1
CHEK2	: Checkpoint Kinase 2
DDR	:DNA Hasar Yanıtı
dH ₂ O	:Distile su
DNA	:Deoksiribonükleik asit
DSB	:DNA Çift Zincir Kırıkları
gDNA	:Genomik DNA
HR	:Homolog Rekombinasyon
MRE11	:Meiotic Recombination 11 Homolog
MSH6	:MutS Homolog 6
NBN/NBS1	: Nijmegen Breakage Syndrome 1
PALB2	:Partner And Localizer Of BRCA2
PTEN	:Phosphatase And Tensin Homolog
PZR	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAD51	:RAD51 Recombinase
RAD51C	: RAD51 Paralog C
SNP	:Tek Nükleotid Polimorfizmi
STK11	: Serine/Threonine Kinase 11
TP53	:Tumor Protein P53
YND	:Yeni Nesil Dizileme

1. GİRİŞ VE AMAÇ

DNA'da meydana gelen değişiklikler normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine neden olabilir. Kanserde yer alan genler, onkogenler ve tümör baskılayıcı olmak üzere iki temel alt gruba ayrılmaktadır. Onkogenler, çoğunlukla proto-onkogen adı verilen normal hücresel genlerin mutant allelleridir. Kanserdeki mutasyonları diğer mutasyonlardan ayıran, mutasyonların güçlü bir şekilde hücresel proliferasyon ve artmış hücresel yaşam ömrü için pozitif seleksiyona yol açmasıdır. Kanser hücresi fenotipik olarak kontrolsüz ve aşırı proliferasyon özelliğine sahip olup, tek bir mutant hücre yaşamı tehdit eden bir hastalık gelişimine yol açmaktadır. Meme kanseri oluşmasında önemli yeri olan proto-onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen değişiklikler kanserin ortaya çıkmasında önemli rol oynar (Nussbaum, McInnes, & Willard, 2015, s 312).

Meme kanseri, dünyada kadınlarda en sık gözlenen kanser tipidir. Kanser tanısı almış her 4 kadından 1'i meme kanseridir. Ülkemizde kadınlarda meme kanseri görülme oranı 43/100000'dür. Kadınların tanı anında %44,5'i 50-69 yaş, %40,4'ünde 25-49 yaş aralığında olduğu bilinmektedir. Erkeklerde meme kanseri görülme oranı ise 0.8/100000'dir (Gültekin & Boztaş, 2014).

Meme kanseri, meme hücrelerinin anormal hale geldiği ve kötü huylu bir tümör oluşturmak için çoğaldığı bir hastalıktır. Meme kanseri, en yaygın kanser şeklidir ve kadınlarda kansere bağlı ölümlerin en sık görülen ikinci nedenidir. Meme kanseri gelişimi için hormonal, üreme ve adet öyküsü, yaş, egzersiz eksikliği, alkol, radyasyon, iyi huylu meme hastalığı ve obezite gibi birçok risk faktörü vardır. Bireysel risk, meme kanseri ve erken yaşta başlayan etkilenen meme kanseri öyküsü bulunan bireylerde risk orantılı olarak artar. Her ne kadar meme kanseri vakalarının yaklaşık %10-30'u kalıtsal faktörlere atfedilse de, meme kanseri vakalarının sadece %5-10'u güçlü kalıtsal bir bileşenle tanımlanmaktadır. Bununla birlikte bu vakaların sadece küçük bir kısmı (%4-%5) otozomal baskın bir şekilde kalıtılan yüksek penetran genlerdeki mutasyonlarla açıklanmaktadır. *BRCA1* ve *BRCA2*

genleri en yaygın patojenik mutasyonların gözlendiği genlerdir, ancak son yıllarda kalıtsal meme kanseri ile ilişkili diğer genlerin de etkileri ortaya çıkarılmıştır. Genomik teknolojilerdeki yeni gelişmeler, çok sayıda genin paralel olarak aynı anda değerlendirilmesini sağlamıştır. Günümüzde özelleştirilmiş yeni nesil dizileme panelleri sayesinde, yüksek - orta penetran genler de dahil olmak üzere, meme kanserine yatkınlık sağlayan genlerin eş zamanlı analizi gerçekleştirilebilmektedir. (Apostolou & Fostira, 2013)

Çalışmamızda meme kanseri tanısı almış ve ailevi meme kanseri yatkınlığından şüphelenilen, ancak *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde herhangi bir patojenik değişim saptanmayan olgularda *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *MRE11*, *MSH6*, *NBN*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51*, *RAD51C*, *STK11*, *TP53* genlerinin meme kanseri ile ilişkisinin araştırılması ve mutasyon sıklıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

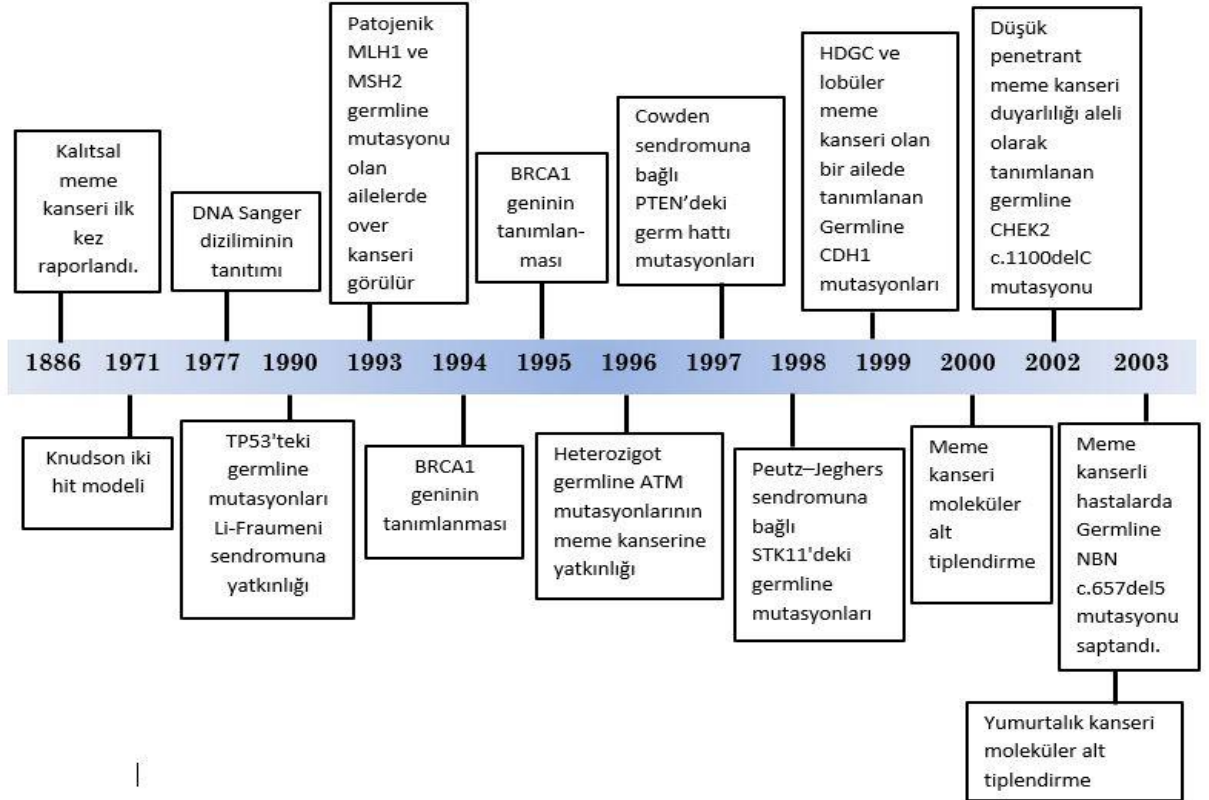
2. GENEL BİLGİLER

Gelişmiş ülkelerde meme kanseri, kadınlarda kansere bağlı ölümlerin başlıca nedenidir. Tanı konulan her 4 kadından 1'i bu hastalık nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Erkeklerde meme kanseri görülme riski %1'den daha az iken kadınlarda yaşam boyu meme kanserine yakalanma riski %50-85 oranındadır. Meme kanseri, %5-10 oranında genetik olarak kalıtılırken %90'ı sporadik olarak gelişen heterojen bir hastalıktır. Kalıtsal meme kanserlerinin bir çoğu *BRCA1* ve *BRCA2* genlerindeki patojenik değişimlere bağlı olarak gelişir. Yapılan çalışmalarda meme kanserli olguların %3-6.5'inde *BRCA1/2* genlerinin patojenik değişimlerine rastlanmıştır (Hoang & Gilks, 2018). *BRCA1* geninde herhangi bir mutasyona sahip olan bir kadının meme kanserine yakalanma riski %46-87 iken erkeklerde bu oran ~%1-22 *BRCA2* geni için bu risk kadınlarda %38-84, erkeklerde ~%8.9 oranındadır (Petrucci, Daly, & Pal, 2016). Yapılan çalışmalarda meme kanseri gelişiminde *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin dışında farklı genlerin de ilişkili olabileceği gösterilmiştir.

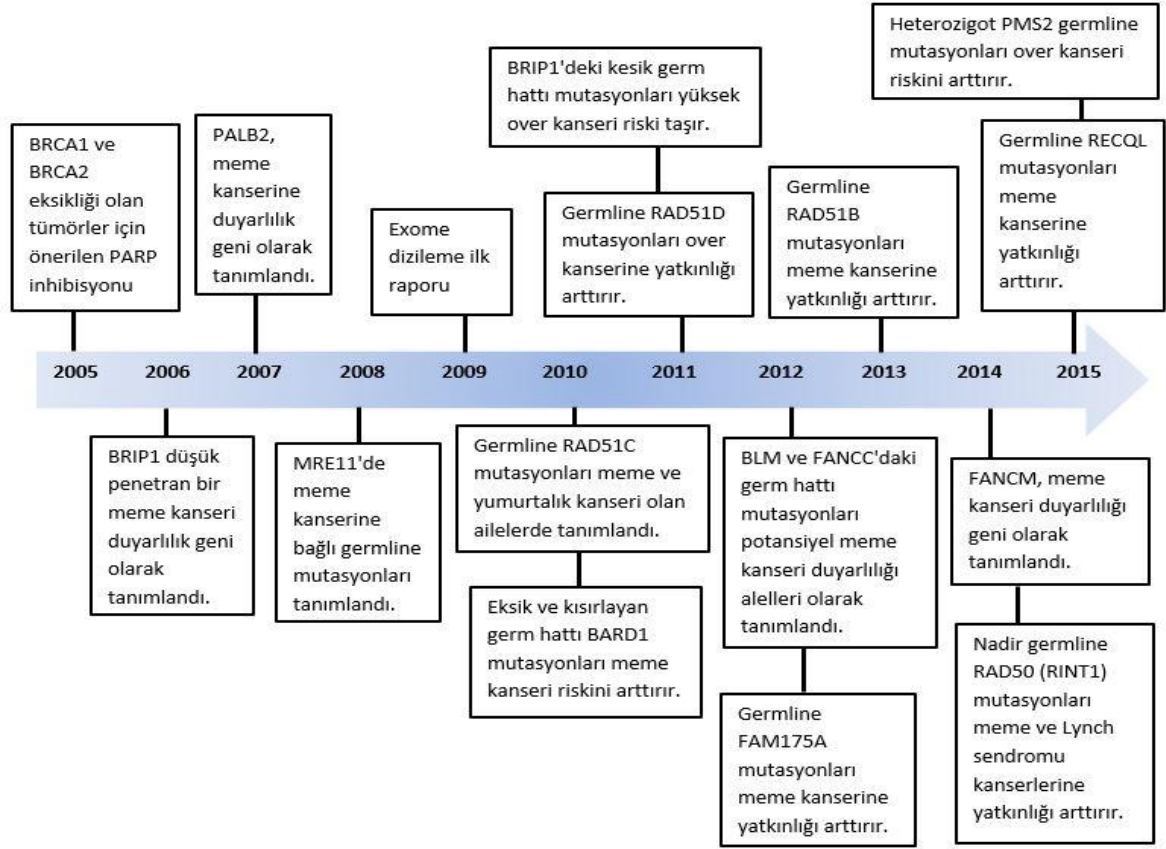
Meme kanseri oluşmasında önemli yeri olan proto onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen değişiklikler kanserin ortaya çıkmasında önemli rol oynar. Proto-onkogenlerde genellikle fonksiyon kazandıran mutasyonlar proliferasyonu stimüle etme, apoptozu engelleme gibi mekanizmalarla malign transformasyona neden olmaktadır (Nussbaum, McInnes, & Willard, 2015, s 312). Tümör baskılayıcı genler hücre siklusunu kontrol eden ya da DNA onarımında rol oynayan proteinleri kodlayan ve hücre proliferasyonu üzerinde negatif etki gösteren genlerdir. DNA tamir mekanizmasında rol oynayan proteinleri kodlayan tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar, hücrede ilave mutasyonların birikmesine ve genomik instabiliteye neden olarak karsinogenez sürecinde rol oynamaktadır. Bu grup genlerde meydana gelen mutasyonlar genellikle kansere yatkınlıktan sorumlu olup ailesel kanser sendromları ile ilişkilidir (Dündar, M. (Ed.).2016, s.282-283).

2.1. Ailesel Meme Kanseri Yatkınlık Genleri

Meme kanseri genel olarak sporadik olarak gelişim gösterse de %5-10 oranında genetik nedenlerle ortaya çıkmaktadır. Kalıtsal meme kanseri gelişiminden en sık sorumlu olan genler *BRCA1* ve *BRCA2* genleri olmasına rağmen farklı tümör süpresor ve proto onkogen genlerde meydana gelen mutasyonlar da bu hastalığın gelişme riskini artırabilmektedir. *BRCA1/BRCA2* genleri yüksek penetrant genlerdir ve patojenik varyantların hastalık oluşturma ihtimali oldukça yüksektir. Bu iki genin yanında DNA tamir mekanizmalarından homolog rekombinasyonda önemli görevi olan *BRCA1* ve *BRCA2* genleriyle ortak çalışan ve Şekil 2.1’ de olduğu gibi *ATM*, *CHEK2*, *BARD1*, *BRIP1*, *MRE11*, *RAD50*, *NBN*, *RAD51* ve *PALB2* genlerinin de meme kanserinde etkili olabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. (Hoang & Gilks, 2018).



Şekil 2.1 Ailesel Meme ve Over Kanseri için önemli olan olayların zaman çizelgesi ve predispozan HBOC genlerinin tanımlanması (Nielsen, van Overeem Hansen, & Sørensen, 2016).



Şekil 2.1'in devamı.

2.1.1. BRCA1 ve BRCA2 genleri (Breast Cancer 1 ve 2)

BRCA1 geni 17q21.31'de lokalize ve 24 ekzondan oluşmaktadır. *BRCA2* geni ise 13q31.1'de lokalizedir ve 27 ekzon içeren bir gendir. Bu iki protein birbirleriyle homoloji göstermeyen tümör baskılayıcı genlerdir. *BRCA1*, DNA hasarı algılama ve DNA hasarı tepkisi efektörlerini birbirine bağlayan çok yönlü bir proteindir. BRCA proteinleri homolog rekombinasyon (HR) tamir yoluyla DNA çift zincir kırıklarının onarımında rol alırlar. Homolog rekombinasyon DNA çift zincir kırıklarını hücre döngüsünün S ve G2 evrelerinde onarır (Roy, Chun, & Powell, 2012). *BRCA1/2* genlerinin işlevselliğini kaybettiği hücrelerde çift zincirli DNA kırıklarının tamiri homolog olmayan uç birleşmesi yoluyla gerçekleşir. Hatalara yatkın olan bu yol, genomik instabiliteler ve artmış maligniteye ilerleme riskini ortaya çıkarmaktadır. *BRCA1* geni üzerinde bulunan RING ve BCRT alanlarında meme ve over kanserinin baskılanmasında rol oynadığı gösterilen kalıtsal

kanserlerle ilişkilendirilmiş çok sayıda mutasyon bulunmuştur. *BRCA2*, *RAD51* rekombinazının DNA çift sarmal hasarlarında alınmasına aracılık eder. *RAD51* alımı sadece HR için gerekli olmamakla birlikte bu onarım işleminin tümör baskılayıcı fonksiyonundan da sorumludur (Moynahan, Pierce, & Jasin, 2001).

Her iki genin de bir kopyası mutasyona uğradığı takdirde otozomal dominant olarak kalıtım gösteren ailevi meme kanserine yatkınlık ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bu genlerdeki mutasyonların over, pankreas, mide, gırtlak ve prostat kanserlerinin gelişiminde de risk artışına neden oldukları bilinmektedir (Shattuck-Eidens vd., 1995). Benzer hastalık fenotiplerine sahip olmalarının yanı sıra her iki proteinin ağırlıklı olarak DNA çift zincir kırıklarının onarım mekanizması olan HR'da görevleri olduğu bilinmektedir. Homolog rekombinasyon genomun proliferatif hücrelerde bütünlüğünü korumak için ana mekanizma gibi görünmektedir. Homolog rekombinasyondaki sık görülen hata HR aracılığındaki *BRCA1-BRCA2* yolunun fonksiyonun kalıtsal ve sporadik meme kanserinde tümör baskılanması için önemli olduğunu göstermektedir. *BRCA1* ve *BRCA2* proteinleri arasındaki tek ortak fonksiyonel bağlantı HR yoludur. Bu nedenle HR yolunun genomu korumak için çok önemli olduğu ve bu yolun mutasyon taşıyıcılarında ortaya çıkan tümörlerde bozulduğu sonucu ortaya çıkmaktadır (Schlachter vd., 2011). Hastalık seyrinin *BRCA1* gen mutasyonu taşıyan olgularda, *BRCA2* mutasyonuna sahip bireylerden daha ağır olduğu bilinmektedir. Bu klinik sonucun *BRCA1*'in, *BRCA2*'den farklı olarak HR'nin yönetimi, kromatin yeniden düzenlenmesi ve hücre döngüsünün kontrolü işlevlerine de sahip olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Hoang & Gilks, 2018).

