

T.C.

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HEREDİTER MEME KANSERİ OLGULARINDA HÜCRE SİNYAL
İLETİMİNDE GÖREV ALAN GENLERDEKİ VARYASYON
SIKLIKLARININ BELİRLENMESİ VE TÜMÖR GELİŞİMİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Cansu UĞURTAŞ

Kocaeli Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin

Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü

BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ

2021

T.C.

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HEREDİTER MEME KANSERİ OLGULARINDA HÜCRE SİNYAL
İLETİMİNDE GÖREV ALAN GENLERDEKİ VARYASYON
SIKLIKLARININ BELİRLENMESİ VE TÜMÖR GELİŞİMİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Cansu UĞURTAŞ

Kocaeli Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin

Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü

BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. Naci ÇİNE

GOKAEK – 2020/339

KOCAELİ

2021

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: Herediter Meme Kanseri Olgularında Hücre Sinyal İletiminde Görev Alan Genlerdeki Varyasyon Sıklıklarının Belirlenmesi ve Tümör Gelişimine Etkisinin Araştırılması

Tez Yazarı: Cansu UĞURTAŞ

Tez Savunma Tarihi: 08/07/2021

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Naci ÇİNE

Bu çalışma, sınav kurulumuz tarafından Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI tezi olarak kabul edilmiştir.

Onay

Bu tez Kocaeli Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca jüri tarafından uygun bulunmuş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla onaylanmıştır.

.... /.... /20...

Prof. Dr. Sema Aşkın KEÇELİ
KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Hereditör Meme Kanseri Olgularında Hücre Sinyal İletiminde Görev Alan Genlerdeki Varyasyon Sıklıklarının Belirlenmesi ve Tümör Gelişimine Etkisinin Araştırılması

Amaç: Meme kanseri tüm dünyada kadınlarda en sık görülen malignitedir. *BRCA1/2* genlerindeki mutasyonlar, hereditör meme kanserinin üçte ikisinden sorumlu olmasına rağmen, meme kanseri için otozomal dominant veya resesif öyküsü olan ailelerde bile hastaların önemli bir kısmı bu genlerde mutasyon bakımından negatiftir. Bununla birlikte, dizileme teknolojilerindeki gelişmeler, birden fazla genin paralel incelenmesini sağlayarak, meme kanserinde altta yatan nedenlerin eş zamanlı analizine izin vermektedir. *BRCA* dışında bazı ek genler meme kanserine yatkınlık genleri olarak tanımlanmıştır. Ayrıca kanserlerde ilk etkilenen mekanizma genellikle hücre içindeki sinyal iletim yolları olmakta, bunların problemlerinden başta kanser olmak üzere farklı hastalıklar oluşmaktadır. Sinyal proteinlerindeki mutasyonlar, anahtar sinyal yolları etkileşimlerini arttırabilir veya tümör baskılayıcı proteinlerin işlevini inhibe edebilir. Sonuç olarak, bu faktörlerin bir kombinasyonu, meme bezinin normal fonksiyonunu ve gelişimini modüle eden sinyal yollarının deregülasyonuna yol açar. Bu nedenle çalışmada, meme kanseri yatkınlığında, *BRCA* dışı hücre sinyal genlerindeki varyasyonların tespit edilmesi ile altta yatan genetik nedenlerin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: *BRCA1/2* genlerinde patojenik mutasyon saptanmamış, hasta seçim kriterlerine uyan 96 olgu çalışmaya dahil edilmiş olup, daha ileri genetik inceleme için hücrede çeşitli sinyal yollarında görevli 34 genin (*TP53, PTEN, STK11, CDH1, CHEK2, NF1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, PIK3CA, ERBB2, EGFR, KRAS, NRAS, HRAS, PTPN11, ALK, RET, MET, NOTCH1, BRAF, APC, CTNNB1, EPCAM, CDKN2A, CDK4, SMAD4, BMP1A, VHL, PRSS1, GNAS, CSF1R, GNA11, HNF1A*) tüm kodlayıcı bölgelerinin incelenmesi yeni nesil dizi analizi (NGS) ile yapılmıştır. Saptanan varyasyonlar kılavuzlara göre sınıflandırılarak patojenik, olası patojenik ve klinik önemi belirsiz şeklinde, olguların klinik bulgularıyla birlikte değerlendirilmiş, sıklıkları belirlenmiş ve hastalığın seyri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 96 olgunun 43'ünde (% 44,8) 3 patojenik, 4 olası patojenik ve 48 klinik önemi belirsiz olmak üzere 16 gende toplam 49 farklı varyasyon saptanmıştır. Patojenik varyantlar *TP53*, *CHEK2* ve *RET* genlerinde bulunurken, olası patojenik varyantlar *FGFR1*, *FGFR3*, *EGFR* ve *NOTCH1* genlerinde bulunmuştur. Saptanan varyasyonların, % 84'ü yanlış anlam mutasyonlarından oluşurken, çerçeve kayması, çerçeve içi delesyon ve insersiyon, erken dur kodonu, başlatıcı kodon, indel ve intron mutasyonları düşük sıklıklarda görülmüştür.

Sonuç: Herediter meme kanseri için belirlenmiş kriterleri karşılayan ancak *BRCA1/2* mutasyonları için negatif olan olgularda, hücre sinyal genlerinin incelenmesi, ailelerin yaklaşık % 45'i için ek bilgi sağlamıştır. Bulgularımız, yeni nesil dizilemenin, meme kanseri gelişimi ve ilerlemesindeki altta yatan genetik nedenleri araştırmak için güçlü bir araç olduğunu göstermektedir. Türk toplumunda meme kanseri genlerinin belirlenmesi için daha fazla sayıda geni kapsayan popülasyon çalışmaları ve fonksiyonel çalışmaların yapılması hastalığın anlaşılmasında ve mevcut verilerin değerlendirilmesinde önemli fayda sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Herediter meme kanseri, BRCA dışı genler, hücre sinyal iletimi, çoklu gen paneli.

ABSTRACT

Determination of Variation Frequencies of Genes Involved in Cell Signal Transduction and Investigation of Its Effect on Tumor Development in Hereditary Breast Cancer Cases

Objective: Breast cancer is the most common malignancy in women worldwide. Although mutations in BRCA1/2 genes are responsible for two-thirds of hereditary breast cancers, a significant proportion of patients are negative for mutations in these genes, even in families with an autosomal dominant or recessive history of breast cancer. However, advances in sequencing technologies enable parallel examination of multiple genes, allowing simultaneous analysis of underlying causes in breast cancer. Some additional genes other than BRCA have been identified as breast cancer susceptibility genes. In addition, the first affected mechanism in cancers is usually the signal transmission pathways within the cell, and different diseases, especially cancer, occur from their problems. Mutations in signalling proteins can increase key signalling pathways interactions or inhibit the function of tumour suppressor proteins. Consequently, a combination of these factors leads to the deregulation of signalling pathways that modulate the normal function and development of the mammary gland. Therefore, this study was aimed to investigate the underlying genetic causes by detecting variations in non-BRCA cell signal genes in breast cancer susceptibility.

Method: No pathogenic mutations were detected in the BRCA1/2 genes, 96 patients who met the patient selection criteria were included in the study, and all coding regions of 34 genes (TP53, PTEN, STK11, CDH1, CHEK2, NF1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, PIK3CA, ERBB2, EGFR, KRAS, NRAS, HRAS, PTPN11, ALK, RET, MET, NOTCH1, BRAF, APC, CTNNB1, EPCAM, CDKN2A, CDK4, SMAD4, BMPR1A, VHL, PRSS1, GNAS, CSF1R, GNA11, HNF1A) involved in various signalling pathways in the cell were examined by next-generation sequencing (NGS) for further genetic analysis. The detected variations were classified according to the guidelines and evaluated together with the clinical findings of the cases as pathogenic, possibly pathogenic, and uncertain clinical

significance, their frequency was determined and their effects on the course of the disease were examined.

Results: In 43 (44.8%) of 96 cases included in the study, a total of 49 different variations were detected in 16 genes, of which 3 pathogenic, 4 likely pathogenic, and 48 uncertain clinical significance. Pathogenic variants were found in the TP53, CHEK2 and RET genes, while likely pathogenic variants were found in the FGFR1, FGFR3, EGFR and NOTCH1 genes. While 84 % of the detected variations were missense mutations, frameshift, in-frame deletion and insertion, early stop codon, initiator codon, indel and intron mutations were observed at low frequencies.

Conclusions: Examination of cell signalling genes in cases providing established criteria for hereditary breast cancer but negative for BRCA1/2 mutations provided additional information for approximately 45 % of families. Our findings suggest that next-generation sequencing is a powerful tool for investigating the underlying genetic causes of breast cancer development and progression. To identify breast cancer genes in the Turkish population, population studies involving more genes and functional studies will provide significant benefits in understanding the disease and evaluating the existing data.

Keywords: Hereditary breast cancer, non-BRCA genes, cell signal transduction, multigene panel.

TEŞEKKÜR

Tez alıőmam ve yüksek lisans eğitimim sresince deneyimlerini benimle paylaşan, ihtiyacım olduğu her an desteğini hissettiğim, çalıőmalarımda bana farklı bakış açıları katan, her zaman bir yol gösterici olarak gördüğüm danışman hocam Doç. Dr. Naci ÇİNE'ye;

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tüm hocalarım ve Anabilim dalı baőkanımız Prof. Dr. Hakan SAVLI'ya;

Bu yolda birlikte yürüdüğüm Seda KURU, Emin Ali ŞEN ve tüm yüksek lisans arkadaşlarıma;

Eğitimim boyunca güler yzly destekleri ve her türlü yardımları için Duygu AYDIN, Merve GÖKBAYRAK ve tüm Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim dalı çalıőanlarına;

Hayatımda bulunduğum noktaya gelmemi sağlayan, geleceğimin mimarları, her an desteklerini hissettiğim ve beni her zaman daha ilerilere taőımayı kendilerine hedef edinmiő olan annem Dilek UğURTAŞ, babam Turgut UğURTAŞ ve kardeőim Aysu UğURTAŞ'a;

Tüm sevgi ve saygılarımla teşekkür ederim.

ORJİNALLİK BİLDİRİMİ

Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bilim Uzmanlığı tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Hereditör Meme Kanseri Olgularında Hücre Sinyal İletiminde Görev Alan Genlerdeki Varyasyon Sıklıklarının Belirlenmesi ve Tümör Gelişimine Etkisinin Araştırılması” başlıklı tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, şekil, tablo ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimde yer alan deneysel çalışmalar/araştırmalar bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yapılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususlar bir intihal programı (Turnitin vb.) kullanılarak test edilmiş olup, doğruluğunu beyan ederim.

..... / / 20....

Cansu UĞURTAŞ

İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
ORJİNALLİK BİLDİRİMİ	ix
İÇİNDEKİLER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xvii
TABLolar	xix
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanser	1
1.2. Meme Kanseri	2
1.2.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi	3
1.2.2. Meme Kanseri İle İlişkili Risk Faktörleri	4
1.2.3. Meme Kanserinin Morfolojik Sınıflandırılması	5
1.2.4. Meme Kanserinin Moleküler Sınıflandırması	9
1.2.5. Meme Kanseri Metastazı	12
1.3. Meme Kanserinde Tanı	13
1.4. Meme Kanseri Evre ve Dereceler	14
1.5. Meme Kanserinde Tedavi	15
1.6. Meme Kanseri Genetiği	19
1.6.1. Herediter Meme Kanseri	22
1.7. Meme Kanseri Yatkınlık Genleri	24
1.8. Meme Kanserinde Diğer Kanseri Genleri	33
1.9. Meme Kanserinde Çoklu Gen Panelleri	64
2. AMAÇ	68
3. YÖNTEM	70
3.1. Kullanılan Aletler	70
3.2. Kullanılan Malzemeler ve Kimyasallar	71
3.3. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	71
3.4. DNA Kalitesinin ve Miktarının Belirlenmesi	72
3.5. DNA'ların QUBIT ile Ölçümü	72

3.6.	Yeni Nesil Dizileme (NGS) Yöntemi	72
3.6.1.	Kütüphane Oluşturulması	73
3.6.2.	Kütüphanelerin Zenginleştirilmesi ve Saflaştırılması	76
3.6.3.	Dizileme Reaksiyonu	78
3.7.	Dizileme sonuçlarının analizi	78
4.	BULGULAR	80
4.1.	Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri	80
4.2.	Yeni Nesil Dizileme (NGS) Bulguları	82
4.2.1.	Patojenik/ Olası Patojenik Varyantlar	83
4.2.2.	Klinik Önemi Belirsiz Varyantlar	85
5.	TARTIŞMA	104
5.1.	TP53 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	105
5.2.	CHEK2 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	107
5.3.	RET geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	110
5.4.	CDH1 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	111
5.5.	NF1 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	113
5.6.	FGFR geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	115
5.7.	EGFR geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	118
5.8.	ERBB2 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	119
5.9.	NOTCH1 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	119
5.10.	APC geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	121
5.11.	GNAS geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	122
5.12.	VHL geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	123
5.13.	KRAS geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	123
5.14.	HNF1A geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması	124
5.15.	Sınırlılıklar	125
6.	SONUÇLAR ve ÖNERİLER	126
7.	KAYNAKLAR	128
8.	ÖZGEÇMİŞ	149
9.	EKLER	150
EK- 1.	Etik Kurul Onayı	150
EK- 2.	Tez Denetleme Listesi	151

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C: Santigrat derece

µl: Mikrolitre

ACMG: Amerikan Medikal Genetik Koleji (American College of Medical Genetics)

AJCC: Amerikan Ortak Kanser Komitesi (American Joint Cancer Committee)

ALK: Anaplastik lenfoma kinaz (Anaplastic lymphoma kinase)

AMP: Adenozinmonofosfat (Adenosinemonophosphate)

APC: Adenomatöz polipozis koli (Adenomatous polyposis coli)

ATP: Adenozintrifosfat (Adenosinetriphosphate)

BMPR1A: Kemik morfogenetik protein reseptörü tip 1A (Bone morphogenetic protein receptor type 1A)

BRAF: B-Raf proto-onkogen, serin/treonin kinaz (B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase)

BRCA1/2: Meme kanseri 1/2 (Breast cancer 1/2)

cAMP: Siklik adenozinmonofosfat (Cyclic adenosinemonophosphate)

CDH1: Kaderin 1 (Cadherin 1)

CDK4: Sikline bağımlı kinaz 4 (Cyclin dependent kinase 4)

CDKN2A: Sikline bağımlı kinaz inhibitörü 2A (Cyclin dependent kinase inhibitor 2A)

CHEK2: Kontrol noktası kinaz 2 (Checkpoint kinase 2)

CSF1R: Koloni uyarıcı faktör 1 reseptörü (Colony stimulating factor 1 receptor)

CTNNB1: Katenin beta 1 (Catenin beta 1)

DBS: Çift zincir kırıkları (Double strand breaks)

dbSNP: Tek Nükleotid Polimorfizm Veritabanı (The Single Nucleotide Polymorphism Database)

DCIS: Duktal karsinom in situ (Ductal carcinoma in situ)

DNA: Deoksiribonükleik asit (Deoxyribonucleic acid)

EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit (Ethylene diamine tetra acetic acid)

EGFR: Epidermal büyüme faktörü reseptörü (Epidermal growth factor receptor)

EpCAM: Epitel hücre adezyon molekülü (Epithelial cell adhesion molecule)

ER: Östrojen Reseptör (Estrogen receptors)

ERBB2: Erb-b2 reseptörü tirozin kinaz 2 (Erb-b2 receptor tyrosine kinase 2)

FGFR: Fibroblast büyüme faktörü reseptörü (Fibroblast growth factor receptor)

gDNA: Genomik DNA (Genomic DNA)

GDP: Guanozindifosfat (Guanosinediphosphate)

GNA11: G protein alt birimi alfa 11 (G protein subunit alpha 11)

GNAS: Guanin nükleotid bağlayıcı protein, alfa uyarıcı (Guanine nucleotide binding protein, alpha stimulating)

gnomAD: Genom Toplanma Veritabanı (The Genome Aggregation Database)

GTP: Guanozintrifosfat (Guanosinetriphosphate)

GWAS: Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları (Genome Wide Association Studies)

HER2: İnsan epidermal büyüme faktör reseptörü 2 (Human epidermal growth factor receptor 2)

HGF: Hepatosit büyüme faktörü (Hepatocyte growth factor)

HIF1- α : Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 α (Hypoxia inducible factor 1 α)

HNF1A: Hepatosit nükleer faktör 1 alfa (Hepatocyte nuclear factor 1 alpha)

HR: Homolog rekombinasyon (Homologous recombination)

HRAS: HRas proto-onkogen, GTPaz (HRas proto-oncogene, GTPase)

HRT: Hormon replasman tedavisi (Hormone replacement therapy)

IDC: İnvaziv duktal karsinom (Invasive ductal carcinoma)

IL: İnterlökin (Interleukin)

ILC: İnvaziv lobüler karsinom (Invasive lobular carcinoma)

KRAS: KRas proto-onkogen, GTPaz (KRas proto-oncogene, GTPase)

LCIS: Lobüler karsinom in situ (Lobular carcinoma in situ)

LGR: Büyük Genomik Yeniden Düzenleme (Large genomic rearrangement)

MAF: Küçük alel frekansı (Minor allele frequency)

MET: MET proto-onkogen, reseptör tirozin kinaz (MET proto-oncogene, receptor tyrosine kinase)

ml: Mililitre

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

NCBI: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (The National Center for Biotechnology Information)

NF1: Nörofibromin 1 (Neurofibromin 1)

NGS: Yeni nesil dizileme (Next generation sequencing)

NHEJ: Homolog olmayan uç birleşimi (Non-homologous end junction)

NOTCH1: Notch reseptörü 1 (Notch receptor 1)

NRAS: NRas proto-onkogen, GTPaz (NRas proto-oncogene, GTPase)

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase chain reaction)

PET: Pozitron emisyon tomografisi

PIK3CA: Fosfatidilinositol-4,5-bifosfat 3-kinaz katalitik alt birim alfa (Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha)

PR: Progesteron reseptörü (Progesterone receptor)

PRSS1: Serin proteaz 1 (Serine protease 1)

PTEN: Fosfat ve tensin homologu (Phosphatase and tensin homolog)

PTPN11: Protein tirozin fosfataz reseptör olmayan tip 11 (Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 11)

RET: RET proto-onkogeni (RET proto-oncogene)

RNA: Ribonükleik asid (Ribonucleic acid)

RTK: Reseptör tirozin kinaz (Receptor tyrosine kinase)

SMAD4: SMAD aile üyesi 4 (SMAD family member 4)

SNP: Tek nükleotid polimorfizmi (Single nucleotide polymorphism)

STK11: Serin/treonin kinaz 11 (Serin threonine kinase 11)

TNM: Tümör, nod ve metastaz (Tumor, node and metastasis)

TP53: Tümör protein 53 (Tumor protein 53)

UICC: Uluslararası Kanser Kontrolü Birliği (The Union for International Cancer Control)

VHL: Von Hippel-Lindau tümör baskılayıcı (Von Hippel-Lindau tumor suppressor)

VUS: Önemi bilinmeyen varyant (Variant of uncertain significance)

WHO: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. 2020'de dünya genelinde, her iki cinsiyette ve her yaşta tahmini yeni vaka ve ölüm sayısı.....	2
Şekil 1.2. 2020'de dünya genelinde kadınlar ve her yaştan tahmini yeni vaka ve ölüm sayısı	3
Şekil 1.3. 2020'de Türkiye de kadınlar ve her yaştan tahmini yeni vaka ve ölüm sayısı.....	4
Şekil 1.4. 2020'de Türkiye de her yaştan kadınlar, tahmini yaşa standardize insidans oranları	4
Şekil 1.5. Duktal Karsinom İn Situ (DCIS).....	6
Şekil 1.6. Lobüler Karsinom İn Situ (LCIS).	8
Şekil 1.7. Meme kanserinde mutasyon türleri.....	20
Şekil 1.8. Meme tümörü DNA kopya sayısı ve somatik mutasyonlar hakkındaki Kanser Genom Atlası verileri.....	21
Şekil 1.9. DBS onarımına katkıda bulunan büyük çoklu protein kompleksi bileşenleri.....	25
Şekil 1.10. P53 aktivasyonu ve yanıtı.....	26
Şekil 1.11. E-Kaderin-katenin kompleksinin (Adherens Junction) yapısı ve işlevi.	27
Şekil 1.12. Hücre sinyallemesinin kontrolünde PTEN'in rolü	29
Şekil 1.13. Dört temel işlevinde LKB1 işlevini etkileyen düzenleyici faktörlerin şematik özeti.....	30
Şekil 1.14. CHEK2 yolağı.....	31
Şekil 1.15. NF1 tümörögenezinde yer alan sinyal iletim yolları	32
Şekil 1.16. Meme kanserinde FGF / FGFR sinyallemesi	34
Şekil 1.17. Reseptör tirozin kinazlar ve G proteini yoluyla PI3K sinyal yolu	35
Şekil 1.18. ERBB2 sinyal yolu	37
Şekil 1.19. EGFR homo ve heterodimerizasyonu ve sinyal iletim yolları.	38
Şekil 1.20. RAS aktivasyonu.....	40
Şekil 1.21. ALK sinyal yolu.....	41
Şekil 1.22. RET işlevsel alanları ve sinyalizasyonu.	42
Şekil 1.23. HGF / MET sinyal yolu.....	43
Şekil 1.24. NOTCH1 protein yapısı ve sinyal aktivasyonu.	45
Şekil 1.25. MAPK sinyal yolunda BRAF'ın rolü	47

Şekil 1.26. WNT sinyal iletiminde APC geninin işlevi.....	48
Şekil 1.27. Hücredeki β -katenin rolleri.	49
Şekil 1.28. EPCAM sinyali.	51
Şekil 1.29. INK4a / ARF lokusunun şematik yapısı ve hücrelerde p16INK4a'nın rolü.....	52
Şekil 1.30. G1'dan S'ye geçiş için Cyclin D1 / CDK4/6 / Rb / E2F yolağı.....	53
Şekil 1.31. TGF- β / SMAD sinyal yolu.....	54
Şekil 1.32. BMP sinyal yolağı.....	56
Şekil 1.33. SHP2 ile hücre içi sinyallemenin düzenlenmesi	57
Şekil 1.34. Tümörle ilişkili makrofaj alt tipleri tarafından bağışıklık baskılama veya uyarmanın doğrudan ve dolaylı düzenlenmesi.....	59
Şekil 1.35. Tripsinojen mekanizması.....	61
Şekil 1.36. Normoksik, hipoksik ve psödohipoksik koşullarda HIF1 yolağında VHL elongin BC kompleksinin rolü.	62
Şekil 4.1. Çalışmaya dahil edilen 96 olgunun yaşları dağılımları.	80
Şekil 4.2. Çalışmaya dahil etme kriterleri.	81
Şekil 4.3. Meme kanseri tanılı olguların karsinom morfolojik ve moleküler alt tip dağılımları.....	81
Şekil 4.4. Meme veya yumurtalık kanseri tanılı olguların tümör derece dağılımları.	81
Şekil 4.5. Çalışmada tespit edilen varyant sınıflarının genlere göre özeti.	82
Şekil 4.6. Çalışmada saptanan mutasyon türleri.	82
Şekil 4.7. Genlere göre varyant yüzde dağılımları.	103

TABLULAR

Tablo 1.1. Meme kanseri insidansı ile ilişkili yaygın risk faktörleri.....	5
Tablo 1.2. Meme kanserinin moleküler biyobelirteçlere dayalı sınıflandırılması..	10
Tablo 1.3. Meme Kanserinin Evrelendirilmesi.....	14
Tablo 1.4. Meme kanseri: UICC ve AJCC'ye göre dereceler.	15
Tablo 1.5. Meme kanserine yatkınlık geninde bir germ hattı mutasyonunun varlığını gösteren işaretler.	23
Tablo 1.6. Meme kanseri panellerine en sık dahil edilen genler, bunların klinik geçerliliği ve faydaları.	66
Tablo 1.7. Herediter Meme Kanseri Olan Bireylerde BRCA Dışı Genlerin Prevalansı ve VUS Oranı. Literatür sonuçları.	67
Tablo 3.1. Varyantların yorumlanmasında kullanılan veri tabanları.	79
Tablo 3.2. ACMG sınıflandırma kriterleri.	79
Tablo 4.1. Olgularda saptanan patojenik ve olası patojenik varyantlar.	83
Tablo 4.2. Olgularda saptanan TP53 geni varyantları.	85
Tablo 4.3. Olgularda saptanan CHEK2 geni varyantları.	86
Tablo 4.4. Olgularda saptanan CDH1 geni varyantları.	87
Tablo 4.5. Olgularda saptanan NF1 geni varyantları.	88
Tablo 4.6. Olgularda saptanan FGFR1 geni varyantları.	90
Tablo 4.7. Olgularda saptanan FGFR2 geni varyantları.	91
Tablo 4.8. Olgularda saptanan FGFR3 geni varyantları.	91
Tablo 4.9. Olgularda saptanan EGFR geni varyantları.	93
Tablo 4.10. Olgularda saptanan ERBB2 geni varyantları.....	94
Tablo 4.11. Olgularda saptanan RET geni varyantları.....	95
Tablo 4.12. Olgularda saptanan GNAS geni varyantları.	96
Tablo 4.13. Olgularda saptanan VHL geni varyantları.	98
Tablo 4.14. Olgularda saptanan APC geni varyantları.	99
Tablo 4.15. Olgularda saptanan NOTCH1 geni varyantları.	100
Tablo 4.16. Olgularda saptanan KRAS geni varyantları.	102
Tablo 4.17. Olgularda saptanan HNF1A geni varyantları.	102

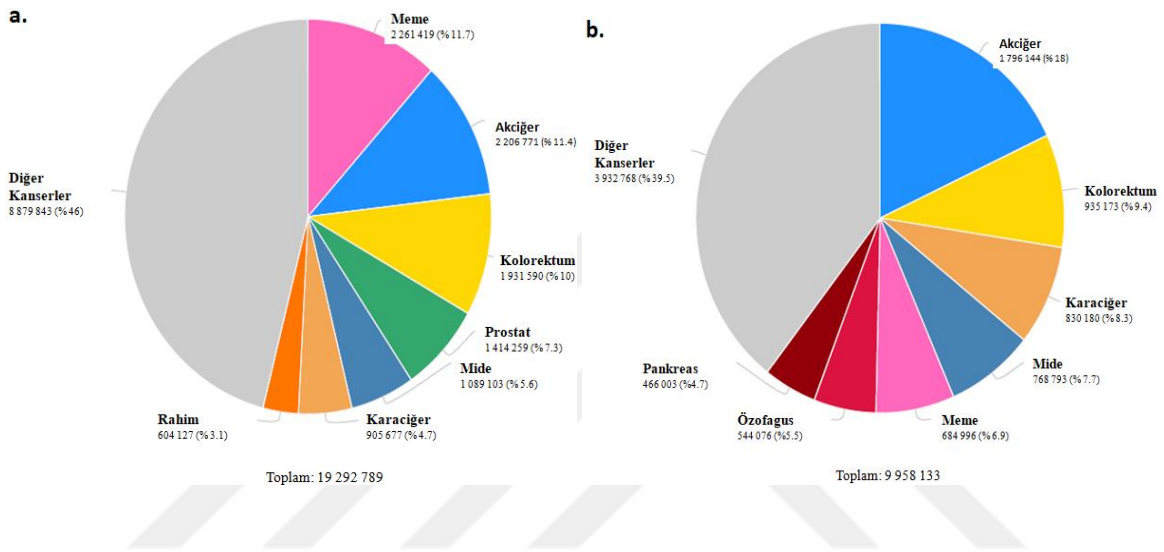
1. GİRİŞ

1.1.Kanser

Kanser, bir grup anormal hücrenin, normal hücre bölünmesi kurallarını göz ardı ederek kontrolsüz bir şekilde büyümesi sonucunda meydana gelen karmaşık bir hastalıktır. Birkaç istisna dışında kanserler, tekli somatik hücrelerden ve bunların soylarından kaynaklanır. Ortaya çıkan neoplastik klondaki hücreler, bir dizi genin aktivitelerini değiştirme eğiliminde ve çeşitli fenotipik değişikliklere neden olan pek çok genetik ve epigenetik değişikliği barındırır (Ponder, 2001). Hanahan ve Weinberg, kanser hücresi fenotipinin altı "ayrıt edici özelliği", yani büyümede kendi kendine yeterlilik, anti-büyüme sinyallerine duyarsızlık, apoptozdan kaçınma, sınırsız replikatif potansiyel, sürekli anjiyogenez, doku istilası ve metastaz olarak tanımlamıştır (Hanahan & Weinberg, 2000). Son on yılda kanser alanındaki teorik ilerlemelerden dolayı, bu özelliklere enerji metabolizmasının yeniden programlanması ve immün yıkımdan kaçınma olmak üzere iki özellik daha eklenmiştir (Hanahan & Weinberg, 2011).

Hücrede embriyogenez, proliferasyon, büyüme, diferansiyasyon ve yaşamını sürdürme için hücre içi ve hücreler arası sinyal iletiminin devamı önemlidir. Bir hücre sinyal alamazsa apoptoza gider ve yaşamını sürdüremez. Hücreye dışarıdan gelen sinyaller her bir hücre tarafından algılanır. Uygun şekilde hücre içine iletilerek hücre için önemli olan yanıtlar oluşturulur. Burada sinyallerin hücreye ulaştıktan sonra hücre tarafından algılanması hücre içi sinyal iletim mekanizmaları ile gerçekleşmektedir. İnsan genomunda rol alan genlerin yaklaşık beşte birinin bu görevde yer alması bile bu yolların hücre için ne denli önemli olduğunu göstermektedir. Karsinogenezin temelinde hücrenin yaşamı büyümenin kontrolü ve diferansiyasyon gibi biyolojik olayları etkileyen mutasyonların kademeli olarak bir araya gelmesi yer almaktadır. Bu nedenle kanserlerde ilk etkilenen mekanizma genellikle hücre içindeki sinyal iletim yolları olmakta, bunların sorunlarından başta kanser olmak üzere farklı hastalıklar oluşmaktadır (Çoban & Güran, 2013).

Kanser, dünya çapında birçok ülkede önde gelen ölüm nedenidir. Hem insidans hem de ölüm oranı açısından mevcut yükün, artan yaşam süresi ve kanser riskini artıran yaşam tarzı sorunları nedeniyle hızla artması beklenmektedir. 2020 yılında tahminen dünya genelinde 19 milyon yeni kanser vakası ve 9 milyon kanser ölümü bildirilmiştir (Şekil 1.1) (WHO, 2020). Kanserın görülme sıklığı, daha az gelişmiş ülkelere kıyasla gelişmiş ülkelerde daha belirgindir. Sonuç olarak, 2025 yılına kadar on yıldan daha kısa bir süre içinde yılda 20 milyondan fazla yeni kanser vakası beklenmektedir (Bray, 2014).



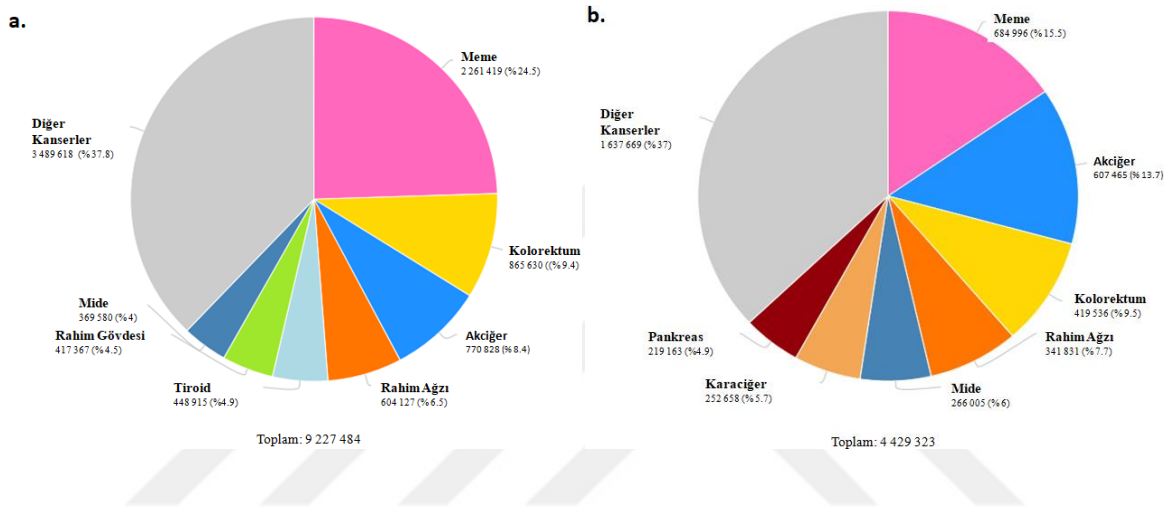
Şekil 1.1. 2020'de dünya genelinde, her iki cinsiyette ve her yaşta tahmini yeni vaka (a) ve ölüm sayısı (b). WHO (2020)'den alınmıştır.