BRCA1 veya *BRCA2* genlerinde mutasyon bulunmayan kalıtsal meme kanseri olgularında DNA hasar yanıtındaki kinazlar (DDR) *CHEK2* ya da ataksi – telenjipektazi (*ATM*) genlerindeki mutasyonlar meme kanseri yatkınlığını açıklayabilmektedir (Rahman & Stratton, 1998). Bununla birlikte *BRCA1* etkileşimli protein C-terminal helikaz 1 ve BRCA (PALB2) gibi

BRCA1–BRCA2–HR yolunun diğer üyelerinde de katılmış mutasyonlar ortaya çıkabilir. Ancak kalıtsal meme kanserinde bu genlerdeki mutasyonların sıklığının oldukça düşük olduğu bilinmektedir. Meme kanseri için bilinen bir germline yatkınlığının olmadığı durumlarda, sporadik meme kanserinde *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde mutasyonlar nadir olarak gözlenmektedir. Genomun HR tarafından korunması, *ATM* ve *ATR* ilişkili kinazların ilgili DNA hasarını tanımalarını, *CHEK2* ve *BRCA1*'in sinyal aracılığını ve *BRCA2* ve *RAD51* efektörleri tarafından onarımın başlatılması gibi farklı mekanizmaları içermektedir. Ayrıca *PALB2* ve *BRIP1* gibi HR yolunun birkaç kolaylaştırıcısı vardır ve bu kolaylaştırıcılardan biri mutasyona uğradığında meme ve over kanseri için predispozan bir faktör oluşturur. Bu da *BRCA1 – BRCA2 – HR* yolağı olduğunu göstermektedir. (Roy vd., 2012)

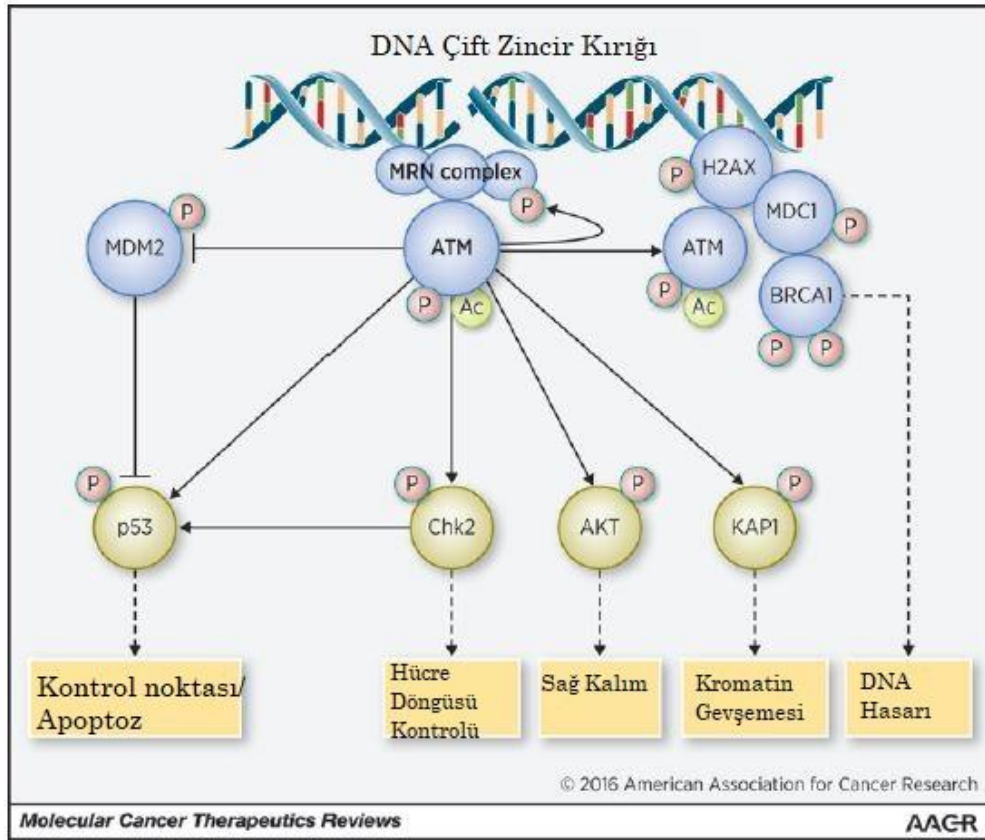
BRCA1 mutasyonuna sahip bireylerde ortaya çıkan meme kanserlerinin diğer meme kanserlerine kıyasla yüksek dereceli ve üçlü negatif (östrojen/progesteron reseptörleri ve HER2 negatif) olma olasılığı daha yüksektir. *BRCA1* mutasyonlu tümörler ayrıca daha sık olarak medullar histopatoloji gösterirler ve bazal benzeri meme kanseri ile benzer özellikleri vardır (Mavaddat vd., 2012). *BRCA2* mutasyonlu meme kanserleri diğerlerinden histolojik olarak ayıramasa da, luminal fenotip gösterirler. Bu tümörlerde östrojen/progesteron reseptörleri pozitif iken Her2 negatif olarak saptanır. *BRCA2* mutant tümörler ayrıca izole duktal karsinoma in situ ve mikrokalsifikasyon ile seyretme eğilimindedir (Hoang & Gilks, 2018).

2.1.2 *ATM (Ataxi Telangiectasia Mutated) geni*

ATM geni ilk defa 1995 yılında Ataksi-Telanjiektazi sendromu ile tanımlanmıştır ve 11q22.3'te lokalizedir. Altmış ikisi 3056 amino asitlik bir proteini kodlayan altmış altı ekzon içerir. *ATM*, DNA çift zincir kopmalarının onarılmasında merkezi bir rol içeren çok sayıda karmaşık fonksiyona sahiptir. Şekik 2.2' de gösterildiği gibi DNA hasarına verilen yanıt, zarar görmüş DNA'nın tanınması, onarım proteinlerinin alımı, hücre döngüsü kontrol noktalarına sinyal verilmesi, transkripsiyonel düzenleme ve apoptoz aktivasyonu gibi işlemlerde görevlidir. Çift zincir DNA kırığına cevap olarak

ATM, yüksek düzeyde aktif monomerlere ayrışır. Bu işlem sırasında *ATM* otofosforilasyona maruz kalır ve *TP53*, *BRCA1*, *CHEK2* gibi meme kanseri duyarlılık genleri tarafından kodlanan proteinler de dahil olmak üzere çoklu DNA hasar tepkisi ve hücre döngüsü proteinlerinin fosforilasyonu yoluyla sinyal başlattığı DNA hasar bölgelerine alınır (Ahmed & Rahman, 2006). DNA DSB' lerinin ardından, MRN kompleksi, DNA onarımını algılar, başlatır ve *ATM* geninin işlevini başlatır (Choi, Kipps, & Kurzrock, 2016).

Ataksi-Telanjiektazi sendromuna neden olan varyantların çoğu, Kısa (truncated) bir protein oluşmasıyla sonuçlanır. Patojenik *ATM* varyantları popülasyonun %1-2'sinde bulunur ve taşıyıcılarda meme kanseri riskini üçe katlar. Bu bireylerde yaşam boyu meme kanseri riskinin %25'ten fazla olduğu bildirilmiştir (Jerzak, Mancuso, & Eisen, 2018).



Şekil 2.2 Çift zincirli DNA kırıklarının onarımında ATM işlevi. (Choi vd., 2016).

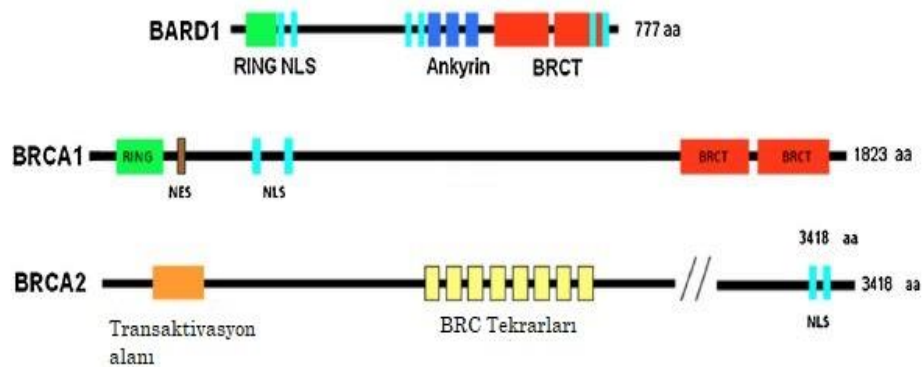
2.1.3. *BARD1 (BRCA1 Associated RING Domain 1) geni*

BARD1 geni 2q35'te lokalize olup tümör baskılayıcı genlerden biridir. On bir ekzon içeren ve 777 amino asitten oluşan, BRCA1'in N-terminal bölgesi ile etkileşime giren ve BRCA1 ilişkili RING Domain-1 (BRCA1-Associated RING Domain-1) olarak adlandırılan protein yapısı Şekil 2.3'te gösterilmiştir. BRCA2, korunmuş işlem alanı (TD) ve BRC tekrarları olarak adlandırılan 70 amino asitlik bir motifin 8 kopyası ile *BARD1* veya *BRCA1* ile tamamen ilişkili değildir (Şekil 2.3) (Irminger-Finger, Ratajska, & Pilyugin, 2016). *BARD1* bir N-terminali RING motifini ve bir C-terminali BRCT alanını paylaştıklarından, *BRCA1* ile yüksek yapısal homoloji gösteren bir başka aday meme kanseri yatkınlık geni olarak bilinmektedir. Ayrıca, *BARD1* proteini *BRCA1* ile heterodimer oluşturmakta, bu da ubiquitinasyon aktivitesinin artmasına neden olmaktadır (De Brakeleer vd., 2016).

BRCA1 C-terminal (BRCT) alanları, DNA hasar yanıtındaki (DDR) entegre sinyal modülleridir. Fosfor-peptit bağlanma modülleri olarak görev almalarının yanı sıra, BRCT alanlarının fosforilasyondan bağımsız protein etkileşimleri, DNA bağlanması ve poli (ADP-riboz) (PAR) bağlanması ile ilişkilendirilmiştir (Leung & Glover, 2011).

BRCA1 C-terminal (BRCT) tekrarları, belirli bir korunmuş üçüncül yapıyla tanımlanır. Birçok DNA hasarı onarımı ve hücre döngüsü kontrol noktası proteininde tanımlanmıştır (Callebaut & Mornon, 1997). Meme kanseri ile ilişkili protein BRCA1'in C-terminal bölgesi, proteinin tümör baskılayıcı fonksiyonu için gerekli olan ikili BRCA1 C-terminal (BRCT) tekrarlarının bir çiftini içerir. *BRCA1*'de her iki BRCT bölgesinin kaybına neden olan mutasyonlar kanserle ilişkilidir ki bu, BRCT'lerin tümör baskılayıcı işlevler için gerekli olduğunun göstergesi olabilir (Glover, Williams, & Lee, 2004). *BARD1* ve *BRCA1* proteinleri, hücre döngüsünün S fazı boyunca sentezlenir ve nükleer noktalardaki onarım proteini olan Rad51 ile DNA hasar bölgelerine ortak lokalize olur. *BRCA1*, DNA hasarı bölgelerini *BARD1*'e bağlanarak kuvvetlendirir (Hoang & Gilks, 2018). Yapılan çalışmalarda

BARD1 proteininin ailesel ya da sporadik meme kanseri olgularında hastalık gelişimde etkili olabileceği gösterilmiştir (Irminger-Finger vd., 2016).



Şekil 2.3 BARD1, BRCA1 ve BRCA2'nin protein yapıları (Irminger-Finger vd., 2016).

2.1.4. *BRIP1 (BRCA1-Associated C-Terminal Helicase 1) geni*

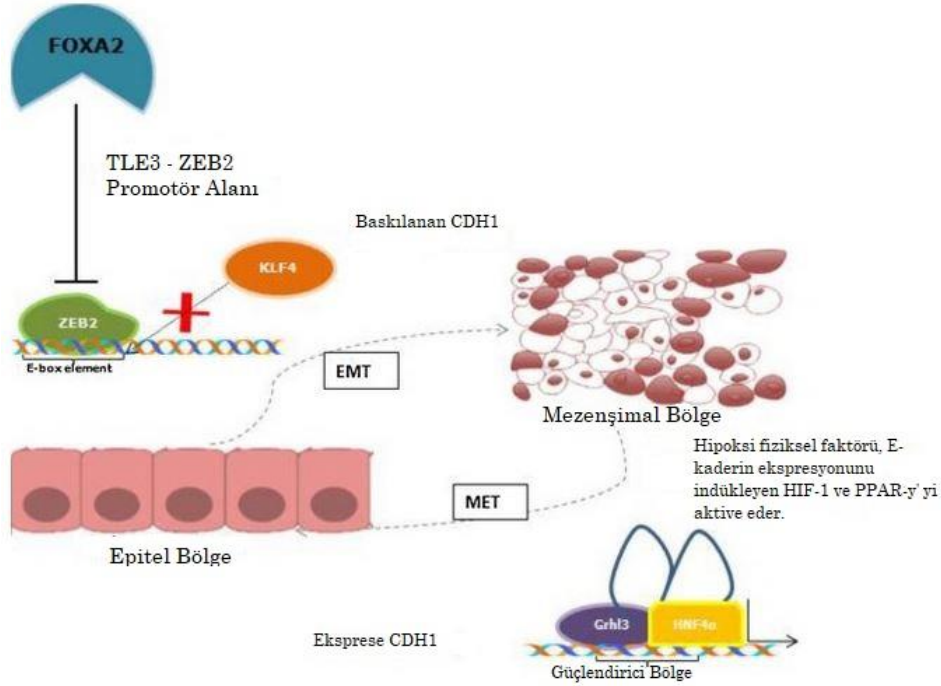
BRIP1, 17q23.2'de lokalize yirmi ekzondan oluşan bir genidir. Meme kanserine yatkınlık geni olarak önerilen ve DNA onarımında yer alan genlerden biridir. *BRIP1*, *BRCA1* genindeki BRCT alanlarına doğrudan bağlanması yoluyla tanımlanmıştır. Homolog rekombinasyon yoluyla DNA onarımına katkıda bulunduğu bilinen helikaz benzeri bir proteini kodlamaktadır. *BRIP1* proteini, hücre döngüsünün G2-M fazı sırasında hasarlı DNA iplikçiklerini onarmak için hücre çekirdeğindeki *BRCA1* proteini ile etkileşime girer; bu nedenle *BRIP1* ve *BRCA1* proteinleri, tümör baskılayıcı proteinler olarak bilinmektedir. *BRCA1* ve DNA onarımında rol oynayan diğer genlerin meme ve diğer kanserlere duyarlılıktaki rolü göz önüne alındığında, *BRIP1*'in germline mutasyonlarının da meme kanserine neden olabileceği düşünülmektedir. *BRIP1* proteini, bir helikaz gibi davranır ve DNA hasarı sırasında *BRCA1*'in BRCT alanı ile etkileşime girer; *BRIP1*, çift sarmal DNA'yı açar ve *BRIP1*-*BRCA1* kompleksi DNA hasarını onarır. *BRIP1* proteini, hücre döngüsünün G2-M fazı sırasında bozulmuş DNA iplikçiklerini onarmak için hücre çekirdeğindeki *BRCA1* gen proteini ile etkileşime girer; bu nedenle *BRIP1* ve *BRCA1* proteinleri, tümör baskılayıcı genler olarak kabul edilmiştir (Godwin vd., 1994). *BRIP1*'in meme kanserinin başlangıcındaki rolünü araştırmak için birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen, altta yatan moleküler mekanizmalar halen tam olarak aydınlatılamamıştır. *BRIP1* gibi

düşük penetran genlerdeki değişiklikler, DNA hasarı onarım mekanizmalarında hatalara neden olarak sporadik meme kanserine sebep olur. İlginç bir şekilde, *BRIP1* 'in haplo-yetersizliği kısa fonksiyonel olmayan bir BRIP1 proteini oluşması ile sonuçlanmaktadır. Bu durumda, DNA hasarını onarmak için *BRCA1* proteini ile etkileşime girmeyen, hücre büyümesini ve çoğalmasını uyararak BRIP1 proteini, meme kanserinin başlamasına yol açmaktadır. Meme kanseri ile ilgili farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda tümör dokularında *BRIP1* geninde mutasyonlar tanımlanmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen verilerle birlikte *BRIP1*'in meme kanseri gelişiminde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (Ouhtit, Gupta, & Shaikh, 2016).

2.1.5. *CDH1* (Cadherin 1) geni

CDH1 geni, 16q22.1.1 bölgesinde bulunan, E-kadherini kodlayan bir tümör baskılayıcı gendir. E-kadherin, kalsiyum bağımlı adezyon molekülleri kadherin ailesinin bir üyesidir. E-kadherin proteini epitel hücrelerinde bulunur ve insan gelişiminin erken aşamalarında ifade edilir. Bu protein, hücre adezyonunda kilit bir rol oynar ve hücre polaritesini, farklılaşmasını, büyümesini ve göçünü düzenlemek için aktin hücre iskeleti ile etkileşime girer. Gastrik, kolorektal, meme ve yumurtalık kanseri dahil olmak üzere birçok kanserde E-kadherin kaybı ve epitel hücre adezyonu ve hareketliliğinde değişiklikler saptanmıştır. *CDH1*'in bulunduğu kromozom bölgesinde (16q22.1.1), heterozigote kaybı insan meme kanserinde tümör baskılayıcı fonksiyon kaybı ile ilişkilidir. Şekil 2.4'te anlatıldığı gibi, *CDH1* ekspresyonu, primer tümör bölgesinde kaybolmasından (EMT), meme kanseri ilerlemesi sırasında ikincil metastazlarda yeniden eksprese edilmesine (MET) kadar EMT'nin gerçekleşmesi için, ZEB2 ekspresyon seviyesinin, dengeyi *CDH1* represyonuna çevirmek için KLF4" ü aşması gerekir. Diğer yandan, ikincil metastazlarda, hipoksi gibi fiziksel tümör ortamı ve Grhl3 ve HNF4a gibi arttırıcılar arasındaki işbirliğinin ikincil bölgelerde metastaz yapan tümör kolonizasyonu için *CDH1* yeniden ekspresyonunun uyarılmasında yardımcı olur (Wong, Fang, Chuah, Leong, & Ngai, 2018). *CDH1* geni mutasyon

taşıyıcılarında yaşam boyu meme kanserine yakalanma riski %40 ile %50 arasındadır. E-kaderin, güçlü bir meme tümörü baskılayıcısı olarak işlev görür. E-kadherin'in down regülasyonu veya fonksiyon kaybı, farklı histolojik ve moleküler alt tipe sahip meme kanserli hastalarda kötü prognoz ile ilişkilendirilmiştir (McVeigh, Choi, Miller, Green, & Kerin, 2014).

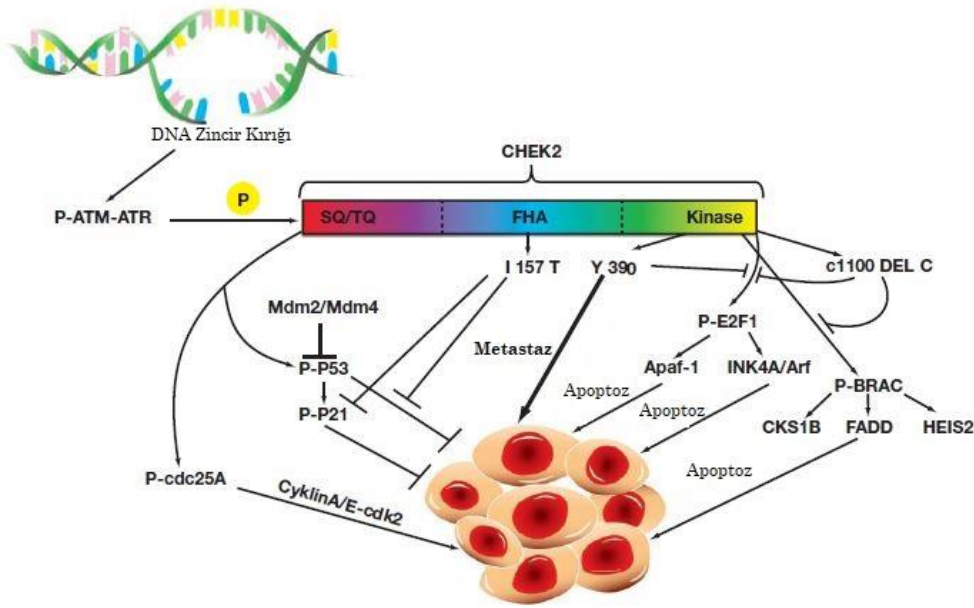


Şekil 2.4 Dinamik E-kadherinin bir örneği ve *CDH1* ekspresyonu (Wong vd., 2018).

2.1.6. *CHEK2* (Checkpoint Kinase 2) geni

CHEK2, 22q12.1'de lokalize olup on altı ekzon içeren tümör baskılayıcı genlerden biridir. *CHEK2*'deki mutasyonların, aktivasyon veya inaktivasyon nedeniyle kanser gelişimine yol açabileceği gösterilmiştir. Çift zincir DNA hasarına hücre cevabında temel ara moleküldür. Bu nükleer fosfoprotein, DNA onarımının sinyal yolunun yanı sıra DNA'nın stabilitesinde ve bütünlüğünün korunmasında rol oynar. *CHEK2* geninin hücre hasara cevaben aktivasyonu, hücre döngüsünün mitozla ilerlemesini önler ve G1 fazında hücre döngüsünün durmasına neden olur. Çoklu kinaz aktivitesi sayesinde *CHEK2*, hücre döngüsünün, apoptozun ve DNA onarımının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Çift zincirli DNA zarar gördüğünde, *CHEK2* fosforile edilir; bu sırada P53, P21, meme kanseri geni (*BRCA*) ve hücre bölünme döngüsü 25A

(*CDC25A*) gibi down regülasyon faktörlerini fosforile eder. Bu faktörler hasarlı DNA'yı onarmak için hücre döngüsünün durmasına neden olur. Bununla birlikte, meme kanserindeki *CHEK2* alanlarındaki mutasyon, hücre döngüsü kontrol mekanizmalarını bozarak, Şekil 2.5'teki gibi meme tümör hücrelerinin apoptoza ve bu hücrelerin vücudun diğer bölgelerine metastazına yol açmasına neden olur (Ansari, Shahrabi, Khosravi, Shirzad, & Rezaeean, 2019). *CHEK2*'nin hücre döngüsündeki bu önemli görevleri düşünüldüğünde, *CHEK2* disfonksiyonunun meme kanseri oluşumundaki etkisinin gözardı edilemeyeceği aşıkardır. Yapılan çalışmalarda da *CHEK2*'deki mutasyonların, hücre döngüsü ve apoptoz gibi hayati hücresel süreçlerdeki dolaylı rolü nedeniyle yüksek önemde olduğu gösterilmiştir (Ansari vd., 2019).



Şekil 2.5 *CHEK2*'deki mutasyonlar ve bunların meme kanserinin proliferasyon ve metastazı üzerindeki etkileri (Ansari vd., 2019).

2.1.7. *MRE11 (Meiotic Recombination 11 Homolog) geni*

MRE11 geni 11q21'de lokalize olup yirmi ekzondan oluşur. *NBS1*, *RAD50* ve *MRE11* (MRN) protein kompleksi, DNA çift zincir kırıklarının algılanmasında ve hasarın tamir edilmesinde önemli bir rol oynar, böylece genomik bütünlüğü korur. Bu protein kompleksi, DNA onarımını, *ATM*, *BRCA1* ve *CHEK2* proteinleri üzerinden kontrol noktası sinyali ile entegre

eder. *NBS1*, *RAD50* ve *MRE11* genlerindeki germline mutasyonlar, düşük frekanslarda görülmesine ve popülasyona spesifik olmasına rağmen, meme kanseri yatkınlığı için yeni adaylar olarak nitelendirilebilir (Apostolou & Fostira, 2013).

MRN kompleks genleri arasında, *MRE11* spesifik proteinleri kodlar ve telomer uzunluğu, DSBR yolu ve homolog rekombinasyonun korunmasında rol oynamaktadır. MRN kompleksinin, özellikle *MRE11*'in nükleaz aktivitesinin, durdurulmuş replikasyon çatallarına cevap olarak Chk1'n aktivasyonunda önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Thomson, Gillespie, & Blow, 2010). Birçok çalışmada *RAD50* ve *MRE11* tek nükleotid polimorfizmlerin (SNP) meme kanseri gelişiminde etkili olduğu bildirilmesine rağmen popülasyonlar arasında farklılıklar olduğu bilinmektedir. Khan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *MRE11*'in SNP'lerinin DNA hasarındaki rolü nedeniyle meme kanseri gelişiminde risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (Khan, Siddique, Shahid, Khokher, & Fatima, 2018).

2.1.8. *MSH6 (MutS Homolog 6) geni*

MSH6, 2p16.3'te lokalize olan ve 10 ekzon içeren, DNA yanlış eşleşme mekanizmasında (MMR) görevli bir gendir. DNA MMR, nükleotidlerin yanlış yerleştirilmesini, silinmesini algıladığı ve onardığı için baz-baz uyumsuzluklarını düzeltir. Yapılan çalışmalar MMR'in meme kanserinde önemli bir yeri olduğunu ancak *MSH6*'daki mutasyonların, meme veya yumurtalık kanseri için yaşam boyu riskini önemli ölçüde artırmadığını bildirmiştir (Nielsen, van Overeem Hansen, & Sørensen, 2016).

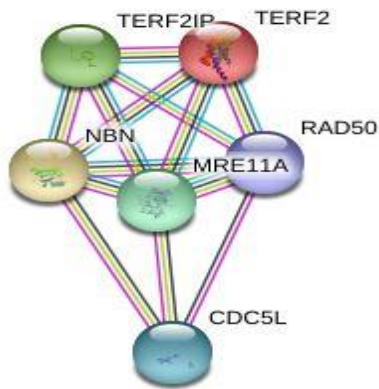
MSH3 ve *MSH6* genlerinin, DNA replikasyonu sırasında meydana gelen hataları tespit ederek postreplikatif uyumsuzlukların düzeltilmesinde rol oynadığı, MMR yolu sensörleri gibi davrandığı bilinmektedir. MMR (mutL homologu 1 (*MLH1*), mutS homologu 2 (*MSH2*), *MSH6* ve *PMS2*) genlerindeki patojenik değişimler Lynch sendromuna neden olmaktadır (Conde vd., 2009).

Meme kanseri ile Lynch sendromu arasındaki ilişki ve meme kanserinin Lynch sendromu ile ilişkili malignite spektrumunun ayrılmaz bir parçası olarak değerlendirilmesi gerektiği, çelişkili olsa da uzun süredir tartışılmaktadır (Win, Lindor, & Jenkins, 2013).

2.1.9. *NBN/NBS1 (Nijmegen Breakage Syndrome 1) geni*

NBN geni, 8q21'de lokalize olup DNA tamir proteini olan nibrini kodlar. *NBN* genindeki mutasyonlar, mikrosefali, büyüme geriliği, immün yetmezlik ve özellikle kansere yatkınlık ile sonuçlanabilecek otozomal resesif kalıtılan ve radyasyona duyarlı bir bozukluk olan Nijmegen kırılma sendromu (NBS)'na yol açmaktadır. *NBN* geni üzerinde yapılan çalışmalar, polimorfik varyantların ve bu gende meydana gelen mutasyonların DNA çift zincir kırıkları onarım mekanizmasındaki defektler nedeniyle meme kanseri riskini arttırdığını göstermektedir (Uzunoglu vd., 2016).

MRE11A-RAD50-NBN genlerinin oluşturduğu yapı, çift zincir kırıklarının tespiti ve erken işlenmesi için önemli olan evrimsel olarak korunan bir protein kompleksidir (MRN kompleksi) (Şekil 2.5). Heterozigot *NBN* mutasyonlarının taşıyıcıları, 3.1 tahmini bir oranla, meme kanseri riskinde önemli bir artışa sahip olduğu bildirilmiştir (Wendt & Margolin, 2019).

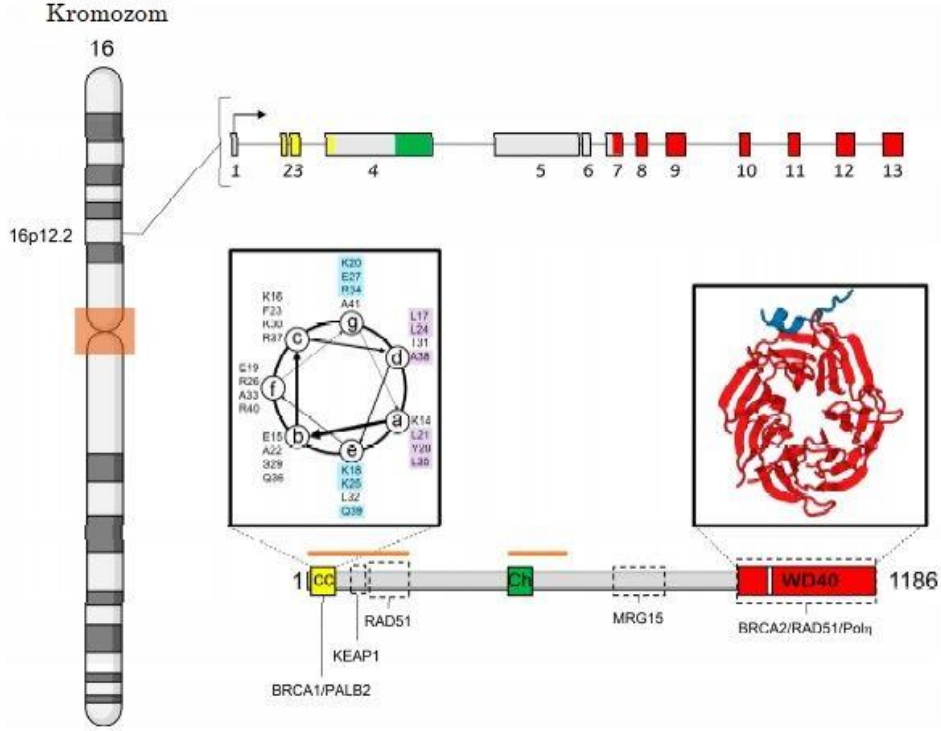


Şekil 2.6 *NBN* geninin MRN Kompleksine Katılması. *NBN* geni DNA çift sarmal kırıklarında MRN (*MRE11*, *RAD50*, *NBN*) Kompleksi'ne katılarak kırıkların erken tespiti için önemli bir protein kompleksini meydana getirir (Wendt & Margolin, 2019).

2.1.10. *PALB2 (Partner And Localizer Of BRCA2) Geni*

PALB2 proteini, kromozom on altının kısa kolunda bulunan (16p12.2) on üç ekzondan oluşan bir gendir. *PALB2*, amino-terminal bölgesinde (CC; sarı kutu) korunmuş bir kıvrılmış-bobin motifini içeren 1186 amino asit kalıntı proteindir. *PALB2* ayrıca iki DNA bağlanma bölgesini (turuncu çubuklar), merkez kısmındaki nükleozom yapılarına (ChAM yeşil renkte) bağlanmasından sorumlu korunmuş bir motif ve karboksi terminal bölgesinde bir WD40 alanını (kırmızı) içeren şekil 2.7'de gösterilmiştir. Turuncu çizgiler *PALB2*'nin DNA bağlanma bölgelerini gösterir. *PALB2 (BRCA2*'nin ortağı ve lokalizatörü) başlangıçta, temel *BRCA2* genomu bekçi fonksiyonları için çok önemli olan bir *BRCA2* etkileşimli protein olarak tanımlanmış ve daha sonra *BRCA1* ile etkileşime girdiği de gösterilmiştir (Nepomuceno vd., 2017). *PALB2*'deki biallelik germline işlev kaybı mutasyonları Fanconi Anemisi'ne neden olurken, monoallelik işlev kaybı mutasyonları, artan meme kanseri ve pankreas kanseri gelişme riski ile ilişkili bulunmuştur. *PALB2*'deki işlev kaybı mutasyonları ile ilişkili olarak mutasyon dışı taşıyıcılar arasındaki riskin 2 ile 4 katı yükseklikte risk tahminleri vermiştir (Antonίου vd., 2014).

PALB2 ayrıca *BRCA1* ile etkileşime girer ve *BRCA1*'in 5' 3' yönünde işlev görür. Ayrıca *PALB2*, *RAD51* ve *RAD51C*'nin yanı sıra *BRCA2* dahil olmak üzere HR'nin diğer önemli efektörleri ile etkileşime girer. Önemli HR proteinleri ile etkileşimiyle uyumlu olarak, *PALB2* eksik hücreler iyonize radyasyona, mitomisin C ve cisplatin gibi DNA zincirler arası çapraz bağlama maddelerine karşı aşırı duyarlıdır. Mekanik olarak, *BRCA2* ve *RAD51* rekombinazın DNA hasar bölgelerine alınmasına aracılık eder ve HR'un efektif bir şekilde çalışması için *PALB2* gereklidir. *PALB2*'nin heterozigot germline mutasyonlarının, göğüs ve pankreas kanserine karşı artan bir yatkınlığa neden olabileceği bildirilmiştir (Hananberg & Andreassen, 2018).



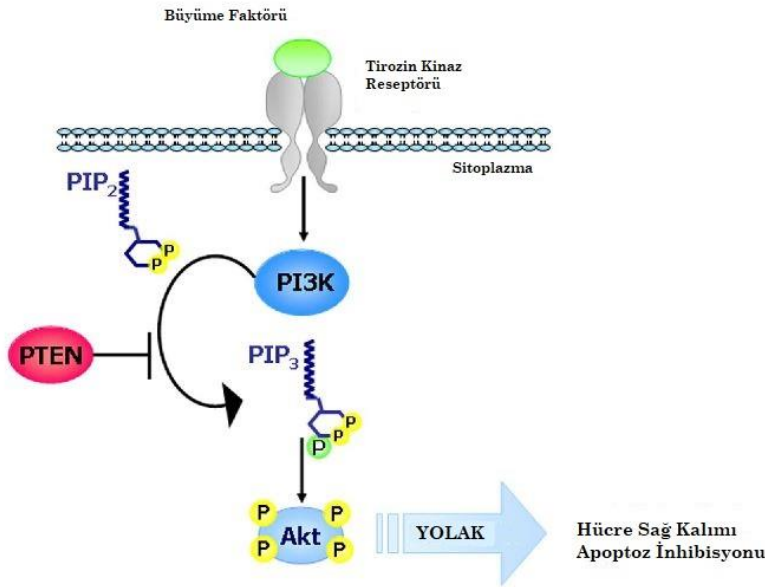
Şekil 2.7 PALB2 geni ve ürünü. (Nepomuceno vd., 2017).

2.1.11. PTEN (Phosphatase And Tensin Homolog) geni

PTEN 10q23.31'de lokalize olan ve 9 ekzondan oluşan tümör baskılayıcı bir gendir. PI3K–AKT–mTOR yolunu düzenleyen bir fosfataz olan *PTEN*'deki patojenik varyantlar, makrosefali, cilt hamartomları, gastrointestinal polipler ve artan tiroid, endometrial, böbrek ve meme kanseri riski ile karakterize olan Cowden sendromu ile ilişkilidir (Nielsen vd., 2016) *PTEN*'in ana işlevi Şekil 2.8'de olduğu gibi PI3K / Akt / mTOR'un düzenlenmesinden ibarettir. Hücre dışı uyarıcılara cevap olarak (örneğin, insülinin varlığı, büyüme faktörleri, kemokinler), PI3K, tirozin kinaz reseptörleri veya G-protein-bağlı reseptörler tarafından aktive edilir ve PIP2'yi fosforilatlar ve aktive eder; *PTEN*, PIP2'yi üretmek üzere PIP3'ü fosforilasyonla PI3K' nın etkisini antagonize eden ve PI3K sinyalleşmeyi bloke eden bir lipid fosfatazdır (Molinari & Frattini, 2014).

PTEN, erken embriyogenez sırasında erken dönemde ve yetişkinlik döneminde bütün hücrelerden eksprese edilmektedir. Bu genin fonksiyon kaybı mutasyonları hem hücre düzeyinde hem organizma düzeyinde homeostazda çarpıcı sonuçlara neden olabilir. *PTEN* mutasyonları somatik ve kalıtsal tümör sendromlarında karşımıza çıkmaktadır. Germline *PTEN*

mutasyonları, *PTEN* Hamartoma Tümörleri sendromları olarak bilinen nörogelişimsel bozuklukların eşlik ettiği bir dizi tümör yatkınlık sendromu ile bağlantılıdır. Endometrial, meme, prostat kanseri ve glioblastoma gibi somatik kanserlerde, *PTEN* inaktivasyonu, nokta mutasyonları, genomik lokusun mono veya bi-allelilik delesyonu, promoter metilasyonu ve onkogenik mikroRNAlar tarafından hedeflenen bölgelerdeki bir dizi mutasyonu kapsar. *PTEN*'de fonksiyon kaybına neden olan genomik değişikliklerin meme bezi, prostat, tiroid ve adrenal bezler dahil olmak üzere çok sayıda epitelyal dokuda tümörogeneze yol açtığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Papa & Pandolfi, 2019).



Şekil 2.8 PI3K-PTEN-Akt yolu (Molinari & Frattini, 2014).

2.1.12. *RAD51* (*RAD51 Recombinase*) ve *RAD51C* (*RAD51 Paralog C*) genleri

RAD51 15q15.1, *RAD51C* ise 17q22'de lokazile olan ve birbirleriyle parolog olarak çalışan genlerdir. Rolü tam bilinmemesine rağmen *RAD51* nükleoprotein filament oluşumu için önemli olduğu düşünülmektedir. *RAD51* ayrıca kardeş kromatitte hasarlı DNA ile homolog dizinin bulunması ve referans dizi olarak kullanılmasında görev alır (Hoang & Gilks, 2018). *RAD51* paraloglarının (*RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *XRCC2* ve *XRCC3*) mekanik rolleri tam olarak anlaşılmasa da *RAD51* nükleoprotein filament oluşumu için

önemli olduğu düşünülmektedir. Paraloglar, *RAD51* ve birbirleriyle %20-30 dizi homolojisi sergilerler, ancak *RAD51*'in aksine, bir nükleoprotein filamentini oluşturamazlar (Nielsen vd., 2016).

RAD51C, Fanconi Anemisi (FA) / *BRCA* yolunun ayrılmaz bir bileşenidir. Homolog rekombinasyon yoluyla DSB onarımında önemli bir rol oynar. *RAD51C* homozigot mutasyonları, FA fenotipiyle ilişkilendirilirken, heterozigot mutasyonları, meme ve yumurtalık kanseri tanısı olan ailelerde tanımlanmıştır (Economopoulou, Dimitriadis, & Psyrri, 2015).

Yapılan çalışmalar *RAD51* geninde meydana gelen değişikliklerin DNA dengesizliğine ve kromozomal eksikliğe yol açabileceğini, genetik değişikliklerin birikmesiyle birlikte ise maligniteye neden olabileceğini göstermişlerdir (Korak vd., 2017). Ayrıca, *RAD51* gen varyasyonları, değişen *RAD51* protein ekspresyonu nedeniyle meme kanseri için bir risk faktörü olarak kabul edilmiştir. Diğer yandan, bir çalışma *RAD51* ve *BRCA1* proteinlerinin meme kanseri hücre serileri ve meme kanseri hücrelerinde düşük seviyelerde eksprese edildiğini göstermiştir. Benzer şekilde, meme kanseri hastalarının %30'unun *RAD51* protein seviyesinde düşüş olduğu aynı çalışmada gözlenmiştir (Sassi, Popielarski, Synowiec, Morawiec, & Wozniak, 2013). Sonuç olarak, *RAD51* geninin meme kanseri tumörögenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (Economopoulou vd., 2015).