1.2.Meme Kanseri

Meme kanseri, meme bezlerinde ortaya çıkan farklı malignitelerin bir derlemesidir. Meme bezinin gelişimi, embriyonik, prepubertal, pubertal, hamilelik ve emzirme gibi farklı evreleri kapsar. Bu evrelerin her birinde, hamilelik sırasında epitel proliferasyonu ve emzirme döneminde sekretuar alveolar farklılaşma gibi süreçler gerçekleşir. Meme kanserinin farklı mekanizmalarla gelişebileceği öne sürülmüştür, ancak en sık olarak meme bezi gelişim aşamalarının düzenlenmesi ve morfogenezinde yer alan yolların dengesiz aktivitesiyle başlamaktadır (Velloso ve ark, 2017).

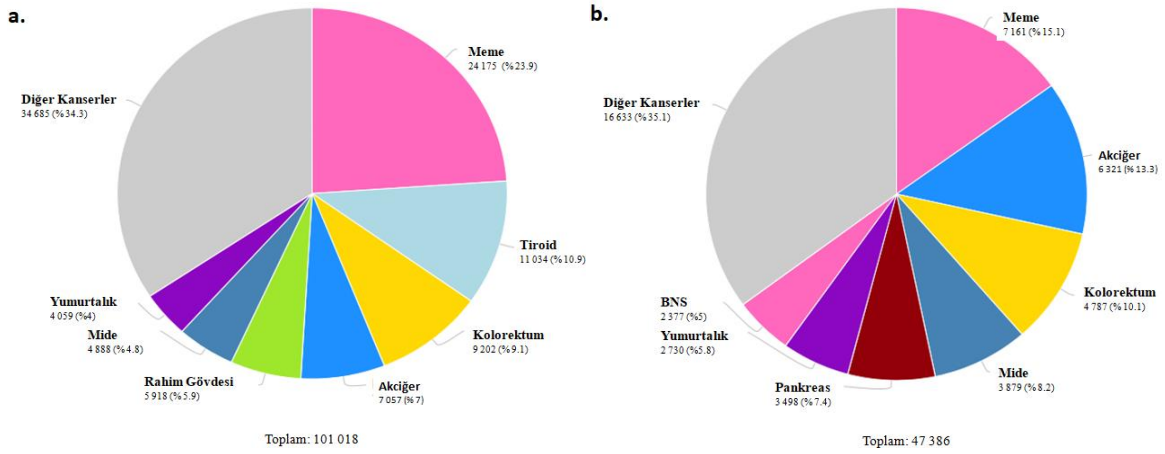
1.2.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi

2020'de tüm dünyada tahminen 2,2 milyon kadın meme kanseri vakası bildirilmiştir ve her 18 saniyede yaklaşık bir yeni teşhis ve 684.966 ölümlle meme kanseri dünya çapında kadınlar arasında en yaygın görülen malignite ve kanser ölümlerinin önde gelen nedenidir (Şekil 1.2) (WHO, 2020). Küresel meme kanseri insidansı, 1980'de 641.000 vaka ile başlamış ve 2010'da > 1,6 milyona yükselerek yıllık % 3,1'lik artışlarla devam etmektedir (Bray ve ark, 2015).

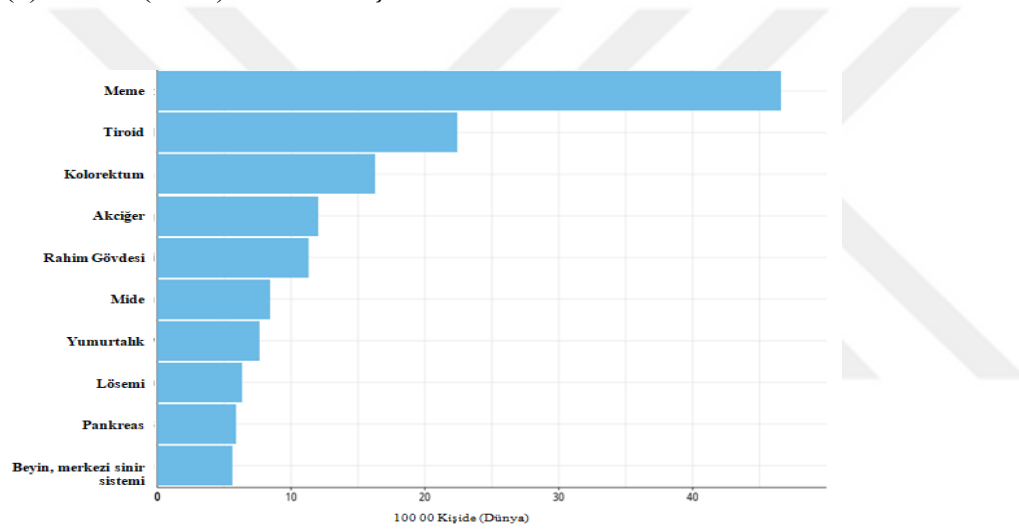


Şekil 1.2. 2020'de dünya genelinde kadınlar ve her yaştan tahmini yeni vaka (a) ve ölüm sayısı (b). WHO (2020)'den alınmıştır.

Ülkemizde de bu oranlar benzerlik göstermektedir. Türkiye de her 4 kadın kanserinden 1'i meme kanseridir. 2020 yılında, Türkiye de tahminen 24 bin kadın meme kanseri vakası ve 7 bin ölüm bildirilmiştir. Tüm yaş gruplarında, kadınlarda en sık görülen kanserler arasında meme kanseri birinci sırada yer almaktadır (Şekil 1.3). Yaşlara göre insidans oranları ise Şekil 1.4'de verilmiştir (WHO, 2020).



Şekil 1.3. 2020'de Türkiye de kadınlar ve her yaştan tahmini yeni vaka (a) ve ölüm sayısı (b). WHO (2020)'den alınmıştır.



Şekil 1.4. 2020'de Türkiye de her yaştan kadınlar, tahmini yaşa standardize insidans oranları (Dünya). WHO (2020)'den alınmıştır.

1.2.2. Meme Kanseri ile İlişkili Risk Faktörleri

Yaş, akciğer kanseri ile karşılaştırıldığında baskın bir risk faktörüdür. Meme kanseri insidansı genç yaşlarda daha yüksektir ve görülme sıklığı menopoza kadar her 10 yılda bir ikiye katlanmaktadır. Menstrüel durum ayrıca, erken yaşta menstrüasyon yaşayan kadınlarda veya geç menopozda meme kanserine yakalanma riskinin artmasıyla yaşa bağlı risk faktörüne katkıda bulunur. Benzer şekilde, 30 yaşından sonra ilk çocuğu olan kadınlarda meme kanseri riski, 20 yaşından önce ilk çocuğu olan kadınların yaklaşık iki katıdır ve en yüksek risk grupları arasında 35 yaşından sonra ilk çocuk sahibi olan kadınlar

yer almaktadır. Meme kanserine yatkınlık genellikle sınırlı penetrans (her iki cinsiyetten de geçebilir) otozomal dominant olarak kalıtsaldır ve Batı ülkelerinde meme kanserinin yaklaşık % 10'u, yakın aile üyeleri ve birinci derece akrabalar arasında daha yüksek insidansla genetik yatkınlıktan kaynaklanmaktadır. Diyet (doymuş yağ), alkol tüketimi (aşırı alım) ve anormal kiloya (obezite) yol açan hareketsizlik gibi yaşam tarzı sorunları da risk faktörleri olarak rapor edilmiştir. Daha genç yaşta iyonize radyasyona maruz kalma ve hormon replasman tedavisi (HRT) de daha yüksek bir rölatif riske katkıda bulunur (Tablo 1.1) (Ullah, 2019).

Tablo 1.1. Meme kanseri insidansı ile ilişkili yaygın risk faktörleri. Ullah (2019)'dan alınmıştır.

Faktörler	Bağıl Risk	Özel Parametreler
Yaş	>10	50 yaş üzeri (yaşlı)
Menarş yaşı	3	11 yaşından önce menarş
Menopoz yaşı	2	54 yaşından sonra menopoz
Gecikmiş gebelik	3	40'lı yaşların başındaki ilk çocuk
Aile öyküsü	>2	Birinci derece akraba meme kanseri
Beslenme	1.5	Doymuş yağ bakımından zengin
Alkol tüketimi	1.3	Aşırı
Vücut ağırlığı:		
(Menopoz öncesi)	0.7	BMI >35
(Menopoz sonrası)	2	BMI >35
Hormon Replasman Tedavisi	1.35	10 yıldan fazla
İyonize radyasyon	3	Genç yaşta anormal maruz kalma
Coğrafik bölge	5	Gelişmiş milletler

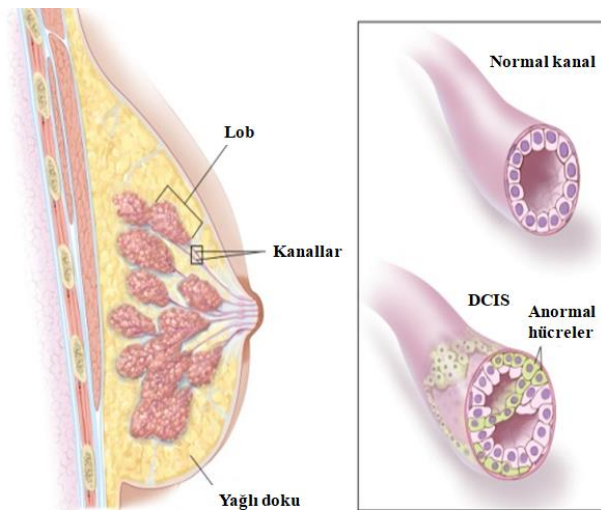
1.2.3. Meme Kanserinin Morfolojik Sınıflandırılması

Meme kanseri, meme bezinin herhangi bir hücresinde meydana gelir ve geniş bir morfolojik özellikler, farklı immünohistokimyasal profiller ve spesifik klinik seyir ve benzersiz histopatolojik alt tipler sergiler. Meme kanserleri en sık görülen malign lezyonlardır. Günümüzde bir tarama aracı olarak mamografinin yaygın kullanımı ile daha fazla preinvaziv meme lezyonu tespit edilmektedir. WHO Çalışma Grubu, bu lezyonların doğal seyrinin daha iyi anlaşılması için daha fazla klinik takip ve genetik veriye ihtiyaç olduğu konusunda hemfikirdir (Makki, 2015).

Meme malignitelerinin çoğu, meme kanserlerinin % 95'inden fazlasını oluşturan adenokarsinomlardır. İnvaziv duktal karsinom (IDC), invaziv meme kanserinin en yaygın şeklidir. Teşhis üzerine meme kanseri insidansının % 55'ini oluşturur. Meme karsinomları, terminal duktal lobüler ünitesinin (TDLU) aynı segmentinden kaynaklanır. İnvaziv meme karsinomunun tiplendirilmesi ve histolojik varyantları iyi bilinmektedir. Genel olarak meme karsinomu, duktal karsinom in situ (DCIS) ve invaziv duktal karsinom (IDC) olarak ikiye ayrılır. DCIS, kanallar ve lobüller ile sınırlı epitel hücrelerinin invaziv olmayan potansiyel olarak kötü huylu intraduktal proliferasyonudur. İnvaziv veya infiltratif karsinom, kanal duvarından stromaya nüfuz eden meme dokusundaki neoplastik hücrelerin kötü huylu anormal proliferasyonunu ifade eder. İnvaziv karsinom ve in situ karsinom, tümörün kaynaklandığı bölgeye göre duktal ve lobüler olarak sınıflandırılır. Kanallardan kaynaklanan kanserler duktal karsinom olarak bilinirken, lobüllerden köken alan kanserler lobüler karsinomlar olarak bilinmektedir (Makki, 2015).

Duktal Karsinom İn Situ (DCIS)

Hüresel ve nükleer atipi, potansiyel kötü huylu kapasite ve invaziv meme kanseri geliştirme eğilimi olan ve olmayan, kanallar veya lobüller ile sınırlı epitel hücrelerinin neoplastik bir proliferasyonudur (Lakhani, Ellis, Schnitt, Tan, & van de Vijver, 2012). Dış duktal tabakanın miyoepitelyal hücreleri genellikle korunur, ancak sayıca azalabilir. DCIS'in kanallar boyunca lobüller asiniye yayılmasına lobüler kanserleşme denir (Şekil 1.5) (Makki, 2015).



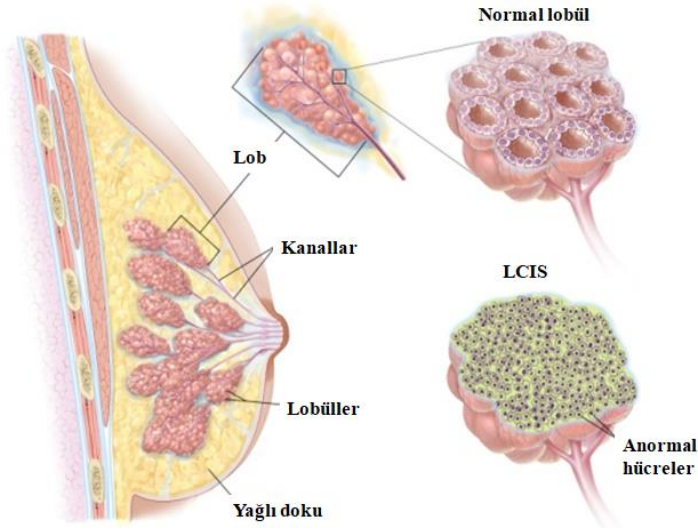
Şekil 1.5. Duktal Karsinom İn Situ (DCIS). Board (2019)'dan alınmıştır.

DCIS, DCIS'suz kadınlarda beklenenden daha yüksek risk indeks faktörüne sahip invaziv karsinomun sonraki gelişimi için bir öncü lezyon olarak kabul edilmektedir. 1983 yılından bu yana, tarama mamografisinin yaygınlaşması ve genel popülasyonda meme kanseri farkındalığının artması ile bu lezyonların tespitinde muazzam bir artış sağlanmıştır (Makki, 2015). DCIS'ya bağlı ölüm son derece nadirdir, ancak DCIS'nun ilk teşhisinin ardından meydana gelen ölüm ya tespit edilmemiş invaziv bileşen ya da tedaviden sonra invaziv lezyonun nüksetmesinden kaynaklanmaktadır (Lakhani, 2012).

Şu anda, DCIS'nun sınıflandırılması ve derecelendirilmesi konusunda evrensel bir fikir birliği yoktur. Çoğu modern sistem, tek başına veya nekroz ve / veya hücre polarizasyonu ile birlikte nükleer dereceyi kullanmaktadır. Öncelikle nükleer atipi, lümen içi nekroz ve daha az ölçüde mitotik aktivite ve kalsifikasyonun derecesine bağlı olarak DCIS, düşük dereceli, orta dereceli ve yüksek dereceli olmak üzere genellikle üç türe ayrılmaktadır (Lakhani, 2012).

Lobüler Karsinom İn Situ (LCIS)

Terminal kanalların pagetoid tutulumu olan veya olmayan, TDLU'den kaynaklanan küçük, oldukça üniform ve gevşek bir şekilde kohezif hücrelerin intralobüler proliferasyonudur (Şekil 1.6). Lobüler karsinom in situ (LCIS) olan kadınlar için uzun süreli takip, bunun bir risk faktörü ve daha sonraki invaziv karsinom gelişimi için bir öngörü oluşturduğu sonucuna varmıştır. Genel muayenede ayırt edici bir özelliği bulunmamasıyla birlikte genellikle tesadüfen meme örneğinde veya başka nedenlerle yapılan biyopside tespit edilmektedir. Vakaların yaklaşık % 70'inde çok merkezliken, % 30-40'ında iki taraflıdır (Makki, 2015).



Şekil 1.6. Lobüler Karsinom İn Situ (LCIS). Board (2019)'dan alınmıştır.

İnvaziv Duktal Karsinom (IDC)

İnvaziv duktal karsinomlar (IDC), DCIS varlığında veya yokluğunda stromal invazyon ile birlikte malign duktal proliferasyona sahip meme kanserleridir (Makki, 2015).

İnvaziv bileşenin görünümü, DCIS türlerinden veya derecesinden ziyade IDC'un alt türlerinden belirlenmelidir. IDC, hücre tipi (apokrin karsinomda olduğu gibi), salgının miktarı, tipi ve yeri (müsinöz karsinomda olduğu gibi), yapısal özellikler (papiller, tübüler ve mikropapiller karsinom gibi) ve immünohistokimyasal profil (nöroendokrin karsinomda olduğu gibi) dahil olmak üzere çok çeşitli kriterlere göre birçok histolojik alt tipe sınıflandırılmaktadır (Makki, 2015).

IDC'lar, geniş morfolojik varyasyona sahip olduklarından, sito-yapısal özelliklere göre sınıflandırılmış heterojen bir tümör grubudur. Bazıları, özel alt tipler olarak sınıflandırılmaya yetecek kadar ayırt edici özelliklere ve belirli davranışlara sahipken, IDC'un yaklaşık % 75'ini oluşturan çoğunluk, spesifik histolojik tipler olarak sınıflandırılmak için yeterli morfolojik özellikler göstermemektedir (Makki, 2015).

İnvaziv Lobüler Karsinom (ILC)

İnvaziv lobüler karsinom (ILC), IDC dışındaki ikinci büyük biyolojik olarak farklı invaziv meme karsinomudur. İnvaziv meme karsinomunun % 5-15'ini oluşturur ve genellikle IDC'dan etkilenen ileri yaş grubu kadınları etkilemektedir (Lakhani, 2012). ILC tümör hücreleri tipik olarak yuvarlak, küçük, nispeten tek tip ve koheziftir. Stromanın tek yönlü infiltrasyonu ile karakteristik büyüme modeline sahiptir. ILC tanısı, in situ bileşen yokluğunda bile bu sito-yapısal özelliklerin varlığında yapılabilmektedir. Aksine, bir invaziv tümör, LCIS ile ilişkili olduğu için ILC olarak adlandırılmamaktadır; daha ziyade, invaziv bileşenin tipik mikroskobik özelliklerine sahip olmalıdır. ILC insidansı, özellikle postmenopozal kadınlarda artmaktadır ve bu bulgu, kısmen, hormon replasman tedavisi ile ilgili olabilmektedir. Mutasyon, heterozigotluk kaybı veya metilasyon yoluyla E-kaderin inaktivasyonları, ILC'de, özellikle pleomorfik alt tipte karakteristik moleküler değişikliklerdir (Makki, 2015).

1.2.4. Meme Kanserinin Moleküler Sınıflandırması

Son on yılda, meme kanserinin morfolojik sınıflandırmasını, meme kanserinin heterojenliği için daha net bir değerlendirme ve terapötik stratejileri geliştirmek için tümör davranışının daha iyi tahmin edilmesini sağlayabilen moleküler parametrelerle desteklemek için birçok çaba gösterilmiştir. Perou ve ark, meme kanserlerini mikroarray teknolojisini kullanarak gen ekspresyon profillerindeki benzerliklere dayanarak farklı alt gruplara ayırmıştır (Perou ve ark, 2000). Bu yeni yaklaşım, daha sonra moleküler sınıflandırmaya göre güncellenen bu yeni sınıflandırmanın meme kanserlerinin biyolojisine yeni bakış açıları sağlayacağı ve meme kanserlerinin terapötik yaklaşımını etkileyeceği umuduyla tıp ve bilim camiası tarafından kabul edilmiştir (Makki, 2015).

Moleküler gen ekspresyon profili, meme kanseri alt tiplerini luminal A, luminal B, HER2 açısından zengin ve bazal benzeri olarak yeniden tanımlamıştır ve bunlar kabaca immünohistokimyasal gruplara eşitir. Ek olarak, son zamanlarda keşfedilen bir Klaudin-düşük sınıf meme kanseri tanımlanmıştır (Velloso ve ark, 2017).

Klaudinler, yalnızca epitel hücrelerinde eksprese edilen bir bağlantı proteinleri ailesidir. Düşük seviyelerde E-kaderin ve klaudin 3, 4 ve 7 sergileyen Klaudin-düşük tümörler, daha kapsamlı lenfosit infiltratları, daha büyük tümörler ve yüksek ekspresyon sergilemenin yanı sıra, mezenkimal belirteçlerin ana özellikleri olarak bazal ve luminal A alt tiplerinden daha heterojendir. Bu tümör alt tipi, luminal A alt tiplerine kıyasla genç yaşta başlangıç ve daha düşük hayatta kalma oranları ile de ilişkilidir. Farklı meme kanseri alt tiplerinin histolojik ve moleküler sınıflandırmasının bir özeti Tablo 1.2'de gösterilmiştir (Velloso ve ark, 2017).

Tablo 1.2. Meme kanserinin moleküler biyobelirteçlere dayalı sınıflandırılması. Velloso ve ark. (2017)'den alınmıştır.

Alt tip	Biyobelirteç durumu	Prognoz	Prevelans
Luminal A	ER + / PR + / HER2- / Ki67-	İyi	~% 30
Luminal B	ER + / PR + / HER2- / Ki67 +	Orta	~% 20
Luminal B	ER + / PR + / HER2 + / Ki67 +	Kötü	~% 10
HER2	ER- / PR- / HER2 +	Kötü	~% 15
bakımından zengin			
Üçlü Negatif / Bazal	ER- / PR- / HER2-	Kötü	~% 10
Klaudin-düşük	ER-/PR-/HER2- claudin-	Kötü	~% 10
Normal benzeri	ER + / PR + / HER2- / Ki67-	Orta	~% 5

Luminal A

Luminal A, invaziv meme kanserlerinin % 50'sini oluşturmaktadır. ER / PR pozitif veya HER2 negatiftir. Tübüler karsinom, cribriform karsinom, düşük dereceli IDC NST ve klasik lobüler karsinom gibi çok çeşitli düşük dereceli varyantları içerir ve genellikle yüksek hormon reseptör ekspresyonu ve ilişkili genler ile lüminal kanal hücreleri vurgulayan düşük moleküler ağırlıklı sitokeratinleri ifade eder. İyi bir prognoza sahiptir ve tipik olarak düşük dereceli ve ER pozitifdir (Makki, 2015).

Luminal B

Bu kategori, invaziv meme kanserlerinin % 20'sini oluşturur. ER / PR pozitif, HER2 / neu ifadesi değişkendir (pozitif veya negatif). Ki-67 ve histolojik derecelerle ifade edilen proliferasyon indeksi oranı luminal A'dan daha yüksektir. Derece 2 IDC NST'nin çoğunu ve mikropapiller karsinomu içerir. Lüminal epitel hücrelerinin düşük moleküler ağırlıklı sitokeratinlerinin ekspresyonu, hormon reseptörlerinin ve ilişkili genlerin orta ila zayıf ekspresyonu ile karakterizedir. Endokrin tedaviye ve kemoterapiye yanıt değişkendir ve prognozu luminal A'dan daha kötüdür (Makki, 2015).

HER2 bakımından zengin

Bu grup, tüm invaziv meme kanserlerinin % 15'ini oluşturur. ER / PR genellikle negatiftir, tanımlanması gereği HER2 / neu güçlü pozitiftir. Ki-67 ekspresyonu yüksektir ve *TP53* mutasyonu yaygındır. Bu tümörlerin yüksek dereceli ve lenf düğümü metastazına sahip olma olasılığı daha yüksektir. HER2'nin yüksek ekspresyonunu ve düşük ER ve ilişkili genlerin ekspresyonunu gösterir. Bu meme kanseri grubu, kötü prognoz ve trastuzumab (herceptin) tedavisine yüksek duyarlılık göstermektedir (Makki, 2015).

Bazal Benzeri

Bazal sınıf, bazal epitel ve meme dokusunun normal miyoepitelyal hücrelerine benzer ifade modelinden dolayı bu şekilde adlandırılır. Tipik olarak CK5 / 6 ve / veya EGFR pozitif, ER / PR negatif ve HER2 negatif (üçlü negatif) olup, yüksek Ki-67 indeksi ve *TP53* mutasyonu ifadesiyle yaygındır (Shawarby, Al-Tamimi & Ahmed, 2013). Tüm invaziv meme kanserlerinin yaklaşık % 15'ini oluşturur. Gen ekspresyon modelleri, bazal epitelial genlerin yüksek ekspresyonunu, bazal sitokeratinler için pozitif; ER'nin ve ilişkili genlerin düşük ifadesi; ve HER2 / neu'nun düşük ifadesi şeklindedir. Yüksek dereceli invaziv kanserlerin çoğu ve iyi prognozlu IDC'un diğer farklı düşük dereceli özel alt türleri, düşük proliferasyon indeksi oranını ifade eden, örneğin medüller, adenoid kistik ve sekretuar karsinom da bu gruba dahildir. Endokrin tedavisine veya trastuzumaba yanıt vermez, ancak platin bazlı kemoterapiye ve poli (adenozin difosfat-riboz) polimeraz inhibitörlerine duyarlı görünmektedir. Genellikle kötü prognoza sahiptir (Makki, 2015).

1.2.5. Meme Kanseri Metastazi

Meme kanseri, yıllarca anormal bir şekilde büyüme kabiliyeti kazanan meme epitel hücrelerinin bir hastalığı olarak ortaya çıkar ve bu tür bir potansiyel meme kanalları veya lobüller (invaziv olmayan meme kanseri) içinde sınırlı kalır. Duko-lobüler bölge içindeki kötü huylu epitel hücrelerinin bu sınırlaması, meme kanserinin ilerlemesi için önemli bir kısıtlamadır. Kötü huylu hücreler kanallar veya lobüller içinde kaldığı için, hasta sağkalımının nispeten daha yüksek olduğu bildirilmiştir, çünkü lokalize meme kanseri teşhisi konan hastaların ~% 98'i 5 yıl içinde kanser nüksü olasılığı en azdır. Aksine, hücrelerin dukto-lobüler bölgeden çevre stromaya (invaziv meme kanseri) yayılması durumunda meme kanseri prognozu belirgin şekilde kötüleşir. Böylelikle bölgesel olarak invaziv meme kanseri, yani bölgesel lenf düğümlerine yayılan meme kanseri için 5 yıllık sağkalım sadece % 83'tür (lokalize meme kanserinden % 15 azalma gösterir). Tanı anında uzak metastaz varlığı, tanıdan 5 yıl sonra hayatta kalan hastaların sadece % 23'ü ile en kötü prognozu ortaya koymaktadır (Howlader, 2011).

Kanallardan veya lobüllerden çıktıktan sonra, kanser hücreleri kan veya lenfatik sistemler yoluyla akciğerler, karaciğer veya kemikler gibi uzak organlara metastaz yapabilir. Hücre göçünü ve kolonizasyonu içeren metastaz süreci, gen mutasyonları ve değişmiş gen ifadeleri tarafından yönlendirilen çok aşamalı bir moleküler olaylar zinciridir (Weber, 2008). Metastaz, tümör hücrelerinin (i) birincil tümör bölgesinden ayrılıp uzaklaşma, (ii) komşu dokuyu istila etme ve bazal membran yoluyla nüfuz etme, (iii) kana veya lenfatik damarlara girme (iv) tümör kitlesinden kopup dolaşımdayken anoikis durumunda hayatta kalma, (v) uzak bir organdaki kan veya lenfatik damarlardan çıkma, (vi) mikrometastatik nodül oluşturma, (vii) çevreleyen stromayı uyarma, yeniden programlayabilme, ve makrometastazlar oluşturma gibi farklı aşamalarından oluşmaktadır (Steeg, 2006). Metastatik hücre göçü, lokal istila, intravazasyon, yayılma ve ekstrasvazasyonu içerir; burada uzak dokuya sızmak, bağışıklık savunmalarından kaçmak, destekleyici nişlere uyum sağlamak, gizli tümör başlatıcı kaynaklar olarak hayatta kalmak ve sonunda konakçı dokuyu değiştirmek için ayrılmak, metastatik kolonizasyon için anahtar adımlardır (Massagué & Obenauf, 2016).

1.3.Meme Kanserinde Tanı

Meme kanseri teşhisinde yaygın olarak kullanılan prosedürler mamografi, ultrasonografi, MRG ve PET'dir. Ancak meme kanserlerinin belli bir oranı (% 11) mamografide görülmediği için fiziki muayene önemini korumaktadır (Veronesi, Goldhirsch, Boyle, Orecchia & Viale, 2005).

Yoğun meme dokusu olmayan kadınlarda mamografi en önemli tanı aracı olmaya devam etmektedir. Menopozdan sonra, mamografi genellikle küçük lezyonları saptamak için en iyi yöntemdir. Bunun tersine, yoğun meme dokusu olan kadınlarda küçük tümörleri teşhis etmek ve katı lezyonları kistik lezyonlardan ayırmak için en etkili prosedür, ultrasonografidir. Mamografi, şüpheli mikrokalsifikasyonları tespit etmek, meme yoğunluklarını ayırt etmede iyi değildir ve belirli lobüler invaziv karsinomları, Paget hastalığını, inflamatuvar karsinomu ve özellikle periferik, küçük karsinomları tanımlamada güçlük çekmektedir (Veronesi ve ark, 2005).

MRG, esas olarak geleneksel tanı prosedürlerinden sonra bir problem çözme yöntemi olarak kullanılmaktadır. Teknik oldukça hassastır ve esas olarak yüksek riskli, *BRCA*-pozitif hastaların taranması için kullanılmaktadır. Ayrıca, elle tutulur olmayan lezyonlarda ve aksiller metastazlarda birincil odak kanıtı olmaksızın birincil odakların tanımlanması ve neoadjuvan kemoterapiye yanıtın değerlendirilmesi için de yarar sağlamaktadır. Dinamik, kontrastlı MRG'da, görüntüler hastalara kontrast madde verildikten önce ve sonra alınır. Kötü huylu lezyonlar, kontrast maddenin hızlı alımı ve ortadan kaldırılmasıyla genellikle oldukça geçirgendir, oysa iyi huylu lezyonlar yavaş yükselen, devamlı artış kinetiğine sahiptir. MRG, yüksek tanı doğruluğuna sahip olmasına rağmen, yanlış pozitif vakaların oranı hala yüksektir ve MRG bulguları meme cerrahisi için tek bir gösterge olamamaktadır (Veronesi ve ark, 2005).

PET şu anda herhangi bir uzak organdaki saptanmamış metastatik odakları keşfetmek için kullanılmaktadır ve ameliyat öncesi evreleme sürecinde aksiller düğümlerin durumunu değerlendirebilmektedir. Bununla birlikte, PET düşük dereceli lezyonları ve 5 mm'den küçük tümörleri tanımlayamayabilir (Veronesi ve ark, 2005).

1.4.Meme Kanseri Evre ve Dereceler

Meme kanseri teşhisi doğrulandıktan sonra tedavi, hastalığın evresi, reseptör durumu ve tümör derecesi gibi patolojik özelliklere bağlıdır. Hastalık evresi, tümör boyutu, ilgili lenf düğümlerinin sayısı, konumu ve uzak metastatik hastalığın varlığı veya yokluğu ile belirlenir (Tablo 1.3). Uzak metastatik hastalığı olmayanlarda prognoz, büyük ölçüde ilgili aksiller lenf düğümlerinin sayısına, primer tümörün boyutuna ve patolojik özelliklerine (histolojik derece, hormon reseptör durumu, HER2 durumu ve lenfovasküler invazyon varlığı veya yokluğu) bağlıdır (Moulder & Hortobagyi, 2008).

Tablo 1.3. Meme Kanserinin Evrelendirilmesi. Moulder & Hortobagyi (2008)'den alınmıştır.