2.1.13. *STK11 (Serine/Threonine Kinase 11) Geni*

STK11 (serin / treonin kinaz 11, ayrıca *LKB1* olarak bilinen) tümör baskılayıcı gen 19p13.3'de lokalizedir ve 10 ekzondan oluşur. Genom stabilitesinin korunmasında rol oynayan önemli bir kinazdır. Ayrıca, hücre metabolizmasının kontrolünde, hücresel büyümenin düzenlenmesinde ve kanser invazyonu ve metastazının inhibisyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. *STK11*'in kanser üzerindeki etkisini gösteren ilk veri, 1998 yılında Hemminki ve arkadaşlarının çalışmasıdır (Hemminki vd., 1998). *STK11* germline patojenik mutasyonların Peutz – Jeghers (PSJ) sendromunun gelişimine neden olduğunu tespit etmişlerdir. Sendrom, nadir görülen, otozomal dominant olarak kalıtılan kansere yatkınlıkla karakterizedir. Mide-bağırsak

kanalında hamartom poliplerinin oluşması, dudaklarda ve bukkal mukozada melanin lekeleri sendromun ana bulguları arasında yer alır. PJS hastalarının, gastrointestinal tümörler (%38-93), meme (%32-54), pankreas (%11-36), over (%13-18) gibi çeşitli kanserlerin gelişimine yatkın olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Antov vd., 2017).

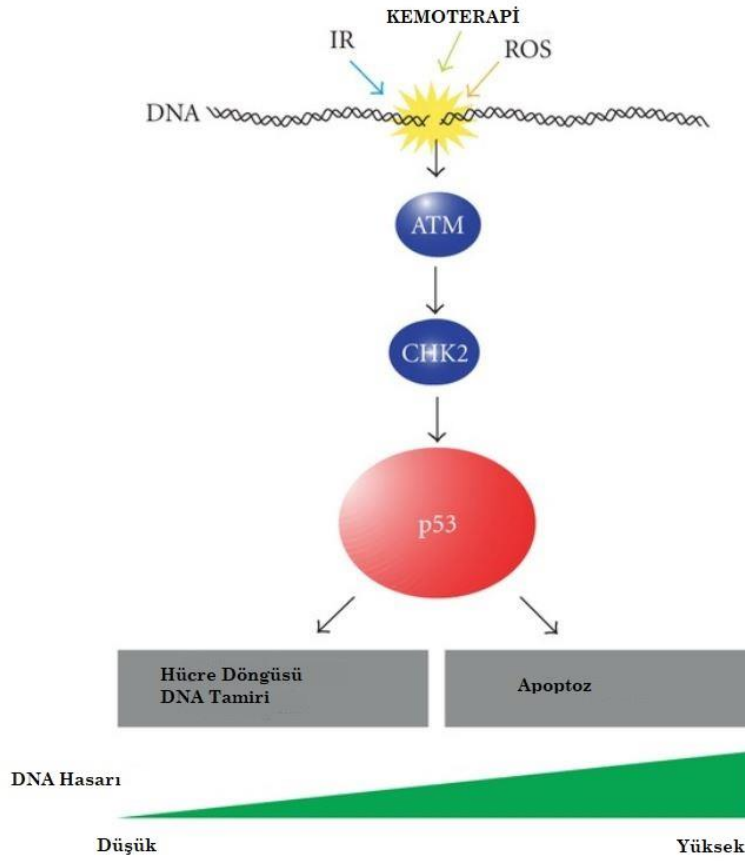
2.1.14. TP53 (Tumor Protein P53) geni

TP53 (Li–Fraumeni sendromu) 17p13.1'de lokalize olan ve hücre büyümesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir tümör baskılayıcı gendir. Tümör baskılayıcı *TP53* geninin mutasyonları çoğu insan kanserinde sıklıkla saptanır. *TP53*, DNA hasarı gibi potansiyel onkogenik hücresel strese cevap olarak DNA onarımını, terminal farklılaşmayı, hücre büyümesini durdurmayı ve apoptozu indükleyebilir. Bu nedenle, *TP53* fonksiyon kaybı mutasyonları, hücre büyümesini durdurup apoptozu inhibe ederek kanserogenezin başlamasına neden olur. Meme kanseri ile ilgili daha önce yapılmış birçok çalışma, *TP53*'ün fonksiyon kaybının meme kanseri ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. Germline *TP53* mutasyonları ailesel meme kanserinin yanı sıra Li-Fraumeni sendromuna da neden olur (Kim vd., 2016).

TP53'ün transkripsiyonel aktivitesi, genotoksik strese cevap olarak *ATM* kinaz tarafından uyarıldığı Şekil 2.9'da gösterilmiştir. Sinyal kuvvetlendirici bir aşamada, *ATM*, ayrıca doğrudan *TP53*'ü fosforile eden ve *TP53*'ü aktive eden *CHEK2*'yi fosforile eder. *ATM* ayrıca *BRCA1* ve *PALB2* proteinlerini de fosforile eder ve böylece, HR veya DNA hasarı kontrol noktası kontrolündeki işlevlerini uygun şekilde uyarır. (Nielsen vd., 2016). İyonize radyasyon, kemoterapi ve reaktif oksijen türlerine bağlı oluşan genomik stres DNA hasar kontrol noktaları yolağını aktive eder ve bu da *ATM* ile *CHEK2*'nin aktivasyonu ile p53'ün stabilizasyonuna yol açar. Stabilize olmuş p53 DNA hasarı orta düzeyde ise hücre siklusunun durmasını ve DNA tamirini indükler, DNA hasarı ağır düzeyde ise de apoptozisin aktivasyonuna yol açar (Nii, Marumoto, & Tani, 2012).

Meme kanseri, kadın *TP53* mutasyon taşıyıcıları arasında en sık görülen malignitedir. Li-Fraumeni sendromu meme kanseri vakalarının küçük

bir kısmını (~%0,1) oluştururken, *TP53* mutasyonu taşıyıcıları, genel popülasyona kıyasla erken başlayan meme kanseri için (45 yaşından önce teşhis edilen) 18 ila 60 kat artmış riske sahiptir (Apostolou & Fostira, 2013).



Şekil 2.9 *TP53*'ün DNA hasarına yanıtındaki fonksiyonları. (Nii vd., 2012).

2.2 Analiz Yöntemleri Genel Bilgisi

2.5.1 *Ion Torrent yeni nesil dizileme*

Yeni nesil dizileme (YND), 2010'da ortaya çıkmasından bu yana tıbbi genetik laboratuvarları için önemli bir gelişme olmuştur. Tüm ekzom ve tüm genom sekanslamada olduğu gibi, multigen paneller yoluyla YND, çok sayıda bireyde önemli sayıda genin sekanslanmasını mümkün kılar. Multigene panel testi genetik heterojenliği olan hastalıkların teşhisinde ve öngörücü tıpta hastalık riski tahminlerinde yararlıdır. Kanser genetiği ve özellikle meme kanseri yatkınlığı alanında, panel testleri akademik ve ticari

laboratuvarlara geniş ve hızlı bir şekilde yayılmıştır (Colas, Golmard, de Pauw, Caputo, & Stoppa-Lyonnet, 2019).

Sanger dizileme yöntemi altın standart olarak kabul edilse de YND yöntemi tüm genomun dizilenmesinde hem hız hem de maliyet olarak daha avantajlı duruma gelmiştir. Bu platformda Roche454 genome analyzer, Illumina Genome Analyzer, Applied BioSystem SOLiD, Complete Genomics, Helios, Pacific Biosciences gibi farklı YND araçları bulunmaktadır.

Ion Torrent yeni nesil dizileme sistemi iyon tespitine dayanan bir dizileme yöntemidir. Sekanslama işlemi sırasında açığa çıkan hidrojen iyonunun saptanmasına dayanır. Özellikle, Ion Torrent, bir dizi mikro kuyu içeren bir çip kullanır ve her birinin birkaç aynı parçaya sahip bir boncuğu vardır. Her nükleotidin boncuk içindeki bir fragmanla dahil edilmesiyle çözeltinin pH'ını değiştiren bir hidrojen iyonu salınır. Bu değişiklik, mikro kuyucuğun tabanına tutturulmuş ve dahil edilen nükleotid sayısı ile orantılı bir voltaj sinyaline dönüştürülmüş bir sensör tarafından tespit edilir (Kchouk, Gibrat, & Elloumi, 2017).

3. GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Grubu

Ailesel Meme Kanseri tanısı almış olgulardan *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin yeni nesil dizileme yöntemi ile tüm ekzonları ve ekzon-intron kavşaklarının dizilenmesi sonucu bu genlerde herhangi bir patojenik mutasyonun saptanmadığı otuz sekiz proband çalışmamıza dahil edilmiştir.

Çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Moleküler Genetik seksiyonunda gerçekleştirilmiştir. *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde herhangi bir patojenik mutasyon saptanmayan olgularda *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *MRE11*, *MSH6*, *NBN*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51*, *RAD51C*, *STK11*, *TP53* genleri yeni nesil dizileme yöntemi ile analiz edilmiştir.

3.2. Gereçler

3.2.1. Kullanılan aletler

- DNA izolasyon cihazı (Magpurix)
- Santrifüj
- Vorteks
- Pipet Seti (Ependorf)
- Ependorf Tüpü (0,5 ve 1,5 ml' lik)
- PZR cihazı (Applied Biosystems)
- Spektrofotometre (NanoDrop ND-1000)
- Buzdolabı
- PZR tüpleri
- Ion Chef Cihazı (Thermofisher Scientific)
- Ion S5 Cihazı (Thermofisher Scientific)
- MicroAmp 96 well Optical Reaction Plate (Thermofisher Scientific)
- MicroAmp® Clear Adhesive Film (Thermofisher Scientific)
- Ion 530™ Chip Kit (Thermofisher Scientific)

3.2.2. Kullanılan kimyasal malzemeler

- DNA izolasyon kitleri (MagPurix)
- Ion Ampliseq Library v2.0 Kit (Thermofisher Scientific)
- Agencourt Ampure XP (Beckmen – Coulter)
- Ion 520™ / 530™ Kit-Chef (Thermofisher Scientific)
- Ion Express™ Barcode Adaptors 1-16 Kit (Thermofisher Scientific)
- Ion Express™ Barcode Adaptors 17-32 Kit (Thermofisher Scientific)
- Ion Express™ Barcode Adaptors 33-48 Kit (Thermofisher Scientific)
- Qubit® dsDNA HS Assay Kit (Thermofisher Scientific)
- Ethanol

3.3. Yöntem

3.3.1. Materyal alımı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na başvuran 'Ailesel Meme ve Over Kanseri' tanısından şüphelenilen, ailede kanser tanısı almış başka bireylerin de bulunduğu olgulardan rutin analiz öncesi genetik danışma esnasında onam formunu imzalayan ve bilimsel çalışmalarda kullanılmasına izin veren bireyler dahil edilmiştir.

3.3.2. Periferik kandan DNA elde edilmesi

- Hastalardan EDTA'lı tüpler içerisinde periferik kan alınmıştır.
- DNA izolasyonu için MagPurix robotik sistem kullanılmıştır.
- İzolasyon cihazı için proteinaz K, yıkama solüsyonları, manyetik boncuklar ve pipetaj için boş kuyucukları içeren kartuş sistemi bulunmaktadır.
- Pipet uçları, kartuş, örnekler ve elüsyon tüpleri konulduktan sonra DNA izolasyon basamakları otomatik olarak yapılmıştır.
- Toplam 400 µl periferik kan örneğinden 100 µl (µl 'sinde 30-100 ng) DNA elde edilmiştir.
- İzole edilen DNA örnekleri -20°C'de saklanmıştır.

- YND için izole edilmiş DNA örneklerinin konsantrasyonları spektrofotometre ve Qubit® dsDNA HS Assay Kit ölçülmüştür.
- Ölçüm sonucu yoğunlukları bilinen DNA örnekleri 10 ng/μl olacak şekilde distile su ile dilue edilmiştir.

3.3.3. Yeni nesil dizileme yöntemi

Yeni nesil dizileme yönteminde ‘Ailesel Kanser Paneli’ içerisinde bulunan *ATM, BARD1, BRIP1, CDH1, CHEK2, MRE11, MSH6, NBN, PALB2, PTEN, RAD51, RAD51C, STK11, TP53* genlerinin dizilenmesi ve biyoinformatik analizleri yapılmıştır. Çalışma ‘Ion Torrent’ platformunda gerçekleştirilmiştir.

3.3.3.1. Kütüphane oluşturulması

Belirtilen genleri içeren ‘Ailesel Kanser Paneli’ 386 ampikon içermekte olup, Thermofisher Scientific tarafından 2 pool olarak optimize edilmiştir.

PZR için gerekli olan kimyasal maddeler Ion Ampliseq Library v2.0 Kit ile sağlanmıştır.

5X IonAmpliseqHifiMix * 2μl

2X IonAmpliseqPrimerPool * 5μl

gDNA 1μl

Distile su * 2μl

PZR şartları aşağıdaki gibi uygulanmıştır:

99°C → 2 dk

99°C → 15 sn	}	19 siklus
60°C → 4 dk		

+4°C → Hold

- PZR ürünleri primerlerin belirli bölgelerinden kesilmek üzere ‘Enzim Kesim’ aşamasına geçilmiştir. PZR ürünlerine 2 μl FuPA enzimi eklenerek aşağıdaki PZR şartları uygulanmıştır.

50°C → 10 dk

55°C → 10 dk

60°C → 20 dk

+4°C → Hold

- Her bir DNA örneğinin birbirinden ayrılması için farklı oligonükleotid dizisine sahip barkodların kesimi yapılmış PZR örneklerine bağlanması için ligasyon aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada Ion Library v2.0 Kit içerisindeki kimyasallar ve Ion Express Barcode Adaptors 1-16, 17-32, 33-48 ve 49-64 kitleri kullanmıştır. Her bir örnek için farklı barkod kullanılmıştır.
- PZR ürünleri üzerine kimyasallar aşağıdaki gibi eklenmiştir.

Switch Solution : 4µl

Dilue edilmiş BarcodeAdapter Mix (1-64) : 2 µl

DNA Ligase : 2 µl

Örnekler aşağıdaki koşullarda termal döngü cihazına konulmuştur.

22°C → 30 dk

72°C → 10 dk

10°C → Hold

- Bu aşamadan sonra örnekler uzun süreli olarak -20°C de saklanmıştır.
- Elde edilen PZR ürünlerinin saflaştırılması için Ampure XP manyetik boncukları ile çöktürme yöntemi kitin protokolüne uygun olarak yapılmıştır.
- Saflaştırma sonucu elde edilen her bir örneğe ait kütüphane ürünlerinin Qubit® dsDNA HS Assay Kit ile ölçümleri yapılmıştır. Örneklerin 15-25 ng/ml olacak şekilde dilusyonları yapılmış ve her örnekten eşit hacimde (10µl) alınarak tek bir tüp içerisinde toplanmıştır.

- Tek bir tüpte toplanan örneklerden 25 µl alınarak Ion Chef cihazına yüklenmiştir.

3.3.3.2 Template oluşturma, zenginleştirme, çipe yükleme

- Bu aşama Ion Chef cihazı tarafından otomatik olarak gerçekleştirilmiştir.
- Ion 520™ / 530™ kitleri, kartuşlar ve çipler cihaza yerleştirilmiştir.
- Ion Torrent Suit Software ile plan hazırlanmıştır. Planda hasta isimleri, barkod numaraları, kit bilgileri, çip tipi ve uygun referans dizisi tanımlanmıştır.
- Bu aşama on bir saatte gerçekleşmekte olup, reaksiyon sonunda sekanslamaya hazır şekilde çipler cihazdan alınmıştır.

3.3.3.3 Dizileme reaksiyonu

- Dizileme reaksiyonu aşaması Ion S5 cihazında yapılmıştır.
- Çip yüklemeye önce yıkama solüsyonları ve dNTP kartuş ile cihazın pH seviyesi düzenlenmiş ve gerekli ölçümler yapıp cihaz hazır konuma geldiğinde çip yüklemesi yapılmıştır.
- Bir çip için dizileme süresi yaklaşık 3 saattir.
- Ion S5 in sisteminin çalışma prensibinde her bir dNTP sırayla çipe gönderilir. Uygun baz geldiğinde zincirin uzaması esnada ortaya çıkan H⁺ atomu ile pH değişikliği meydana gelir. Yıkama işleminden sonra çipe tekrar dNTP gönderilir. Her dNTP gönderimi sonrası yıkama yapılarak zincirin bu şekilde uzaması sağlanır.

3.3.3.4 Dizileme sonuçlarının analizi

Biyoinformatik analiz kapsamında yeni nesil dizileme platformundan elde edilen 240bp 'single-end dizi' ham verileri (*.fastq veya UBAM) kullanılmıştır. DNA dizi verilerinin 5' ve 3' uçları, daha önce sistemde belirlenen kalite parametreleri göz önüne alınarak belli uzunluklarda (primer, A adaptör, P1 adaptör ve Barkod adaptör ile) kesilmiş (sequence trimming) ve elde edilen dizi okuma sonuçları, Torrent Suite v5.12.1 yazılımı aracılığıyla

referans insan genom (hg19/GRCh37.p13) dizisine göre hizalanmıştır. Hizalama işlemi sonrasında varyantların belirlenmesi, TorrentVariantCaller (TVC) ile gerçekleştirilmiştir. Sekans Duplikasyonların uzaklaştırılmasından sonra, hedeflenmiş ekzon bölgelerinin okuma derinliği "Coverage Analysis plug-in" yaması kullanılarak hesaplanmış, insersiyon ve delesyon bölgeleri (İNDELlerin) civarındaki, lokal hizalamalar, yeniden eşleştirme işlemi "The Genome Analysis Toolkit 3.6-0 (GATK) IndelRealigner" kullanılarak yapılmıştır. Tek nükleotid değişimleri ve küçük indellerin lokasyon belirlenmesi, amino asit değişimleri, fenotip etkenleri gibi mutasyon tarama için eşleştirilmiş dizi okumaları, IonReporter ve IGV programları kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla DNA dizilerinin kalite skor değerleri rekaliibre edilmiş, düzenlenmiş dizilerdeki varyasyonlar için parametre optimizasyonları yapılmıştır. Elde edilen varyasyon listesi için anotasyon işlemi tamamlanmış ve "Tespit edilen varyasyon yüzdesine göre güvenilir olmayan (<%30) varyasyonlar" ve "tespit edilen varyasyonların okunma derinliğine göre güvenilir olmayan (<20x) varyasyonlar" elenerek analiz edilmiştir. Kalite skoru 50'nin altında olan varyantlar elenmiş, tespit edilen varyasyonların daha önce tanımlanıp tanımlanmadığı "dbSNP", "HGMD", "5000 Exomes" ve "1000 genomes" gibi SNP/mutasyon veritabanları aracılığıyla araştırılmıştır.