Evre 0	<ul style="list-style-type: none">• İn situ Karsinom. Lenf düğümü veya uzak metastaz yoktur.
Evre I	<ul style="list-style-type: none">• Tümör boyutu ≤ 2 cm. Lenf düğümü veya uzak metastaz yoktur.
Evre IIA	<ul style="list-style-type: none">• Tümör boyutu ≤ 2 cm olup ≤ 3 kansere bağlı ipsilateral aksiller lenf düğümleri gelişmiştir.• Tümör boyutu > 2 ila ≤ 5 cm olup kansere bağlı ipsilateral aksiller lenf düğümleri yoktur.
Evre IIB	<ul style="list-style-type: none">• Tümör boyutu > 2 ila ≤ 5 cm olup < 4 kansere bağlı ipsilateral aksiller lenf düğümleri gelişmiştir.• Tümör boyutu > 5 cm olup Lenf düğümü metastazı yoktur.
Evre IIIA	<ul style="list-style-type: none">• Herhangi bir boyutta tümör olup 4-9 kansere bağlı ipsilateral aksiller lenf düğümleri veya internal meme düğümleri gelişmiştir.• Tümör boyutu > 5 cm olup < 4 kansere bağlı ipsilateral aksiller lenf düğümleri gelişmiştir.
Evre IIIB	<ul style="list-style-type: none">• ≤ 9 ipsilateral aksiller lenf düğümleri veya internal meme düğümleri ile meme duvarına veya cilde (inflamatuar karsinom dahil) doğrudan yayılan her boyutta tümör gelişmiştir.
Evre IIIC	<p>Aşağıdakilerin dahil olduğu herhangi boyuttaki bir tümör;</p> <ul style="list-style-type: none">• İpsilateral aksiller lenf düğümleri ve internal meme düğümleri• ≥ 10 aksiller lenf düğümleri• İpsilateral supraklaviküler düğümler
Evre IV	<ul style="list-style-type: none">• Uzak metastaz varlığı

Yaygın olarak kullanılan meme kanseri derecelendirme sistemi TNM sistemidir: Bu üç harf sırasıyla birincil tümörü, lenf düğümü tutulumunu ve metastazı temsil eder. Bu sistem, Uluslararası Kanser Kontrolü Birliği (UICC) ve Amerikan Ortak Kanser Komitesi (AJCC) tarafından kabul edilmiş ve çoğu kanser raporunda kullanılmıştır (Tablo 1.4) (Donepudi, Kondapalli, Amos & Venkanteshan, 2014).

Tablo 1.4. Meme kanseri: UICC ve AJCC'ye göre dereceler. Donepudi ve ark. (2014)'den alınmıştır.

Primer Tümör (T)	Lenf Nodu (N)	Metastaz ve Sekonder Tümör (M)
Boyut ve kapsama göre	Yakındaki lenf düğümlerine yayılma miktarına göre	Sekonder tümör varlığı vücudun diğer bölgelerine yayılır
Tx: Tümör değerlendirilemez	Nx: Bölgesel lenf bezlerinde tümör varlığı araştırılmamış	Mx: Uzak organlara yayılım olup olmadığı araştırılmamış
T0: Tümör yok	N0: Bölgesel lenf bezlerinde tümör yok	M0: Uzak organlara yayılım yok
Tis: Karsinoma in situ, kansere dönüşebilir		
T1,T2,T3,T4: Boyut ve/veya kapsam	N1,N2,N3: Tutulum derecesi, lenf düğümlerinin sayısı ve yeri	M1: Uzak organlara (karaciğer, akciğer, kemik gibi) yayılım var

1.5.Meme Kanseri Tedavi

Tüm kanser türleri farklı davranmaktadır ve bu nedenle farklı tedavi yöntemleri gerektirir. Meme kanseri, cerrahi, radyasyon ve / veya kemoterapi dahil birçok yöntemin kullanılmasını içeren sistemik bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Tanı anında kanserin ne kadar yaygın olduğunu belirleme süreci evreleme, tedavi seçeneklerini belirlerken en önemli faktördür (Ely & Vioral 2007).

Meme Kanseri için en yaygın cerrahi prosedürler:

Kısmi (segmental) mastektomi veya lumpektomi, meme tümörünün normal doku kenarıyla (serbest sınır) çıkarıldığı ve lokal nüks olasılığını azaltmak için 6 haftalık radyasyon tedavisi verildiği meme koruyucu cerrahi olarak kabul edilmektedir.

Basit veya total mastektomi, tüm memenin alınmasını içermektedir; ancak kolun altındaki lenf düğümleri veya memenin altındaki kas dokusu alınmaz. Özellikle bir kadın meme kanseri için çok yüksek risk altındaysa, her iki meme de alınmaktadır.

Değiştirilmiş radikal mastektomi, meme kası olmadan tüm memenin ve kol altındaki lenf düğümlerinin ilk iki aşamasının alınmasını içermektedir.

Radikal mastektomi, meme altındaki tüm memenin, lenf düğümlerinin ve meme duvarı kaslarının kapsamlı bir şekilde alınmasıdır. Değiştirilmiş radikal mastektominin daha az şekil bozukluğu ve daha az yan etki ile aynı derecede etkili olduğu kanıtlandığından, bu ameliyat artık nadiren yapılmaktadır (Ely & Vioral 2007).

Tek başına veya cerrahi seçeneklerle birlikte kullanılabilen, meme kanserini tedavi etmek için başka cerrahi olmayan seçenekler de vardır.

Adjuvan tedaviden sonra hastalığı atlatan hastalar, hastalığın ilerlemesini sürekli kontrol etmek için kronik bakıma ihtiyaç duyanlarla karşılaştırıldığında, sırasıyla adjuvan ve metastatik tedavi yaklaşımları arasındaki temel farkı oluşturmaktadır. Adjuvan sistemik tedavi, invaziv meme kanseri olan tüm hastalarda potansiyel olarak mevcut olabilecek mikrometastatik hastalığı ortadan kaldırmak için verilmektedir. Amacı, nüksü azaltmak ve hayatta kalmayı artırmaktır. Randomize bir çalışma popülasyonunda uzun vadeli sonuçlar dışında postoperatif adjuvan tedaviler etkinlik açısından kontrol edilememektedir. Bunun tersine, değerlendirilebilir kanser için, ameliyattan önce (yani, ameliyat edilebilir veya lokal olarak ilerlemiş meme kanseri için birincil tedaviler) veya metastazlar için verilen sistemik tedavilerin etkinliği, kısa süreli terapötik maruziyetten sonra tedavi etkisi hakkında öngörüye izin vermektedir (Veronesi ve ark, 2005).

Neoadjuvan (birincil) tedavi, lokal olarak ilerlemiş veya büyük primer tümörü olan ve ayrıca primer tümöre cevabın memeyi koruma şansını artırabileceği hastalara verilmektedir. Amaç tümör boyutunu küçültmektir. Artık, belirli bir tedaviye verilen yanıt hakkında bilgi edinmek için birincil sistemik tedavi de uygulanabilmektedir (Veronesi ve ark, 2005).

Kemoterapi

Hastalığın erken evrelerinde kanser hücreleri meme tümöründen kopabilir ve kan dolaşımına yayılabilir, bu durum semptomlara neden olmaz veya radyografilerde görülemez ama büyürlerse vücudun başka yerlerinde yeni tümörler oluşturabilirler. Kemoterapi, uzak organlara yayılan herhangi bir bilinen veya bilinmeyen metastaza ulaşarak kan dolaşımına girmek için kullanılmaktadır (Ely & Vioral 2007).

Kemoterapi, kanser hücrelerinin büyümesini ya hücreleri öldürerek ya da bölünmelerini engelleyerek durdurmak için ilaçların kullanıldığı bir kanser tedavisidir. Halihazırda, onkologların alternatifleri arasında çeşitli tedavi programlarına sahip çok sayıda ilaç bulunmaktadır. Tipik olarak meme kanseri tedavileri, döngüler halinde uygulanan 2 ila 3 ilaçtan ve ardından seçilen protokole bağlı olarak 2 ila 3 haftalık bir dinlenme süresinden oluşmaktadır. Birden fazla ajan kullanmanın gerekçesi: sinerjik etkilerin artması; farklı etki mekanizmalarının birleştirilmesi; ilaç direncinin azaltılması ve örtüşen toksisitelerin en aza indirilmesini içermektedir (Ely & Vioral 2007).

Hormonal Tedavi

Kadınlık hormonu östrojen, bazı kadınlarda meme kanseri hücrelerinin büyümesini destekler. Bu kadınlarda meme kanserini tedavisinde, östrojenin etkisini engellemek veya seviyelerini düşürmek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Örnekler arasında, östrojenin etkilerini bloke eden tamoksifen, nüks riskini azaltmak için genellikle ameliyattan sonra 5 yıl boyunca hap şeklinde alınan östrojenin etkilerine karşı verilebilmektedir. Aromataz inhibitörleri, vücudun östrojen üretimini engelleyen ve sadece menopoza sonrası ve hormon pozitif olan kadınlarda işe yarayan ilaç türleri olan anastrozol, eksemestan ve letrozol'u içerir. Bu ilaçlar, meme kanserinin nüks etme riskini azaltmak için tamoksifen sonrasında veya hatta onun yerine kullanılabilir (Ely & Vioral 2007).

Radyoterapi

Radyasyon tedavisi, ameliyat sonrası meme, meme duvarı veya koltuk altı bölgesinde kalan kanser hücrelerini yok eden yüksek enerjili ışınlar veya partiküller ile yapılan tedavidir. Bazı durumlarda, radyasyon tedavisi ile tedavi edilen alan ayrıca supraklaviküler lenf düğümlerini ve internal meme lenf düğümlerini içerebilir. Radyasyonun kapsamı lumpektomi veya mastektomi yapıp yapılmadığına ve lenf düğümlerinin dahil olup olmadığına bağlıdır. Kemoterapide olduğu gibi, farklı radyasyon tedavisi türleri vardır (Ely & Vioral 2007).

Dış ışın radyasyonu, etkilenen bölgeye vücudun dışındaki bir makineden odaklanan, meme kanseri olan kadınlar için en yaygın radyasyon tedavisi türüdür. Bu tedavi tipik olarak, bir ayakta tedavi merkezinde, ameliyattan bir ay sonra başlayarak yaklaşık 6 veya 7 haftalık bir süre boyunca haftada 5 gün ve kemoterapi tedavileri ile birlikte veya tamamlandıktan sonra uygulanmaktadır. Her tedavi birkaç dakika sürer ve tedavinin kendisi ağrısızdır. Daha yeni bir teknik, kısmi göğüs ışınlaması olarak adlandırılan toplam 5 günlük daha kısa bir süre boyunca radyasyon uygulanmasıdır (Ely & Vioral 2007).

Dahili veya interstisyel radyasyon olarak da bilinen brakiterapi, radyasyon tedavisinin başka bir yoludur; bu sayede vücut dışından radyasyon ışınlarını hedeflemek yerine, radyoaktif topraklar doğrudan kanserin yanındaki meme dokusuna yerleştirilir. Kullanılan diğer bir brakiterapi yöntemi, lumpektomi boşluğuna yerleştirilen ve tuzlu su ile doldurulan ince bir tüpe tutturulmuş bir balondan oluşan Mammosittir (Ely & Vioral 2007).

Hedefli Tedaviler

Araştırmacılar kansere neden olan genler hakkında daha fazla şey öğrendikçe, doğrudan bu değişikliklere yönelik yeni ilaçlar geliştirmektedir. Trastuzumab, normal meme hücrelerinin ve çoğu meme kanserinin yüzeyinde küçük miktarlarda bulunan büyümeyi destekleyen bir proteine (HER2 / neu) bağlanan bir monoklonal antikordur. Bazı meme kanserleri bu proteinden çok fazla içermektedir, bu da kanserin daha hızlı büyümesine ve yayılmasına neden olabilir, böylece trastuzumab bu proteinin meme kanseri

hücre büyümesine neden olmasını durdurmaktadır. Yapılan çalışmalar, kemoterapiye 1 yıllık trastuzumab tedavisinin eklenmesinin, bazı kadınlarda ameliyat sonrası tek başına kemoterapiye göre kanserin nüks ve ölüm oranını düşürdüğünü göstermiştir; bu nedenle, bu yaklaşım bu durumlarda standart adjuvan tedavi haline gelmiştir (Ely & Vioral 2007).

Diğer hedefe yönelik tedaviler arasında, HER2 / neu proteinini hedefleyen başka bir ilaç olan ve artık kemoterapi ve trastuzumabın yardımcı olmadığı kanserli bazı kadınlar için kullanılan lapatinib bulunmaktadır (Ely & Vioral 2007).

Son olarak, bevacizumab, diğer kemoterapötik ajanlarla birlikte, metastatik meme kanserli hastalarda kullanılabilen bir monoklonal antikordur. Bu antikor, tümörlerin tümörü beslemek için yeni kan damarları oluşturmasını önlemeye yardımcı olmaktadır (Ely & Vioral 2007).

1.6.Meme Kanseri Genetiği

Kanserin gelişmesine, meme kanseri durumunda meme dokusu hücrelerini etkileyen kazanılmış (somatik) mutasyonların ve epigenetik değişikliklerin kademeli ve ömür boyu birikmesi neden olmaktadır. Tümör örneklerinin genom çapında son analizleri, tümörögenез sürecini yönetenler de dahil olmak üzere mutasyonların kapsamlı bir şekilde tanımlanmasını sağlamıştır ve bunlar sürücü mutasyonları olarak adlandırılmaktadır. Meme kanserinde tanımlanmış çok sayıda sürücü mutasyon, hastalığın moleküler karmaşıklığını açıklamakta ve klinik heterojenliğini göstermektedir (Kleibl & Kristensen, 2016).

Bir kansere evrim, meydana geldikten sonra geri döndürülemez olan ve ana hücreden tüm yavru hücrelere geçen (1) genomik mutasyonun ve (2) bu kalıtsal varyasyon nedeniyle "yetenek" açısından farklılık gösteren hücreler üzerinde işleyen bir dizi spesifik baskının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Meme kanserinde ortaya çıkabilecek ana genomik mutasyon sınıfları nokta mutasyonlarına (tek nükleotid değişimleri, küçük insersiyonlar ve delesyonlar), bazen yeniden düzenlemeler olarak da adlandırılan yapısal varyantlara ve anöploidi veya genom duplikasyonunu içeren büyük ölçekli kopya sayısı değişikliklerine ayrılabilir (Şekil 1.7) (Desmedt, Yates & Kulka, 2016).

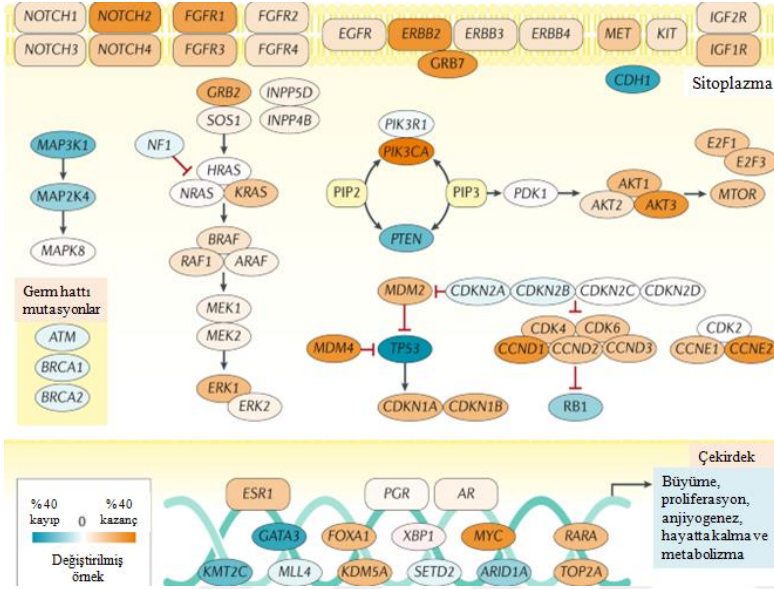


Şekil 1.7. Meme kanserinde mutasyon türleri. Desmedt ve ark. (2016)'dan alınmıştır.

Tüm genom dizileme, bireysel meme kanserlerinin tipik olarak binlerce nokta mutasyonu ve az veya çok sayıda yapısal varyantı barındırdığını tespit etmiştir (Alexandrov ve ark, 2013). Bu yapısal varyantlar bazı durumlarda oldukça karmaşık olabilmekte, birden fazla kromozomu ve hatta aynı anda birden fazla kanser genini içerebilmektedir (Yates ve ark, 2015). Bununla birlikte, tek bir kanser içinde, bu mutasyonların sadece küçük bir azınlığı (tipik olarak 1-10), kritik kanser genlerinin işlevsel ürününü değiştiren kanserin sürücü mutasyonları olarak adlandırılmaktadır. Çoğu mutasyon ise hücre yeteneğini değiştirmezler ve "yolcu" mutasyonları olarak adlandırılırlar (Desmedt ve ark, 2016).

Meme kanserine neden olan kesin mekanizma bilinmemektedir; bununla birlikte, meme kanserini moleküler olarak karakterize etmek ve oluşumunu ve ilerlemesini açıklamak için çok çaba sarf edilmiştir. Tümör hücrelerinde en sık mutasyona uğramış ve / veya çoğaltılmış genler bir dizi erken meme kanserinde bildirildiği gibi *TP53* (tümörlerin % 41'i), *PIK3CA* (% 30), *MYC* (% 20), *PTEN* (% 16), *CCND1* (% 16), *ERBB2* (% 13), *FGFR1* (% 11) ve *GATA3* (% 10) genleridir (Şekil 1.8) (Nik-Zainal ve ark, 2016). Bu genler, hücre döngüsü düzenleyicilerini baskılayan (örneğin, *p53*) veya aktive eden (örneğin siklin D1), proliferasyonu sürdüren, apoptozu ve aktive olan onkojenik yolları inhibe eden (*MYC*, *HER2* ve *FGFR1*) veya artık baskılanmayan (*PTEN*) öğeleri kodlar.

100 meme kanseri sürücüsünü etkileyen mutasyonların çoğunluğu son derece nadirdir, bu nedenle çoğu meme kanseri, kümülatif olarak hareket eden çoklu, düşük penetran mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (Yates ve ark, 2017). Luminal A tümörleri, *PIK3CA* mutasyonlarının yüksek bir prevalansına sahipken (% 49), *TP53* mutasyonlarının yüksek prevalansı, bazal benzeri tümörlerin ayırt edici özelliğidir (% 84) (Harbeck ve ark, 2019).



Şekil 1.8. Meme tümörü DNA kopya sayısı ve somatik mutasyonlar hakkındaki Kanser Genom Atlası verileri. Her gen, genel değişim sıklığına göre renklendirilmiştir. Turuncu, yüksek düzeyde amplifikasyon ve / veya olası işlev kazancı mutasyonlarını; mavi, homozigot delesyonları ve / veya olası işlev kaybı mutasyonlarını temsil etmektedir. Harbeck ve ark. (2019)'dan alınmıştır.

Epigenetik değişiklikler meme karsinogenezinde ve ilerlemesinde rol oynamaktadır. Meme kanserinde, genler ya tamamen hipometilatlanabilir (gen aktivasyonuna, onkojenlerin yukarı regülasyonuna ve kromozomal kararsızlığa yol açar) ya da daha az sıklıkla, lokusa özgü hipermetile (DNA onarım genlerinin susturulmasına bağlı olarak gen baskılanmasına ve genetik kararsızlığa yol açar) edilebilir. Diğer epigenetik mekanizmalar, DNA metilasyonu yoluyla histon modifikasyonlarını içerir, gen ekspresyonunu ve nükleozomal yeniden düzenlemeyi susturmak için kromatin yapı değişikliklerini indüklemektedir (Harbeck ve ark, 2019).

Sporadik meme kanseri için başlıca risk faktörleri, hormona maruz kalma ile bağlantılıdır. Östrojen, ligandla aktive edilen bir transkripsiyon faktörü olan çekirdekte bulunan (ESR1 tarafından kodlanan) ER'ye bağlanması yoluyla açıkça meme kanserinin bir destekleyicisidir. Hormonlar ergenlik, adet döngüsü ve hamilelik sırasında (organın işlevsel olduğu tek dönem) meme gelişimini uyarır. Adet döngüleri sırasında östrojen ve progesteron arasındaki dengesizlik, hücre çoğalmasını artırır ve DNA hasarı birikimine neden olabilir. İşlemin her döngüde tekrarlanmasıyla, pre-malign ve sonra malign hücrelerde mutasyonlara yol açan kusurlu bir onarım süreci meydana gelebilir. Bu aşamada östrojen, bu hücrelerin büyümesini ve kanser gelişimini destekleyen stromal hücrelerin çoğalmasını uyarır. Ligand bağlanması ile aktive edildiğinde ER, spesifik genlerin promoter bölgesinde yer alan östrojen cevap elemanları ile etkileşime girerek gen ekspresyonunu modüle edebilir. Hücre dışı sinyaller, östrojen yokluğunda ER'nin ekspresyonunu ve aktivasyonunu da uyarabilir. Ayrıca ER, hücre proliferasyonu ve hayatta kalma ile ilgili gen ekspresyonunu artırmak için büyüme faktörü reseptörleri gibi proteinlerle doğrudan etkileşime girebilir. Bu nedenle, tamoksifen gibi östrojenin meme bezi üzerindeki etkilerini bloke eden veya aromataz inhibitörleri gibi östrojen üretimini engelleyen ilaçlar, hormona duyarlı meme kanserinin tedavisinde önemli rollere sahiptir. Meme kanserine yatkınlık genlerinin tanımlanması hem sporadik hem de herediter meme kanserinin patogenezinin bazı yönlerine ışık tutmuştur (Harbeck ve ark, 2019).

1.6.1. Herediter Meme Kanseri

1866'da Paul Broca, meme karsinomu olasılığı yüksek olan bir aileyi tanımlayan ilk kişiydi. Karısı, meme kanserinin erken başlangıcından muzdaripti ve ailesinden bir soy ağacı oluşturduğunda, meme kanseri olan dört nesil tespit edilebildi (Broca, 1866). “Broca” raporu, meme kanserinin bir nesilden diğerine kalıtımla geçebileceğine işaret eden pek çok rapordan ilkidir.

Meme kanseri gelişimi için daha önce de bahsedildiği gibi hormonal, üreme ve menstrüel öykü, yaş, egzersiz eksikliği, alkol, radyasyon, iyi huylu meme hastalığı ve obezite dahil olmak üzere bilinen bir dizi risk faktörü vardır (Yang ve ark, 2011). Ailede meme kanseri öyküsü, artık hastalığın gelişimi için yerleşik bir risk faktörüdür. Aslında, meme kanseri ile nedensel bir ilişki içerdiği gösterilen değişkenler arasında, yaştan sonra

en yüksek artan risk, pozitif aile öyküsüdür (Van der Groep, Van Der Wall & Van Diest, 2011).

Hereditör meme kanserinden sorumlu olan meme kanserine yatkınlık genlerinde germ hattı (sürücü) mutasyonları taşıyan yüksek riskli bireylerde meme kanseri gelişme olasılığı daha yüksektir. Bu hastalar, meme kanseri hastalarının küçük ama önemli bir bölümünü oluşturur. Kalıtsal faktörlerin meme kanseri vakalarının % 27'sine katkıda bulunduğu tahmin edilmiştir ve en az bir birinci derece akrabada meme kanseri varlığı vakaların % 13'ünde belgelenmiştir. Meme kanseri vakalarının yaklaşık % 5-10'u hereditördür ve meme kanseri yatkınlık genlerdeki mutasyonların taşıyıcılarında meydana gelmiştir. Bu genlerde patojenik bir mutasyonun varlığını gösteren birkaç ortak işaret olabilir (Tablo 1.5) (Kleibl & Kristensen, 2016).

Tablo 1.5. Meme kanserine yatkınlık geninde bir germ hattı mutasyonunun varlığını gösteren işaretler. Kleibl & Kristensen (2016)'dan alınmıştır.

Olağandışı meme kanseri görünümü

- Erken hastalık başlangıcı
- Tümör nüksü
- İkili tümör gelişimi
- Erkek meme kanseri gelişimi
- Nadir veya küçük histopatolojik tanıların varlığı (üçlü negatif, medüller veya atipik medüller meme kanseri)
- Erken hastalık başlangıcı, östrojen reseptörü negatif (ER-)

Etkilenen ailelerde meme kanseri kümelenmesi

Çok sayıda kanser (yumurtalık, kolorektal, pankreas kanseri veya melanom dahil olmak üzere meme ve diğer kanserlerin gelişimi)

Meme kanseri için bireysel riskin, etkilenen akraba sayısı ve hastalığın erken yaşta başlamasıyla orantılı olarak arttığı iyi bilinmektedir. Meme kanseri vakalarının yaklaşık % 5-10'u Mendel kalıtım modelini (otozomal dominant) izler ve kalıtsal olarak karakterize edilir. Hereditör meme kanseri vakalarının en az % 30'u *BRCA1* ve *BRCA2*'deki germ hattı mutasyonlarından kaynaklanır. Bununla birlikte, dizileme teknolojilerinin gelişimi, birden fazla genin paralel test edilmesini sağlayarak, meme kanserinde altta yatan nedenlerin eşzamanlı analizine izin vermektedir (Economopoulou, Dimitriadis & Psyrri, 2015).

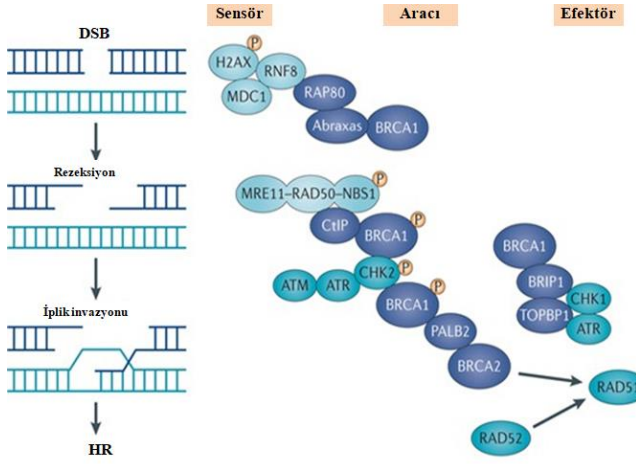
Tüm meme kanseri yatkınlık genleri, yaşamları boyunca meme kanseri geliştiren taşıyıcıların oranıyla belirlenen değişken penetransa sahiptir. Bu genler genellikle sırasıyla

yüksek, orta ve düşük penetranslı gen kategorilerine ayrılır ve bu da mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri gelişiminin göreceli riskini yansıtır. En iyi bilinen grup, meme kanseri riskini dört kattan fazla artıran yüksek penetranslı genlerdir (*BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1*). Bu genlerdeki patojenik mutasyonlar, tüm herediter vakalarının yaklaşık % 25'inden sorumludur. *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonlarının taşıyıcıları, bu grubun % 90'ından fazlasını oluşturur. Hızla büyüyen orta penetrans grubu (örneğin *PALB2*, *ATM* veya *CHEK2* ile temsil edilen) genlerdeki mutasyonlar, meme kanseri riskini iki kattan dört katına çıkarmaktadır. Son olarak, düşük penetranslı gen grubu, meme kanseri gelişme riskini iki kattan daha az artırır. Bu varyantların çoğu, esas olarak çok merkezli genom çapında ilişki çalışmaları (GWAS) ile karakterize edilen sık SNP'lerdir (Kleibl & Kristensen, 2016).

1.7.Meme Kanseri Yatkınlık Genleri

BRCA1 ve BRCA2 genleri

Kromozom 17'de yer alan Meme Kanseri 1 (*BRCA1*) ve kromozom 13'te yer alan Meme Kanseri 2 (*BRCA2*), DNA çift zincir kırıkları (DBS) onarım mekanizmalarında yer alan tümör baskılayıcı genlerdir. Her iki protein de yapısal olarak ilişkisiz olsa da bunlar DBS onarımına katkıda bulunan büyük çoklu protein komplekslerinin anahtar bileşenidir (Şekil 1.9). DBS onarım sistemleri esas olarak homolog rekombinasyon (HR) ve homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ) mekanizmalarının birleşimidir. *BRCA1* doğrudan HR'ye katılır. Deneysel kanıtlar *BRCA1*'in NHEJ onarım sisteminde de rolünü desteklemektedir. Ek olarak, birkaç çalışma, *BRCA1*'in kromatin ve DNA yapısını düzenleyen enzimlerle etkileşimini de öne sürmektedir. *BRCA1*, kontrol noktası seviyesinde DNA onarımı ve hücre döngüsü kontrolünde yer alan moleküllerden oluşan *BRCA1*-İlişkili DNA Gözetim Kompleksi'nin (BASC) bileşiminde yer alır. *BRCA1*'in çok işlevli aktivitelerine rağmen, *BRCA2*'nin birincil işlevi DSB'nin HR yoluyla onarılmasıdır. Spesifik olarak, *BRCA2*, HR için çok önemli olan *RAD51* rekombinazının DSB'ye alınmasına aracılık eder (Bracci ve ark, 2019).



Şekil 1.9. DSB onarımına katkıda bulunan büyük çoklu protein kompleksi bileşenleri. Roy, Chun & Powell (2012)'den alınmıştır.

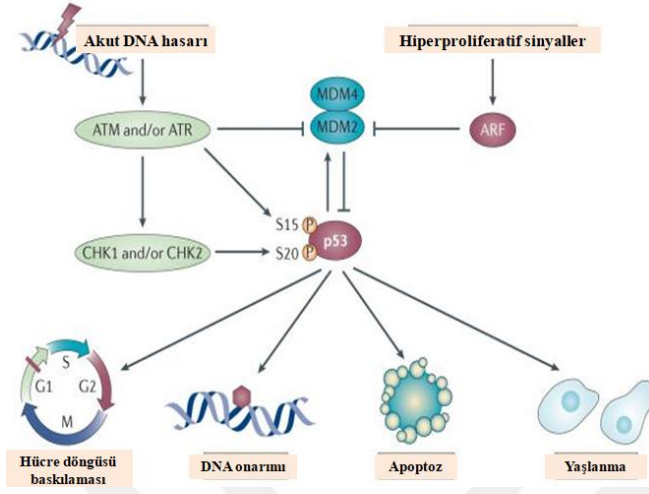
Germ hattındaki *BRCA1* ve *BRCA2* genlerinin mutasyonları, kalıtsal meme ve yumurtalık kanserlerinin yanı sıra prostat ve pankreas tümörlerinin başlangıcı için predispozan nedenlerden biridir. *BRCA1* geninde germ hattı mutasyonu taşıyan bireylerde meme kanseri gelişme riski yaklaşık % 70-80 ve *BRCA2* geni için % 50-60'tır (Bracci ve ark, 2019).

TP53 geni

TP53 geni, kromozom 17p13.1 üzerinde yer alan "genomun koruyucusu" olarak adlandırılan, 12 ekzon içeren çok önemli bir tümör baskılayıcı genidir. Hücrel tümör antijeni *p53* proteini, DNA hasarını takiben bir kontrol noktası düzenleyicisi görevi görür. Ya hasarı onarmak için genleri aktive eder ya da apoptozu başlatır (Schon & Tischkowitz, 2018).

p53, DNA hasarı, hiperproliferatif sinyaller, hipoksi, oksidatif stres, ribonükleotid azalması ve besin açlığı gibi bir dizi farklı strese yanıt olarak geçici ve kalıcı (hücrel yaşlanma) hücre döngüsü baskılanmasını ve apoptozu tetikleyen hücrel bir stres sensörüdür (Şekil 1.10). Bu tür stres sinyallerine yanıt olarak *p53*, negatif düzenleyicileri olan MDM2 ve MDM4'ten ayrılır ve böylece stabilizasyonuna ve aktivasyonuna izin verir. Çok sayıda çalışma, tümör baskılamasında standart *p53* aracılı hücre döngüsü baskılanmasını ve apoptoz yanıtlarını işaret ederken, *p53*'ün son zamanlarda, hücrel metabolizma, kök hücre işlevi, istila ve metastaz gibi ek çeşitli süreçleri ve tümör mikro

ortamı içinde hücre-hücre iletişimini düzenlediği bulunmuştur ve bunlar da tümör baskılanmasına katkıda bulunabilir (Bieging, Mello & Attardi, 2014).



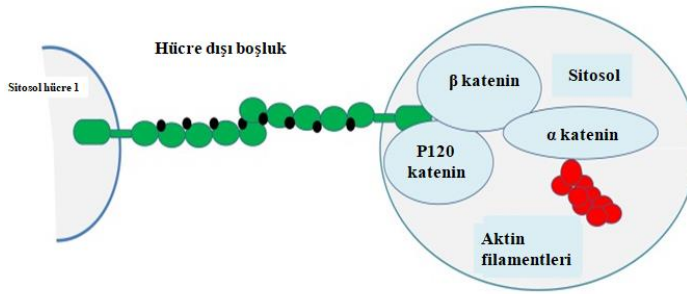
Şekil 1.10. P53 aktivasyonu ve yanıtı. Bieging ve ark. (2014)'den alınmıştır.

Meme kanseri, *p53* genindeki kalıtsal bir mutasyonun neden olduğu kansere yatkın bir durum olan Li-Fraumeni sendromundan (LFS) etkilenen kadınlarda teşhis edilen en yaygın kanserdir. LFS'lu bireylerde yaşam boyu meme kanseri gelişimi riski 60 yaşına kadar % 49'a kadar çıkmaktadır. LFS hastalarında meme tümörleri çoğunlukla duktal karsinomlar veya ER ve PR pozitifliği ve / veya HER2 / Neu pozitifliği ile in situ duktal karsinomlardır (DCIS) (Kleibl & Kristensen, 2016).