Belirlenen varyasyonlar, IonReporter programı kullanarak incelenmiştir. SIFT, PolyPhen ve mutation tester, human splicing finder gibi *in silico* araçlar kullanılarak patojenite skorları belirlenmiştir. Korunmuş bölgelerdeki (conserved regions) varyantları bulunmuş, varyantın bölgesel tekrar (segmental duplications) kısımlarında yer alıp almadığı belirlenmiş ve global minor allele frequency (GMAF) değerleri tespit edilmiştir. Anotasyon aşamasından sonra bireylerdeki varyasyonlar filtrelenerek genomun bölgesel tekrar (segmental duplications) kısımlarında yer alan varyantlar elenmiştir, korunmuş bölgelerde (conserved regions) yer alan ve protein üzerindeki etkisi stop gain, stop lost, splicing variant, frameshift INDEL veya non-synonymous olarak annotate edilen varyantlar belirlenmiştir.

Analizde aşağıda verilen veritabanları ve in silico araçlar kullanılmıştır:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>

<http://www.ensembl.org/index.html>

<https://varsome.com/>

<http://www.mutationtaster.org/>

<http://sift.jcvi.org/>

<http://www.umd.be/HSF3/>

<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>

4.BULGULAR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na başvuran meme kanseri tanısı almış ve risk faktörleri değerlendirildiğinde ailevi meme kanseri yatkınlığından şüphelenilmiş fakat *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde yeni nesil sekanslama ile herhangi bir patojenik değişim tespit edilmeyen toplam otuz sekiz probandda *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *MRE11*, *MSH6*, *NBN*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51*, *RAD51C*, *STK11*, *TP53* genleri tüm gen YND ile dizilenmiştir. Saptanan mutasyonlar olguların klinik bulgularıyla birlikte değerlendirilmiştir. Bu mutasyonların meme kanserinde görülme oranları belirlenmiş ve fenotip üzerindeki etkileri incelenmiştir.

4.1. Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri

Çalışmamıza dahil edilen olguların otuz sekizi kadın 1'si erkektir. Olguların şimdiki yaş ortalaması 28–65 iken tanı yaşı ortalaması 25–60 olarak saptanmıştır. Meme kanseri tanısı ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na başvuran olguların anamnezleri alınmış, alınan bilgiler doğrultusunda pedigrileri çizilmiş ve aile öyküleri değerlendirilmiştir. Bu doğrultuda olguların aile üyelerinde farklı kanserlerle ilişkili (kolon, akciğer, tiroid, prostat kanseri vb.) hastalık gelişimleri olduğu saptanmıştır.

4.2 Yeni Nesil Dizileme (YND) Bulguları

Toplamda otuz sekiz proband yeni nesil sekanslama çalışmasına dahil edilmiştir. Otuz sekiz hastanın 7'sinde ACMG kriterlerine göre patojenik (P), olası patojenik (OP) ve klinik önemi belirsiz (KÖB) olarak sınıflandırılan sekiz farklı varyant saptanmıştır. MAF (Minor allele frequency) değerleri gnomAD (The Genome Aggregation Database)'den alınmıştır. *In silico* tahminler, Polyphen, SIFT, Mutation Tester, HSF kullanılarak yapılmıştır.

4.2.1 ATM genine ait bulgular

Olgularımızdan dört tanesinde *ATM* geninde, biri yeni tanımlı ve biri "in frame delesyon" olmak üzere dört ekzonik varyant saptanmış ve Tablo 4.1'de bu varyantlara yönelik bilgiler özetlenmiştir.

Tablo 4.1 Olgularda saptanan *ATM* geni varyantları

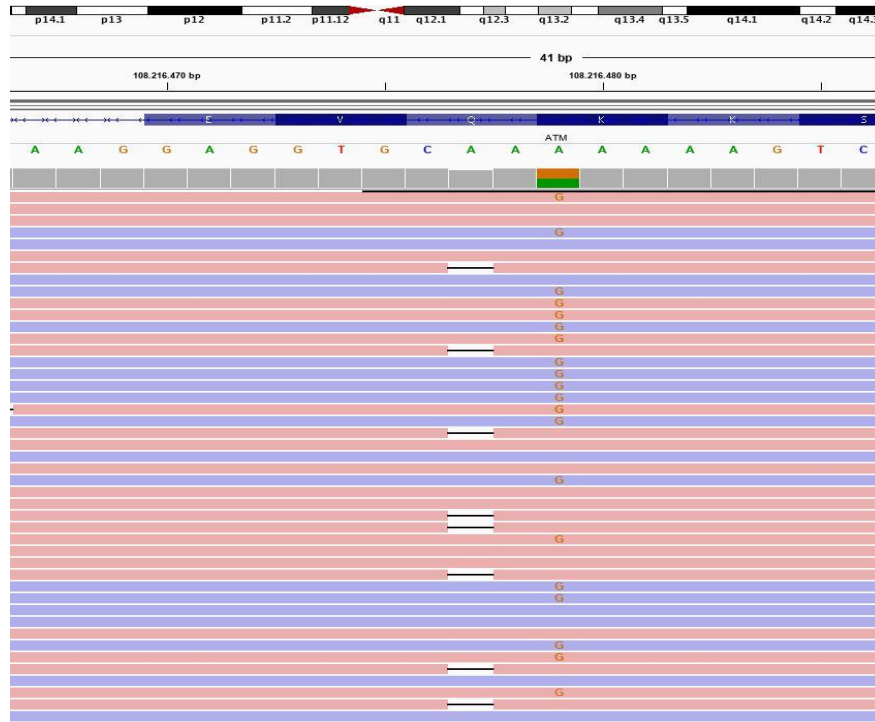
Hasta No	cDNA rs ID	Protein	In silico	MAF %	Başlangıç Yaşı	Aile Öyküsü	Sınıflama
Olgu A1	c.8428A>G rs730881325	p.Lys2810Glu	PD/D /DC	< 0.01	28	-	KÖB
Olgu A2	c.6027C>G rs1555113567	p.Tyr2009Ter		NA	49	+	P
Olgu A3	c.5882A>G rs56399311	p.Tyr1961Cys	PD/D /DC	< 0.01	34	+	KÖB
Olgu A4	c.6527delT	p.Leu2176fs		NA	65	+	P

Tablolarda kullanılan kısaltmalar; PD: Probably Damaging, Del: Deleterious, DC: Disease Causing, Tol: Tolareted, Poly: Polymorphism, B; Bening.

Olgu A1:

Olgumuz 32 yaşında kadın olup 28 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Babasında mesane kanseri tanısı olmakla birlikte ailede başka kanser öyküsü bulunmamaktadır. Olguda 58. ekzonda saptanan c.8428A>G varyantı 2810. pozisyonda "Lys" in "Glu" ile değişimiyle sonuçlanmaktadır. Bu varyant *ATM* geninde mutasyonların yoğun olarak gözlendiği bölgede (hotspot) lokalizedir. Ayrıca bu varyantın allel frekansı %0.00319'dur. En az üç farklı *in silico* araçta patojenik olduğu öngörülmüştür. ACMG kriterleri ile

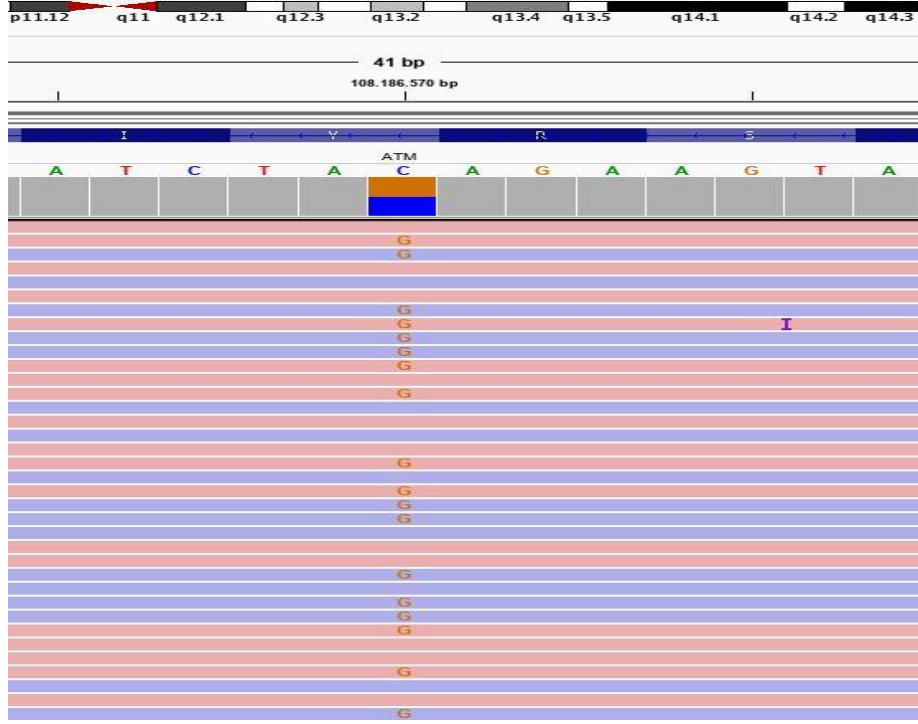
değerlendirildiğinde bu varyant klinik önemi bilinmeyen değişim olarak sınıflandırılmıştır. Olguya ait YND görüntüsü Resim 4.1’de verilmiştir.



Resim 4.1 Olgu A1’de saptanan *ATM* geni c.8428A>G varyantının YND görüntüsü

Olgu A2:

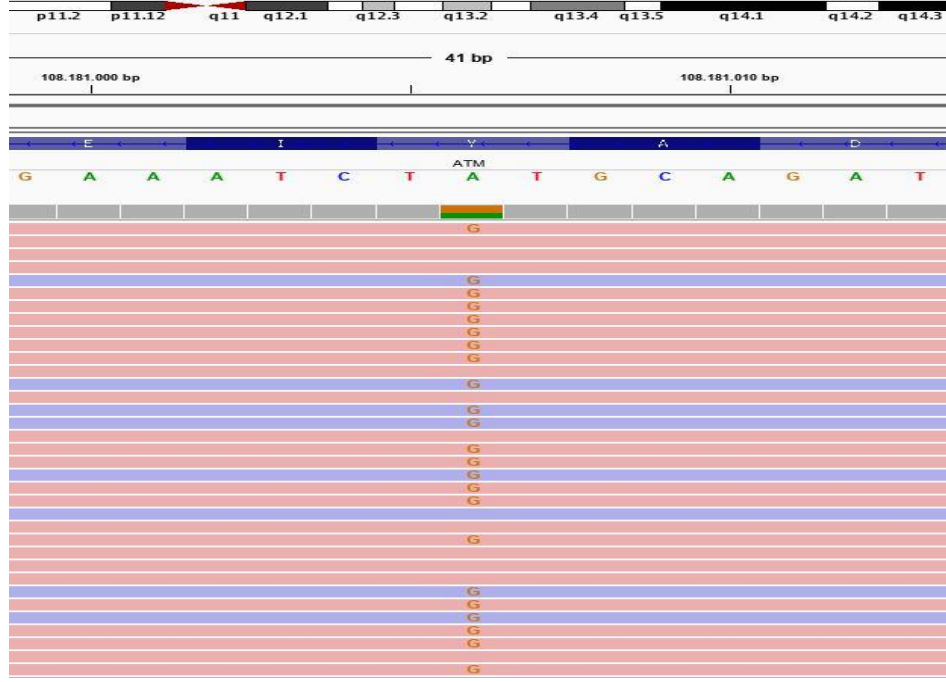
Olgumuz 49 yaşında meme kanseri tanısı almış bir kadındır. Annesi ise 79 yaşında meme kanseri nedeniyle ex olmuştur. Olguda 42. ekzonda saptanan c.6027C>G varyantı erken dur kodonu oluşturarak 1048 aminoasit eksik protein kodlanmasına sebep olmaktadır. Saptanan bu varyant mutasyonların yoğun olarak gözlemlendiği bölgede lokalizedir ve sağlıklı kontrol veritabanlarında bu değişime rastlanılmamıştır. Aynı zamanda bu değişimin en az üç farklı *in silico* değerlendirme aracı tarafından patojenik olduğu öngörülmüştür. Varyant ClinVar veritabanında ‘Ailesel Kansere Yatkınlık Sendromu’ ile ilgili patojenik bir değişim olarak bildirilmiştir. ACMG kriterleri ile değerlendirildiğinde patojenik değişim olarak sınıflandırılmıştır (Resim 4.2).



Resim 4.2 Olgu A2’de saptanan *ATM* geni c.6027C>G varyantının YND görüntüsü

Olgu A3:

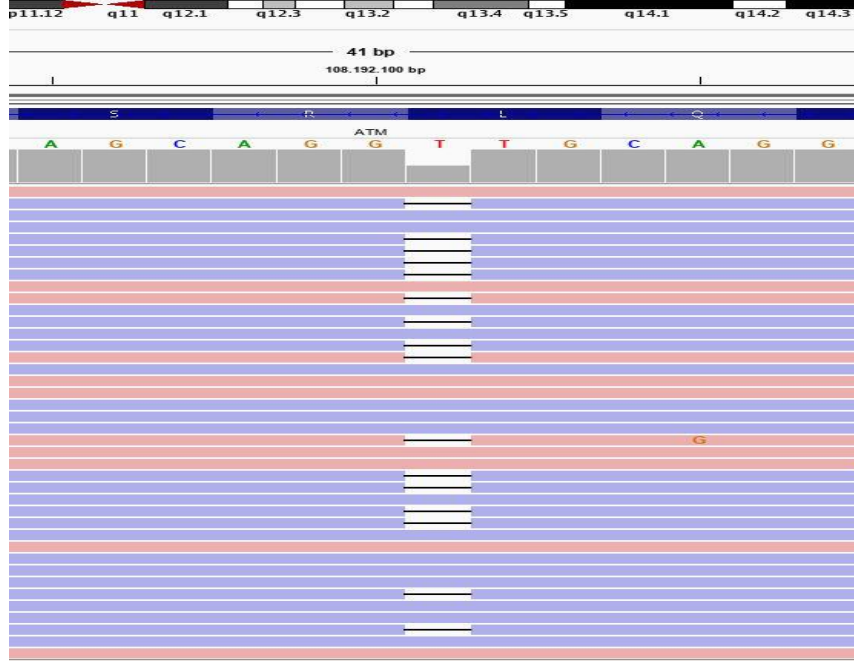
Olgumuz 37 yaşında kadın olup 34 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede sarkom, kolon kanseri, mesane kanseri ve prostat kanseri öyküsü bulunmaktadır. Olguda 39. ekzonda saptanan c.5882A>G varyantı 1961. pozisyonda “Tyr”nin "Cys" ile değişimine neden olmaktadır. Değişim *ATM* geninin önemli düzenleyici fonksiyonları olan FAT bölgesinde lokalizedir. Sağlıklı toplum veritabanlarına bakıldığında bu varyantın minor allel sıklığı %0.00398 olduğu gözlenmektedir. Ayrıca farklı *in silico* değerlendirme araçlarınca patojenik olduğu öngörülmüştür. ACMG kriterleri ile değerlendirildiğinde klinik önemi bilinmeyen değişim olarak sınıflandırılmıştır (Resim 4.3).



Resim 4.3 Olgu A3'te saptanan *ATM* geni c.5882A>G varyantının YND görüntüsü

Olgu A4:

Olgumuz 66 yaşında kadın olup 65 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Kız kardeşinde de meme kanseri tanısı mevcuttur. Olguda saptanan c.6527delT delesyonu ilk defa çalışmamızda tanımlanmıştır. Saptanan bu delesyon çerçeve kaymasına neden olarak erken dur kodonu oluşturmaktadır. Olgu A3'te saptanan değişim gibi bu varyant da FAT bölgesinde lokalizedir. Bu bilgiler ışığında bu varyant ACMG kriterleriyle patojenik olarak değerlendirilmiştir. (Resim 4.4).



Resim 4.4 Olgu A4'te saptanan *ATM* geni c.6527delT varyantının YND görüntüsü

4.2.2 *BRIP1* genine ait bulgular

Olgularımızdan bir tanesinde *BRIP1* geninde “ekzonik değişim” saptanmıştır. Tablo 4.2’de bu değişimlere yönelik bilgiler özetlenmiştir.

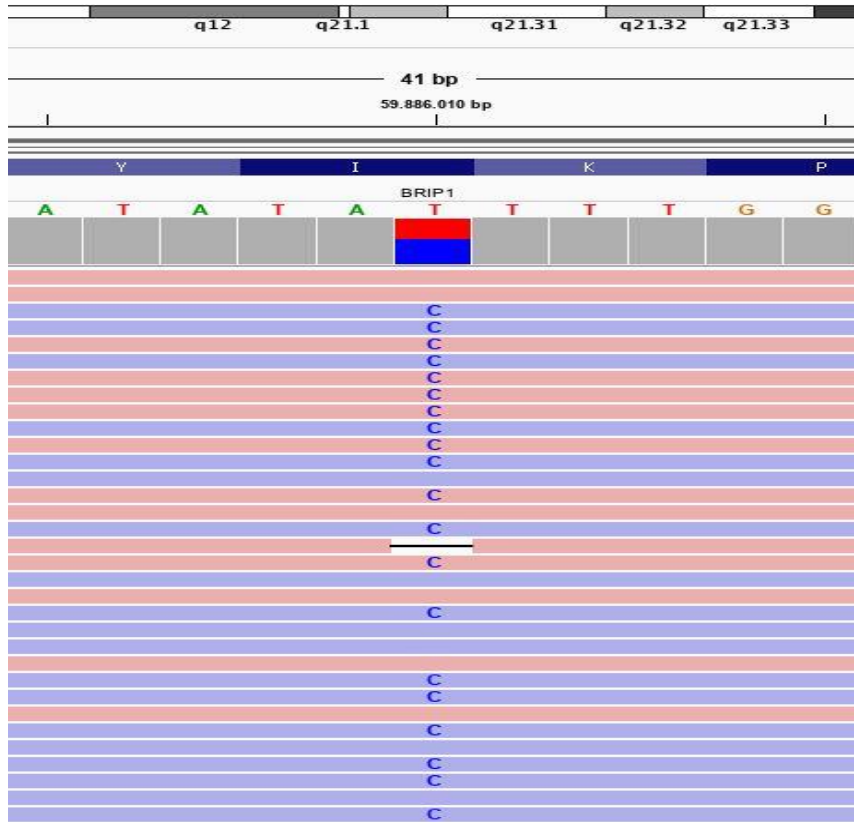
Tablo 4.2 Olgularda saptanan *BRIP1* geni varyantları

Hasta No	cDNA rs ID	Protein	In Siliko	MAF %	Başlangıç Yaşı	Aile Öyküsü	Sınıflama
B1	c.736A>G rs376893571	p.Ile246Val	PD/D / DC	< 0.01	35	+	OP

Olgu B1:

37 yaşındaki kadın hasta 35 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Olgunun aile öyküsü değerlendirildiğinde 64 yaşındaki babasında da meme ve kolon kanserleri tanıları olduğu öğrenilmiştir. Olguda saptanan c.736A>G mutasyonu 7. ekzonda 246. pozisyonda olması gereken “Ile” aminoasitinin “Val” olarak kodlanmasına sebep olmaktadır. Bu varyant genin Helikaz ATP

binding bölgesinde lokalizedir. Saptanan mutasyon *in silico* analizlerde patojenik bir değişim olarak öngörölmüştür. Değişimin patojenitesini araştırmak amacıyla yapılan segregasyon analizinde olgunun daha önce meme ve kolon kanseri tanısı almış babasında da aynı varyant tespit edilmiştir. Bu varyant HGMD veritabanında bulunmamakla birlikte daha önce meme ve over kanseri tanısı almış bir olguda bildirilmiştir. Sağlıklı toplum veritabanlarında MAF'ı %0.0155'tir. Değişim ACMG kriterleriyle değerlendirildiğinde KÖB olarak sınıflandırılmıştır (Resim 4.5).



Resim 4.5 Olgu B1'de saptanan *BRIP1* geni c.736A>G varyantının YND görüntüsü

4.2.3 CHEK2 genine ait bulgular

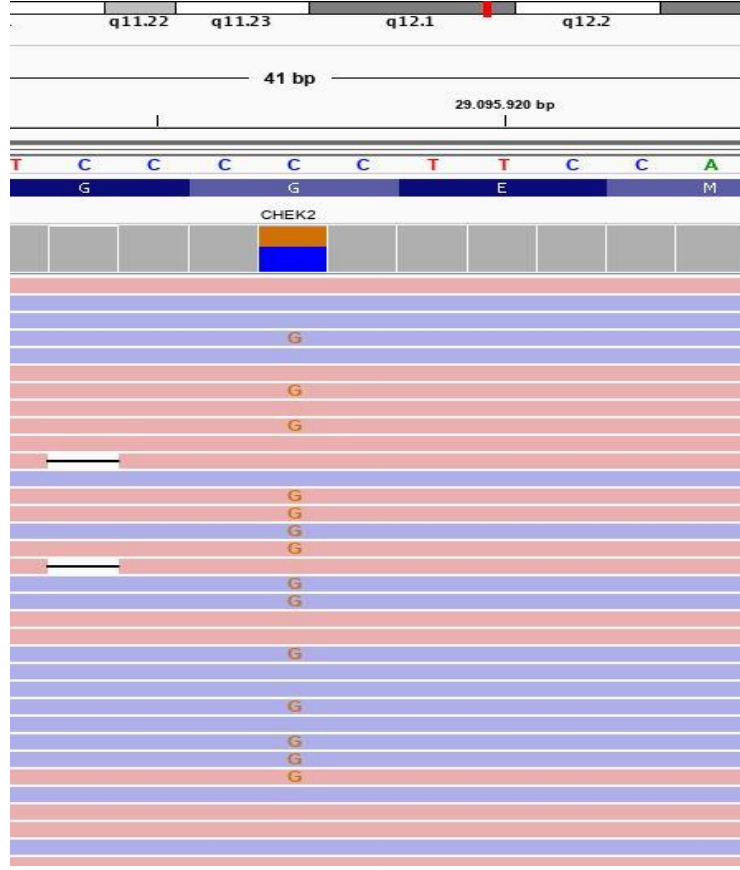
Olgularımızdan iki tanesinde *CHEK2* geninde "ekzonik değişim" saptanmış ve Tablo 4.3'te bu değişimlere yönelik bilgiler özetlenmiştir.

Tablo 4.3 Olgularda saptanan *CHEK2* geni varyantları

Hasta No	cDNA rs ID	Protein	In Slico	MAF %	Başlangıç Yaşı	Aile Öyküsü	Sınıflama
C1	c.917G>C rs587780192	p.Gly306Ala	PD/D/ DC	< 0.01	40	+	OP
C2	c.1111C>T rs531398630	p.His371Tyr	PD/D/ DC	< 0.01	28	-	OP

Olgu C1:

40 yaşında kadın hasta meme kanseri tanısı almış ve 49 yaşında ex olmuştur. Kız kardeşinde de meme kanseri tanısı mevcuttur. Olguda saptanan c.917G>C mutasyonu 9. ekzonda 306. pozisyondaki "Gly" aminoasitinin "Ala" ile değişimine neden olmaktadır. Bu varyant genin protein kinaz bölgesinde yer almakta ve farklı *in silico* analizlerde patojenik olarak öngörülmektedir. Aynı zamanda bu değişim ClinVar veritabanında meme kanseri ile ilişkili olası patojenik ve klinik önemi belirsiz varyant olmak üzere farklı tahminlerle bildirilmiştir. Ancak bununla birlikte bu varyantın maya temelli analizlerde DNA hasarına cevap aktivitesinde azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir (Roeb, Higgins, & King, 2012). Bu bulgular eşliğinde ACMG kriterleriyle değerlendirildiğinde varyant olası patojenik olarak değerlendirilmiştir (Resim 4.6).

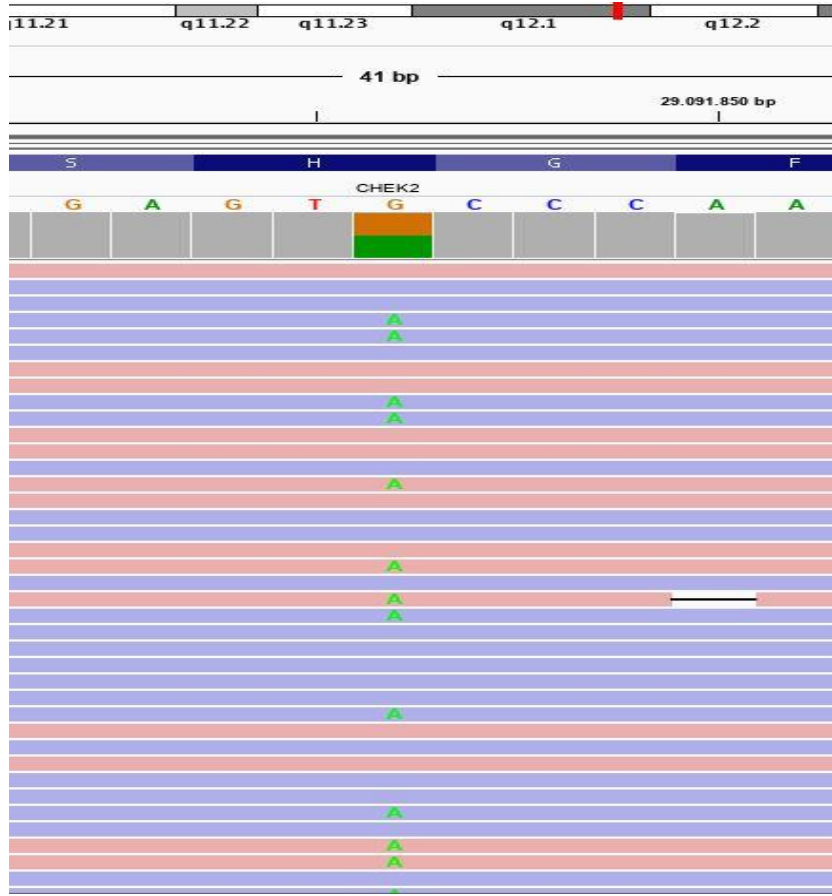


Resim 4.6 Olgu C1’de saptanan *CHEK2* geni c.917G>C varyantının YND görüntüsü

Olgu C2:

Olgumuz 30 yaşında kadın olup 28 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Herhangi bir aile öyküsü bulunmamaktadır. Olguda saptanan c.1111C>T varyantı 10. ekzonda 371. pozisyondaki “His”’in "Tyr" ile değişimine neden olmaktadır. Bu varyant *CHEK2* geninin mutasyonların yoğun olarak gözlemlendiği bölgesinde bulunmaktadır. Ayrıca farklı *in silico* veritabanları tarafından patojenik olduğu öngörülmüştür. MAF'ı %0,0477 olmasına rağmen literatürde bu varyant meme kanseri tanısı almış vakalarda bildirilmiştir (Liu vd., 2011). Bu mutasyon ClinVar veritabanında meme kanseri ile ilişkili olası patojenik bir mutasyon olarak tanımlanmaktadır. ACMG kriterleriyle değerlendirildiğinde varyant olası patojenik bir değişim olarak sınıflandırılmıştır Aynı zamanda farklı *in silico* araçlar tarafından patojenik

olduğu tahmin edilmiştir (Resim 4.7). Olguda aynı zamanda *MSH6* geninde ek bir değişim saptanmış olup ilgili bölümde açıklanacaktır.



Resim 4.7 Olgu C2'de saptanan *CHEK2* geni c.1111C>T varyantının YND görüntüsü

4.2.4 *MRE11* genine ait bulgular

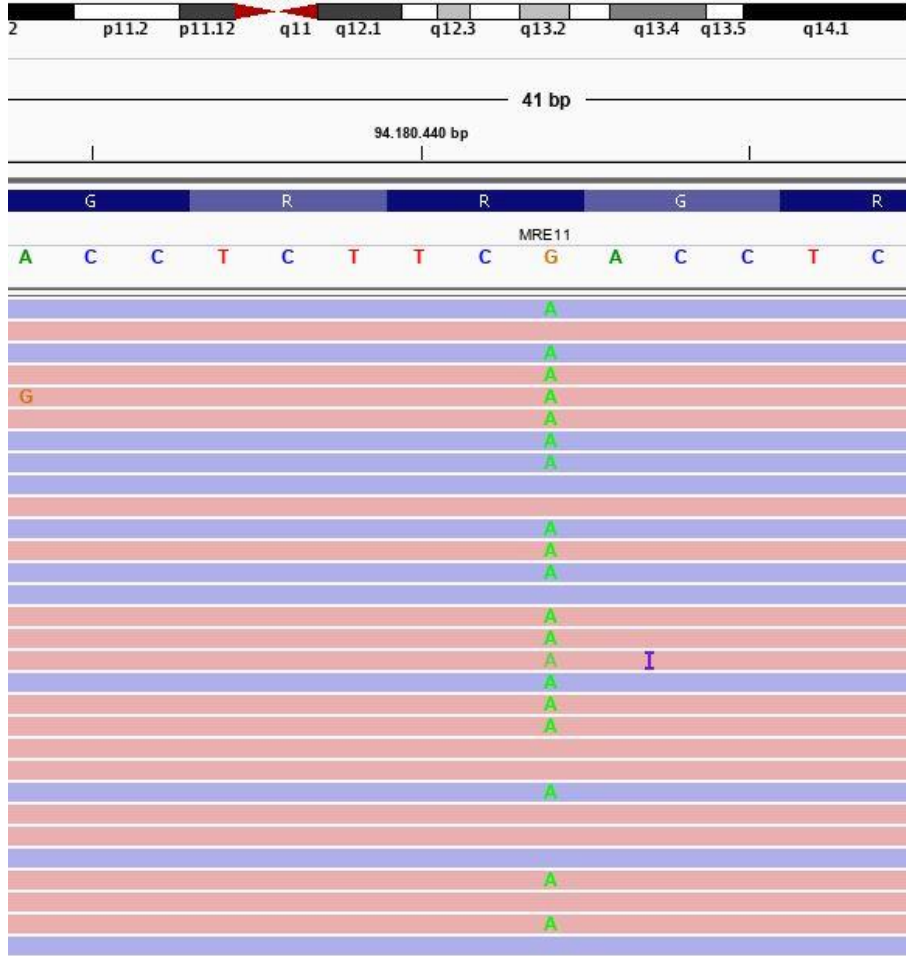
Olgularımızdan bir tanesinde *MRE11* geninde "ekzonik değişim" saptanmış ve Tablo 4.4'te bu değişime yönelik bilgiler özetlenmiştir.

Tablo 4.4 Olgularda saptanan *MRE11* geni varyantları

Hasta No	cDNA rs ID	Protein	In Siliko	MAF %	Başlangıç Yaşı	Aile Öyküsü	Sınıflama
M1	c.1726C>T rs774277300	p.Arg576Ter	DC	< 0.01	44	+	P

Olgu M1:

Olgumuz 45 yaşında kadın olup 44 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Kız kardeşinde de meme kanseri tanısı mevcuttur. Olguda saptanan c.1726C>T mutasyonu 15. ekzonda erken dur kodonu oluşturarak güdük protein oluşuma neden olmaktadır. Farklı *in silico* veritabanlarında patojenik olarak öngörülmüştür. MAF'ı %0,00279'dur. Literatürde meme ve over kanseriyle ilişkili bir değişim olarak bildirilmiş bu varyant ACMG kriterleriyle yeniden değerlendirilmiş ve patojenik olarak sınıflandırılmıştır (Resim 4.8).



Resim 4.8 Olgu M1'de saptanan *MRE11* geni c.1726C>T varyantının YND görüntüsü

4.2.5 MSH6 genine ait bulgular

Olgularımızdan bir tanesinde *MSH6* geninde "ekzonik değişim" saptanmış ve Tablo 4.5' te bu değişime yönelik bilgiler özetlenmiştir.

Tablo 4.5 Olgularda saptanan MSH6 geni varyantları

Hasta No	cDNA rs ID	Protein	In Siliko	MAF %	Başlangıç Yaşı	Aile Öyküsü	Sınıflama
MS1	c.2092C>G rs63750832	p.Gln698Glu	B/Tol /DC	< 0.01	28	-	KÖB

Olgu MS1:

Olgumuz 30 yaşında kadın olup 28 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Olguda saptanan c.2092C>G varyantı 4. ekzonda kodlanan "Gln" aminoasiti yerine "Glu" aminoasitinin protein sentezine katılması ile sonuçlanmaktadır. Saptanan varyant *in silico* programlarca patojenik olarak öngörülmüştür. Bu değişim MSH6 geninin mutasyonlarının yoğun gözlendiği bölgesinde yer almaktadır. MAF'ı ise %0,000798'dir. Değişim ACMG kriterleri ile değerlendirilip klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmıştır (Resim 4.9).



Resim 4.9 Olgu MS1'de saptanan *MSH6* geni c.2092C>G varyantının YND görüntüsü

5. TARTIŞMA

Meme kanseri, dünyadaki kadınlarda en sık görülen malignitedir. Meme kanseri insidansı ve mortalitesi ile ilgili bilgiler sağlık önlemlerinin planlanması için esastır (Ghoncheh, Pournamdar, & Salehiniya, 2016). Meme kanserlerinin yaklaşık %10'u, bir ailede geçen tek gen mutasyonlarının oluşumunda gelişir. Bilinen bir gen mutasyonuna sahip bir birey için meme kanseri gelişme riski, gen penetransına bağlıdır. Gen penetransı, bir mutasyonun (genotip) etkisinin (fenotip) klinik olarak belirgin hale gelme olasılığı olarak tanımlanmaktadır. Kalıtsal meme kanseri vakalarının ve özellikle kalıtsal meme ve yumurtalık kanseri sendromu (HBOC) vakalarının çoğu, *BRCA1* ve *BRCA2*'deki mutasyonlara atfedilebilir. (Graffeo vd., 2016)

Moleküler genetik alanındaki ilerlemeler, meme ve / veya yumurtalık kanserlerine (örneğin, *BRCA1 / 2*, *TP53*, *CDH1*) kalıtsal duyarlılığı ile ilişkili bir dizi gen tanımlamış ve belirli bireylerde ve ailelerde bulunan spesifik gen mutasyonunu veya mutasyonlarını karakterize etmek için bir araç sağlamıştır. Son zamanlarda kalıtsal kanser formları için multigen testinin yapılması, riskli hastaları ve ailelerini test etme konusundaki klinik yaklaşımı hızla değiştirmiştir. Multigen testleri, klinik olarak uygulanabilir olduğu bilinen bir mutasyonu tanımlamaya odaklanmalıdır. NCCN Genetik / Ailesel Yüksek Risk Değerlendirmesi: Meme ve Yumurtalık Kılavuzunda, panel öncelikle bilinen yüksek penetran genlerdeki mutasyonların (yani, *BRCA1 / 2*, *TP53*, *PTEN*) değerlendirilmesi ve genetik test, danışmanlık ve yönetim önerileri üzerine odaklanmaktadır. Bu genlerde mutasyon saptanmayan olgularda orta veya düşük penetran genler içinde bulunan *ATM*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D* ve *STK11* gibi panel genleri de mutasyon açısından değerlendirilmelidir (Daly vd., 2017).

Altın standart olan Sanger dizileme yöntemine göre gelişen yeni nesil sekanslama teknolojisi meme kanseri ile ilişkili olabilecek genlerin bir panelde çalışılmasına olanak vermektedir. Bu bağlamda çalışmamızda; meme kanseri tanısı almış fakat yüksek penetran olan *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinde

herhangi bir değişiklik saptanmayan 38 olguda yeni nesil dizileme yöntemi ile *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *MRE11*, *MSH6*, *NBN*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51*, *RAD51C*, *STK11*, *TP53* genleri dizilenmiştir. Meme kanseri ile ilişki olabileceği bildirilen ve panelde bulunan 14 gen için dizileme sonucunda elde edilen sonuçların biyoinformatik analizleri yapılmıştır. Değişim saptanan olguların klinik özellikleri ve saptanan değişimler literatür ile karşılaştırılmıştır.

5.1 Varyant Tespit Edilen Genlerdeki YND Verilerinin Literatür Bilgileriyle Karşılaştırılması

5.1.1 *ATM* geni varyantları

Germ-line *ATM* heterozigotluğu popülasyonun yaklaşık %1'inde ve kanser yatkınlığını arttırdığı görülmektedir. Heterozigot olduğu bilinen aile üyelerindeki yapılan çalışmalarda, *ATM* gen mutasyonlarının kadınlarda meme kanseri riskini yaklaşık 5-9 kat arttırdığı belirtilmiştir. Özellikle, 50 yaşından küçük kadınlarda da meme kanseri riskini göreceli olarak arttırdığı bildirilmiştir (Ahmed & Rahman, 2006).

ATM, DNA çift zincir kırıklarının onarılmasında merkezi bir rol de dahil olmak üzere çoklu karmaşık işlevlere sahip olduğu bilinmektedir. *ATM* heterozigot mutasyonlarına sahip bireyler, genel popülasyon ile kıyaslandığında meme kanseri riskinin 2 kat daha yüksek olduğu görülmüştür. Elli yaşının altındaki kadınlarda belirtilen riskin 5 kat daha arttığı belirtilmiştir. Ayrıca genin penetransı yaklaşık %15 olmasına rağmen, bu mutasyona sahip bireylerden kimde meme kanseri gelişeceğine dair kesin bir tahminin söz konusu olmadığı görülmüştür (Apostolou & Fostira, 2013).

Otozomal resesif kalıtım kalıbına sahip *ATM* geninin, 2 hatalı kopya olduğu durumda nörodejeneratif bir hastalık olan AT sendromunu etkilediği bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'ndeki belirtilen durumun görülme sıklığı 88.000 canlı doğumda ~ 1/7 olarak belirtilmiştir. Buna karşılık, patojenik bir *ATM* varyantı için ilgili gendeki heterozigotluk yetişkin popülasyonununun %1-2'sinde mevcut olduğu bildirilmiştir. Bu bireyler fenotipik

olarak normal olmasına rağmen, meme kanseri için riskleri genel popülasyondaki riskten daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Patojenik *ATM* varyantlarının, %45-80'inin yaşam boyu meme kanseri riskine neden olan patojenik BRCA varyantlarına kıyasla penetransı orta olarak kabul edilir (Jerzak vd., 2018).

Crawford ve ark.'ın farklı etnik gruplarda yapılan panel çalışmasında doksanyedi yüksek riskli meme kanseri olgusunda *ATM* geninde bir patojenik (1/97) varyant tespit edilmiştir. Bunun yanısıra meme kanseri tanısı almış ve over kanserinin de eşlik ettiği yüzdört olguda *ATM* geninde farklı bir patojenik (1/104) varyant tespit edildiği bildirilmiştir (Crawford vd., 2017).