CDH1 geni

CDH1 geni kromozom 16q22.1 üzerinde yer alan. 16 ekzona sahip bir tümör baskılayıcı gendir. Bu gen, E-kaderin adı verilen bir proteini kodlar. E-kaderin, işlevi katenin adı verilen başka bir sitozolik protein grubu ile kompleks oluşturarak organize dokular oluşturmak için kalsiyuma bağlı hücre adezyonuna yardımcı olmak olan, kaderin adı verilen yüksek düzeyde korunmuş bir zar geçiş glikoprotein ailesine aittir (Shenoy, 2019).

E-kaderin glikoprotein, sitozolik ve onu köprüleyen bir transmembran alan, beş ardışık tekrardan oluşan hücre dışı kalsiyuma bağımlı alan olmak üzere üç yapısal bölgeden oluşur (Şekil 1.11). Hücre dışı yapı, bitişik hücrelerden homofilik bir kaderin molekülüne bağlanır ve bu yapışma, bir menteşede hareket eden ve alanın bükülmesini önleyen ve sertlik sağlayan kalsiyum iyonlarını gerektirir. E-kaderin proteininin sitoplazmik kuyruğu, hücre iskeleti filamentleri ile aktin, katenin (p120, β -katenin ve α -katenin) adı verilen bir dizi adaptör protein aracılığıyla etkileşime girer. Bu yapı, hücre stabilitesini ve adezyonunu sağlar ve ayrıca bireysel hücre hareketliliğini engeller (Shenoy, 2019).



Şekil 1.11. E-Kaderin-katenin kompleksinin (Adherens Junction) yapısı ve işlevi. Shenoy (2019)'dan alınmıştır.

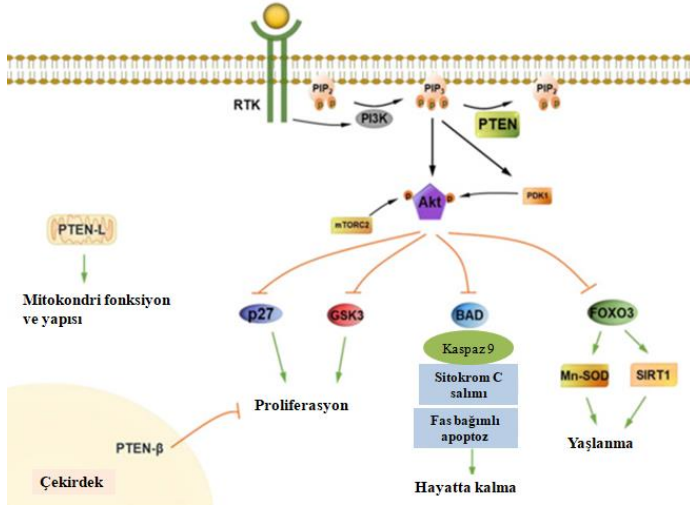
Karsinogenezdeki *CDH1* mutasyonlarının kesin mekanizması araştırılmaya devam etmektedir. E-kaderinin belirli gelişim süreçlerindeki rolü ve karsinogenez sırasındaki işlevi, çeşitli sinyal yollarının karmaşık etkileşiminde gösterilir. E-kaderin-katenin kompleksi, hücre-hücre adezyon mekanizmalarında işlev görür ve ayrıca sinyalleri çekirdeğe ve hücre iskeletine doğrudan veya katenin, *RhoGTPaz*, *NF-kB* ve *EGFR* sinyali gibi adezyondan bağımsız bir şekilde diğer yollarla karmaşık bir etkileşimle iletir. *CDH1* gen mutasyonu ve bununla ilişkili protein E-Kaderin kaybı, hücrenin hücre-hücre adezyon yeteneklerini ve apikal polaritesini kaybettiği EMT (epitel-mezenkimal geçiş) sürecine yol açar. Ek olarak, E-kaderin ve diğer hücreyel yollar arasındaki önemli sinyal etkileşimleri arasında *RTK/EGFR/MAPK*, *P-120/Rho/RAC* ve *P-katenin/WNT* yolları bulunmaktadır. E-kaderin'deki genetik veya epigenetik değişiklikler, epitel hücre-hücre adezyonunda ve hücre yapısında değişikliklere, anormal stromal etkileşimlere ve değişmiş hücre göçüne ve sinyallemesine yol açarak tümör oluşumunu teşvik etmektedir (Shenoy, 2019).

Kalıtısal yaygın mide kanserine yatkınlığı olan ailelerin % 30-40'ında germ hattı *CDHI* mutasyonları tanımlanmıştır. *CDHI* mutasyonlarının kadın taşıyıcıları, 75 yaşına kadar % 52'lik bir kümülatif meme kanseri gelişme riskine sahiptir. 45 yaşından sonra lobüler meme kanseri, *CDHI* mutasyon taşıyıcılarında sık görülen bir meme tümörüdür (Kleibl & Kristensen, 2016).

PTEN geni

PTEN geni kromozom 10q23.3 üzerinde yer alan çift fosfataz aktivitesine sahip 10 ekzonlu bir tümör baskılayıcıdır. Bu gen insan tümörlerinde *p53* geninden sonra ikinci mutasyon oranı yüksek ve fosfataz içeren ilk tümör baskılayıcı genidir. Kanser hücrelerinde tümör geni tarafından üretilen tirozin protein kinazı kontrol ederek protein fosforilasyonunu etkileyebilir (Li ve ark, 2018).

PTEN proteininin lipid fosfatazı, *PI3K / Akt* sinyal yolunun negatif regülasyonu ile protein-serin / treonin kinaz B (Akt) üzerine etki eden fosfatidilinositol 3 kinazın (PI3K) fosforilasyonunu bloke edebilir, hücre proliferasyonuna, büyümesine, hayatta kalmasına ve göçüne aracılık ederek, hücre döngüsünü düzenleyebilir, apoptozu teşvik eder, ayrılmış tümör hücrelerinin yayılmasını engeller (Şekil 1.12). *PTEN* ekspresyonu veya işlevi kaybedilirse, *PI3K / Akt*'nin sürdürülebilir fosforilasyonu sonucunda hücrelerin sürekli bölünmesine, apoptoz gecikmesine ve tümör kan damarlarının ve lenfatik damarların oluşumuna yol açabilir. Protein *PTEN* ayrıca, *RAS* ve hücre dışı düzenleyici kinazın (ERK) mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolundan aktivasyonunu seçici olarak sınırlayabilir ve adaptör proteinin fosforilasyonunu inhibe edebilir, *MAPK / ERK* sinyal yolunu negatif olarak düzenleyebilir, sonuçta hücre büyümesi üzerinde negatif regülasyona sahip olabilir (Şekil 1.12). Bu nedenle, vücut dokularında yaygın olarak bulunan bir *housekeeping* geni olarak *PTEN*, anormal bir şekilde ayrıldığında, mutasyona uğradığında veya eksprese edildiğinde tümörle yakın bir ilişkiye sahiptir (Li ve ark, 2018).



Şekil 1.12. Hücre sinyallemesinin kontrolünde PTEN'in rolü. Zhang ve ark. (2020)'den alınmıştır.

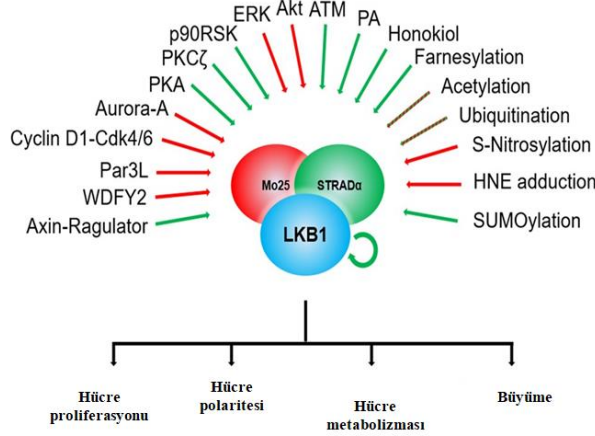
PTEN'deki kalıtsal heterozigot mutasyonlar, meme kanseri riskinde % 25-50 artışla seyrek bir çoklu sistem hastalığı olan Cowden sendromlu bireylerde karakterize edilmiştir. Bununla birlikte, birkaç çalışma yaşam boyu daha yüksek bir risk (% 67-85) ve diğer kanser türleri (displastik serebellar gangliositoma) ile bir ilişki olduğunu da bildirmiştir (Kleibl & Kristensen, 2016).

STK11 geni

Hücre çoğalmasının düzenlenmesi, enerji metabolizması, hücre polaritesi ve göç, sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gereken temel süreçlerdir. Kromozom 19p13.3'te bulunan 10 ekzonlu Karaciğer Kinaz B1 (*STK11* tarafından kodlanan *LKB1*), bir tümör baskılayıcı olarak işlev gören oldukça korunmuş bir serin / treonin kinazdır ve vücudun her yerinde ifade edilir (Kullmann & Krahn, 2018)

LKB1, kompleksin nükleer dışı aktarımını destekleyen ve *LKB1*'in kinaz aktivitesini artıran psödokinaz *STRADA* ve iskelet proteini *MO25* ile üçlü bir kompleks oluşturur. *AMP* ile aktive olan protein kinaz (*AMPK*) ile birlikte *LKB1*, hücrel enerji sensörü görevi görür. Enerji yoksunluğu altında, *mTORC1*, *Acety-CoA karboksilaz* ve *HMG-CoA-Redüktazı* inhibe etmek için *AMPK*'yi fosforile eder, böylece anabolik süreçleri inhibe eder. Ek olarak, *LKB1*, aktivasyon döngüsünde *AMPK* ile ilgili 12 kinazı fosforile eder. *LKB1*, bu kadar çok sayıda kinazı düzenlediği göz önüne alındığında, bir "ana kinaz"

olarak düşünülebilir. *LKB1*, metabolizma ve hücre proliferasyonundaki rolünün ötesinde, *MARK*'leri aktive ederek hücre polaritesinin oluşturulmasında rol oynar, bu da Par kompleksinin oluşumunu düzenler (Şekil 1.13) (Kullmann & Krahn, 2018).



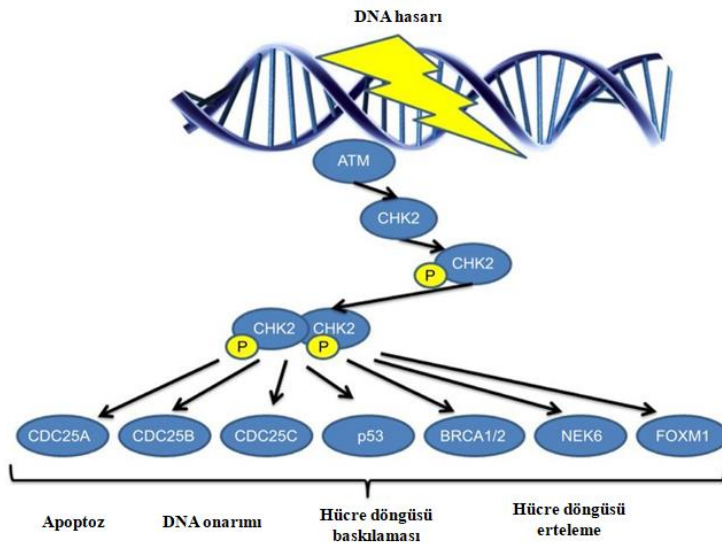
Şekil 1.13. Dört temel işlevinde LKB1 işlevini etkileyen düzenleyici faktörlerin şematik özeti. Kırmızı oklar inhibe edici işlevleri temsil ederken, yeşil oklar LKB1'in bir aktivasyonunu göstermektedir. Kullmann & Krahn (2018)'den alınmıştır.

Bu gendeki zararlı mutasyonlar, intestinal hamartomoz polipler ve mukokutan pigmentasyon ile karakterize Peutz-Jeghers sendromuna neden olur. Ek olarak, 60 yıla kadar yaşam boyu meme kanseri riski % 32-54 olarak bildirilmiştir. Belirgin şekilde yüksek risk taşıyan diğer ilişkili tümörler, gastrointestinal kaynaklı kanserler ve pankreas kanseridir. Dişi taşıyıcılar ayrıca yumurtalık seks kord-stromal tümörleri ve nadir bir serviks tümörü olan adenoma malignum açısından yüksek risk altındadır. *STK11* mutasyonlarının taşıyıcıları, % 85'e kadar herhangi bir kanser için kümülatif yaşam boyu riske sahiptir (Wendt & Margolin, 2019).

CHEK2 geni

İnsan kromozomu 22q12.1'de lokalize olan *CHEK2* geninin protein ürünü olan kontrol noktası kinaz 2 (*CHEK2*, *Chk2*), hücre yolak içinde DNA hasarına yanıt veren ve genomik bütünlüğü koruyan filogenetik olarak korunan bir sinyal bileşenini temsil eder. Bu gen, yaklaşık 50 kilobaz (kb) genomik DNA'yı kapsar ve 14 ekzondan oluşur (Nevanlinna & Bartek, 2006).

CHEK2 geni, Thr68'in *ATM* tarafından fosforilasyonu ile aktive olur, bu da genin dimerizasyonuna ve kinaz aktivitesi kazanmasına neden olur. *CHEK2* daha sonra fosfataz *CDC25*, serin / treonin protein kinaz *NEK6*, transkripsiyon faktörü *FOXM1*, *p53* proteini ve *BRCA1* veya *BRCA2* ile reaksiyona girer. *CHEK2*, DNA hasarına yanıt olarak hücrelerin mitozu girmesini önleyerek veya G1 fazında hücre döngüsünü durdurarak hücre bölünmesini düzenler (Şekil 1.14). Bu nedenle, *CHEK2* hücre döngüsü düzenlemesi için gereklidir ve anormal ekspresyonu kansere yol açabilir. *CHEK2*'nin gen ve / veya protein ekspresyonunun yanı sıra, genomik DNA'daki mutasyonlar, proteininin anormal işleyişiyle ilişkilendirilmiştir. 1100delC, I157T, R117G, I160M, G167R, G167A ve benzerleri dahil olmak üzere *CHEK2* geninde çeşitli varyantlar kaydedilmiştir. Bunlar arasında, 1100delC ve I157T en iyi çalışılanlardır ve kansere karşı risk duyarlılığı ile ilişkilendirilmiştir (Apostolou & Papatirou, 2017).



Şekil 1.14. *CHEK2* yolağı. Apostolou & Papatirou (2017)'den alınmıştır.

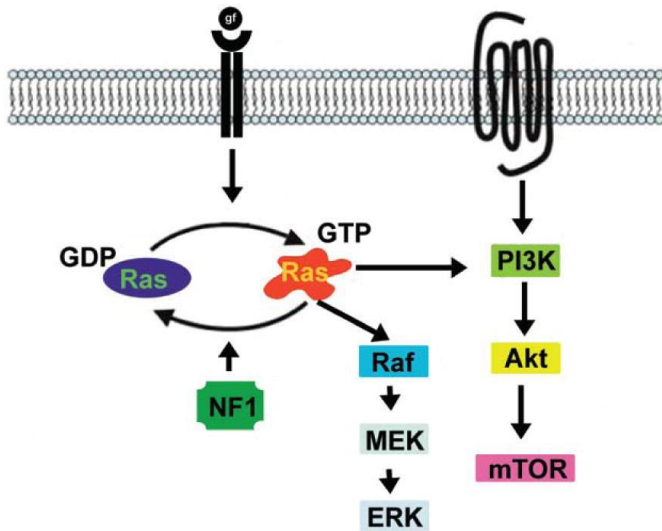
CHEK2 germline mutasyonları, kalıtsal kansere yatkınlıkta rol oynamaktadır. Li-Fraumeni sendromlu hastalarda *CHEK2*'nin farklı mutasyonları tespit edilmiştir. Dahası, bu genin mutasyonları diğer kanser türleriyle (meme, prostat, böbrek, kolon, tiroit) ilişkilendirilmiştir. *CHEK2* mutasyonları meme kanserinde nadir olmakla birlikte, *truncating* (stop kodonu ile sonlanan baz değişimi mutasyonu) mutasyon taşıyıcılarında meme kanseri gelişme riski daha yüksektir. Bu risk, aile öyküsü ile ilişkilidir ve taşıyıcıların etkilenen birinci ve ikinci derece akrabaları olduğunda artar. Etkilenen akrabası olmayan taşıyıcılarda meme kanseri için risk yaklaşık % 20'dir ve hem birinci

hem de ikinci derece akrabalar etkilendiğinde % 44'e kadar yükselir (Apostolou & Papasotiriou, 2017).

NF1 geni

NF1 geni, kromozom 17q11.2'de bulunana bir tümör baskılayıcı gendir. Gen 280 kb'den fazla alanı kaplar ve 62 ekzon içerir. Protein içeren 2818 amino asitlik bir sitoplazmatik olan nörofibromini kodlar. Nörofibromin, kortikal gelişim ve astrosit büyümesinde rol oynadığına inanılan merkezi sinir sisteminin nöronları ve astrositleri dahil olmak üzere farklı dokularda geniş çapta ifade edilir (Helffferich ve ark, 2016).

Nörofibromin, sinyal yollarını etkileyerek farklı hücresel süreçlerde kritik bir rol oynar. İlk olarak, nörofibromin, *ATP*'nin siklik *AMP*'ye dönüşümünü teşvik eder, burada *NF1* gen aktivitesinin olmaması *c-AMP* seviyelerini azaltır. Ayrıca nörofibromin, *GTPaz* aktive edici bir protein (GAP) olarak işlev görerek, *GTP*'ye bağlı *RAS*'ın *GDP*'ye bağlı formuna dönüşümünü artırarak *RAS*'ın negatif bir düzenleyicisi olarak işlev görür. Nörofibromin kaybı, *RAS* aktivitesini artırır ve *MEK-ERK* yolunun yanı sıra *PI3K-Akt-mTOR* yolunun aktivitesini indükler. Bu sinyal yolları aracılığıyla nörofibromin, hücre büyümesinin ve çoğalmasının negatif bir düzenleyicisi olarak işlev görür (Şekil 1.15) (Helffferich ve ark, 2016).



Şekil 1.15. NF1 tümörögenizde yer alan sinyal iletim yolları. Gottfried, Viskochil & Couldwell (2010)'dan alınmıştır.

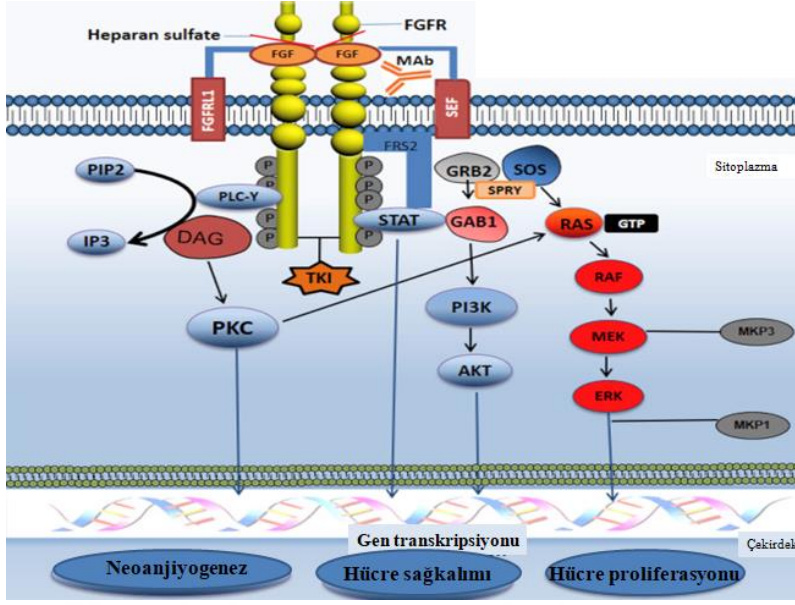
NF1 genindeki patojenik varyantlar, cilt pigmentasyonu ve sinir sistemi tümörleri ile karakterize, çok değişken bir fenotipe sahip, otozomal dominant bir kanser sendromu olan Nörofibromatozis tip 1'e neden olur. Nüfus temelli bir kohort ile Finlandiya'da yapılan bir araştırmada, % 59,6 oranında yaşam boyu kanser riski bulunmuştur. Yüksek meme kanseri riski orta düzeydedir, ancak 40 yaşın altındaki kadınlarda oldukça yüksektir (Wendt & Margolin, 2019).

1.8.Meme Kanserinde Diğer Kanser Genleri

FGFR genleri

Fibroblast büyüme faktörleri (FGF) ve reseptörleri (FGFR), embriyonik gelişim, farklılaşma, proliferasyon, hayatta kalma, göç ve anjiyogenez gibi çok çeşitli fizyolojik hücresel süreçleri düzenler. *FGFR*'ler, üç hücre dışı immüoglobulin benzeri alan ve bir hücre içi ayrılmış tirozin kinaz alanından oluşan transmembran, reseptör tirozin kinazlardır (RTK). 22 fonksiyonel olarak farklı ligandı kodlayan çoklu fibroblast büyüme faktörü (FGF) genlerinin aksine, sadece dört farklı *FGFR* (FGFR1–4) bilinmektedir. Bununla birlikte, *FGFR1–3*'ün alternatif ekleme olayları, önemli olarak değişken bir FGF-bağlanma spesifitesi sunan çoklu izoformların oluşmasına izin vermektedir (Touat, Ileana, Postel-Vinay, André & Soria, 2015).

FGF'ler, onları proteaz aracılı bozunmadan koruyarak *FGF-FGFR* etkileşimini stabilize eden, hücre dışı matris ve hücre yüzeyi ile heparan sülfat proteoglikanlar (HPSG) tarafından kolayca sekestre edilen salgılanmış glikoproteinlerdir. Bir *FGF*'nin bir *FGFR*'ye bağlanması, reseptör dimerizasyonuna ve tirozin kinaz alanlarının transfosforilasyonuna yol açar (Touat ve ark, 2015) ve çeşitli aşağı akış proteinleriyle ve ayrıca MAPK, PI3K – AKT, DAG – PKC, JAK – STAT gibi çeşitli transdüksiyon yollarıyla birleşir. Aktive edilmiş *FGFR*'ler, *Cbl* aracılı monoubikülitasyon veya *LIS1 / NDE1* kompleksi tarafından kısmen kontrol edilen lizozomal degradasyona veya geri dönüşüm sürecine maruz kaldıkları sitoplazmaya lokalize olur. *FGFR* sinyali, *MAPK* fosfataz 3, Sprouty proteinleri ve *SeF* aile üyeleri tarafından negatif olarak düzenlenebilir (Şekil 1.16). Aktive reseptörlerin aşağı regülasyonu, değişen sinyalleşmeyi önlemek için önemli bir süreç olduğundan, hatalı bir *FGFR* ubiquitinasyon sistemindeki bir hata, anormal hücre büyümesini ve tümör oluşumunu indükleyebilir (Santolla & Maggolini, 2020).



Şekil 1.16. Meme kanserinde FGF / FGFR sinyalleme. Perez-Garcia, Muñoz-Couselo, Soberino, Racca & Cortes (2018)'den alınmıştır.

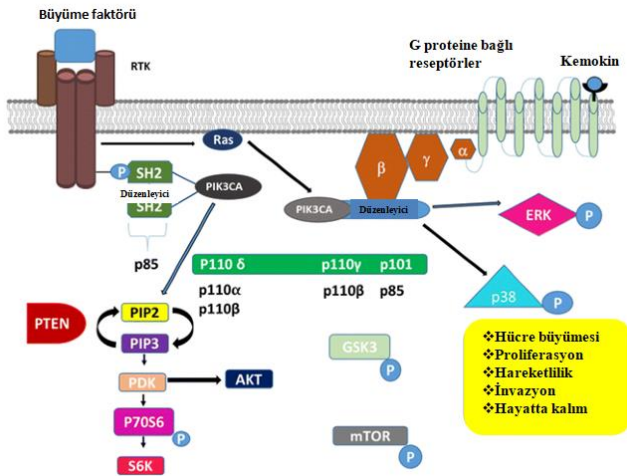
Anormal *FGFR* sinyali: (i) somatik moleküler değişikliklerin edinilmesinin doğrudan kanser hücresi çoğalmasını ve hayatta kalmasını uyardığı "sürücü mutasyonlar"; (ii) neojenizasyon; ve (iii) antikanser maddelere direnç olmak üzere üç ana durumda karsinogeneze katkıda bulunur. 210 farklı maligniteden alınan 1000'den fazla ekzon mutasyonunun protein kinaz genlerinin taranması, *FGFR* sinyal yolunu en yaygın mutasyona uğramış tirozin kinaz sinyal yolu olarak tanımlamıştır. *FGFR*'lerdeki mutasyonların aktive edilmesi: (i) kinaz alanının artırılmış aktivasyonu; (ii) reseptörlerin ligandan bağımsız dimerizasyonu; ve (iii) FGF ligandları için değişen afinite dahil olmak üzere birçok mekanizma yoluyla anormal *FGFR* sinyalleşmesine neden olabilir (Touat ve ark, 2015).

FGFR genlerinin amplifikasyonu ilk olarak 1990'ların başında insan meme kanseri örneklerinde belgelenmiştir. Gen amplifikasyonuna ek olarak, hem ligandların hem de reseptörlerin artan protein ekspresyonu, tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) ve *FGFR*'lerdeki mutasyonlar, insan meme kanserinde tanımlanmıştır. *FGFR1* genini içeren kromozom 8p12'deki bir bölgenin amplifikasyonu, çalışmaya bağlı olarak % 8,7 ila % 22,8 aralığında insan meme kanserlerinin yaklaşık % 10'unda tanımlanmıştır ve azalmış metastazsız sağkalım ile ilişkilidir. İlginç bir şekilde, geniş ölçekli genom çapında ilişki çalışmaları, yüksek meme kanseri yatkınlığı ile bağlantılı olan *FGFR2* geninin intron

2'sindeki SNP'leri spesifik olarak tanımlamıştır. Daha ileri çalışmalar, *FGFR2*'deki SNP'lerin risk aleli için homozigot olan hastaların meme tümörlerinde artmış *FGFR2* ekspresyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Brady, Chuntova, Bade & Schwertfeger, 2013).

PIK3CA geni

PIK3CA geni, kromozom 3q26.32'de bulunan 23 ekzonlu bir gendir. *IK3CA* alt birimleri, bir *RAS* bağlanma alanı, bir *NH2*-terminal alan, katalitik lipid kinaz alan ve düzenleyici alt birim ile etkileşime giren sarmal alan olmak üzere birkaç modüler alandan oluşur. *PIK3CA* geni, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) adı verilen bir enzimin alt biriminden biri olan p110 alfa (p110 α) proteinini yapmak için talimatlar sağlar. P110 α proteini, katalitik alt birim olarak adlandırılır, *PI3K*'yi aktive ederken, sarmal alt birim (farklı bir gen tarafından üretilen) enzim aktivitesini düzenler. *PIK3CA*, geniş bir tümör spektrumunda mutasyona uğramış veya amplifiye edilmiştir (Dirican, Akkiprik & Özer, 2016).



Şekil 1.17. Reseptör tirozin kinazlar ve G proteini yoluyla PI3K sinyal yolu. Dirican ve ark. (2016)'dan alınmıştır.

PI3K aktivasyonu, hücre hayatta kalması, proliferasyonu, farklılaşması ve göçü için kritiktir. *PI3K*'ler, tirozin kinazlar ve G-protein bağlı reseptörler (EGF, IGF, FGF veya PDGF) aracılığıyla sinyal iletiminde görevli lipid kinazlar ailesidir. Bu reseptörler en sık kanserlerde rol oynamaktadır. Ayrıca, fosforile edilmiş sinyal proteinleri, p85 (a ve β)

düzenleyici alt birimleri içeren *sınıf 1A PI3K* aracılığıyla sinyal iletir (Şekil 1.17). Bu izoformlar sırasıyla *PIK3R1*, *PIK3R2* ve *PIK3R3* genleri tarafından kodlanır. *p110* (α , β ve δ) ise katalitik alt birimlerdir ve sırasıyla *PIK3CA*, *PIK3CB* ve *PIK3CD* genleri tarafından kodlanır. *PI3K*, meme kanserindeki en yaygın mutasyona uğrayan yolak ve *PI3K p110 α* (*PIK3CA*) ve *p110 β* (*PIK3CB*) katalitik alt birim kodlama genleridir (Dirican ve ark, 2016).

PI3K yolunda, *p85* doğrudan veya adaptör proteinleri aracılığıyla *RTK*'lerle etkileşime girer. Bu etkileşim *PI3K*'yi etkinleştirir. *RTK*'ler, daha sonra *ERK*, *MAPK*, *AKT* ve *mTOR* yollarını etkinleştiren *RAS*'ı aktifleştirir. Böylece, *p85*'in *p110* üzerindeki inhibitör etkisi hücre zarı üzerinde iptal edilir. Hemen, *PI3K* bir kinaz görevi görür. *PI3K*, *PIP2*'nin *PIP3*'e dönüşümünü katalize eder. *PIP3*, *PDK* ve *S6*'yı etkinleştirir. *AKT* sinyali, artan hücre büyümesi, proliferasyonu ve hareketliliğiyle sonuçlanır. Ayrıca anti-apoptotik bir role sahiptir. *PI3K*, *PTEN* tarafından antagonize edilir. Çünkü *PTEN*, *PIP3*'ün *PIP2*'ye değişimini katalize eder (Şekil 1.17) (Dirican ve ark, 2016).

PI3K'nin aktivasyonunun başka bir yolu: G-protein-bağlı reseptörler (*GPCR*'ler), *p101* düzenleyici ve *p110 γ* katalitik alt birimlerini içeren *sınıf 1B PI3K* aracılığıyla sinyal iletir. Hiperaktif *p85*, *p110* üzerindeki inhibitör etkileri ortadan kaldırır. *PIP2* aktive edildiğinde, *PIP2*'nin *PIP3*'e fosforilasyonunu katalize eder ve *AKT* sinyalini başlatır. Daha sonra, Akt'nin fosforilasyonu, hücrede birkaç hedef proteinin yeniden aktivasyonuna izin verir. Ayrıca, *sınıf 1B PI3K* yedi transmembran alan reseptörü (serpantin reseptörü), kemokin reseptörü ve heterotrimerik G proteinleri, *G α* ve *G $\beta\gamma$* yoluyla sinyal iletir. Hücre göçünü indüklemek için önemlidirler. Ayrıca, *GPCR* ligasyonu *G $\beta\gamma$* dimeri ayırır, *p101* düzenleyici alt birimlerine bağlanmasına ve ardından ilişkili *p110 γ* katalitik alt birimlerinin aktivasyonuna izin verir (Dirican ve ark, 2016).

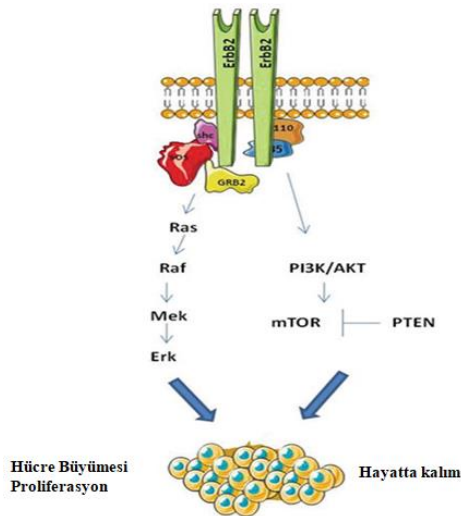
PIK3CA'daki yanlış anlamlı mutasyonlar genellikle çeşitli meme kanseri türlerinde bulunur. Onkogenik mutasyonların ana sıcak noktaları, enzimin kinaz ve sarmal alanlarını kodlayan ve bu proteinin aşırı aktivasyonu ile sonuçlanan ekzon 9 ve 20'dir. Meme kanserindeki *PIK3CA* mutasyonları başlangıçta Samuels ve ark. tarafından keşfedilmiştir. Çalışmalarında, 12 hastadan sadece birinde *PIK3CA* mutasyonu bulmuşlardır (Samuels ve ark, 2004). Bu rapor, diğer araştırma gruplarını meme kanserlerinde *PIK3CA*'nın mutasyonel analizini kapsamlı bir şekilde yürütmeleri için teşvik etmiştir. Çok kısa bir süre içinde, *PIK3CA*'da birkaç mutasyon keşfedilmiş ve bu da onu meme kanserinde en sık

mutasyona uğramış onkogen yapmıştır. Artık *PIK3CA* mutasyonlarının tüm insan meme kanserlerinin % 20-30'unda bulunduğu düşünülmektedir (Alqahtani, Ayesh & Halawani, 2020).

ERBB2 geni

HER2 / neu olarak da adlandırılan *ERBB2* onkogeni, kromozom 17q12 üzerinde yer alır ve 35 ekzondan oluşur. Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ile yakından ilişkili olan tirozin kinaz aktivitesine sahip bir trans-membran glikoproteini (p185) kodlar. Bu proteinler, *ERBB3* (HER3) ve *ERBB4* (HER4) tarafından kodlananlarla birlikte tip I büyüme faktörü reseptör gen ailesini oluşturur (Revillion, Bonnetterre & Peyrat, 1998).

ERBB2 reseptör aktivasyonu üzerine, ligand bağlı *EGFR*, *ERBB3* veya *ERBB4* ailesi reseptörleri ile heterodimerizasyon veya ligandan bağımsız homodimerizasyon yoluyla gen amplifikasyonuna bağlı olarak *ERBB2*'nin aşırı ekspresyonu varlığında aşağı akış sinyal yolları aktive edilir. Homo / heterodimerizasyon, daha sonra C-terminal kalıntılarının tirozin fosforilasyonuna yol açan reseptör aktivasyonunu destekler. *ERBB2*'nin sitoplazmik alanı içinde çok sayıda fosforilasyon alanı mevcuttur, bu alanlar protein-protein etkileşimleri ve *ERBB2* reseptör aktivasyonuna doğru aşağı akış sinyalleme kaskadlarının induksiyonu için gereklidir. Bu bağlamda, *PI3K* ve *Ras / RAF / MEK / ERK1 / 2* yollarının aktivasyonu, *ERBB2* aktivasyonunun ayırt edici özellikleridir (Şekil 1.18) (del Pilar Camacho-Leal, Sciortino & Cabodi, 2017).

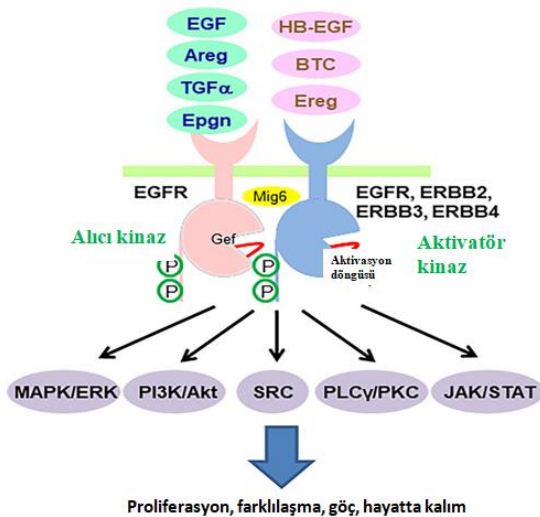


Şekil 1.18. ERBB2 sinyal yolu. del Pilar Camacho-Leal ve ark. (2017)'den alınmıştır.

ERBB2 somatik mutasyonları, meme kanseri hastalarının yaklaşık % 4'ünde mevcuttur. ER-pozitif alt tipin yaklaşık % 15'ini oluşturan invazif lobüler meme kanserinde *ERBB2* mutasyonlarının prevalansı daha yüksektir (cBioPortal üzerinde mevcut en büyük üç çalışma dahil yaklaşık % 10) (Cocco, Lopez, Santin & Scaltriti, 2019).

EGFR geni

İnsan *EGFR* ailesi, hücre dışı bir ligand bağlanma alanı ve bir hücre içi reseptör tirozin kinaz alanı içeren transmembran glikoproteinler olan yakından ilişkili 4 reseptörü içerir. *EGFR* reseptörleri tarafından aktive edilen ana sinyal yollarına *PI3K*, *Ras-Raf-MAPK*, *JNK* ve *PLC γ* aracılık eder ve bol miktarda biyolojik fonksiyonla sonuçlanır (Şekil 1.19). Hücre düzeyinde, ligandlar sadece hücre proliferasyonunu indüklemekle kalmaz, aynı zamanda adezyon ve hareketliliği değiştirir ve apoptoza karşı korur; fizyolojik düzeyde ligandlar invazyonu ve anjiyogenezi destekler. *EGFR* ailesinin üyelerinin aktivasyonu, hücre polarizasyonunun kaybı ve epitelyal farklılaşmanın diğer özellikleriyle ilişkili olan 3 boyutlu kültürde meme epitel hücrelerinin yayılmasını ve invazyonunu teşvik eder. In vitro olarak, bu etkilerden herhangi biri kötü huylu fenotipe katkıda bulunabilir. *EGFR* yolaklarının aşırı ekspresyon veya yapısal aktivasyonla düzensizliği, anjiyogenez ve metastaz dahil tümör süreçlerini destekleyebilir ve birçok insan malignitesinde kötü prognoz ile ilişkilidir (Masuda ve ark, 2012).

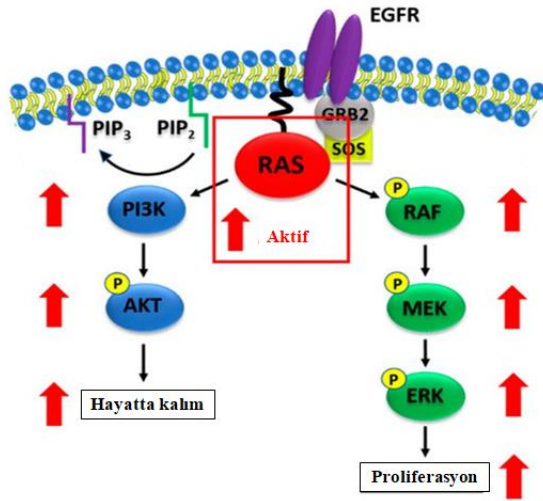


Şekil 1.19. EGFR homo ve heterodimerizasyonu ve sinyal iletim yolları. Qin & Beier (2019)'dan alınmıştır.

Meme kanserinde aşırı *EGFR* ekspresyonu, büyük tümör boyutu, kötü farklılaşma ve kötü klinik sonuçlar ile ilişkilidir. Hem *EGFR* hem de *ERBB2*'nin ekspresyonunun östrojen reseptör (ER) durumu ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir ve *EGFR-ERBB2* heterodimerlerinin meme kanseri hücre hatlarının metastatik potansiyelini artırdığı gösterilmiştir. *EGFR*'nin aşırı ekspresyon oranı özellikle üçlü negatif meme kanserinde yüksektir. Bu nedenle *EGFR*, hali hazırda özel hedefli tedavilerin olmadığı üçlü negatif kanserde terapötik bir hedef olma potansiyeline sahiptir. *EGFR* aşırı ekspresyonunun bir mekanizması, merkezi sinir sistemi tümörlerinde ve akciğer kanserinde gösterilen ancak meme kanserinde nadir olan *EGFR* mutasyonlarının aktive edilmesidir (Masuda ve ark, 2012).

HRAS, KRAS ve NRAS genleri

Ras proteinleri, hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve hayatta kalmasını kontrol eden sinyal yollarını aktive eder. Bunlar, önemli dizi homolojisini ve büyük ölçüde örtüşen işlevleri paylaşan, her yerde bulunabilen üç gen, *HRAS*, *KRAS* ve *NRAS* tarafından kodlanırlar. Bu genler sırasıyla kromozom 11p15.5 (7 ekzon), kromozom 12p12.1 (6 ekzon) ve kromozom 1p13.2 (7 ekzon) bölgelerinde bulunurlar. Ras proteinleri, inaktif *GDP*'ye bağlı konformasyon ile aktif *GTP*'ye bağlı konformasyon arasında döngü halindedir. Aktivasyon, guanin nükleotid değişim faktörleri (GEF'ler) tarafından kolaylaştırılır ve inaktive edici *GTP* hidrolizi, *GTPaz* aktive edici proteinler (GAP'ler) tarafından arttırılır. Ras aktivasyonu, 10 efektör ailesinden 20'den fazla farklı proteinle etkileşime izin veren konformasyonel bir değişikliğe neden olur. Bunlarda kanser ve terapötik açıdan yoğun şekilde incelenen *RAF* ve *PtdIns-3 kinaz* aileleri olmuştur. Aktive edilmiş Ras, efektör proteinleri, aşağı akış yollarını kontrol etmek için gerekli proteinler ve lipidlerle etkileşime girebilecekleri plazma membranı sinyal nanokümeleriyle birleşirler (Şekil 1.20). Proteini yapısal olarak aktif kılan Ras mutasyonları kanserde yaygın olarak gözlemlenir; bununla birlikte, her Ras geni ve kanser türü ile ilişkili mutasyon sıklıklarında farklılıklar mevcuttur (Prior, Hood & Hartley, 2020).



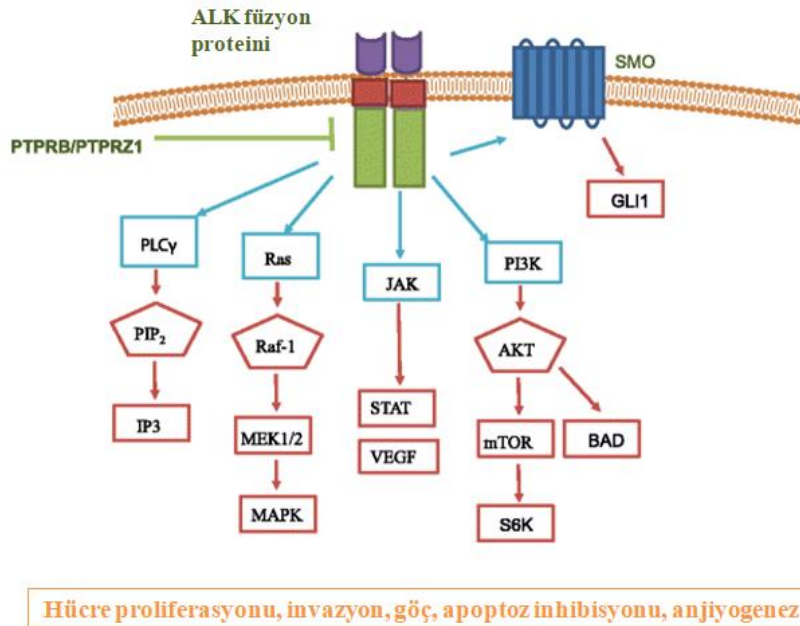
Şekil 1.20. RAS aktivasyonu. Mattox ve ark. (2020)'den alınmıştır.

İnsan kanserlerinin % 25'i, *RAS* genlerinin en az birinde hatalı işlev kazanımı mutasyonları sergiler. Tüm *RAS* izoformları eşit olarak mutasyona uğramaz ve *KRAS* en yüksek frekansı göstermektedir. Ayrıca, spesifik *RAS* izoformlarının mutasyonları, farklı tümör tipleri için belirgin tercihler ve klinik sonuç üzerinde farklı etkiler sergilemektedir (Galiè, 2019). Meme kanserinde *RAS* mutasyonunun prevalansı % 7 ile % 12 arasındadır. Neoadjuvan siklofosamid ve doksorubisin kemoterapisi alan hastalarda, luminal A tümörlerinin % 2'sinde, lüminal B'nin % 20'sinde, HER2 aşırı ekspresyonunun % 17,4'ünde ve üçlü negatif tümörlerin % 7,7'sinde *KRAS* mutasyonu bulunmuştur. *KRAS* mutasyonu, bazal benzeri tümörlerin metastazında kritik öneme sahiptir. *KRAS* mutasyonlu meme kanserleri, daha kötü prognozla ilişkilidir. Meme kanserinde *NRAS* mutasyonları da vakaların % 5'inde bulunabilmektedir (Kodaz ve ark, 2017).

ALK geni

Anaplastik lenfoma kinaz (ALK), lökosit tirozin kinaz (LTK) ile yüksek derecede homoloji paylaşan insülin reseptör ailesine ait bir reseptör tirozin kinazdır. *ALK*, 2p23 kromozomal bölgede bulunan 29 ekzonlu bir gendir. *ALK* proteini, 1030 aminoasit (aa), bir transmembran alan (28 aa) ve bir hücre içi tirozin kinaz alan (561 aa) içeren hücre dışı ligand bağlama alanına sahip klasik bir reseptör tirozin kinazdır. Kinaz alanı, aynı ailenin diğer kinazlarıyla, aktivasyon döngüsünde bulunan ve kinaz aktivitesinin ana otofosforilasyon bölgesini temsil eden 3-tirozin motifini (Tyr1278, Tyr1282 ve Tyr1283) paylaşır. *ALK*, yalnızca ligandla indüklenen homo-dimerizasyon üzerine aktive olur ve

ligand yokluğunda reseptör protein tirozin fosfataz beta ve zeta kompleksi (PTPRB / PTPRZ1) tarafından de-fosforilasyon yoluyla inaktive edilir. *ALK*, hücre büyümesini, dönüşümü ve anti-apoptotik sinyali etkileyen *fosfolipaz C γ*, *JAK-STAT*, *PI3K-AKT*, *mTOR*, *sonik kirpi (SMO ve GLI)* ve *MAPK* sinyallemesi dahil olmak üzere birçok yolu aktive eder (Şekil 1.21) (Della Corte ve ark, 2018).

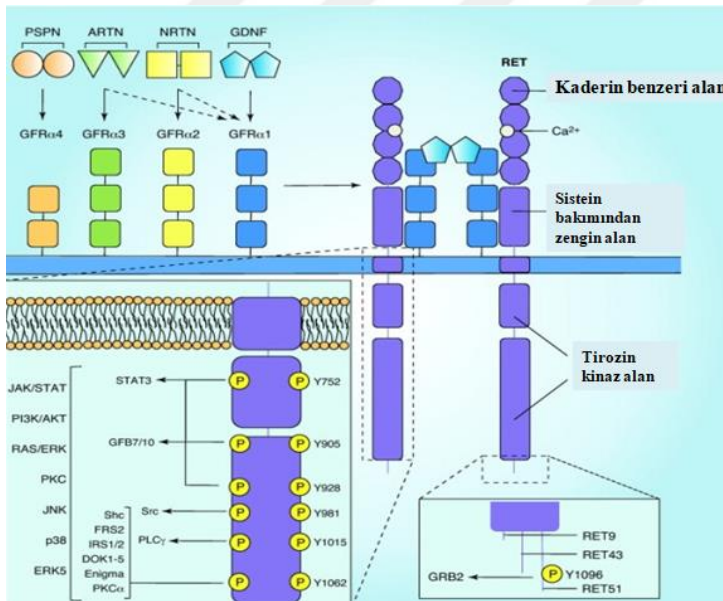


Şekil 1.21. ALK sinyal yolu. Della Corte ve ark. (2018)'den alınmıştır.

ALK, ilk olarak anaplastik büyük hücreli lenfoma (ALCL) hastalarının bir alt grubunda, füzyon ortağı şeklinde nükleofozmin ile kromozomal yeniden düzenlemenin parçası olarak tanımlanmıştır. *ALK*'nın, çeşitli kanserlerin patogenezindeki rolünü gösteren *KIF5B*, *NPM1*, *RET*, *ROS*, *VCL*, *TFG*, *EML4* ve *MYH9* gibi diğer füzyon ortakları ile translokasyonu olduğu bildirilmiştir. Füzyondan kaynaklanan kimerik protein, yapısal olarak aktive edilmiş *ALK* tirozin kinaza yol açmaktadır. *ALK* inhibisyonunun, fare modellerinde meme kanseri hücre hatlarının ve ayrıca tümör ksenograftlarının büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Artmış *ALK* kopya sayısı, gen amplifikasyonu ve translokasyon gibi *ALK* değişikliklerinin, meme kanserlerinin en agresif alt tipleri olarak kabul edilen inflamatuvar meme kanserinin % 80'inde ve üçlü negatif meme kanserlerinin % 25'inde mevcut olduğu gösterilmiştir (Siraj ve ark, 2015).

RET geni

RET geni, kromozom 10q11.2 üzerinde bulunur ve 20 ekzon içerir. *RET* proteini, dört kaderin benzeri alan içeren hücre dışı bölge ve sistein açısından zengin bir bölge, tek bir membran kapsayan bölge ve bir tirozin kinaz alanı içeren hücre içi bölge içerir (Şekil 1.22). *RET*, dimerize edilmiş *RET* reseptörü, iki ortak reseptör molekülü ve bir bağlı ligand içeren bir makromoleküler reseptör kompleksinin ortak sinyal elementidir. Glial türetilmiş nörotrofik faktör (*GDNF*) ailesi ligandları, *GDNF*, *neurturin* (*NRTN*), *artemin* (*ARTN*) ve *persefin* (*PSPN*) içerir; bunlar, dört glikosil fosfatidilinositol (*GPI*) ankrajlı *GDNF* ailesi α -reseptörlerinden (*GFR α*) biri ile birlikte *RET*'e bağlanır. *GDNF* esas olarak *GFR α 1* ile birleşirken, *NRTN*, *ARTN* ve *PSPN* tercihi olarak sırasıyla *GFR α 2*, *GFR α 3* ve *GFR α 4* ile birlikte *RET*'e bağlanır. Karşılık gelen *GFR α* ko-reseptörüne bağlanan ligand, *RET* dimerizasyonunu ve ardından hücre içi tirozinlerin trans-fosforilasyonunu tetikler, hücre hayatta kalmayı, farklılaşmayı göç, kemotaksis ve proliferasyonu düzenlemede çok önemli bir role sahip olan farklı hücre içi sinyal kaskadlarının (Şekil 1.22) aktivasyonuna yol açar (Morandi, Plaza-Menacho & Isacke, 2011).



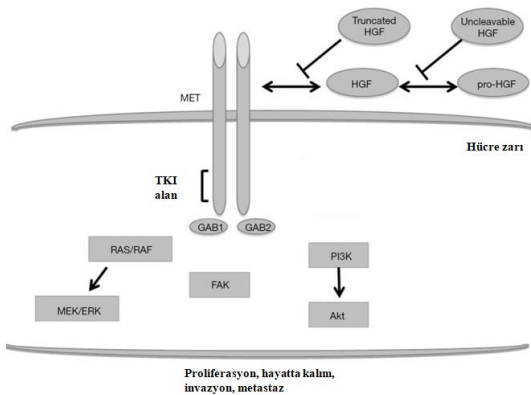
Şekil 1.22. RET işlevsel alanları ve sinyalizasyonu. Morandi ve ark. (2011)'den alınmıştır.

Kanserde, *RET* sinyalinin aktivasyonunun çeşitli tümör hücre tiplerinde proliferasyonu, kanser progresyonunu ve metastazı teşvik ettiği gösterilmiştir. *RET* genomik değişiklikleri meme kanserinde yeni tanımlanmış olmasına rağmen, bağımsız

çalışmalardan elde edilen sonuçlar *RET* aşırı ekspresyonunun meme kanseri patogeneğinde ve tedavi yanıtında anahtar bir işlev oynadığını göstermektedir. Ek NGS platformlarının kullanımı meme kanserinde *RET* geni yeniden düzenlemelerini ortaya çıkarmıştır, ancak mevcut veriler değişikliklerin nadir olduğunu göstermektedir (Gattelli, Hynes, Schor & Vallone, 2020).

MET geni

Mezenkimal-epitelyal geçiş (MET) faktörü onkogeni, kromozom 7q31.2'de bulunan 24 ekzonlu gendir ve hepatosit büyüme faktörünün (HGF) dimerik tirozin kinaz reseptörünü kodlar. *MET*e bağlanan ligand, reseptör kinaz alanının dimerizasyonunu ve sitoplazmik oto-fosforilasyonunu indükleyerek, Şekil 1.23'te gösterildiği gibi istilacı hücre programlarında yer alan bir hücre içi sinyalleme zincirini destekler. Normal dokuda *MET* tarafından düzenlenen yollar, embriyogenez, anjiyogenez, hücre büyümesi ve yara iyileşmesi dahil olmak üzere kritik fizyolojik işlevler için anahtar bir role sahiptir. *HGF / MET* kompleksinin aktivasyonu, kanserin başlaması ve ilerlemesi için ilgili bir süreç olarak tanımlanmıştır, bu da invazivlik, hayatta kalma, neo-anjiyogenez, hücre göçü ve metastatik yayılmaya yol açar. *MET*, kanserde sıklıkla düzensizdir ve ana mekanizmalar, gen amplifikasyonu veya artmış kopya sayısı (GCN), kalıtsal veya somatik mutasyon, reseptör aşırı ekspresyonunu içerir. Bu durumlarda, anormal *HGF / MET* sinyal yolu, yüksek ilerleme riski ve kötü sonuç ile karakterize agresif fenotip sağlar. Ek olarak, *MET* deregülasyonu genellikle hedeflenen ajanlara karşı kazanılmış dirençle ilgilidir (Minuti & Landi, 2015).



Şekil 1.23. HGF / MET sinyal yolu. MET, mezenkimal-epitel geçiş faktörü; HGF, hepatosit büyüme faktörü. Minuti & Landi (2015)'den alınmıştır.

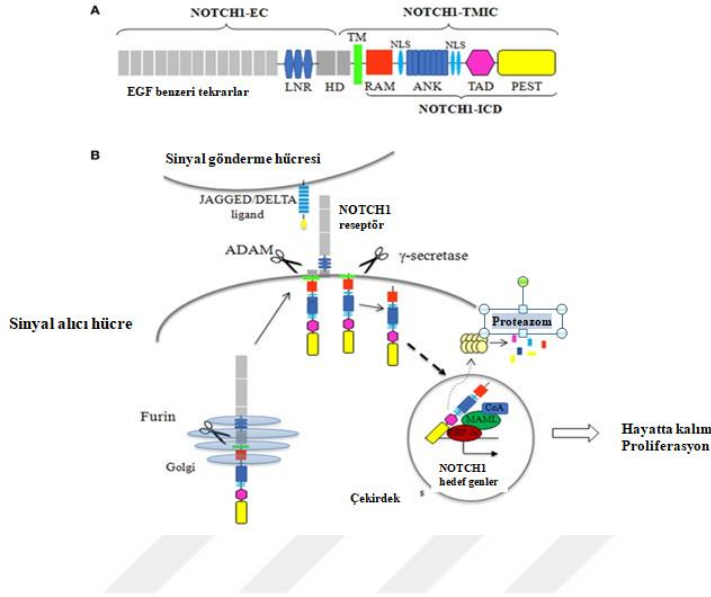
Meme kanserinde, prelinik ve klinik alışmalar, *MET* deregölasyonunun karsinogenez ve agresif fenotiplerin gelişimi üzerindeki rolünü vurgulamıştır. Dahası, neoplastik lezyon ve komşu normal doku arasındaki *MET* ekspresyonundaki bir dengesizlik, in situ duktal karsinomun (DCIS) agresif davranışı ile ilişkilidir. Tüm meme kanserliler arasında *MET*, vakaların en az % 20-30'unda fazla ifade edilir. Bununla birlikte, *HGF / MET* kompleksinin yukarı regölasyonu, histolojik alt tipten bağımsız olarak, kötü sonuç ve agresifliğin güçlü ve bağımsız bir öngörücüsünü temsil eder. Mevcut veriler, *MET* mutasyonu veya amplifikasyonu gibi moleküler olayların primer meme tümörlerinde nadir olduğunu göstermektedir. Son olarak, ileri evre hastalıkta *MET* deregölasyonu, kanserin ilerlemesinde ve trastuzumab dahil hedef ajanlara karşı kazanılmış direncin gelişmesinde kritik bir rol oynamaktadır (Minuti & Landi, 2015).

NOTCH 1 geni

NOTCH1, tek geçişli bir transmembran heterodimerik reseptördür. Kromozom 9q34.3 üzerinde bulunur ve 34 ekzondan oluşur. Golgi aygıtında furin benzeri bir konvertaz tarafından proteolitik bölünmeye maruz kalan tek bir öncü olarak sentezlenir. Hücre yüzeyinde ifade edilen olgun reseptör, kovalent olmayan etkileşimlerle bir arada tutulan bir N-terminal hücre dışı alt birim (*NOTCH1-EC*) ve bir C-terminal transmembran ve hücre içi alt birimden (*NOTCH1-TMIC*) oluşur. *NOTCH1-EC*, ligand bağlanmasında rol oynayan epidermal büyüme faktörü benzeri bir dizi tekrar ve reseptörün ligandan bağımsız aktivasyonunu önleyerek heterodimerizasyon alanını (HD) stabilize eden üç *LIN-12 / NOTCH* tekrarını içerir. *NOTCH1-TMIC*, bir transmembran bölgesini takiben *NOTCH1* hücre içi alanını (ICD) (*NOTCH1-ICD*) oluşturan farklı sitoplazmik alanlardan oluşur. *NOTCH1-ICD*, *RBPJ* ile ilişkili molekül alan, nükleer lokalizasyon sinyalleri, transaktivasyon alan (TAD) ve aktif *NOTCH1-ICD*'nin stabilitesini ve proteazomal bozunmasını düzenleyen prolin (P), glutamik asit (E), serin (S) ve treonin (T) açısından zengin bir bölge olan C-terminal *PEST* alanı ile çevrili bir dizi ankirin (ANK) tekrarı içerir (Şekil 1.24A) (Rosati ve ark, 2018).

NOTCH1 sinyali, bitişik bir hücre üzerinde ifade edilen *SERRATE / JAGGED* veya *DELTA* ailelerinden bir ligand reseptöre bağlandığında uyarılır. Bu etkileşim, birbirini izleyen iki proteolitik bölünmeyi başlatır: *HD*'de meydana gelen ve sekretaz kompleksi tarafından zar içi bölünme için substratı oluşturan bir disintegrin ve metaloproteinaz

tarafından hücre dışı bir jukstamembran bölünmesi, çekirdeğe translokasyon yapan aktif *NOTCH1-ICD*'nin salınmasına neden olur. Çekirdekte, *NOTCH1-ICD*, transkripsiyon faktörü *RBP-Jk*, *MAML* proteinleri ve diğer koaktivatörlerle bir transkripsiyon kompleksi oluşturur ve *NOTCH1* hedef genlerinin ifadesini başlatır. Sinyal, *PEST* alanı üzerindeki degran bölgelelerinin ubikitinasyonu ile sonlandırılır, ardından aktif *NOTCH1-ICD*'nin proteazoma bağlı bozunması gerçekleşir (Şekil 1.24B) (Rosati ve ark, 2018).



Şekil 1.24. NOTCH1 protein yapısı ve sinyal aktivasyonu. Rosati ve ark. (2018)'den alınmıştır.

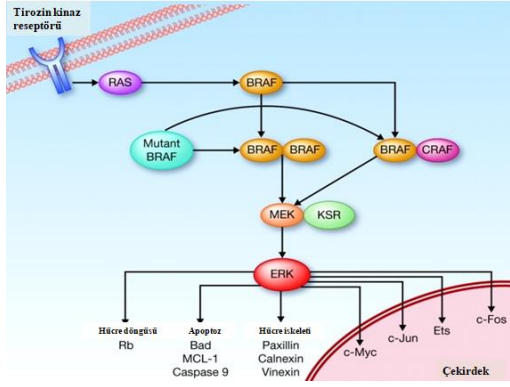
NOTCH yolu, çoklu mutasyon mekanizmaları yoluyla anormal şekilde aktive edilir ve üçlü negatif tümör gelişiminden sorumludur. *NOTCH1* proteinindeki *PEST* domaini mutasyonları esas olarak T-ALL'daki onkojenik olayları ele alsa da, üçlü negatif meme kanserinin yaklaşık % 13'ü *NOTCH1* ekzonları 21-27'nin çerçeve içi delesyonlarını sergiler, bu da *NRR* ve *HD* alanlarını bozar ve böylece onun ya ligandan bağımsız reseptör aktivasyonunun ya da *NIICD* yarılanma ömrünün uzamasının neden olduğu yolun yukarı regülasyonuna yol açar. Sonuç olarak, *NOTCH1* mutasyona uğramış üçlü negatif meme kanserleri, *NOTCH1* negatif tümörlere kıyasla *NOTCH3*, *HES1*, *HEY2*, *MYC*, *CCND1*, *HES4*, *NRARP* ve *NOTCH1* gibi *NOTCH1* hedef genlerinin güçlü bir aşırı ekspresyonunu gösterir ve böylece üçlü negatif meme kanserlerinin fenotipi onkojenik sonuçlanır (Giuli, Giuliani, Screpanti, Bellavia & Checquolo, 2019). *NOTCH1*'in ayrıca meme kanseri kök hücrelerinin davranışlarıyla yakından bağlantılı olduğu ve *NOTCH1*

sinyalinin bloke edilmesinin kök hücrelerin malign davranışlarını inhibe edebileceği bildirilmiştir (Pei & Wang, 2015).

BRAF

Kromozom 7q34 üzerindeki 23 ekzonlu *BRAF* geni, *MAPK/ ERK* sinyal yoluna katılan *BRAF* proteinini kodlar. Bu yol, hücresel büyüme, farklılaşma, proliferasyon, yaşlanma ve apoptoz gibi önemli hücre fonksiyonlarını düzenler. *BRAF* geninin farklı varyant ürünlerinin, *RAS / MAPK* yolunu hem aktive ettiği hem de susturduğu bildirilmiştir. Ek olarak, protein ekspresyonundaki veya aktivitesindeki bir artış, *Ras-MAPK* sinyal yolunu bozabilir ve bu da Noonan sendromu (NS), kardiyofasikutanöz (CFC) sendromu, Costello sendromu ve farklı insan kanserlerine neden olabilir (Hussain ve ark, 2015).

Bir sitoplazmik serin-treonin protein kinaz olan *RAF*, *RAS-RAF-MEK-ERK* hücre sinyal yolunun bir üyesidir. Bu yolun fizyolojik aktivasyonu tipik olarak, zara bağlı küçük bir G proteini olan Ras'ı aktive eden çeşitli plazma zarı reseptörleri aracılığıyla gerçekleşir. Aktive edilmiş Ras, Rafi aktivasyon için plazma membranına alır. Daha sonra Raf, ERK'i fosforilleyerek aktive eden *MAP-ERK kinazı* (MEK) fosforiller ve aktive eder. Fosforile Erk, hem nükleer hem de sitosolik olmak üzere 150'den fazla aşağı akış hedefine sahiptir. Nükleer translokasyondan sonra Erk, c-Myc, c-Jun, Ets ve c-Fos dahil olmak üzere çoklu transkripsiyon faktörlerini doğrudan fosforile edebilir. Bu transkripsiyon faktörlerinin de hücre döngüsünü, büyümesini ve hayatta kalmayı düzenlediği gösterilmiştir (Şekil 1.25). Erk ayrıca *retinoblastoma* gibi hücre döngüsü proteinleri, *Bad*, *MCL-1* ve *kaspaz 9* gibi apoptotik proteinler ve *paxillin*, *calnexin* ve *vinexin* gibi sitoskeletal proteinler dahil olmak üzere birçok sitosolik proteini fosforile eder (Caronia, Phay & Shah, 2011).



Şekil 1.25. MAPK sinyal yolunda BRAF'ın rolü. Caronia, Phay & Shah (2011)'den alınmıştır.

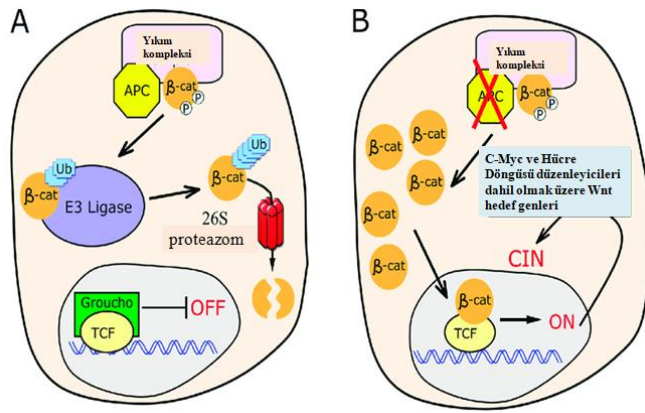
Düzenlenmemiş *BRAF / MEK* sinyali, insan malignitelerinin yaklaşık % 50'sinde bulunmuştur ve çoklu kanserlerin tümör oluşumunda kritik bir rol oynadığı öne sürülmüştür. Bu yoldaki genetik değişiklikler meme kanserinde nadir olduğu için, *BRAF / MEK* yolunun meme kanseri patogenezindeki rolü hala tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda yüksek seviyelerde fosforile *ERK*'in meme kanserinin daha iyi sonuçları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ek olarak, çalışmalar ayrıca aktive *BRAF / MEK* yolağının meme kanserinin kemo veya hormon tedavisine direncine aracılık ettiğini göstermiştir. Bununla birlikte, diğer bazı çalışmalarda, *BRAF / MEK* yolağının inhibisyonunun, östradiol, tamoksifen ve sefalosporin dahil olmak üzere birçok ilacın neden olduğu apoptozu ortadan kaldırdığı bulunmuştur (Liu & Zhou, 2020).

APC geni

Kromozom 5q21-q22 üzerinde bulunan 20 ekzonlu Adenomatöz polipoz koli (APC) geni, *WNT* sinyal yolu, hücre döngüsü düzenlemesi, hücre farklılaşması ve çoğalmasında önemli bir rol oynayan 2.843 amino asit için genetik kod içeren büyük çok alanlı bir proteini kodlayan tümör baskılayıcı gendir. (Saelee & Pongtheerat, 2020).