Marabelli ve ark.'ın on dokuz farklı çalışmayı kapsayan meta analiz çalışmasında *ATM* mutasyon taşıyıcılarında meme kanserinin kümülatif riskinin 50 yaşında %6.02 (%95 güvenilir aralık:%4.58-7.42) ve 80 yaşında %32.83 (%95 güvenilir aralık:%24.55-40.43) olduğu bildirilmiştir (Marabelli, Cheng, & Parmigiani, 2016).

Çalışmamızda *ATM* geninde iki patojenik varyant saptanmakla birlikte KÖB olarak sınıflandırılan iki varyant tespit edilmiştir. İlgili *ATM* mutasyonları meme kanseri tanısı almış olguların %10'unda (4/38) tespit edilmiştir. *ATM* geninde saptanan mutasyonlardan c.6527delT delesyonu ilk kez çalışmamızda tespit edilmiştir. İlgili mutasyonun çerçeve kayması mutasyonu olarak, erken dur kodonu oluşmasına sebep olduğu bilinmektedir. Tespit edilen c.6027C>G varyantı ClinVar veritabanında rs1555113567 numarası ile bildirilmiş ve ACMG kriterlerine göre de patojenik olarak değerlendirilmiştir.

Erken stop kodonu oluşturarak güdük protein oluşmasına neden olan bu varyant 'Ailesel kanser sendromları' ile ilişkilendirilmiş ve çalışmamızda bir olguda tespit edilmiştir. Tespit edilen c.8428A>G ve c.5882A>G varyantlarının ise klinik olarak önemi ile ilgili herhangi bir veri sunulmamıştır. Bu doğrultuda *in silico* analizlerden yola çıkılarak bizim çalışmamızda KÖB olarak

skorlandırılmış olmasına rağmen patojenitesi hakkında yorum yapmak için *in silico* analizlerin tek başına yeterli olmadığı belirlenmiştir.

5.1.2 BRIP1 geni varyantları

Meme kanserine yatkınlığın, çok çeşitli hastalık riski ile ilişkili olarak çok sayıda genetik varyasyonun aracılık ettiği bilinmektedir. Orta risk kategorisindeki bilinen genler, DNA onarımında yer alan proteinleri kodlar. Meme kanserine yatkınlık geni olarak önerilen DNA onarımında yer alan genlerden biri *BRIP1*'dir. *BRIP1* düşük penetranslı bir meme kanseri predispozan gen olarak kabul edilmiştir (De Nicolo vd., 2008). *BRIP1*'in meme kanserinin başlangıcındaki rolünü araştırmak için birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen, bu yönde yapılan çalışmalar halen devam etmektedir.

Rahman ve ark.'ları, bir İngiliz ailevi meme kanseri vakası ve kontrol grubundaki bütün *BRIP1* gen sekansının mutasyonel taramasını gerçekleştirerek, bir meme kanserine duyarlılık geni olarak *BRIP1* geninin kanıtını sunan ilk kişilerdi (Rahman vd., 2007). *BRIP1* gibi düşük penetranslı genlerdeki değişiklikler, DNA hasarı onarım mekanizmalarında kusurlara neden olarak sporadik meme kanserine neden olabileceğini bildirmişlerdir (Ouhtit vd., 2016).

Easton ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada ise *BRIP1* genindeki varyantlar ile meme kanseri riski arasında bir ilişki olduğuna dair net bir kanıt olmadığı sonucuna varmışlardır. *BRIP1* taraması yumurtalık kanseri risk tahmini için yararlı olabilirken, diğer risk faktörleri ile birlikte, bu varyantlar meme kanseri risk tahmini için kullanılmaması gerektiği yönünde bir öneri de bulunmuşlardır (Easton vd., 2016).

Sato ve ark.'larının Japonya'da yapmış olduğu bir çalışmada 100 olguda *RAD51C*, *PALB2* ve *BRIP1* genleri dizilenmiş ve *BRIP1* geninde c.736A>G varyantı bir olguda saptanmıştır. Yapılan çalışma sonucu varyantın muhtemelen protein fonksiyonlarını etkilediği ve fonksiyonel olarak zararlı olabileceği yönünde bir sonuca ulaşıldığı bildirilmiştir (Sato vd., 2017).

Bizim çalışmamızda da *BRIP1* geninde c.736A>G varyantı meme kanseri tanısı almış bir olguda tespit edilmiştir. Saptanan varyant yapmış olduğumuz *in silico* analizlerde ‘olası patojenik’ bir varyant olarak sınıflandırılmış ve ACMG kriterleriyle değerlendirilmesi sonucu KÖB olarak skorlandırılmıştır.

Bu çalışmalar göz önüne alındığında *BRIP1* geninin meme kanseri üzerindeki etkisi kesin olarak bilinmemekle beraber çalışmamızda tespit edilen varyantın yapılan bir çalışmayla uyumlu olduğu görülmüştür.

5.1.3 *CHEK2* geni varyantları

CHEK2, tümör baskılayıcı gen olarak işlev gören bir kinazdır. *CHEK2*'deki mutasyonları, meme kanserine ve diğer kanserlerde yatkınlığa neden olur. *CHEK2* c.1100delC için heterozigot olan kadınlar arasında meme kanseri riski 2 kat artar. Meme kanseri hastalarında gözlenen kalıtsal *CHEK2* varyantlarından *CHEK2* c.1100delC ve diğer birkaç varyant açıkça işlev kaybına yol açar. *CHEK2* aracılı DNA hasar yanıtı analizindeki sonuçlar ile meme kanseri riskinin epidemiyolojik değerlendirmesi arasındaki uyum, vaka kontrol çalışmaları yapılmış olan *CHEK2* varyantları için yüksektir. Özellikle, *CHEK2* p.I157T ve *CHEK2* p.S428F ile ilişkili meme kanseri riskleri 2 kat olarak bildirilmiştir (Roeb vd., 2012).

Roeb ve ark.'larının mayalar üzerindeki çalışmasında c.917G>C varyantının fonksiyon kaybına neden olabileceği göz önünde bulundurularak DNA hasarına cevap aktivitesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda da bir olguda (1/38) saptadığımız c.917G>C varyantı meme kanseri ile ilişkili olası patojenik bir varyant olarak bildirilmiş ve ACMG kriterlerine göre değerlendirildiğinde de olası patojenik bir varyant olarak değerlendirilmiştir. Saptanan varyantın patojenitesi maya çalışmasında desteklenmiş olsa da meme kanseri üzerindeki etkisinin uygun olgu gruplarında çalışması uygun olacaktır.

Liu ve ark.'larının Çin'de yaptığı bir çalışmada c.1111C>T varyantı bulunan *CHEK2* geninin otofosforilasyon ve transfosforilasyon aktivitesinin, mutasyon bulunmayan *CHEK2* genine kıyasla yaklaşık %50 azaldığı görülmüştür. Bu varyant nedeniyle proteinde tamamen fonksiyon kaybı meydana gelmemektedir. 1228 sağlıklı kontrol, 909 meme kanseri vakasının 16'sında ve 1228 kontrolün 9'unda c.1111C>T varyantı saptanmıştır. Ailesel ve sporadik meme kanseri hastalarında ve kontrollerinde c.1111C>T sıklıkları %4.24, %1.76 ve %0.73 olarak tespit edilmiştir. Kontrollerle karşılaştırıldığında, c.1111C>T varyantı taşıyan ailesel meme kanseri vakalarının meme kanseri gelişimi için yaklaşık altı kat göreceli bir risk olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, c.1111C>T varyantı taşıyan sporadik olgularda meme kanseri riskinde anlamlı bir artış gözlemlendiği yapılan bu çalışmada bildirilmiştir. Çinli kadınlarda meme kanseri riskini hafifçe arttıran bu mutasyon diğer etnik gruplarda mevcut olabileceğinden, bu mutasyonun diğer popülasyonlarda incelenmesinin fayda sağlayacağı öngörülmüştür (Liu vd., 2011).

Baloch ve ark.'larının yapmış olduğu çalışmada ise c.1111C>T varyantının *CHEK2* fonksiyonunu değiştirebileceği ve kısmi işlev kaybı sonucu tümör oluşumuna neden olabileceği bildirilmiştir (Baloch vd., 2014).

Çalışmamızda bir olguda (1/38) tespit edilen c.1111C>T varyantı literatürde ve in silico analizlerde patojenik olarak skorlandırılmış ve ACMG kriterlerine göre olası patojenik bir varyant olarak sınıflandırılmıştır. Saptanan varyant literatürle uyumlu bulunmuştur.

5.1.4 MRE11 geni varyantları

Bir hücrenin maruz kalabileceği farklı hasarlar arasında, DNA çift zincir kırılması (DSB) en zararlı olanıdır. Hücreler DSB'leri homolog rekombinasyon (HR) ve homolog olmayan birleştirme (NHEJ) olmak üzere iki onarım yolu ile onarır. *MRE11*, DSB onarım yolları olan HR ve NHEJ'de rol oynar. *MRE11*, tek iplikli endonükleaz aktivitesine ve DNA son işlem için gerekli olan 3' – 5' eksonükleaz aktivitesine sahiptir. Son zamanlarda

MRE11'in meme kanserinde aşırı eksprese edildiği ve yüksek *MRE11* ekspresyonunun meme kanserinde daha kötü huylu bir davranışla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, *MRE11* geninin germ hattı mutasyonları, meme ve / veya yumurtalık kanserine karşı kalıtsal duyarlılık taramasında yakın zamanda tespit edilmiştir (Mateos, Headrick, Romero, Kuehn, & Ray, 2019).

Chubb ve ark.'larının çalışmasında c.1726C>T varyantı kolorektal kanser için aday varyantlar içinde değerlendirilmiş fakat meme kanseri ile ilişkisine dair herhangi bir veri bildirilmemiştir (Chubb vd., 2016).

Çalışmamızda bir olguda (1/40) saptanan c.1726C>T varyantı erken stop kodonu oluşması sonucu güdük protein oluşmasına neden olmaktadır. In slico analizlerde ve ACMG kriterlerine göre patojenik bir varyant olarak değerlendirilmiştir.

5.1.5 MSH6 geni varyantları

DNA yanlış eşleşme mekanizması (MMR) yolu, DNA polimerazı küçük tekrarlama dizilerini çoğaltmaya çalıştığına meydana gelen tek baz çifti uyumsuzluklarını ve küçük insersiyon veya delesyonları onarmaktan sorumludur. Bu mekanizmada rol oynayan genlerde meydana gelen patojenik varyantlar, DNA onarımında hatalara yol açarak MMR eksikliği olan hücrelerde artan mutasyon yüküne yol açar. Bunun sonucunda Lynch sendromu ortaya çıkar. Lynch sendromu (LS) olan kadınlarda meme kanseri riskini değerlendiren klinik çalışmalar çelişkilidir, bazıları dört katına kadar artan meme kanseri riskini gösterirken, diğerleri risk artışı olmadığını bildirmiştir (Roberts vd., 2018).

Kurian ve ark.'larının yaptığı çalışmaya göre Lynch sendromu genleri *MSH6* ve *PMS2*'de varyantları olan bireyler arasında meme kanseri insidansının arttığını bildirmişlerdir. 95.561 olguda yapılan 25 gen bulunan panel çalışmasında *MHS6* geni için meme kanseri olgularında tespit edilen mutasyon oranının over kanserine göre daha düşük olarak saptandığı ve *MSH6* geninin over kanserinde artmış riskle ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Kurian vd., 2017).

Çalışmamızda bir olguda (1/38) tespit edilen c.2092C>G varyantını in silico analizlerde patojenik olarak skorlandırılmıştır. ACMG kriterlerine göre KÖB olarak sınıflandırılmıştır.

5.2 Varyant Tespit Edilmeyen Genler

Yapmış olduğumuz çalışmada panele dahil edilen beş gende patojenik, olası patojenik ya da klinik önemi bilinmeyen olarak sınıflandırılmış varyantlar tespit edilmiştir. Panelde bulunan dokuz gende bu sınıflandırmaya uyan herhangi bir varyant tespit edilmemiştir.

Meme veya yumurtalık kanseri yatkınlığı, bir dizi yüksek ve orta ila düşük penetran duyarlılık genlerine bağlanmıştır. Yeni nesil dizilemenin (YND) ortaya çıkmasıyla, bu genlerin eşzamanlı testi mümkün hale gelmiştir.

Kraus ve ark.'ları 14 meme ve/veya yumurtalık kanserine duyarlılık genlerini içeren panele (*BRCA1*, *BRCA2*, *RAD51C*, *RAD51D*, *CHEK2*, *PALB2*, *ATM*, *NBN*, *CDH1*, *TP53*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MSH6* ve *PMS2*) Alman popülasyonunda 581 birey çalışmaya dahil edilmiştir. Sonuç olarak 10 farklı gende 105 (%18) hastada 106 zararlı mutasyon tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda; genetik kanser riski hakkında daha doğru bilgi almak için panel testinin yapılması gerekliliğini vurgulamışlardır (Kraus vd., 2017).

Kurian ve ark.'larının yaptığı geniş panel çalışmasında dahil edilen 25 gen için yaklaşık 100.000 kadın arasında %7'si bir veya daha fazla kansere bağlı gende patojenik mutasyon taşıdığı bildirilmiştir. Sekiz gen (*ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2*, *PTEN* ve *TP53*) iki kat (*ATM*: OR, 1.74;% 95 CI, 1.46 - 2.07) ila altı kat oranında (*BRCA1*: OR, 5.91;% 95 CI, 5.25 ila 6.67) meme kanserine yatkınlık ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Kurian vd., 2017).

Couch ve ark.'larının meme kanseri olan 65057 hastanın multigen panelleri ile kanser yatkınlık genlerinin araştırılması amaçlanmıştır. Panelde bulunan *PALB2*, *ATM*, *CHEK2*, *BARD1* ve *RAD51D* genleri için bu test popülasyonunda *PALB2*, yüksek riskli bir meme kanseri geni (OR, 7.46;% 95

CI, 5.12-11.19) olarak onaylanmış ve aile segregasyon çalışmalarından yola çıkarak meme kanseri için %58'e kadar kümülatif ömür riski ile tutarlı olduğu bildirilmiştir. *BARD1* ve *RAD51D*'deki patojenik varyantların orta derecede artmış meme kanseri riskleri ile ilişkili olduğunu tespit edilmiş fakat kesin ilişkisinin açıklanabilmesi için daha geniş kontrol grubuyla çalışılması önerilmiştir (Couch vd., 2017).

Uzunoglu ve ark.'larının Türk popülasyonunda yaptığı çalışmaya 101 meme kanseri ve 115 sağlıklı, yaş ortalamasının ise 56 olduğu kadın kontrol grubuna 216 birey dahil edilmiştir. Meme kanseri etiyolojisinde orta derecede risk oluşturan *NBN* geni çalışılmış ve bazı popülasyonlar için istatistiksel olarak anlamlı olarak tanımlanmıştır. *NBN* proteini, DSB'lerin onarımında rol oynayan kilit proteinlerden biridir. *NBN* geninin meme kanseri riski üzerindeki etkili varyantları açıklığa kavuşturulmamıştır. Aynı zamanda, çalışmalar *NBN* heterozigot taşıyıcılarının hücrelerinde artan bir spontan kromozomal instabilite olduğunu ortaya koymuştur. Türk popülasyonunda yapılan bu retrospektif vaka kontrol çalışmasında ilk defa, *NBN* gen c.924T>C varyantının çalışılan Türk popülasyonunda meme kanseri için genetik bir risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, bu *NBN* varyantının özellikle genç kadınlarda meme kanserine katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır (Uzunoglu vd., 2016).

Rusak ve ark.'larının Polonya'da yaptığı bir çalışmaya meme kanseri tanısıyla 4964 kadın (ailesel vakalar), kontrol grubuna ise kanser tanısı olmayan 6152 birey dahil edilmiştir. Bu çalışmada, bir patojenik alelin penetransının aynı genin başka bir yerindeki bir allelin genotipine bağlı olup olmadığını ve kalıtsal bir kanser sendromuna neden olup olmadığını incelemeyi hedeflemişlerdir. Bu çalışma sonunda *NBN* kalıtsal meme kanseri duyarlılığı için baskın bir kanser duyarlılık geni olarak bildirilmiştir (Rusak vd., 2019).

NBN SNP'ler, mutasyonunun protein fonksiyonu ve yapısı üzerindeki etkisini kontrol etmek için biyoinformatik SNP tahmin araçları kullanılarak analiz edilen çalışmada fenilalaninin 266 pozisyonunda lösine (S93L) mutasyona

uğradığı rs769420 gibi kodlama bölgelerinde dört SNP'nin oldukça hasar gördüğü tahmin edilmiştir. Mikrosefali normal zeka ve bağışıklık yetmezliğine ve kalıtsal kanser yatkınlık sendromuna (clinvar) yol açtığı ve rs13312858 (K105N) değişimi için ise hastalık ile ilişkisi doğrulanmadığı bildirilmiştir (Nithya & ChandraSekar, 2019).

CDH1 geni, hücreden hücreye yapışmadan sorumlu bir proteini kodlar ve bir hücre istila baskılayıcı olarak işlev görür. E-kadherin germline mutasyonları kalıtsal diffüz mide kanserinden (HDGC) sorumludur. *CDH1* geni mutasyon taşıyıcıları, genç yaşta çok yüksek bir yaygın gastrik karsinoma riski altındadır ve ek olarak meme kanseri gelişmesi (çoğunlukla lobüler meme kanseri) tahmini göreceli bir risktir. Son çalışmalar, HDGC'nin ilk belirtisi olarak lobüler meme kanserinin olabileceği bildirilmiştir. Bilateral lobüler meme kanserli kadınlarda zararlı *CDH1* mutasyonları tespit edilmiştir (Wendt & Margolin, 2019).

Membran bağlanması ve apoptozda rol oynayan tümör baskılayıcı bir gen olarak tanımlanan *STK11* genindeki germline mutasyonları Peutz-Jeghers sendromunun (PJS) nedenidir. Etkilenen bireylerin kolorektal, meme, ince bağırsak, pankreas, mide ve yumurtalık kanseri için yüksek risk altında olduğu bildirilmiştir (Economopoulou vd., 2015).

TP53, mutasyona uğramış aleller nedeniyle *BRCA1*'deki mutasyonların neden olduğu orana neredeyse eşit bir oranda orta yaşlı kadınlarda meme kanseri ortaya çıkarmanın önemini elinde tutan bir tümör baskılayıcı proteindir (Sheikh vd., 2015). *TP53* ayrıca, bireyde genin tek bir fonksiyonel kopyasının varlığından kaynaklanabilecek Li-Fraumeni Sendromu gibi diğer sendromlarla da ilişkilidir Li-Fraumeni Sendromu ile ilişkili bireylerde *TP53*'ün ancak daha az birlikte bildirildikleri durumlarda, erken dönemde ciddi meme kanseri ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Varley, 2003).

TP53 mutasyonlarının meme kanserlerinin %20-40'ının gelişiminde büyük rol oynadığı bildirilmiştir (Manié vd., 2009). *TP53*'ün ekzon 10 kodonu 337'de CGC'den CAC'ye tek bir nükleotit germ hattı mutasyonel değişimi,

argininden histidine (R337H) bir amino asit değişikliğine yol açar. Bu kayıp mutasyonun erken başlangıçlı meme kanseri ile bağlantılı olduğunu bildirilmiştir (Sheikh vd., 2015).