Tümör baskılayıcı aktivitesinin *Wingless / WNT* sinyal iletim yolundaki hücre içi beta-katenin seviyesinin düzenlenmesine dayandığı düşünülmektedir. *WNT* yokluğunda, kazein kinaz 1 ve glikojen sentaz kinaz-3-bata fosforilat beta-katenin, beta-katenin'in 26S proteazomu tarafından her yerde bulunmasına ve ardından bozunmasına neden olur. Tersine, *WNT* proteinleri hücrelerden salgılandığında, beta-katenin'in fosforilasyonu ve

degradasyonu bloke edilerek birikmesine yol açar. Stabilize edilmiş beta-katenin daha sonra çekirdekte yer değiştirir ve burada hedef genlerin ekspresyonunu indüklemek için T hücre faktörü / lenfoid güçlendirici bağlayıcı faktör-1 ile bağlanır. *APC* mutasyonu, *Wingless* / *WNT* sinyal transdüksiyon yolunun yapısal uyarılmasına neden olarak sitoplazmada beta-katenin birikimini teşvik eder ve anormal hücresel proliferasyona yol açar. Bu nedenle, *APC*, *Wingless* / *WNT* sinyal iletim yolunun negatif bir düzenleyicisidir (Şekil 1.26). *Wingless* / *WNT* sinyal iletim yolu, üçlü negatif meme kanserinin (ER, PR ve HER 2-negatif meme kanseri) tedavisi için yeni bir terapötik hedefi temsil edebilir. Bu durumda, meme kanserindeki *APC* mutasyonları önemlidir (Chang ve ark, 2016).



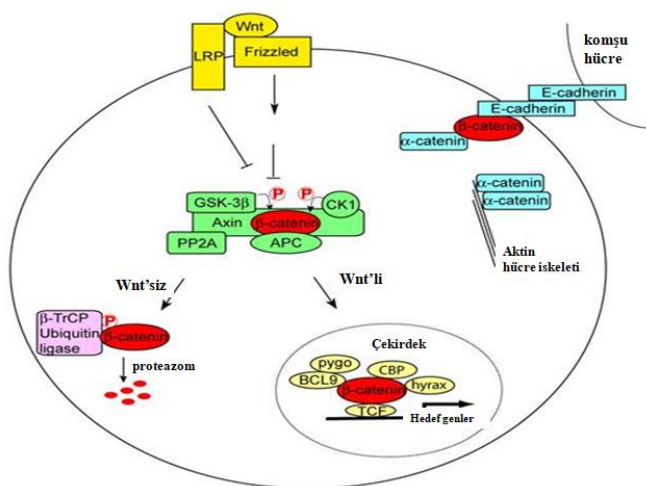
Şekil 1.26. WNT sinyal iletiminde APC geninin işlevi. Rusan & Peifer (2008)'den alınmıştır.

APC tümör baskılayıcı geni, ailesel adenomatöz polipozis (FAP) ile ilgilidir ve kolorektal kanser, prostat kanseri, mide kanseri ve meme kanseri gibi çeşitli kanser türleri için karsinogenezi başlatır (Saelee & Pongtheerat, 2020). Meme kanseri hastalarında, *APC* mutasyon oranı % 0,4 ile % 18 arasında değişmektedir (Chang ve ark, 2016). *APC* kaybının meme kanseri hücrelerinde *kemo-direnç* sağladığı bildirilmiştir. *APC*'den yoksun tümörlerin, özellikle promotor metilasyonu ile, meme kanserinin ER ve PR negatif alt tipi ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur, bu da *APC*'den yoksun tümörlerin, daha kötü prognoza katkıda bulunabilecek sınırlı hedefli tedavi seçeneklerine sahip olduğunu göstermektedir (Stefanski, Keffler, McClintock, Milac & Prospero, 2019).

CTNNB1 geni

β -Katenin, kromozom 3p22.1'de bulunan *CTNNB1* geni tarafından kodlanan sitoplazmik zarın hücre içindeki çok işlevli bir proteindir. Kaderinleri aktin hücre iskeletine bağlayarak hücreden hücreye adezyonda ve *WNT* sinyal yolundaki transkripsiyonel düzenlemede merkezi bir role sahiptir. Aslında, *WNT* aktivasyonu üzerine, β -katenin membrandan sitoplazma ve çekirdeğe translokasyona uğrar, burada transkripsiyonel aktivatörlerle etkileşime girerek artan büyüme, istila ve c-MYC 2 veya siklin D1 gibi hücresel dönüşüm ile ilişkili bir dizi hedef geni modüle eder (Geyer ve ark, 2011).

Hücrede β -katenin, E-kaderin ve α -katenin'e bağlanır. Daha sonra, α -katenin de aktine bir homodimer olarak bağlanır. *WNT* sinyalinin yokluğunda, β -katenin, CK1 α ve GSK-3 β tarafından fosforile edildiği yıkım kompleksine (yeşil) katılır, bu da β -TrCP ubiquitin ligaz tarafından her yerde bulunmasına ve ardından proteazom tarafından parçalanmasına neden olur. Bir *WNT* sinyali varlığında, β -katenin bozunmaz ve Tcf / LEF ailesinin DNA bağlayıcı üyeleri ve diğer ilişkili transkripsiyon faktörleriyle birleştiği çekirdeğe hareket eder. Bu, *WNT* hedef genlerinin aktivasyonu ile sonuçlanır. *APC*, axin veya β -katenin'deki mutasyonlar, bir *WNT* sinyali yokluğunda β -katenin stabilizasyonuna ve bunun sonucunda *WNT*-hedef genlerinin yukarı regülasyonuna yol açar (Şekil 1.27) (Xu & Kimelman, 2007).



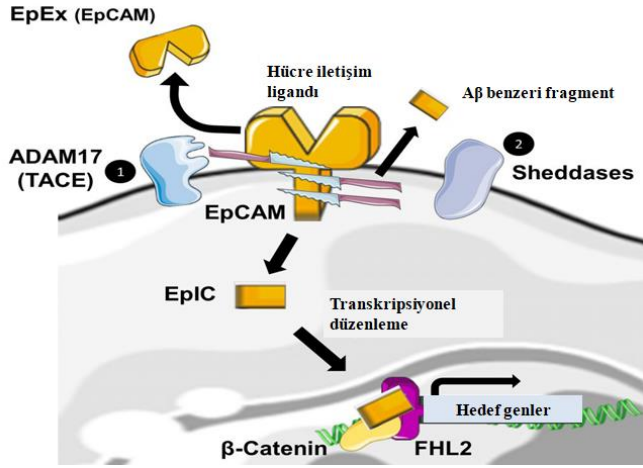
Şekil 1.27. Hücredeki β -katenin rolleri. Xu & Kimelman (2007)'den alınmıştır.

WNT/β katenin sinyal yolu, meme bezi gelişiminin farklı aşamalarında yer almaktadır ve meme onkogenezi için önemlidir. Başlangıçta, β katenin nükleer ekspresyonu ve *WNT/β katenin* hedef siklin D1'in aşırı ekspresyonu ile tanımlanan *WNT/β katenin* sinyal aktivasyonunun, meme kanseri hastalarında daha kötü prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Daha sonra ise, *WNT/β katenin* sinyal aktivasyonunun tercihen üçlü negatif invazif meme kanserlerinin bir alt grubunda bulunduğunu ve kötü bir klinik sonuçla ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu, *WNT/β katenin* sinyal yolunun üçlü negatif meme kanseri gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (King, Suto & Li, 2012).

EPCAM geni

EpCAM geni kromozom 2 (2p21) üzerinde yer alan 9 ekzonlu gendir. *EpCAM*, 40 kDa'lık epitelyal hücreye özgü bir yüzey antijenidir. Bu glikoprotein esas olarak epitelinin hücreler arası sınırları içinde lokalizedir ve Ca^{2+} bağımsız homofilik hücre-hücre adezyonlarına aracılık eder (Königsberg ve ark, 2011).

EpCAM sinyali, kanserin ilerlemesindeki en önemli yollardan biri olan *WNT* yolu üzerinden gerçekleşir. *EpCAM* aracılı sinyal iletimi, *ADAM17* (AKA, TACE, tümör nekroz faktörü α dönüştürücü enzim) ve presenilin 2 içeren γ - sekretaz kompleksi tarafından *EpCAM*'in hücre dışı alanının (EpEX) ve hücre içi alanının (EpICD) çözülebilir EpEX veya hücre-hücre teması ile uyarılması ve bölünmesi yoluyla başlatılır. Serbest bırakılan EpICD, Lef - 1, FHL2 ve β - katenin ile bir nükleer kompleks oluşturur, epitel-mezenkimal geçiş (EMT) genlerinin ekspresyonunu düzenlediği hücre çekirdeğine lokalize edilir (Şekil 1.28). EpICD fragmanının uzunluğu ve potansiyel işlevi, çeşitli kanser hücre hatlarında ve normal ve kanser hücreleri arasında belirgin şekilde farklılık göstermektedir (Yahyazadeh Mashhadi ve ark, 2019).



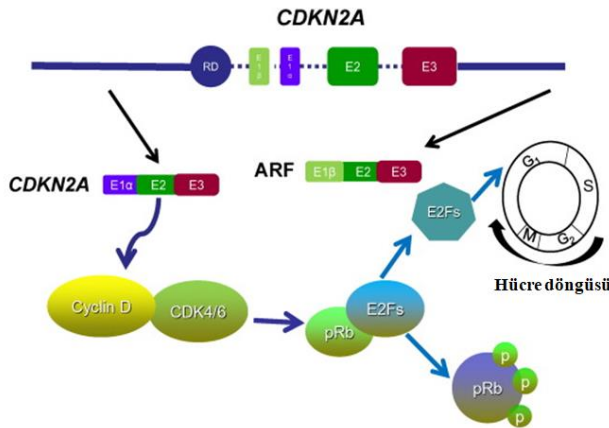
Şekil 1.28. EPCAM sinyali. Keller, Werner & Pantel (2019)'dan alınmıştır.

EpCAM, iyi huylu meme dokusundaki lümen epitel hücrelerinde düşük seviyelerde eksprese edilir. Bununla birlikte, *EpCAM*, meme kansinmaları dahil olmak üzere, birçok kansinomda aşırı eksprese edilir. Aşırı ekspresyonun mekanizması net değildir, ancak yakın zamanda yapılan bir çalışma, bunun *p53* disfonksiyonunun bir sonucu olabileceğini öne sürmüştür. Primer meme kansinlarında *EpCAM* aşırı ekspresyonu, nod pozitif hastalarda azalmış genel sağkalım ile ilişkilidir, bu da aşırı ekspresyonun agresif davranışla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. *EpCAM*'in kanser ilerlemesini ve metastazı teşvik eden çeşitli aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Normalde yapışkan bir molekül olmasına rağmen, kanserde *EpCAM*, alfa-katenin / F-aktin bağlantısının bozulması yoluyla E-kaderin için bir antagonist olarak işlev görebilir ve gerçekte sıkı hücre-hücre adezyonlarını gevşetebilir (Cimino ve ark, 2010).

CDKN2A geni

Kanserde inaktive olan tümör baskılayıcı proteinlerden biri, sikline bağlı kinaz inhibitörü 2A (CDKN2A) veya çoklu tümör baskılayıcı 1 (MTS1) geni tarafından kodlanan p16INK4a proteindir (Şekil 1.29). *CDKN2A* geni, p21'in sıklıkla silinen kromozomal bölgesi 9'da bulunur. Bu gen (8.5 kb uzunlukta) iki intron ve üç ekzon içerir ve *p16INK4a* proteinini kodlar. *P16INK4a* proteini, moleküler ağırlığı 16 kDa olan 156 amino asitten oluşan bir proteindir ve hücre döngüsünün negatif bir düzenleyicisidir. *P16INK4a*'ya ek olarak, *CDKN2A*, *p53* düzenleyici protein, MDM2 ile etkileşime giren, tamamen ilgisiz bir tümör baskılayıcı protein, alternatif açık okuma çerçevesini (ARF veya

p19Arf) kodlar. Basit tandem düzenleme, kendi promotöründen transkribe edilen ek bir ekzon 1β varlığı ile karmaşıklaşır. Elde edilen RNA, ekzon 2 ve 3'ü içerir, ancak farklı bir proteini belirtir çünkü ekzonlar, alternatif bir okuma çerçevesi tarafından çevrilir. Böylece, 2 ve 3 ekzonları iki mRNA tarafından paylaşılırken, farklı protein ürünleri, *p16INK4a* ve *ARF*'yi kodlarlar. *p16INK4a* proteininin *CDK4* veya *CDK6*'ya spesifik bağlanması, bu proteinlerde allosterik konformasyonel bir değişikliği indükler ve *CDK4* veya *6* ile siklin D arasındaki kompleksin oluşumunu inhibe eder. Bu kompleks oluşumun eksikliği, retinoblastoma proteinini (Rb) hipo-fosforile ve büyümeyi baskılayıcı halde tutar. Bu, Rb / E2Fs-baskılayıcı kompleks oluşumu yoluyla G1 fazı hücre döngüsü durmasına yol açar (Şekil 1.29). *P16INK4a* kaybı, çeşitli neoplazmaların ilerleyen aşamalarında giderek daha sık görülür ve bu, *p16INK4a*'nın inaktivasyonunun kanserin ilerlemesine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Homozigot delesyon veya promotör hipermetilasyonu ile indüklenen *p16INK4a*'nın sık inaktivasyonu ve nokta mutasyonu çeşitli kanserlerde gözlenmiştir (Zhao, Choi, Lee, Bode & Dong, 2016).



Şekil 1.29. INK4a / ARF lokusunun şematik yapısı ve hücrelerde p16INK4a'nın rolü. Zhao ve ark. (2016)'dan alınmıştır.

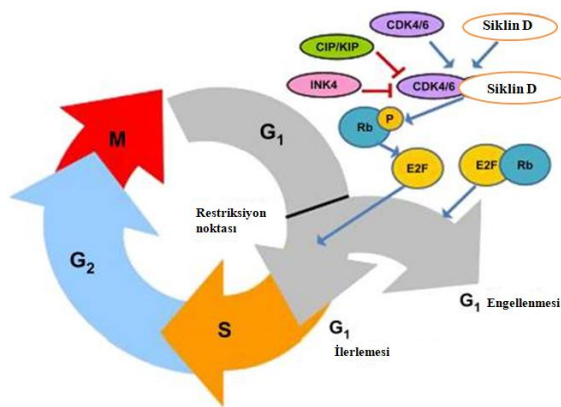
CDKN2A'nın, tümör büyümesini kontrol etmede, hücre döngüsü düzenlemesine doğrudan dahil olduğu bildirilmiştir. Kromozom 9p21 aleli, heterozigotluk kaybı için daha yüksek bir frekans göstermiştir. Bunun dışında bir dizi tümör inversiyonlar, translokasyonlar ve homozigot delesyonlar içerebilir. Bu genin sadece farklı somatik mutasyonlarda rol oynadığı değil, aynı zamanda birçok tümörde germ hattı ilişkisi olduğu da gösterilmiştir. En ilişkili kanserler melanomu takiben prostat karsinomu, baş ve boyun karsinomu, küçük olmayan akciğer karsinomu, özofagus, yumurtalık ve böbrek kanseridir.

Kolon kanseri, meme kanseri ve mesane kanserinde de düşük *CDKN2A* mutasyonları sıklığı bulunmuştur (Aftab ve ark, 2019).

CDK4 geni

Serin / treonin protein kinaz ailesinin bir parçası olan sikline bağımlı kinazlar (CDK'ler), hücre döngüsünü düzenleyen anahtar kinazlar grubudur; *CDK*'lar, zamana bağlı bir şekilde siklinler tarafından aktive edilir. Yirmi çeşit *CDK* bulunmuştur ve bu *CDK*'lar, aktif heterodimerler oluşturmak için karşılık gelen düzenleyici alt birimlerle (yani siklinler) bağlanır. *CDK4*, kromozom 12q14'de bulunur ve hücre döngüsünün anahtar düzenleyicisi olan sikline bağımlı kinaz 4'ü kodlar (Du ve ark, 2020).

CDK4 / 6, hücre döngüsü regülasyonunda ana sürücü faktördür ve çeşitli tümörlerin ortaya çıkması ve ilerlemesinde anahtar rol oynar. Dört hücre döngüsü fazı arasında (G1 fazı, S fazı, G2 fazı ve M fazı) siklin D-*CDK4 / 6*-retinoblastoma (siklin D-*CDK4 / 6*-Rb) sinyal yolu esas olarak G1-S geçişini düzenlemekten sorumludur. *CDK4* ve *CDK6*, % 71 amino asit homolojisini paylaşır ve her ikisi de siklin D1 / 2 / 3'e bağlanabilir. Pro-mitoz sinyalinin indüksiyonu altında, siklin D, *CDK4 / 6*'ya bağlanır ve retinoblastoma (Rb) fosforilasyonunu teşvik eder, böylece transkripsiyon faktörü E2F'yi, hücrelerin S fazına girmesine neden olan ve DNA replikasyonunu başlatan Rb-E2F kompleksinden ayırır (Şekil 1.30) (Du ve ark, 2020).

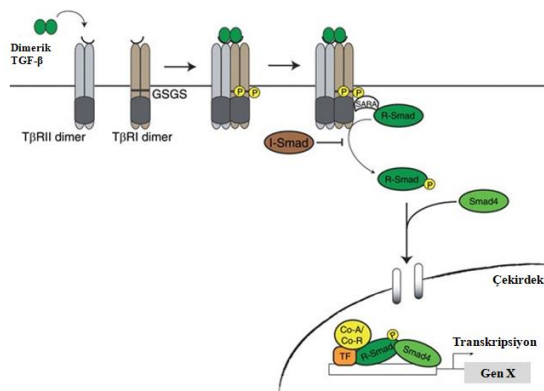


Şekil 1.30. G1'dan S'ye geçiş için Cyclin D1 / CDK4/6 / Rb / E2F yolağı. Murphy & Dickler (2015)'den alınmıştır.

Siklin D-CDK4 / 6-Rb yolağındaki değişiklikler, meme kanseri, pankreas kanseri, böbrek kanseri, karaciğer kanseri ve hematolojik sistem tümörleri gibi birçok tümörün tümörogenez süreçlerinde gözlenmiştir (Du ve ark, 2020). *Siklin D – CDK4 / 6 – pRB* yolunun yukarı regülasyonu, meme kanserinde, özellikle lüminal alt tiplerinde sık görülen bir olaydır; siklin D1 gen amplifikasyonu, lüminal B'nin % 58'inde ve lüminal A kanserlerinin % 29'unda mevcuttur ve sırasıyla % 25 ve % 14 'ünde *CDK4* kazancı görülür. Bu yol, HER2 ile zenginleştirilmiş alt tipin % 38'inde siklin D1 amplifikasyonu ve bazal benzeri kanserlerin % 20'sinde *RB* kaybı ile diğer meme kanseri alt tiplerinde de düzensizdir (Murphy, 2019).

SMAD4 geni

SMAD4 geni, dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) sinyal iletim yolundaki kimyasal sinyallerin iletiminde yer alan bir proteini kodlar. TGF- β sinyal süreci, TGF- β transmembran reseptörüne, hücre yüzeyindeki TGF- β tip II reseptörü (T β RII) bağlandığında başlatılır, bu da TGF- β tip I reseptörünü (T β RI) aktive eder. Buna karşılık, aktive edilmiş T β RI, *SMAD4* ile heterodimerize olan *SMAD* ailesi üyelerini 2 veya 3'ü (RSMAD) fosforile eder. *SMAD4 / SMAD* protein kompleksi daha sonra belirli genlerin aktivitesini kontrol etmek ve hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını ve hücre dışı matris üretimini düzenlemek için spesifik DNA dizilerine bağlanarak yukarı akış sinyallerini ilettiği sitoplazmadan çekirdeğe translokasyon yapar (Şekil 1.31). *SMAD4* fonksiyonunun ortadan kaldırılması, TGF- β sinyal yolunun bozulmasına ve hücre döngüsü kontrolü için kritik olan genlerin transkripsiyonunun kaybına neden olabilir ve bu nedenle hücreler, TGF- β aracılı büyüme kontrolü ve apoptozdan kaçabilir (Liu ve ark, 2015).

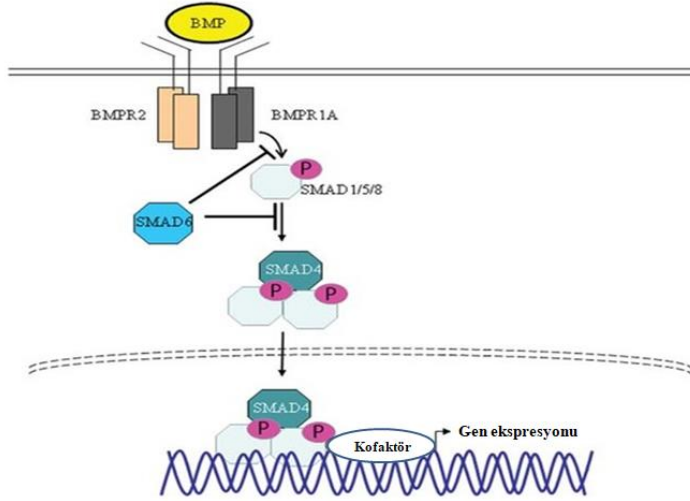


Şekil 1.31. TGF- β / SMAD sinyal yolu. Norris & Korc (2018)'den alınmıştır.

SMAD4'ün meme kanserinin başlangıcı, ilerlemesi ve prognostik sonucunun düzenlenmesinde doğrulanmış ancak karmaşık bir rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, *SMAD4*'ün östrojen reseptörü- α ($ER\alpha$) -pozitif meme kanseri hücrelerinde apoptozu indüklediği bulunmuştur (Li ve ark, 2005) ve bu, *SMAD4*'ün $ER\alpha$ östrojenik transkripsiyon aktivitesinin TGF- β aracılı inhibisyonu için gerekli olduğunu gösteren sonraki bir in vitro çalışma ile doğrulanmıştır (Ren ve ark, 2009). Bununla birlikte, başka bir çalışmada ise, *SMAD4* / TGF- β ile indüklenen büyüme inhibisyonunun ve apoptozun sadece meme kanserinin erken evrelerinde meydana geldiğini ve ilerlemiş hastalıkta TGF- β 'nin epitelden mezenkimal geçişe (EMT) ve meme kanseri hücrelerinin kemiğe metastazını indüklediği bildirilmiştir (Deckers ve ark, 2006). Bu etkiler kritik olarak *SMAD4*'e bağlıdır. TGF- β 'nin meme kanseri ilerlemesindeki ikili işlevi, *SMAD4*'ün anormal ekspresyonuna veya *SMAD4* aktivitesinin bozulmasına bağlanmıştır (Liu ve ark, 2015).

BMPR1A geni

TGF- β süper ailesinin üyeleri olan kemik morfogenetik proteinleri (BMP'ler), sinyallerini reseptörler tip 1 (BMPR1A ve BMPR1B) ve tip 2 (BMPR2) aracılığıyla iletir. *BMP* sinyalleşmesinin aşağı akışı, kanonik (Smad bağımlı) veya kanonik olmayan (Smad'den bağımsız) bir yolla dönüştürülür (Liu ve ark, 2018). Smad'ler aracılığıyla sinyalleşme, reseptör tarafından düzenlenen Smad'ler (Smad1, 5 ve 8), co-Smad / Smad 4 ve inhibitör Smad'ler (Smad 6 ve 7, negatif Smad düzenleyicileri) olmak üzere üç farklı Smad ailesi proteini sınıfı aracılığıyla gerçekleşir. Son olarak, *BMP-Smad* yolu, birlikte transkripsiyonel kompleksler aracılığıyla çekirdekteki *BMP* hedef genlerini doğrudan veya dolaylı olarak aktive eder (Şekil 1.32) (Yuvaraj ve ark, 2012). Kanonik olmayan *BMP* yolağına *ERK*, *JNK* ve *p38 MAPK* dahil *MAP kinazlar* aracılık eder (Liu ve ark, 2018).



Şekil 1.32. BMP sinyal yolağı. Tan ve ark (2012)'den alınmıştır.

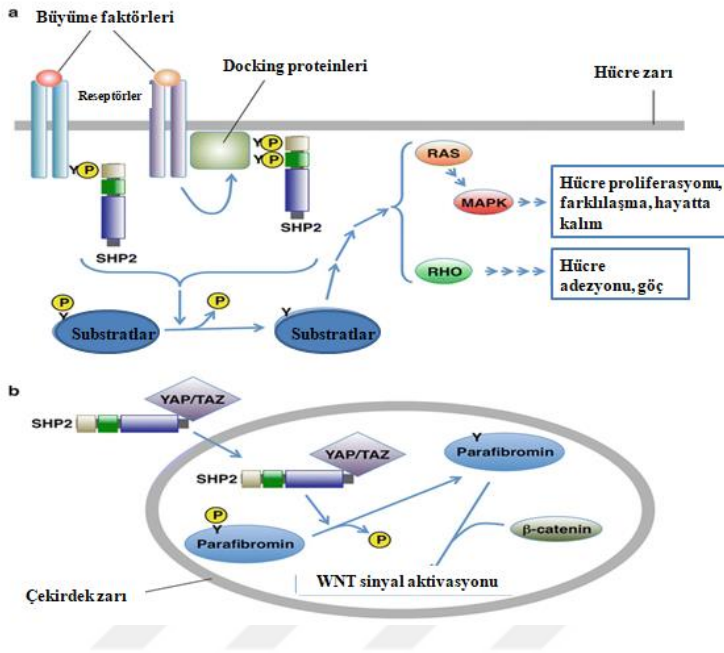
Meme kanserinde *BMP* sinyallemesinin rolü farklıdır. *BMP* sinyallemesinin kritik aşağı akış efektörleri olarak, *BMP* reseptörleri hem kanser teşvikinde hem de kanser inhibisyonunda rol oynamıştır. Yapılan bir çalışma, *BMPRIA*'nın delesyonunun meme kanseri başlangıcının engellenmesine ve metastazının azalmasına yol açtığını gösterilmiştir. Ek olarak, yüksek *BMPRIA* ekspresyonunun insan meme kanserlerinde kötü relapsız sağkalım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Owens ve ark, 2015).

PTPN11 geni

Src homoloji 2 içeren protein tirozin fosfataz (*SHP2*, aynı zamanda *PTPN11* olarak da bilinir), reseptör tipi olmayan protein tirozin fosfataz (*PTP*) ailesinin bir üyesidir ve *PTPN11* geni tarafından kodlanır. Bu gen kromozom 12q24.13 bölgesinde bulunur ve 16 ekzondan oluşur. *PTP*'ler, genellikle hücre büyümesi, farklılaşması, yer değiştirmesi, adezyon ve apoptoz gibi hücresel olayları teşvik eden tirozin-fosforile proteinleri defosforile eder. Bu nedenle, *PTP*'ler, hücre içi sinyal transdüksiyonlarında negatif düzenleyiciler olarak kabul edilir (Kotani, Murata, Saito & Matozaki, 2018).

Hücre dışı uyarıcılara yanıt olarak *SHP2*, SH2 alanları yoluyla ya tirozin-otofosforile edilmiş reseptörlere veya reseptör tirozin kinazlar veya Src ailesi tirozin kinazlar gibi aktive tirozin kinazlarla tirozin fosforile olan *docking* proteinlerine bağlanır. Bu tür etkileşimler, *SHP2* aktivasyonunun sonucu olarak *RAS-MAPK* aktivasyonunun ilerlemesi ile sonuçlanarak hücre proliferasyonuna, farklılaşmasına veya

hayatta kalmasına yol açar (Şekil 1.33a). *SHP2* ayrıca RHO aktivitesini kontrol ederek hücre adezyonunu ve göçünü düzenler. *YAP / TAZ* transkripsiyonel koaktivatörleri *SHP2* ile etkileşime girer ve *SHP2*'nin nükleer translokasyonunu destekler. Çekirdekte *SHP2*, parafibromini defosforile eder. Defosforile parafibromin, β -katenin ile etkileşime girer ve *WNT*-hedef genlerin ekspresyonunu indükler (Şekil 1.33b) (Kotani ve ark, 2018).



Şekil 1.33. *SHP2* ile hücre içi sinyalleme düzenlenmesi. Kotani ve ark. (2018)'den alınmıştır.

SHP2'nin aşırı ekspresyonu çoğu meme kanseri hücre hattında ve meme kanseri dokularında gözlenmiştir ve buna lenf düğümü metastazı eşlik etmektedir. Meme kanseri hücre hatlarında *SHP2* inhibisyonunun, tümör hücrelerinin büyümesini ortadan kaldırdığı ve hayatta kalmasını azalttığı, bu da malign hücrelerin normal bir meme epitel fenotipine farklılaşmasına yol açtığı bulunmuştur. Bu gözlemler, *SHP2*'nin artan tümör oluşumu ve metastaz yoluyla tümör gelişimini desteklediğini göstermektedir (Hu ve ark, 2014).

GNAS geni

GNAS geni, hücrelerin hücre dışı uyarınları algıladığı ve bunlara yanıt verdiği merkezi bir mekanizma olan G-protein-bağlı reseptör (GPCR) sinyallemesine aracılık eden heterotrimerik G-proteinlerinin *G α s* uyarıcı alt birimini kodlar. *GPCR*'lerin ligand uyarımı, *G α* 'larda *GTP* değişimi için *GDP*'yi teşvik ederek *G α* 'ların efektörleri devreye sokmasını

sağlar. Birincil hedef, ikinci haberci, *cAMP*, protein kinaz A'nın (PKA) bir aktivatörü, siklik nükleotid-kapılı iyon kanalları ve *EPAC1 / 2* guanin-nükleotid değişim faktörlerini oluşturan adenilil siklazdır, ancak *GNAS*'ın, *cAMP*'den bağımsız fonksiyonları da bildirmiştir. Birçok dokuda, *GNAS-cAMP* sinyalizasyonu sessizliği veya hücrel farklılaşmasını yürütür (Patra ve ark, 2018).

Kanser varyantlarının sistematik analizleri, çok sayıda potansiyel aday kanser genini ortaya çıkarmıştır. Uyarıcı G-protein alfa alt birimini kodlayan genin (*GNAS*) eşanlı olmayan baz değişikliği, bir aday gendir. Protein, hormonal ve büyüme faktörü sinyallerini efektör proteinlere ileten, her yerde ifade edilen bir sinyal dönüştürücü olarak işlev görür. *GNAS*'ın 201 kodonunda meydana gelen mutasyonlar, adenilat siklaz genini aktive eder ve konstitütif *cAMP* sinyallemesine yol açar (Zauber, Marotta & Sabbath-Solitare, 2016). Spesifik olarak, son dizileme çalışmaları, tümörlerin % 4,4'ünün *GNAS* mutasyonları taşıdığını ortaya çıkarmıştır. Birkaç çalışma, mutasyonların, hipofizden (% 28), pankreastan (% 12), tiroidden (% 5) ve paratiroiden (% 3), yumurtalıktan (% 3), ve endometriumdaki (% 2) kaynaklananlar da dahil olmak üzere çok çeşitli endokrin tümörleri kapsadığını göstermiştir (Parish ve ark, 2018).

GNA11 geni

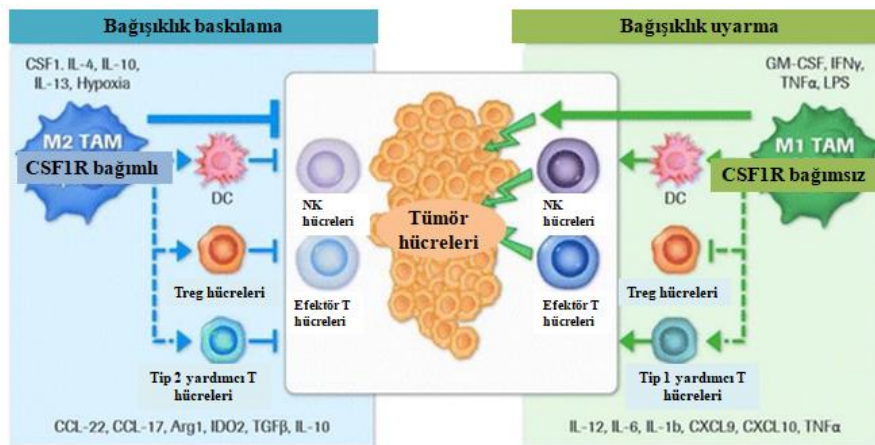
GNA11, fosfolipaz C'yi aktive eden heterotrimerik *Gq* proteininin yakından ilişkili *Gq* alfa alt birimlerini kodlayan proto onkogendir ve *MAPK* büyüme sinyal yolunun aktivasyonu olan bir dizi aşağı akış sinyal etkisine yol açar. *Gq*'nin aktivasyonu normal olarak G-alfa alt birimine özgü bir *GTPaz* aktivitesi ile sona erdirilir. Bununla birlikte, glutamin-209 ve arginin-183 amino asit kalıntılarında meydana gelen mutasyonlar, *GTPaz* aktivitesini devre dışı bırakır ve proteinin inaktivasyonunu önleyerek *MAPK* yolağının ve diğer büyüme yollarının konstitütif aktivasyonuna yol açar (Psinakis ve ark, 2017).