NCCN Meme ve Over Kanseri için 2017 yılında yayınlanan kılavuzunda *TP53*, *PTEN* genleri yüksek riskli, *ATM*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2* ve *STK11* genleri orta riskli genler olarak bildirilmiştir (Daly vd., 2017).

Çalışmamızda otuz sekiz olguda değerlendirdiğimiz YND panelinde bulunan *CDH1*, *NBN*, *PALB2*, *TP53*, *PTEN* ve *STK11* genlerinde herhangi bir mutasyon tespit edilmemiştir. Düşük riskli genler olarak tanımlanan *BRIP1*, *RAD51*, *RAD51C* ve *MSH6* genlerinin iki tanesinde varyant saptanmıştır. *BRIP1* geninde saptanan varyant olası patojenik bir varyant olarak sınıflandırılırken *MSH6* geninde saptanan varyant KÖB olarak sınıflandırılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmaya dahil edilen meme kanseri tanısı almış otuz sekiz olgunun 9 tanesinde patojenik, olası patojenik ve klinik önemi bilinmeyen varyant tespit edilmiştir. Çalışmada meme kanseri ile daha önce ilişkilendirilmiş on dört gen (*ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDH1*, *CHEK2*, *MRE11*, *MSH6*, *NBN*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD51*, *RAD51C*, *STK11*, *TP53*) YND yöntemi ile çalışılmıştır. *ATM*, *CHEK2*, *MSH6* ve *MRE11* genlerinde saptanan varyantlardan, *ATM* geninde saptanan c.6527delT varyantı daha önce literatürde bulunmayan ve ilk defa bu çalışmada saptanan varyanttır.

ATM geninde saptanan diğer üç varyant, *BRIP1*, *CHEK2*, *MSH6* ve *MRE11* genlerinde saptanan varyantlar klinik etkileri literatür verileri, ClinVar veritabanı, *in silico* tahmin programları ve ACMG kriterleri göz önüne alınarak değerlendirilmiş ve sınıflandırılmıştır.

ATM geninde %10,5 (4/38), *CHEK2* geninde %5 (2/38), *BRIP1*, *MSH6* ve *MRE11* genlerinde %2 (1/38) oranında varyant tespit edilmiştir.

Çalışmamıza dahil edilen olgu sayısının az olmasına rağmen meme kanseri ile ilişkili olabilecek genlerde varyantlar saptanmıştır. Saptanan varyantların hastalığa etkisinin kesin olarak gösterilebilmesi için segragasyon analizlerinin de yapılması gereklidir. Yaptığımız çalışmada ailesel meme kanserine yatkınlığa neden olabilecek genlerin Türk popülasyonundaki sıklığının belirlenmesi için daha fazla gen içeren ve daha geniş olgu gruplarında çalışılması hem hastalığın anlaşılmasında hem de genetik olarak elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde önemli olacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ahmed, M., & Rahman, N. (2006). ATM and breast cancer susceptibility. *Oncogene*, 25(43), 5906.
- Ansari, N., Shahrabi, S., Khosravi, A., Shirzad, R., & Rezaeean, H. (2019). Prognostic Significance of CHEK2 Mutation in Progression of Breast Cancer. *Laboratory Medicine*, 50(3), e36-e41.
- Antoniou, A. C., Casadei, S., Heikkinen, T., Barrowdale, D., Pylkäs, K., Roberts, J., . . . Fostira, F. (2014). Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *New England Journal of Medicine*, 371(6), 497-506.
- Antov, G., Krasteva, M., Andonova, S., Savov, A., Angelova, S., Stoilov, L., & Toncheva, D. (2017). STK11 GENE MUTATIONS AMONG PATIENTS WITH SPORADIC BREAST CANCER. *GENETIKA*, 49(2), 399-413.
- Apostolou, P., & Fostira, F. (2013). Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *BioMed research international*, 2013.
- Baloch, A. H., Daud, S., Raheem, N., Luqman, M., Ahmad, A., Rehman, A., . . . Kakar, N. (2014). Missense mutations (p. H371Y, p. D438Y) in gene CHEK2 are associated with breast cancer risk in women of Balochistan origin. *Molecular biology reports*, 41(2), 1103-1107.
- Callebaut, I., & Mornon, J.-P. (1997). From BRCA1 to RAP1: a widespread BRCT module closely associated with DNA repair. *FEBS letters*, 400(1), 25-30.
- Choi, M., Kipps, T., & Kurzrock, R. (2016). ATM mutations in cancer: therapeutic implications. *Molecular cancer therapeutics*, 15(8), 1781-1791.
- Chubb, D., Broderick, P., Dobbins, S. E., Frampton, M., Kinnersley, B., Penegar, S., . . . Palles, C. (2016). Rare disruptive mutations and their contribution to the heritable risk of colorectal cancer. *Nature communications*, 7, 11883.
- Colas, C., Golmard, L., de Pauw, A., Caputo, S. M., & Stoppa-Lyonnet, D. (2019). “Decoding hereditary breast cancer” benefits and questions from multigene panel testing. *The Breast*, 45, 29-35.
- Conde, J., Silva, S. N., Azevedo, A. P., Teixeira, V., Pina, J. E., Rueff, J., & Gaspar, J. F. (2009). Association of common variants in mismatch repair genes and breast cancer susceptibility: a multigene study. *BMC cancer*, 9(1), 344.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Couch, F. J., Shimelis, H., Hu, C., Hart, S. N., Polley, E. C., Na, J., . . . Lilyquist, J. (2017). Associations between cancer predisposition testing panel genes and breast cancer. *JAMA oncology*, 3(9), 1190-1196.
- Crawford, B., Adams, S. B., Sittler, T., van den Akker, J., Chan, S., Leitner, O., . . . van't Veer, L. (2017). Multi-gene panel testing for hereditary cancer predisposition in unsolved high-risk breast and ovarian cancer patients. *Breast cancer research and treatment*, 163(2), 383-390.
- Daly, M. B., Pilarski, R., Berry, M., Buys, S. S., Farmer, M., Friedman, S., . . . Klein, C. (2017). NCCN guidelines insights: genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian, version 2.2017. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 15(1), 9-20.
- De Brakeleer, S., De Greve, J., Desmedt, C., Joris, S., Sotiriou, C., Piccart, M., . . . Teugels, E. (2016). Frequent incidence of BARD1-truncating mutations in germline DNA from triple-negative breast cancer patients. *Clinical genetics*, 89(3), 336-340.
- De Nicolo, A., Tancredi, M., Lombardi, G., Flemma, C. C., Barbuti, S., Di Cristofano, C., . . . Caligo, M. A. (2008). A novel breast cancer-associated BRIP1 (FANCI/BACH1) germ-line mutation impairs protein stability and function. *Clinical Cancer Research*, 14(14), 4672-4680.
- Dündar, M. (Ed.).2016.*Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları 1. Cilt.*(Ed.),Kanser Genetiği içinde (s.282-283). Kayseri: MGRUP MATBAACILIK
- Easton, D. F., Lesueur, F., Decker, B., Michailidou, K., Li, J., Allen, J., . . . Bolla, M. K. (2016). No evidence that protein truncating variants in BRIP1 are associated with breast cancer risk: implications for gene panel testing. *Journal of medical genetics*, 53(5), 298-309.
- Economopoulou, P., Dimitriadis, G., & Psyrri, A. (2015). Beyond BRCA: new hereditary breast cancer susceptibility genes. *Cancer treatment reviews*, 41(1), 1-8.
- Ghoncheh, M., Pournamdar, Z., & Salehiniya, H. (2016). Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the world. *Asian Pac J Cancer Prev*, 17(S3), 43-46.
- Glover, J. M., Williams, R. S., & Lee, M. S. (2004). Interactions between BRCT repeats and phosphoproteins: tangled up in two. *Trends in biochemical sciences*, 29(11), 579-585.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Godwin, A. K., Vanderveer, L., Schultz, D. C., Lynch, H. T., Altomare, D. A., Buetow, K. H., . . . Rosenblum, N. (1994). A common region of deletion on chromosome 17q in both sporadic and familial epithelial ovarian tumors distal to BRCA1. *American journal of human genetics*, *55*(4), 666.
- Graffeo, R., Livraghi, L., Pagani, O., Goldhirsch, A., Partridge, A. H., & Garber, J. E. (2016). Time to incorporate germline multigene panel testing into breast and ovarian cancer patient care. *Breast cancer research and treatment*, *160*(3), 393-410.
- Gültekin, M., & Boztaş, G. (2014). Türkiye kanser istatistikleri.
- Hanenberg, H., & Andreassen, P. R. (2018). PALB2 (partner and localizer of BRCA2). *Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology*, *22*(12), 484.
- Hemminki, A., Markie, D., Tomlinson, I., Avizienyte, E., Roth, S., Loukola, A., . . . Höglund, P. (1998). A serine/threonine kinase gene defective in Peutz–Jeghers syndrome. *Nature*, *391*(6663), 184.
- Hoang, L. N., & Gilks, B. C. (2018). Hereditary breast and ovarian cancer syndrome: moving beyond BRCA1 and BRCA2. *Advances in anatomic pathology*, *25*(2), 85-95.
- Irminger-Finger, I., Ratajska, M., & Pilyugin, M. (2016). New concepts on BARD1: Regulator of BRCA pathways and beyond. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *72*, 1-17.
- Jerzak, K., Mancuso, T., & Eisen, A. (2018). Ataxia–telangiectasia gene (ATM) mutation heterozygosity in breast cancer: a narrative review. *Current Oncology*, *25*(2), e176.
- Kchouk, M., Gibrat, J.-F., & Elloumi, M. (2017). Generations of sequencing technologies: From first to next generation. *Biology and Medicine*, *9*(3).
- Khan, R. T., Siddique, A., Shahid, N., Khokher, S., & Fatima, W. (2018). Breast cancer risk associated with genes encoding DNA repair MRN complex: a study from Punjab, Pakistan. *Breast Cancer*, *25*(3), 350-355.
- Kim, J.-Y., Park, K., Jung, H. H., Lee, E., Cho, E. Y., Lee, K. H., . . . Lee, J. E. (2016). Association between mutation and expression of TP53 as a potential prognostic marker of triple-negative breast cancer. *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association*, *48*(4), 1338.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Korak, T., Ergul, E., Uren, N., Altinok, D., Simsek, T., Utkan, N. Z., . . . Sazoi, A. (2017). RAD51 (rs1801320) gene polymorphism and breast cancer risk in Turkish population. *Int J Clin Exp Patho*, 10(2), 2181-2186.
- Kraus, C., Hoyer, J., Vasileiou, G., Wunderle, M., Lux, M. P., Fasching, P. A., . . . Beckmann, M. W. (2017). Gene panel sequencing in familial breast/ovarian cancer patients identifies multiple novel mutations also in genes others than BRCA1/2. *International journal of cancer*, 140(1), 95-102.
- Kurian, A. W., Hughes, E., Handorf, E. A., Gutin, A., Allen, B., Hartman, A.-R., & Hall, M. J. (2017). Breast and ovarian cancer penetrance estimates derived from germline multiple-gene sequencing results in women. *JCO Precision Oncology*, 1, 1-12.
- Leung, C. C. Y., & Glover, J. M. (2011). BRCT domains: easy as one, two, three. *Cell cycle*, 10(15), 2461-2470.
- Liu, Y., Liao, J., Xu, Y., Chen, W., Liu, D., Ouyang, T., . . . Fan, T. (2011). A recurrent CHEK2 p. H371Y mutation is associated with breast cancer risk in Chinese women. *Human mutation*, 32(9), 1000-1003.
- Manié, E., Vincent-Salomon, A., Lehmann-Che, J., Pierron, G., Turpin, E., Warcoin, M., . . . Lidereau, R. (2009). High frequency of TP53 mutation in BRCA1 and sporadic basal-like carcinomas but not in BRCA1 luminal breast tumors. *Cancer research*, 69(2), 663-671.
- Marabelli, M., Cheng, S. C., & Parmigiani, G. (2016). Penetrance of ATM gene mutations in breast cancer: A meta-analysis of different measures of risk. *Genetic epidemiology*, 40(5), 425-431.
- Mateos, C., Headrick, A., Romero, I., Kuehn, S., & Ray, S. (2019). Elucidating the role of Mre11 gene variants in cancer. *The FASEB Journal*, 33(1_supplement), 457.410-457.410.
- Mavaddat, N., Barrowdale, D., Andrulis, I. L., Domchek, S. M., Eccles, D., Nevanlinna, H., . . . Sherman, M. (2012). Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIMBA). *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 21(1), 134-147.
- McVeigh, T., Choi, J., Miller, N., Green, A., & Kerin, M. (2014). Lobular Breast Cancer in aCDH1Splice Site Mutation Carrier: Case Report and Review of the Literature. *Clinical breast cancer*, 14(2).

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Molinari, F., & Frattini, M. (2014). Functions and regulation of the PTEN gene in colorectal cancer. *Frontiers in oncology*, 3, 326.
- Moynahan, M. E., Pierce, A. J., & Jasin, M. (2001). BRCA2 is required for homology-directed repair of chromosomal breaks. *Molecular cell*, 7(2), 263-272.
- Nepomuceno, T. C., De Gregoriis, G., De Oliveira, F. M. B., Suarez-Kurtz, G., Monteiro, A. N., & Carvalho, M. A. (2017). The role of PALB2 in the DNA damage response and cancer predisposition. *International journal of molecular sciences*, 18(9), 1886.
- Nielsen, F. C., van Overeem Hansen, T., & Sørensen, C. S. (2016). Hereditary breast and ovarian cancer: new genes in confined pathways. *Nature Reviews Cancer*, 16(9), 599.
- Nii, T., Marumoto, T., & Tani, K. (2012). Roles of p53 in various biological aspects of hematopoietic stem cells. *BioMed research international*, 2012.
- Nithya, P., & ChandraSekar, A. (2019). NBN Gene Analysis and it's Impact on Breast Cancer. *Journal of medical systems*, 43(8), 270.
- Nussbaum, R. L., McInnes, R. R., & Willard, H. F. (2005). *Thompson & Thompson Tıbbi Genetik Güneş Kitabevi*
- Ouhtit, A., Gupta, I., & Shaikh, Z. (2016). BRIP1, a potential candidate gene in development of non-BRCA1/2 breast cancer. *Front Biosci (Elite Ed)*, 8, 289-298.
- Papa, A., & Pandolfi, P. P. (2019). The PTEN–PI3K Axis in Cancer. *Biomolecules*, 9(4), 153.
- Petrucelli, N., Daly, M. B., & Pal, T. (2016). BRCA1-and BRCA2-associated hereditary breast and ovarian cancer. In *GeneReviews®[Internet]*: University of Washington, Seattle.
- Rahman, N., Seal, S., Thompson, D., Kelly, P., Renwick, A., Elliott, A., . . . Chagtai, T. (2007). PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nature genetics*, 39(2), 165.
- Rahman, N., & Stratton, M. R. (1998). The genetics of breast cancer susceptibility. *Annual review of genetics*, 32(1), 95-121.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Roberts, M. E., Jackson, S. A., Susswein, L. R., Zeinomar, N., Ma, X., Marshall, M. L., . . . Solomon, B. D. (2018). MSH6 and PMS2 germ-line pathogenic variants implicated in Lynch syndrome are associated with breast cancer. *Genetics in Medicine*, 20(10), 1167.
- Roeb, W., Higgins, J., & King, M.-C. (2012). Response to DNA damage of CHEK2 missense mutations in familial breast cancer. *Human molecular genetics*, 21(12), 2738-2744.
- Roy, R., Chun, J., & Powell, S. N. (2012). BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. *Nature Reviews Cancer*, 12(1), 68.
- Rusak, B., Kluźniak, W., Wokołorczyk, D., Stempa, K., Kashyap, A., Rudnicka, H., . . . Jakubowska, A. (2019). Allelic modification of breast cancer risk in women with an NBN mutation. *Breast cancer research and treatment*, 178(2), 427-431.
- Sassi, A., Popielarski, M., Synowiec, E., Morawiec, Z., & Wozniak, K. (2013). BLM and RAD51 genes polymorphism and susceptibility to breast cancer. *Pathology & Oncology Research*, 19(3), 451-459.
- Sato, K., Koyasu, M., Nomura, S., Sato, Y., Kita, M., Ashihara, Y., . . . Kitagawa, D. (2017). Mutation status of RAD 51C, PALB 2 and BRIP 1 in 100 Japanese familial breast cancer cases without BRCA 1 and BRCA 2 mutations. *Cancer science*, 108(11), 2287-2294.
- Schlacher, K., Christ, N., Siaud, N., Egashira, A., Wu, H., & Jasin, M. (2011). Double-strand break repair-independent role for BRCA2 in blocking stalled replication fork degradation by MRE11. *Cell*, 145(4), 529-542.
- Shattuck-Eidens, D., McClure, M., Simard, J., Labrie, F., Narod, S., Couch, F., . . . Erdos, M. (1995). A collaborative survey of 80 mutations in the BRCA1 breast and ovarian cancer susceptibility gene: implications for presymptomatic testing and screening. *Jama*, 273(7), 535-541.
- Sheikh, A., Hussain, S. A., Ghorri, Q., Naeem, N., Fazil, A., Giri, S., . . . Al Tamimi, D. M. (2015). The spectrum of genetic mutations in breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*, 16(6), 2177-2185.
- Thomson, A. M., Gillespie, P. J., & Blow, J. J. (2010). Replication factory activation can be decoupled from the replication timing program by modulating Cdk levels. *The Journal of cell biology*, 188(2), 209-221.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM EDİYOR)

- Uzunoglu, H., Korak, T., Ergul, E., Uren, N., Sazci, A., Utkan, N. Z., . . . Yirmibesoglu, O. (2016). Association of the nibrin gene (NBN) variants with breast cancer. *Biomedical reports*, 4(3), 369-373.
- Varley, J. (2003). Germline TP53 mutations and Li-Fraumeni syndrome. *Human mutation*, 21(3), 313-320.
- Wendt, C., & Margolin, S. (2019). Identifying breast cancer susceptibility genes—a review of the genetic background in familial breast cancer. *Acta Oncologica*, 58(2), 135-146.
- Win, A. K., Lindor, N. M., & Jenkins, M. A. (2013). Risk of breast cancer in Lynch syndrome: a systematic review. *Breast Cancer Research*, 15(2), R27.
- Wong, S. H. M., Fang, C. M., Chuah, L.-H., Leong, C. O., & Ngai, S. C. (2018). E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications. *Critical reviews in oncology/hematology*, 121, 11-22.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Duygu ÇINAR

Doğum tarihi ve yeri : 02.07.1989 ve Beylikova/ESKİŞEHİR

Uyruğu : T.C

Medeni durumu : Bekar

İletişim adresleri :

Eğitim Durumu:

İlköğretim	İbrahim KaraoğlanOğlu İ.Ö.O
Lise	Tayfur Bayar Lisesi (YDA)
Lisans	Uludağ Üniversitesi
Y. Lisans	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Yabancı Dil: İngilizce

Mesleki Deneyim : Biyolog – 2015, ESOGÜ Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

Yayımlar :

Bilimsel Etkinlikler

Burslar :

Ödüller :

Projeler :

Sözlü Konferans veya Seminerler :

Kurslar ve Eğitim Programları :