GNA11'in meme kanserinde, beyine metastazla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Meme ve beyin arasında ikincil lenfoid organ olan lenf düğümleri bulunmaktadır. Memenin primer tümörlerine kıyasla metastatik meme kanserli hastaların lenf nodu metastazlarında ekspresyonu en farklı olan genlerden birinin *GNA11* olduğu bulunmuştur. *GNA11* mRNA memenin primer tümörlerine kıyasla lenf düğümü metastazlarında daha düşük miktarlardadır. Sonuç olarak *GNA11* ekspresyonunun düzenlenmesi, tümör

hücrelerinin metastatik meme kanseri olan insanlarda memeden lenf düğümlerine ve beyine metastaz yapmasıyla ilişkili olabilir (Mamoor, 2021).

CSF1R geni

Makrofajların, doku nekrozu, düşük oksijen basıncı ve yüksek laktat ve piruvat konsantrasyonları ile karakterize, malign tümörlerde bulunan özel stromal ortama adapte olan bir hücre tipi olduğu bilinmektedir. Makrofajların buna ya proinflamatuvar ya da antiinflamatuvar fenotip ile yanıt verdiği tanımlanmıştır. Erken evrede ve ayrıca metastatik kanserde, baskın tümör ile ilişkili makrofaj (TAM) fenotipinin anti-enflamatuvar, immün düzenleyici olduğu ve bu nedenle proinflamatuvar ve tümörisidal (klasik olarak aktive edilmiş veya M1 makrofajlarının aksine) yerine tümörü teşvik ettiği (alternatif olarak aktive edilmiş veya M2 makrofajları olarak da adlandırılır) bildirilmiştir. Bilim adamları, tümör mikroçevresinde (TME) bulunan farklı makrofaj fenotiplerinin sürekliliğinin yalnızca M1 / M2 ikilemi ile yakalanmasının zor olduğuna inanmaktadır. M2 makrofajlarının / TAM'nin, tümör büyümesini, anjiyogenezi, invazyonu ve metastazı ve tedaviye direnci artırdığı bildirilmiştir. Ek olarak, TAM infiltrasyonunun çoğu tümör tipinde negatif bir prognostik ilişkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu fenotip, koloni uyarıcı faktör-1 (CSF1) gibi büyüme faktörlerinin sürekli varlığının yanı sıra farklılaşma kümesi (CD) -4^+ tip 2 yardımcı T hücrelerinden türetilmiş (Th2) sitokinler interlekin (IL) -4, IL-13 ve TME'de IL-10 kümesinin bir sonucudur (Şekil 1.34) (Cannarile ve ark, 2017).



Şekil 1.34. Tümörle ilişkili makrofaj alt tipleri tarafından bağışıklık baskılama veya uyarmanın doğrudan ve dolaylı düzenlenmesi. Cannarile ve ark. (2017)'den alınmıştır.

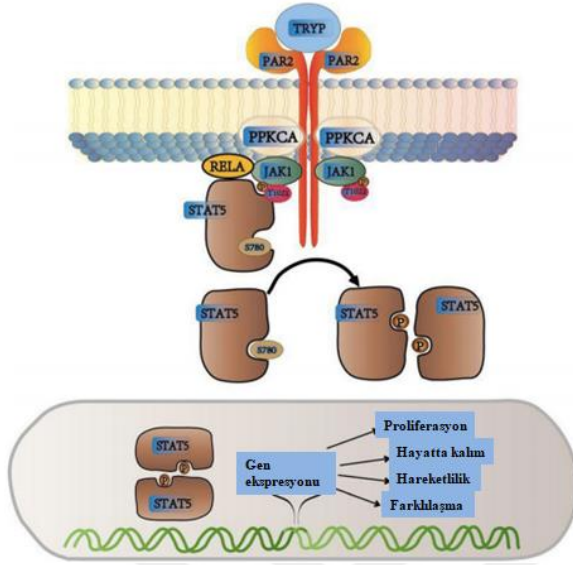
CSF1 reseptörü (*CSF1R*) aracılı sinyalizasyon, mononükleer fagosit sisteminin ve özellikle makrofajların farklılaşması ve hayatta kalması için çok önemlidir. *CSF1R*, tip III protein tirozin kinaz reseptör ailesine aittir ve *CSF1*'in veya daha yakın zamanda tanımlanan ligand IL-34'ün bağlanması, reseptörün homodimerizasyonunu ve ardından reseptör sinyalleme sisteminin aktivasyonunu indükler. *CSF1R* makrofajlarının intratümoral varlığı, çeşitli tümör tiplerinde zayıf hayatta kalma ile ilişkili bulunmuştur (Cannarile ve ark, 2017).

Koloni uyarıcı faktör-1 (*CSF1*) ve reseptörü (*CSF1R*), dişi üreme sistemi tümörlerinde ve diğer katı tümörlerde olumsuz prognostik sonuçla ilişkilendirilmiştir. Meme kanserinde, hem transgenik hem de ksenograft fare modellerinin intravital görüntülemesi, makrofajların birincil tümörde zorunlu istila ortakları olduğunu göstermiştir. Makrofajlara *CSF1* sinyal gönderimi, bu işlev için gereklidir: meme kanserine duyarlı *MMTV-PyMT* farelerinde *CSF1*'in genetik ablasyonu, tümör ilerlemesini ve metastazı geciktirirken, antikoru bloke ederek *CSF1R*'nin inhibisyonu, tümör hücrelerinin *in vivo* istilasını azaltmıştır. Makrofajlara *CSF1* sinyalleme sisteminin bloke edilmesinin, azalmış anjiyogenez nedeniyle birincil tümör büyümesini azalttığı ve aynı zamanda artan anti-tümör T-hücresi tepkilerine bağlı kemoterapötik etkinliği iyileştirdiği de gösterilmiştir (Patsialou ve ark, 2015).

PRSS1 geni

İnsanlarda serin proteaz 1 (*PRSS1*) geni, T hücre reseptörü beta lokusu içinde kromozom 7q35 üzerinde yer almaktadır. Bu gen, insan pankreası tarafından salgılanan en bol sindirim enziminin öncüsü olan insan katyonik tripsinojenini kodlar (Németh & Sahin-Tóth, 2014). Tripsinin doğal reseptör *PAR2*'ye bağlanması, reseptörle birleştirilmiş *JAK1* kinazları bir araya getiren ve çapraz tirozin fosforilasyon yoluyla karşılıklı aktivasyonlarını kolaylaştıran ikincisinin dimerizasyonuna neden olur (Şekil 1.35). Aktifleştirilmiş *JAK1*, reseptör üzerindeki tirozin kalıntılarının fosforilasyonunu modüle eder ve çevreleyen amino asitlerle birlikte, fosforile tirozin lokusları, *PPKCA* ve *RELA* (Nükleer Faktör NF-Kappa-B P65 Alt Birimi) ile geliştirilebilen bir kenetlenme bölgesinde birleşir. Bu arada, SH2 alanını içeren *STAT5* bu kenetlenme bölgesine alınır. Nihayetinde kinaz *JAK1*, reseptöre bağlı *STAT5*'in fosforilasyonunu katalize eder ve polimerik formdaki aktive

STAT5, çekirdeğe yer değiştirir ve bunların transkripsiyonunu düzenleyerek hedef genlere bağlanır (Liu ve ark, 2019).

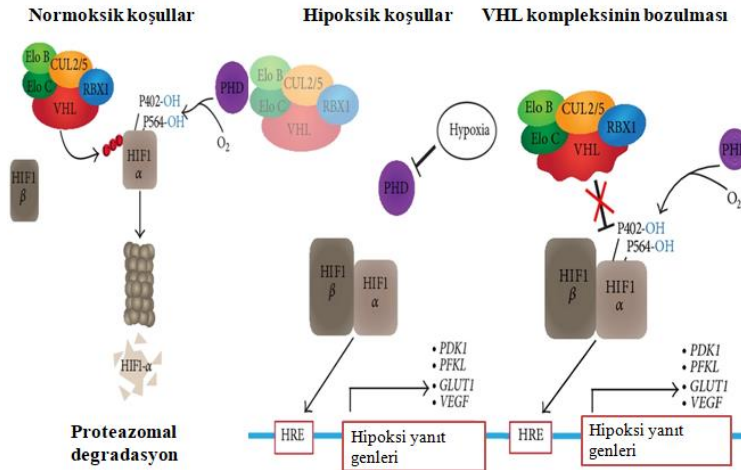


Şekil 1.35. Tripsinojen mekanizması. Liu ve ark. (2019)'dan alınmıştır.

Bugüne kadar bilinen tüm *PRSS1* mutasyonları, kanserli dokular bağlamında mevcut olan *EGFR/KRAS/BRAF* gen mutasyonlarından farklı olarak genetik eğilim ve baskın özellikler ile somatiktir; somatik mutasyonlar, tümörigenezin önemli bir nedensel faktörü ve tümör heterojenitesi için kritik bir unsurdur. Bu arada tripsinojen, pankreasta spesifik ve yüksek oranda eksprese edilir ve tripsin, *PAR2*'yi aktive eder; bu, ERK yolu aracılığıyla hücre döngüsü bozukluğuna neden olarak pankreas kanseri oluşumunu tetikler. Ayrıca tripsin, tümörlerin habis davranışını artırabilir ve aktivasyon üzerine hücre dışı matrisi (ECM) bozarak tümör hücresi proliferasyonunu ve istilasını uyarır. Bu bakımdan *PRSS1* mutasyonu, pankreas karsinogenezinin ve kanser gelişiminin değerlendirilmesinde giderek artan bir ilgi çekmektedir (Liu ve ark, 2019). Tripsinin çeşitli karsinomlarda ifade edildiği de doğrulanmıştır. Bu raporlar, tripsinin karsinom ilerlemesinde olumlu ve hatta onkogenik bir rol oynadığı sonucuna varmıştır (Yamashita, Mimori, Inoue, Mori & Sidransky, 2003).

VHL geni

VHL, *VHL*, *CUL2* veya *CUL5*, *RBX1* ve *elongin B / elongin C* proteinlerinden oluşan *VHL elongin BC* kompleksinin bir bileşenidir. Bu kompleks, bir E3 ubiquitin-ligaz gibi davranır ve hedeflenen proteinlerin proteazomal degradasyonunu tetikler. Bu kompleksin birincil hedefi olan hipoksi ile indükleyici faktör 1 α (*HIF1- α*), tümör ilerlemesi, glikoliz, anjiyogenez ve metastaz ile ilişkili 80'den fazla geni düzenler ve *VHL elongin BC* kompleksi tarafından negatif olarak düzenlenir. *HIF1- α* , *VHL elongin BC* kompleksi tarafından negatif olarak düzenlenen bir alfa alt biriminden ve yapısal olarak ifade edilen bir beta alt biriminden oluşur. Normoksik koşullar altında, *PHD* içeren proteinler tarafından iki prolin kalıntısında (P402 ve P564) *HIF1- α* hidroksilasyonu, *VHL* için bir bağlanma alanı yaratır. *HIF1- α* 'ın proteazomal bozunmasıyla sonuçlanır. Hipoksik koşullarda, *PHD* içeren proteinler artık hidroksilat *HIF1- α* ve *VHL*, stabilize edici ubiquitin polimerlerini *HIF1- α* 'ya ekleyemez. *HIF1- α* daha sonra *HIF1- β* ile heterodimerleşebilir ve hipoksi yanıt elemanlarına (HRE) bağlandığı çekirdeğe yer değiştirebilir ve hücrel hipoksik yanıt aracılık eden *PDK1*, *PFKL*, *GLUT1* ve *VEGF* gibi genlerin ekspresyonunu destekler (Şekil 1.36) (Rowbotham ve ark, 2014). Bu değişikliklerin net etkileri, tümör hücresinde bulunan ATP miktarını artırarak hızlı büyüme teşvik eder (Gervin ve ark, 2020).



Şekil 1.36. Normoksik, hipoksik ve psödohipoksik koşullarda HIF1 yolağında VHL elongin BC kompleksinin rolü. Rowbotham ve ark. (2014)'den alınmıştır.

Von Hippel-Lindau (VHL) sendromu, tümör baskılayıcı gen *VHL*'nin genetik anormalliklerinin neden olduğu, otozomal dominant, çok organlı, ailesel bir neoplastik sendromdur. *VHL* geninin germline mutasyonları, etkilenen bireyleri, merkezi sinir sistemi ve böbrekler, pankreas, adrenaller ve üreme organları gibi iç organlar dahil olmak üzere çeşitli sistemlerde iyi huylu ve kötü huylu tümörlerin gelişimine yatkın hale getirir (Varshney ve ark, 2017).

HNF1A geni

Hepatosit nükleer faktör 1 alfa geni (*HNF1A*) insan kromozomu 12q24 üzerinde bulunur ve dokuz ekzon içerir. *HNF1A* ekspresyonu karaciğerde zenginleştirilmiştir ve ayrıca pankreas, böbrekler, yumurtalıklar ve testisler gibi diğer birçok dokuda da eksprese edilir. *HNF1A*, homeobox protein ailesine ait bir transkripsiyon faktörünü kodlar ve *HNF1A*, ağırlıklı olarak karaciğerde eksprese edilen çeşitli genlerin promoterlerine bağlanır. Ek olarak, *HNF1A*, lipoprotein metabolizması ve glikozla uyarılan insülin sekresyonunda rol oynayan birkaç hedef genin (örn., *DYRK1B* ve *SLC2A2*) ekspresyonu için de gereklidir. Son zamanlarda, *HNF1A* genindeki mutasyonların genç tip 3'ün ergenlik başlangıçlı diyabetinin bir nedeni ve Tip 2 diyabetin gelişmesiyle ilişkili olduğu doğrulanmıştır (Lv ve ark, 2017).

Bu transkripsiyon faktörü, birçok tümörün gelişmesine ve ilerlemesine katılır ve altta yatan mekanizma çalışmaları, hastaların hayatta kalma oranını iyileştirmek için önemli olan kanserin erken teşhisi ve tedavisi için yardımcı olabilir. Yapılan çalışmalar, *HNF1A*'nın farklı kanserler için iyi bir potansiyel tanısal biyobelirteç olabileceğini göstermiştir. Pek çok kanserde *HNF1A* yanlış ve eşanlam mutasyonları saptanmıştır. Meme kanserli hastaların % 48.78'inde *HNF1A*'da yanlış anlamlı mutasyonlar bulunmuştur (Zhang, Huang & He, 2021).

1.9.Meme Kanserinde Çoklu Gen Panelleri

Kalıtsal genetik kusurlu varyantlar, ailesel kanserlere önemli ölçüde katkıda bulunurlar. Başlangıçta, kalıtsal kanser çalışması, 1994 yılında herediter meme ve yumurtalık kanseri sendromu için ana predispozan genler olan *BRCA1* ve *BRCA2*'nin keşfine yol açan çok sayıda soyağacının bağlantı analizine dayanmıştır. Daha sonra herediter meme ve yumurtalık kanseri için diğer genetik risk faktörleri de belirlenmiştir. Sanger DNA dizilemesinin yaygın kullanımı, kansere yatkınlıktan sorumlu germ hattı gen mutasyonlarının saptanmasına ve karakterizasyonuna izin vermiştir. Bununla birlikte, bu teknoloji, bir seferde yalnızca bir geni veya parçalarını analiz ederek prosedürleri zaman alıcı hale getirmektedir. 21. yüzyılın ilk on yılında, insan genom projesinin tamamlanmasından sonra, çoklu gen analizi veya tüm ekzomlar, DNA protein kodlayan bölgeler, kodlanan ve/veya kodlanmayan RNA transkriptleri dahil transkriptomlar veya hem ekzon hem de kodlamayan intron DNA bölgelerinden oluşan genomların dizilenmesini gerçekleştirebilen yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerinin oluşturulmasıyla önemli bir adım atılmıştır (Zelli ve ark, 2020).

Yeni nesil dizileme (NGS) teknolojisi, onkoloji gibi tıbbın birçok alanında genetik testlere klinik yaklaşımda devrim yaratmıştır. NGS teknolojisinin büyük gücü, çok düşük miktarda nükleik asit kullanarak, önemli ölçüde zaman ve maliyet azaltımı yaparak, milyonlarca DNA okumasını eş zamanlı bir şekilde dizileyebilme ve çoklu genlerin "durumunun" doğru bir şekilde nitelendirilmesine olanak sağlamasıdır. Farklı kimyasal / fiziksel ilkelere dayalı yüksek performans ve farklı deneysel ihtiyaçlara cevap verme yeteneği gösteren birkaç ikinci ve üçüncü nesil platform şu anda ticari olarak mevcuttur. Yüksek sayıda varyantı aynı anda tespit etme yeteneği sayesinde, NGS teknolojisi, tümörogenik sürecin karakterizasyonu ve tümör heterojenitesi hakkında fikir vermek için birçok çalışmada yaygın olarak kullanılmaktadır. Tümörlerin moleküler durumunun analizi, tanı, prognoz ve tedavi yanıtı tahmini açısından klinik kullanım hakkında bilgi sağlamaktadır. Ayrıca, NGS teknolojisi, hastalara ve ailelerine tarama, sürveyans ve risk azaltma seçenekleri konusunda danışmanlık yapma olasılığıyla, kansere yatkınlıktan sorumlu yeni genlerin tanımlanması ve keşfi için çok güçlü olanak sunmaktadır. Son on yıl boyunca, NGS'nin ortaya çıkışı, yalnızca meme ve yumurtalık kanseri yatkınlığında yer aldığı bilinen yüksek veya daha düşük penetran olanlar gibi birkaç genin hedeflenen dizilemesini elde etmeyi değil, aynı zamanda meme ve yumurtalık kanseri yatkınlığından

sorumlu olduğu varsayılan yeni genlerin veya gen varyantlarının tanımlanması için tüm ekzomların, transkriptomların veya genomların dizilenmesini de mümkün kılmıştır (Zelli ve ark, 2020).

"En kolay" NGS yaklaşımı, belirli hastalıklarla ilişkisi zaten gözlemlenmiş veya önerilmiş olan seçilmiş genlerin veya gen bölgelerinin belirli alt kümelerinin analizine izin veren "hedefli gen dizilimi" dir. NGS gen panelleri, ilgili belirli hedeflerin dizilenmesi için çok yüksek verimli ve uygun maliyetli bir tarama yöntemini temsil ettikleri için yaygın olarak kullanılmaktadır; önemli ölçüde zaman ve maliyet azalması ve çok düşük miktarda nükleik asit kullanarak birkaç gün içinde büyük eş zamanlı çoklu gen analizi olanağı sunmaktadırlar (Zelli ve ark, 2020).

Meme kanseri panellerinde *BRCA1* ve *BRCA2* ana genlerdir. Diğer genler ya spesifik fenotipler ve meme kanseri (*TP53* ve Li-Fraumeni sendromu; *CDHI* ve lobüler meme karsinomu ve yaygın mide karsinomu; *PTEN* ve Hamartoma Tümör Sendromu; *STK11* ve Peutz-Jeghers sendromu; *NF1* ve nörofibromatozis tip 1) ya da yumurtalık kanseri riskleriyle (*MLH1*, *MSH2* / *EPCAM*, *MSH6*, *PMS2*) ilişkilidir. Ayrıca, vaka incelemelerinde veya vaka kontrol çalışmalarında meme kanseri riski ile ilişkili olduğu bildirilen genleri de içerirler. Çoğu, *BRCA1* veya *BRCA2*'yle etkileşime girerek DNA onarımında (*ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *GEN1*, *MCPH1*, *NBN*, *MRE11A*, *PALB2*, *RAD50*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RECQL*, *RINT1*, *SLX4*, *XRCC2*), bazıları ise hücre döngüsü kontrolü veya mitotik sinyal iletiminde (*CHEK1*, *CHEK2*, *PI3KCA* v.b.) yer almaktadır (Colas, Golmard, de Pauw, Caputo & Stoppa-Lyonnet, 2019).

NCBI Genetic Test Registry'nin en son sürümü, akademik veya ticari laboratuvarlar tarafından önerilen *BRCA1* ve *BRCA2* dahil olmak üzere 200'den fazla çoklu gen paneli listelemektedir. Hepsi olmasa da bazıları meme kanserine yatkın genlere özgüdür. Meme kanseri panellerine en sık dahil edilen 26 gen Tablo 1.6'da gösterilmektedir (Colas ve ark, 2019).

Tablo 1.6. Meme kanseri panellerine en sık dahil edilen genler, bunların klinik geçerliliği ve faydaları. Colas ve ark. (2019)'dan alınmıştır.

GEN	Klinik Geçerlilik / Risk Düzeyi	Klinik Fayda	İlişkili Sendrom	Akrabalar İçin Genetik Test
BRCA1	Yüksek CLTR (80) % 72	Evet		Evet
BRCA2	Yüksek CLTR (80) % 69	Evet		Evet
PALB2	Yüksek OR 6.56-9.47	Evet		Evet
TP53	Yüksek RR 3.76; CLTR (70)% 85	Evet	Li Fraumeni	Evet
PTEN	Yüksek CLTR (70):% 67-85,2	Evet	Cowden	Evet
CDH1	Yüksek RR 6.6-7.7; CLTR (80)% 39-42	Evet	Kalıtısal mide kanseri	Evet
STK11	Yüksek, RR 15; CLTR (70) % 77	Evet	Peutz Jeghers	Evet
MLH1	Çelişkili	Hayır	Lynch	Evet
MSH2/EPCAM	Çelişkili	Hayır	Lynch	Evet
MSH6	Çelişkili	Hayır	Lynch	Evet
PMS2	Çelişkili	Hayır	Lynch	Evet
NF1	Yetersiz veri	Tartışmalı	Nörofibromatozis tip I	Evet
RAD51C	İlişki kanıtı yok	Hayır		Evet
RAD51D	İlişki kanıtı yok	Hayır		Evet
ATM	Düşük ila orta RR 1.5-3	Tartışmalı		Tartışmalı
CHEK2	Düşük ila orta OR 1,58-3	Tartışmalı		Tartışmalı
BRIP1	İlişki kanıtı yok	Hayır		Tartışmalı
BARD1	Yetersiz veri	Hayır		Hayır
GEN1	İlişki kanıtı yok	Hayır		Hayır
RAD50	Yetersiz veri	Hayır		Hayır
RINT1	Çelişkili	Hayır		Hayır
MRE11A	Yetersiz veri	Hayır		Hayır
NBN	Çelişkili OR 1.4-2.66	Hayır		Hayır
XRCC2	Fazla risk yok, yetersiz veri	Hayır		Hayır
MCPH1	Yetersiz veri	Hayır		Hayır
SLX4	Yetersiz veri	Hayır		Hayır

OR: olasılık oranı; RR göreceli risk; CLTR () kümülatif yaşam boyu risk (yaş).

Hereditör meme kanseri olan bireylerde *BRCA* dışı genlerde % 1-12 oranında bir prevalans olduğu, aynı zamanda % 88'e varan yüksek düzeyde VUS rapor edilmiştir. VUS, hastalık ilişkisi henüz bilinmeyen genetik değişikliklerdir (Tablo 1.7) (Catana, Apostu & Antemie, 2019).

Tablo 1.7. Herediter Meme Kanseri Olan Bireylerde BRCA Dışı Genlerin Prevalansı ve VUS Oranı. Literatür sonuçları.

Çalışma	Hastalar	Test edilen gen sayısı	Prevalans	VUS
Walsh ve ark. (2006)	300	5	CHEK2, TP53, PTEN'de % 6 mutasyon	Belirtilmemiş
Kuusisto ve ark. (2011)	466	7	% 12,1 CHEK2, PALB2, BRIP1, RAD50, CDH1	Belirtilmemiş
Walsh ve ark. (2011)	360	12	% 6,1: BARD1, BRIP1, CHEK2, MRE11A, MSH6, NBN, PALB2, RAD50, RAD51C, TP53	Belirtilmemiş
Mauer ve ark. (2014)	1233	22	BRCA dışı genlerde % 10 mutasyon	%30
Kurian ve ark. (2014)	198	42	BRCA dışı genlerde % 11,4 mutasyon	%88
Castera ve ark. (2014)	708	27	% 3 CHEK2, RAD51C, RAD50, PALB2, MRE11A, ATM, NBS1, CDH1, MSH2, PMS2, BARD1, PMS1, MLH3	Belirtilmemiş
LaDuca ve ark. (2014)	2079	14-22	BRCA dışı genlerde % 7.2-9.6 mutasyonlar	% 15.1-25.6
Churpek ve ark. (2014)	289	8	BRCA dışı genlerde % 4,4 mutasyon: PALB2, CHEK2, BARD1, ATM, PTEN, TP53	% 0.6
Chong ve ark. (2014)	3000	6	% 11 TP53, % 2,3 PTEN, % 1,2 CDH1, % 0,6 STK11	Belirtilmemiş
Cybulski ve ark.(2015)	144	8	% 2,8 PALB2,% 1,3 ATM	Belirtilmemiş
Doherty ve ark. (2015)	134	6	% 0	% 6.7
Maxwell ve ark. (2015)	278	22	BRCA dışı genlerde % 11 mutasyon	%19
Tung ve ark. (2015)	2158	25	BRCA dışı genlerde % 4,32 mutasyon: CHEK2, PALB2, ATM, MSH6, PMS2	% 41.7
Couch ve ark. (2015)	1824	17	BRCA dışı genlerde % 3,7 mutasyon: PALB2, BARD1, RAD51D, RAD51C, BRIP1	Belirtilmemiş
Schroeder ve ark. (2015)	620	10	% 0,97 CHEK2,% 0,65 ATM,% 0,48 CDH1,% 0,32 PALB2,% 0,32 NBN,% 0,16 TP53	Belirtilmemiş
Yang ve ark. (2015)	99	152	% 3 TP53,% 1 PALB2,% 1 RAD51C,% 1 RAD50,% 1 CDH1	Belirtilmemiş
Lincoln ve ark. (2015)	1062	29	BRCA dışı genlerde% 3,9 mutasyonlar: ATM, PALB2, CHEK2, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2.	%41
Aloraifi ve ark. (2015)	104	312	% 5 ATM, % 3 RAD50, % 2 CHEK2, % 1 TP53, % 1 PALB2, % 1 MRE11A	Belirtilmemiş
Kapoor ve ark. (2015)	966	15	% 3,9 PALB2, CHEK2, ATM	% 16.9
Desmond ve ark. (2015)	1046	29	BRCA dışı genlerde % 3,8 mutasyonlar: CHEK2, ATM, PALB2	Belirtilmemiş
Thompson ve ark. (2016)	3992	18	% 0,6 PALB2, % 0,1 TP53, <% 0,1 CDH1, PTEN, ATM	Belirtilmemiş
Tung ve ark. (2016)	488	25	% 4,1 CHEK2, ATM, PALB2, PTEN, NBN, RAD51C, RAD51D, MSH6, PMS2	%33,20
Couch ve ark. (2017)	65057	21	% 1,73 CHEK2, % 1,06 ATM, % 0,87 PALB2	Belirtilmemiş
TOPLAM	87318	5-312	% 1-12	% 0.6-88

2. AMAÇ

Meme kanseri tüm dünyada kadınlarda en sık görülen malignitedir. Akciğer kanserinden sonra en yüksek insidans ve ölüm oranına sahiptir ve tüm kanserler arasında ikinci sırada yer almaktadır. Geçtiğimiz on yılda herediter meme kanserinin tanı ve tedavisinde çok ilerleme kaydedilmiştir. *BRCA1* ve *BRCA2* genlerindeki mutasyonlar, herediter meme kanserinin üçte ikisinden sorumludur. Bu genler için genetik yatkınlık testi 1996'dan beri mevcut olmasına rağmen, meme kanseri için Mendel kalıtım modeli (otozomal dominant veya resesif) öyküsü olan ailelerde bile hastaların önemli bir kısmı bu genlerde mutasyon bakımından negatiftir. *BRCA* dışında bazı ek genler meme kanserine yatkınlık genleri olarak tanımlanmıştır. Ayrıca artık kanserlerin tek bir mutasyondan veya genden değil, apoptoz ve hücre proliferasyonu gibi ayırt edici süreçlere karşılık gelen moleküler yollarda görevli mutasyona uğramış genlerin bir kombinasyonundan kaynaklandığı kabul edilmektedir. Sonuç olarak, sinyal proteinlerindeki mutasyonlar, anahtar sinyal yolları etkileşimlerini arttırabilir veya tümör baskılayıcı proteinlerin işlevini inhibe edebilir ve her ikisi de kontrolsüz hücre büyümesine ve tümör ilerlemesine yol açabilir.

Meme kanserlerinin hücrel ve moleküler heterojenliği, yeni nesil genomik ve transkriptomik tekniklerin ortaya çıkmasıyla mümkün olan çoklu genetik değişikliklerin birlikte analiz edilmesini zorunlu kılmaktadır. 2010 yılı civarında ortaya çıkmasından bu yana, yeni nesil dizileme (NGS) teknolojisi, tıbbi genetik laboratuvarları için bir dönüm noktası olmuştur. Tüm ekzom ve tüm genom dizi analizinde olduğu gibi, çoklu gen panelleri aracılığıyla NGS, çok sayıda bireyde önemli sayıda genin dizilenmesini mümkün kılmaktadır. Çoklu gen panel testi, meme kanseri gibi genetik heterojenliğe sahip hastalıkların teşhisi ve prediktif tıpta hastalık riski tahminleri için fayda sağlamaktadır.

Meme kanseri olgularında, *BRCA1/2* dışındaki genlerde patojenik veya olası patojenik varyantları ortaya çıkaran birkaç NGS çalışması yayınlanmıştır, ancak bugüne kadar, herediter meme kanseri riski taşıyan Türk olgularda *BRCA* dışı genlerdeki mutasyon spektrumu hakkında çok az veri bulunmaktadır. Bu nedenle çalışmada, hücrede çeşitli sinyal yollarında anahtar görevlere sahip, hem meme kanseri ile ilişkisi kanıtlanmış, hem de ilişkili olabilecek *BRCA* dışı 34 gendeki varyasyonların tespit edilmesi ile gene özgü kanser ilişkilerine dayalı olarak ailesel kanser risklerinin açıklanması, tedavide rehberlik edilmesi, risk altındaki diğer aile üyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



3. YÖNTEM

Bu çalışmada, Kocaeli Üniversitesi, Tıp fakültesi, Onkoloji bölümünden Tıbbi Genetik Anabilim dalına yönlendirilen ve hasta seçim kriterlerine uyan hastalarda, NGS yöntemi ile 34 genin (*TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1*, *CHEK2*, *NF1*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *PIK3CA*, *ERBB2*, *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *HRAS*, *PTPN11*, *ALK*, *RET*, *MET*, *NOTCH1*, *BRAF*, *APC*, *CTNNB1*, *EPCAM*, *CDKN2A*, *CDK4*, *SMAD4*, *BMPR1A*, *VHL*, *PRSS1*, *GNAS*, *CSF1R*, *GNA11*, *HNF1A*) tüm kodlayıcı bölgeleri dizilenmek üzere değerlendirilmiştir. Çalışmamız, 11.12.2020 tarih 2020/339 proje numarası ile Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (EK-1).

Çalışmaya; meme kanseri tanısı almış veya belirlenmiş kriterleri karşılayan, yapılan analizler sonucunda *BRCA1/2* genlerinde mutasyon bulunmayan ve çalışma için onam veren olgular dahil edilmiştir.

3.1.Kullanılan Aletler

- Santrifüj
- Vorteks
- PCR Cihazı
- Termal Çalkalayıcı
- Spektrofotometre
- NGS Cihazı
- Qubit Florometre Cihazı
- DNA 7500 Cihazı

3.2.Kullanılan Malzemeler ve Kimyasallar

- Pipet seti
- Ependorf tüpü
- PCR tüpleri
- Manyetik plate
- Buz aküsü
- 96 well Optical Reaction Plate
- Clear Adhesive Film
- Qubit™ dsDNA Broad Range Quantitation Kit
- Qubit™ dsDNA High Sensitivity Quantitation Kit
- Bioanalyzer High Sensitivity DNA Kit
- Library Preparation EF Kit 1
- Library Preparation Kit 2
- Multiplex Hybridization Kit
- Enrichment Reagents
- CD Index Adapter Set 1–96
- Universal Blockers
- Custom Panel Probes Kit
- Ethanol
- Distile su

3.3.Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Daha önce *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyon analizi için hasta kanlarından izole edilmiş, +4 °C'de saklanan DNA'lar, çalışma için kullanılmıştır. Hastalardan EDTA'lı tüpler içerisinde alınmış periferik kan örneğinden DNA izolasyonu, robotik sistem ile yapılmıştır. İzolasyon cihazının içerisinde 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 gerçekleştirilmiş ve toplam 220 µl periferik kan örneğinden 50 µl DNA elde edilmiştir.

3.4.DNA Kalitesinin ve Miktarının Belirlenmesi

İzolasyon sonrası elde edilen genomik DNA nanodrop cihazında 2 µl örnek kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve çıkan sonuçlar not edilip uygun miktarda seyreltme yapılmıştır.

3.5.DNA'ların QUBIT ile Ölçümü

DNA'ların NGS gen panelinde kullanılabilirliğini kontrol etmek amacıyla Qubit™ dsDNA HS Assay Kit üreticinin önerdiği protokol uygulanarak kullanılmıştır. Ölçüm öncesi kimyasallar vortekslenerek, çalışılacak örnek sayısı katı kadar 1 µl Reagent + 199 µl Tampon (buffer) ile 1:200 oranında çalışma solüsyonu (Working Solution) hazırlanmıştır. 198 µl çalışma tamponuna 2 µl DNA eklenerek vortekslenmiş, cihazda “dsDNA-High Sensitivity” modu seçilerek örnekler ölçülmüştür. Çıkan sonuçlara göre DNA'lar 5 ng/ µl olacak şekilde steril suyla seyreltilmiştir.

3.6.Yeni Nesil Dizileme (NGS) Yöntemi

NGS teknolojisinin temeli, DNA'nın enzimatik reaksiyonlarla kesilerek çok sayıda DNA fragmentiyle bir kütüphane oluşturulması ve kütüphaneyi oluşturan DNA fragmentlerinin zenginleştirilmesine dayanmaktadır. Milyonlarca küçük DNA fragmentinin paralel olarak dizilenmesi gerçekleştirilmekte; bu sayede insan genomundaki her bir bazın birden çok kez okunması mümkün olmakta ve varyasyonlar daha doğru bir şekilde tespit edilebilmektedir. NGS yönteminde 'Hereditör Kanser Paneli' içerisinde bulunan *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1*, *CHEK2*, *NF1*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *PIK3CA*, *ERBB2*, *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *HRAS*, *PTPN11*, *ALK*, *RET*, *MET*, *NOTCH1*, *BRAF*, *APC*, *CTNNB1*, *EPCAM*, *CDKN2A*, *CDK4*, *SMAD4*, *BMPRIA*, *VHL*, *PRSS1*, *GNAS*, *CSF1R*, *GNA11*, *HNF1A* genleri dizilenmiş ve biyoinformatik analizleri yapılmıştır.

3.6.1. Kütüphane Oluşturulması

PCR için gerekli olan kimyasal maddeler Library Preparation EF Kit 1 ile sağlanmıştır. Her seyreltilmiş gDNA örneğinden 10 µL 0,2 mL PCR tüpüne veya 96 kuyucuklu bir PCR plate'ine eklenerek buz üzerine bekletilmiştir. Enzymatic Fragmentation Mix buz üzerinde 1,5 mL mikrosantrifüj tüpünde hazırlandıktan sonra, her bir reaksiyon için 10 µL 5x Fragmentation Enzyme, 5 µL 10x Fragmentation Buffer ve 25 µL su toplam hacim 40 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. Her 10 µL gDNA örneğine 40 µL Enzymatic Fragmentation Mix'i eklenerek, PCR'a koyulmuştur.

PCR şartları aşağıdaki gibidir;

ADIM	SICAKLIK	ZAMAN
1. Ön soğutma	4 °C	Hold
2. Fragmentasyon	32 °C	22 Dakika
3. İnaktivasyon	65 °C	30 Dakika
4. Hold	4 °C	Hold

PCR tamamlandığında ligasyon aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada, Library Preparation EF Kit 1 içerisindeki kimyasallar ve CD Index Adapter Set 1–96 kiti kullanılmıştır. Her bir örnek tüpüne (dA-kuyruğu DNA fragmentlerini içeren) 5.5 µL İndekslenmiş Adaptör eklenerek buz üzerinde yavaşça karıştırılmıştır. Buz üzerinde 1,5 mL mikrosantrifüj tüpünde 20 µL DNA Ligation Buffer, 10 µL DNA Ligation Mix ve 14.5 µL su olacak şekilde toplam 44.5 µL Ligasyon mix'i hazırlanmıştır. Her bir örnek tüpüne 44.5 µL Ligasyon mix'i eklenerek ligasyon reaksiyonu için örnekler PCR'da 15 dakika boyunca 20 ° C'de inkübe edilmiştir.

Elde edilen PCR ürünlerinin saflaştırılması için DNA pürifikasyon boncukları ile çöktürme yöntemi kitin protokolüne uygun olarak yapılmıştır. Her bir ligasyon örneğine 80 µL (0.8x) DNA pürifikasyon boncukları eklenip vorteksleyerek iyice karıştırılıp oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilmiş ve örnekler manyetik plate üzerinde 1 dk bekletilmiştir. DNA pürifikasyon boncukları topak oluşturur ve berrak bir süpernatant bırakır. Berrak süpernatant alınıp atılmış, boncuk pelleti 200 µL taze hazırlanmış % 80'lik etanol ile yıkamış, 1 dakika inkübe edildikten sonra, etanol alınmış ve atılmıştır. Bu işlem manyetik plate üzerinde toplamda iki kez olacak şekilde tekrarlanmıştır. 5-10 dakika boncuk pelleti kuruyana kadar bekletilmiş, örnekler manyetik plate'den çıkarılıp her örneğe 17 µL su

eklenmiştir. Pipetleyerek karıştırılıp oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilmiştir. Örnekler manyetik plate'e yerleştirilip 3 dakika boncuklar tamamen topaklanana kadar bekletilip, boncuk peletini bozmamaya dikkat ederek indekslenmiş ligasyonlu kütüphaneleri içeren 15 µL berrak süpernatant temiz 0,2 mL PCR tüpüne veya 96 kuyucuklu PCR plate'ine aktarılmıştır.

Bu aşamada PCR için gerekli olan kimyasallar Library Preparation Kit 2 ile sağlanmıştır. 1,5 mL mikrosantrifüj tüpünde her bir reaksiyon için 10 µL Amplifikasyon Primerler, ILMN, 25 µL KAPA HiFi HotStart Ready Mix toplam hacim 35 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. indekslenmiş ligasyonlu kütüphanelere 35 µL PCR Mix eklenip örnekler PCR'a koyulmuştur.

PCR şartları aşağıdaki gibidir;

ADIM	SICAKLIK	ZAMAN	DÖNGÜ SAYISI
1. Başlatma	98°C	45 saniye	1
1. Denatürasyon	98°C	15 saniye	10
Bağlanma	60°C	30 saniye	
Uzama	72°C	30 saniye	
2. Final Uzama	72°C	1 Dakika	1
3. Final Hold	4°C	Hold	-

PCR tamamlandığında saflaştırma için her bir PCR örneğine 50 µL (1x) DNA purifikasyon boncukları eklenip vorteksleyerek iyice karıştırılıp oda sıcaklığında 5 dk inkübe edilmiş ve örnekler manyetik plate üzerinde 1 dk bekletilmiştir. Berrak süpernatant alınıp atılmış, boncuk pelleti 200 µL taze hazırlanmış % 80'lik etanol ile yıkayıp, 1 dakika inkübe edildikten sonra, etanol alınmış ve atılmıştır. Bu işlem manyetik plate üzerinde toplamda iki kez olacak şekilde tekrarlanmıştır. 5-10 dakika boncuk pelleti kuruyana kadar bekletilmiş, örnekler manyetik plate'den çıkarılıp her örneğe 22 µL su eklenmiştir. Pipetleyerek karıştırılıp oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilmiştir. Örnekler manyetik plate'e yerleştirilip 3 dakika boncuklar tamamen topaklanana kadar bekletilmiş, boncuk peletini bozmamaya dikkat ederek indekslenmiş ligasyonlu kütüphaneler içeren 20 µL berrak süpernatant temiz 0,2 mL PCR tüpüne veya 96 kuyucuklu PCR plate'ine aktarılmıştır.

DNA 7500 Testi ve Qubit™ dsDNA Geniş Aralıklı Kantitasyon Testi kullanarak her kütüphane doğrulanmış ve miktar belirlenmiştir.

Çoğaltılmış indeksli kütüphaneler ng/ µL cinsinden konsantrasyon değerleri ölçülerek 187.5'e bölündükten sonra her bir örneğin 187,5ng için gereken µL cinsinden hacmi hesaplanmıştır.

Havuz başına indekslenmiş kütüphane sayısı	Havuz başına indekslenmiş her kütüphanenin miktarı	Havuz başına toplam kütle
8	187.5 ng	1500

Hesaplanan hacimde çoğaltılmış indeksli kütüphaneler 0,2 mL PCR tüpüne aktarılmıştır. Havuzlanmış kütüphanelerin toplam hacmi ≥ 25 µL ise, doğrudan bir sonraki adıma geçilmiş, toplam hacmi < 25 µL ise, toplam hacmi 25 µL'ye getirmek için su eklenmiştir. Havuzlanmış kütüphane hacminin 1.5X'i kadar hacimde homojenize SPRI boncukları eklenip oda sıcaklığında 5dk inkübe edilmiş ve örnekler manyetik plate üzerinde 1 dakika bekletilmiştir. DNA saflaştırma boncukları pellet oluşturmuş ve süpernatant atılmıştır. Boncuk pelleti 200 µL taze hazırlanmış % 80'lik Ethanol ile yıkayıp 1 dakika bekletildikten sonra ethanol uzaklaştırılmıştır. Bu adım örnekler manyetik plate üzerinde iken bir kez daha tekrarlanmıştır. Boncuk pellet manyetik plate üzerinde 5-10 dakika pellet kuruyana kadar bekletilmiş, plate manyetik plate üzerinden kaldırılıp her bir örnek için 20 µL Hibridizasyon mix eklenerek homojenize oluncaya kadar karıştırılmıştır. Daha sonra çoğaltılmış indeksli kütüphaneleri içeren bu karışım temiz 0,2'lik tüplere aktarılmıştır.

Çoğaltılmış indeksli kütüphaneler ve SPRI boncuk karışımına aşağıdaki reaktifler eklendikten sonra, Hibridizasyon Reaksiyonu pipetleyerek iyice karıştırılmıştır.

Reaktif	Hacim
Çoğaltılmış indeksli kütüphaneler ve SPRI boncuk karışımı	20 µL
Blocker Mix 1 (Human Cot-1 DNA; [1 µg/ µL])	2 µL
Blocker Mix 2 (Specific veya Universal Blockers)	5 µL
Custom Panel Probes	4 µL
Su	4 µL
Toplam	40 µL

Hibridizasyon reaksiyonu PCR içine yerleştirildikten sonra program başlatılmış ve 70 °C Hold adımında 16 saat inkübe edilmiştir.

ADIM	SICAKLIK	ZAMAN	DÖNGÜ SAYISI
1	95 °C	5 dakika	1
2	70 °C	Hold	

3.6.2. Kütüphanelerin Zenginleştirilmesi ve Saflaştırılması

Bu aşamada Enrichment Reagents kiti kullanılmıştır. 1.5 mL tüplere 100 µL Streptavidin Binding boncukları eklenmiş, her capture (yakalama) reaksiyonu için 1 tüp hazırlanmıştır. Tüplere 200 µL Binding Buffer eklenip tüpler manyetik plate üzerinde 1 dakika bekletilmiş ve boncuk pelletine dokunmadan süpernatant atılmıştır. Daha sonra tüpler manyetik plate'den alınıp 2 kere ethanolle yıkama yapılmıştır. Üçüncü yıkamada berrak süpernatantı attıktan sonra, 200 µL Binding Buffer eklenmiş ve boncuklar homojen hale gelene kadar vortekslenmiştir. 16 saatlik hibridizasyon tamamlandıktan sonra her Hibridizasyon Reaksiyonunun tam hacmi yıkanmış Streptavidin Binding boncukları tüpüne hızla aktarılmıştır.

Hibridizasyon Reaksiyon tüpleri Streptavidin Binding boncukları ile 30 dakika boyunca oda sıcaklığında yeterli bir hızda karıştırılmış, tüpler manyetik plate üzerinde 1 dakika bekletilip süpernatant atılmıştır. Tüpler manyetik plate'den alınıp 200 µL Wash Buffer 1 eklenerek homojenize olana kadar karıştırılmıştır. Tüm karışım yeni 1.5mL lik

tüpe aktarılıp manyetik plate üzerinde 1 dakika bekledikten sonra süpernatant atılmıştır. Tüpler manyetik plate'den alınıp 200 µL 48 °C de önceden ısıtılmış Wash Buffer 2 ekledikten sonra 48 °C de 5 dk inkübe edilmiş ve manyetik plate'de 1 dakika bekletilmiştir. Süpernatant atılmış etanol ile 3 yıkama yapıldıktan sonra süpernatantın tamamı uzaklaştırılmıştır. Boncukların kuruması beklenmeden sonraki adıma geçilmiş, tüpler manyetik plate'den kaldırılıp 45 µL su eklenmiştir.

22.5 µL Streptavidin Binding boncukları karışımı temiz 0.2ml lik tüplere koyulup buz üzerinde bekletilmiş, aşağıda belirtilen reaktifler kullanılarak PCR mix hazırlanıp karışımının bulunduğu tüpe aktarılıp pipetaj yapıldıktan sonra PCR'a koyulmuştur.

Reaktif	Reaksiyon başına hacim
Streptavidin Binding boncukları karışımı	22.5 µL
Amplifikasyon primerleri, ILMN	2.5 µL
KAPA HiFiHotStart Ready Mix	25 µL
Toplam	50 µL

PCR şartları aşağıdaki gibidir;

ADIM	SICAKLIK	ZAMAN	DÖNGÜ SAYISI
Başlatma	98°C	45 saniye	1
Denatürasyon	98°C	15 saniye	
Bağlanma	60°C	30 saniye	8
Uzama	72°C	30 saniye	
Final Uzama	72°C	1 dakika	1
Final Hold	4°C	Hold	-

PCR tamamlandıktan sonra tüplere 50 µL DNA pürifikasyon boncukları eklenip oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyon yapılmıştır. Tüpler manyetik plate'de 1 dakika bekletildikten sonra süpernatant uzaklaştırılmıştır. 200 µL taze hazırlanmış % 80'lik etanol ile 1 dakika yıkama yapıp etanol uzaklaştırılmıştır. Bu işlem bir kez daha tekrarlanıp 10 µL pipetle kalan etanoller uzaklaştırıldıktan sonra manyetik plate üzerinde pellet 5-10 dakika kurumaya bırakılmış, tüpler manyetik plate'den alınıp 32 µL su eklendikten sonra 2 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Tüpler tekrar manyetik plate'ye yerleştirilip 3 dakika bekletildikten sonra zenginleştirilmiş kütüphaneyi içeren 30 µL süpernatant temiz bir 0.2 µL 'lik tüpe aktarılmıştır.

QC-kalite tayini için her zenginleştirilmiş kütüphane Bioanalyzer High Sensitivity DNA Kiti ve Qubit dsDNA High Sensitivity Quantitation Testi ile ölçülerek doğrulanmıştır.

3.6.3. Dizileme Reaksiyonu

Dizileme reaksiyonu aşaması NGS cihazında gerçekleştirilmiştir. 8'li setler halinde hazır olan kütüphaneler, konsantrasyon ölçümleri tamamlandıktan sonra cihazın talimatları doğrultusunda eşit konsantrasyonlarda olacak şekilde tek bir tüpte toplanmıştır. Örnekler NGS cihazına yüklendikten sonra uygun programlarda dizileme reaksiyonu başlatılmıştır.

3.7. Dizileme sonuçlarının analizi

Dizileme reaksiyonundan sonra elde edilen ham veri, Seq Genomize yazılımı kullanılarak incelenmiştir. Annotasyon aşamasından sonra bireylerdeki varyasyonlar filtrelenerek genomun kodlanmayan (intron) kısımlarında yer alan varyantlar dışlanmıştır, kodlanmış bölgelerde (ekzon) yer alan ve protein üzerindeki etkisi stop gain, stop lost, splicing variant, frameshift INDEL veya non-synonymous olarak annotate edilen varyantlar belirlenmiştir. Saptanan varyasyonların, biyoinformatik analizi ise NCBI (The National Center for Biotechnology Information) bünyesinde bulunan ClinVar ve dbSNP, MutationTaster, VarSome, Franklin gibi veri tabanları kullanılarak yapılmış (Tablo 3.1) ve tespit edilen varyantlar ACMG (American College of Medical Genetics) kılavuzuna uygun olarak sınıflandırılarak patojenik (P), olası patojenik (LP) ve klinik önemi belirsiz (VUS) şeklinde (Tablo 3.2) değerlendirmeye alınmıştır. Varyantların MAF (Minor allele frequency) değerleri gnomAD (The Genome Aggregation Database)'den alınmıştır. ClinVar veri tabanında verisi bulunmayan varyantlar ACMG kriterlerine göre sınıflandırılarak değerlendirilmiştir.

Tablo 3.1. Varyantların yorumlanmasında kullanılan veri tabanları.

Veri Tabanı	Adresi
ClinVar	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
dbSNP	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/
MutationTaster	http://www.mutationtaster.org/
VarSome	https://varsome.com/
Franklin	https://franklin.genoox.com/clinical-db/home
gnomAD	https://gnomad.broadinstitute.org/

Tablo 3.2. ACMG sınıflandırma kriterleri. Richards ve ark. (2015)'den alınmıştır.

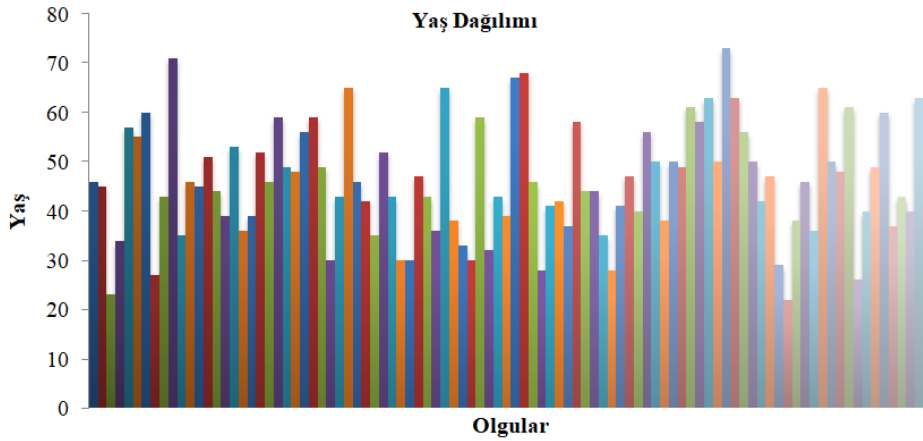
Sınıflandırma	Kriterler ve Kanıt kodları
Patojenik	<ul style="list-style-type: none">i. 1 Çok güçlü (PVS1) VE<ul style="list-style-type: none">(a) ≥ 1 Güçlü (PS1 – PS4) VEYA(b) ≥ 2 Orta (PM1 – PM6) VEYA(c) 1 Orta (PM1 – PM6) ve 1 destekleyici (PP1 – PP5) VEYA(d) ≥ 2 Destekleyici (PP1 – PP5)ii. ≥ 2 Güçlü (PS1 – PS4) VEYAiii. 1 Güçlü (PS1 – PS4) VE<ul style="list-style-type: none">(a) ≥ 3 Orta (PM1 – PM6) VEYA(b) (b) 2 Orta (PM1 – PM6) VE ≥ 2 Destekleyici (PP1 – PP5) VEYA(c) (c) 1 Orta (PM1 – PM6) VE ≥ 4 Destekleyici (PP1 – PP5)
Olası Patojenik	<ul style="list-style-type: none">i. 1 Çok güçlü (PVS1) VE 1 orta (PM1 – PM6) VEYAii. 1 Güçlü (PS1 – PS4) VE 1–2 orta (PM1 – PM6) VEYAiii. 1 Güçlü (PS1 – PS4) VE ≥ 2 Destekleyici (PP1 – PP5) VEYAiv. ≥ 3 Orta (PM1 – PM6) VEYAv. 2 Orta (PM1 – PM6) VE ≥ 2 Destekleyici (PP1 – PP5) VEYAvi. 1 Orta (PM1 – PM6) VE ≥ 4 Destekleyici (PP1 – PP5)
Benign	<ul style="list-style-type: none">i. 1 Bağımsız (BA1) VEYAii. ≥ 2 Güçlü (BS1 – BS4)
Olası Benign	<ul style="list-style-type: none">i. 1 Güçlü (BS1 – BS4) ve 1 Destekleyici (BP1 – BP7) VEYAii. ≥ 2 Destekleyici (BP1 – BP7)
Klinik Önemi Belirsiz	<ul style="list-style-type: none">i. Yukarıda gösterilen diğer kriterler karşılanmadı VEYAii. Benign ve Patojenik kriterler çelişkilidir

4. BULGULAR

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na başvuran meme kanseri tanısı almış veya belirlenen kriterlere sahip ancak *BRCA1/2* genlerinde yeni nesil dizi analizi sonucunda herhangi bir patojenik mutasyon tespit edilmemiş toplam 96 olguda, *TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1*, *CHEK2*, *NF1*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *PIK3CA*, *ERBB2*, *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *HRAS*, *PTPN11*, *ALK*, *RET*, *MET*, *NOTCH1*, *BRAF*, *APC*, *CTNNA1*, *EPCAM*, *CDKN2A*, *CDK4*, *SMAD4*, *BMP1A*, *VHL*, *PRSS1*, *GNAS*, *CSF1R*, *GNA11*, *HNF1A* genlerinin tüm kodlayıcı bölgeleri NGS ile dizilenmiştir. Saptanan varyasyonlar olguların klinik bulgularıyla birlikte değerlendirilmiş, sıklıkları belirlenmiş ve hastalığın seyri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

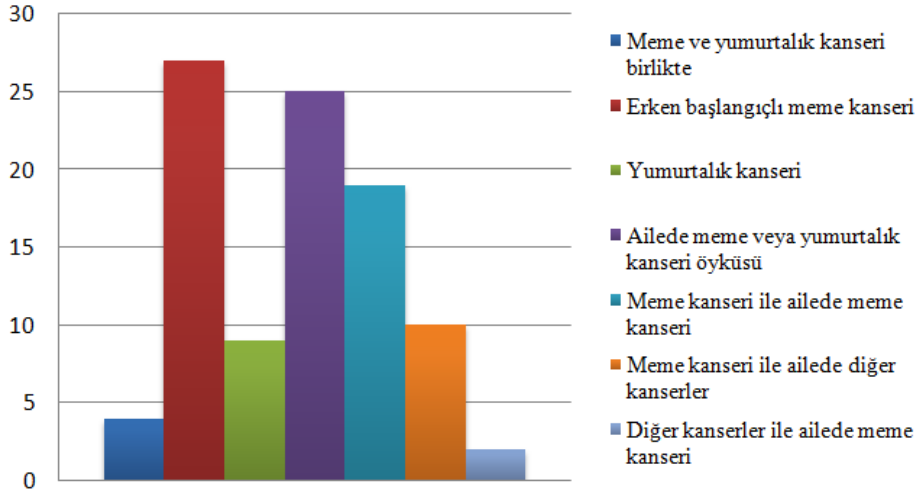
4.1. Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri

Çalışmaya dahil edilen olguların, 93'ü kadın ve 3'ü erkektir. Olguların şuan ki yaş ortalaması 23-73 şeklindedir (Şekil 4.1). Belli kriterler dahilinde çalışmaya alınan olguların klinik durumları Şekil 4.2'de verilmiştir. Çalışmaya dahil edilen meme kanseri tanılı olguların karsinom histolojik ve moleküler alt tip dağılımları Şekil 4.3'de, meme veya yumurtalık kanseri tanılı olguların tümör dereceleri ise Şekil 4.4'te özetlenmiştir.

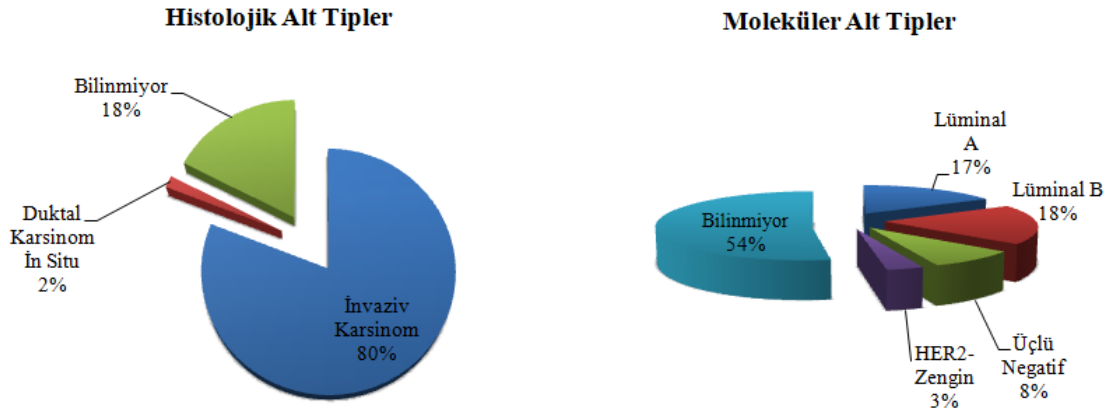


Şekil 4.1. Çalışmaya dahil edilen 96 olgunun yaşları dağılımları.

Dahil Etme Kriterleri

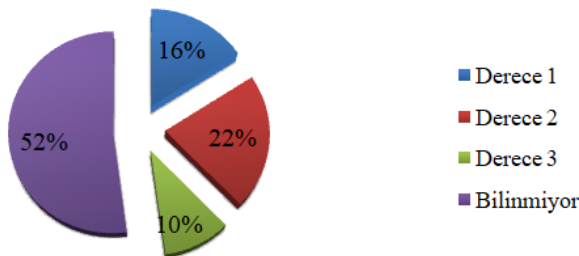


Şekil 4.2. Çalışmaya dahil etme kriterleri.



Şekil 4.3. Meme kanseri tanılı olguların karsinom morfolojik ve moleküler alt tip dağılımları.

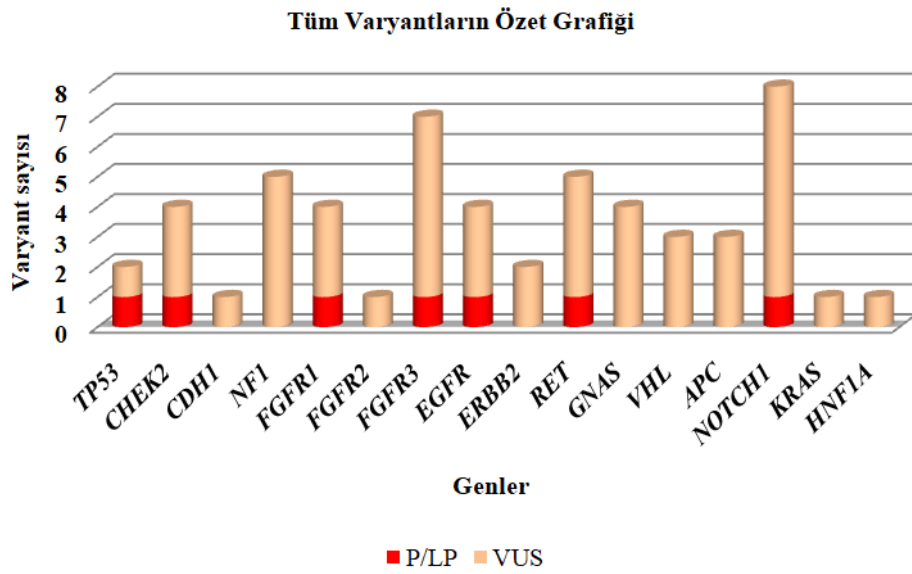
Tümör Derece Dağılımları



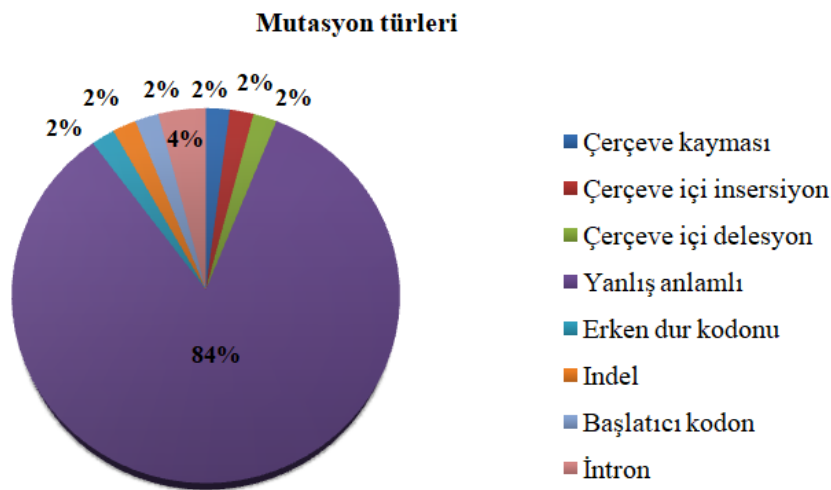
Şekil 4.4. Meme veya yumurtalık kanseri tanılı olguların tümör derece dağılımları.

4.2. Yeni Nesil Dizileme (NGS) Bulguları

Toplamda 96 olgu çalışmaya dahil edilmiş ve bu olguların 43'ünde (% 44,8) ClinVar veri tabanı veya ACMG kriterlerine göre 3 patojenik (P), 4 olası patojenik (LP) ve 48 klinik önemi belirsiz (VUS) olmak üzere 16 gende toplam 49 farklı varyant saptanmıştır (Şekil 4.5). Varyantlarda saptanan mutasyon türleri Şekil 4.6'da özetlenmiştir. Genlere göre varyant yüzde dağılımları Şekil 4.7'de gösterilmiştir. MAF (Minor allel frequency) değerleri gnomAD (The Genome Aggregation Database)'den alınmıştır.



Şekil 4.5. Çalışmada tespit edilen varyant sınıflarının genlere göre özeti.



Şekil 4.6. Çalışmada saptanan mutasyon türleri.

4.2.1. Patojenik/ Olası Patojenik Varyantlar

7 olgumuzda, 3 patojenik ve 4 olası patojenik varyant tespit edilmiştir. Bu varyantların 1'i çerçeve kayması, 1'i erken dur kodonu, 1'i indel ve 4'ü ise yanlış anlamlı mutasyonlardır. Tablo 4.1'de bu varyantlara ait bilgiler özetlenmiştir.

Tablo 4.1. Olgularda saptanan patojenik ve olası patojenik varyantlar.

Olgu No	Gen	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 1	TP53	c.80delC rs1192416464	p.Pro27LeufsTer17	<0,01	35	EMK	P
Olgu 2	CHEK2	c.290G>A -	p.Trp97Ter	NA	33	MK+AÖ	P
Olgu 3	FGFR1	c.338G>A rs201055054	p.Arg113His	<0,01	37	AÖ	LP
Olgu 4	FGFR3	c.2278G>A rs56266857	p.Asp760Asn	<0,01	39	AÖ	LP
Olgu 5	EGFR	c.2709_2710inv TG -	p.Val904Ile	NA	45	MK+AÖ	LP
Olgu 6	RET	c.2372A>T rs77724903	p.Tyr791Phe	<0,01	52	MK+AÖ	P
Olgu 7	NOTCH1	c.2962A>C -	p.Thr988Pro	NA	33	AÖ	LP

EMK: Erken Meme Kanseri, MK: Meme Kanseri, AÖ: Aile Öyküsü.

Olgu 1

Olgumuz 49 yaşında kadın olup 35 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü, derece 3, üçlü negatif ve invaziv karsinom sınıfındadır. Olgumuzun kanserli memesi opere olduktan sonra hastalık tekrar nüks etmiştir. Olguda *TP53* geninin 3. ekzonunda saptanan heterozigot c.80delC varyantı çerçeve kayması mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0'dır. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Olgunun aynı zamanda *HNF1A* geninde de varyant tespit edilmiştir (ilgili bölümde açıklanacaktır).

Olgu 2

Olgumuz 35 yaşında kadın olup 33 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Annesi meme kanseri nedeniyle 58 yaşında ex olan olgumuzun anneannesi de kolon kanseri sebebiyle ex olmuştur. Olgumuzun tümörü invaziv lobüler karsinom sınıfındadır ve lenf noduna metastazları mevcuttur. Olguda *CHEK2* geninin 2. ekzonunda saptanan heterozigot c.290G>A varyantı erken dur kodonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı bilinmemektedir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 3

Olgumuz 37 yaşında olup ailede meme kanseri öyküsüyle bölümümüze başvurmuştur. Olguda *FGFR1* geninin 4. ekzonunda saptanan heterozigot c.338G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000161'dir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 4

Olgumuz 39 yaşında kadın olup 31 yaşında memesinde kitle tespit edilmiştir. Olgumuzun bir teyzesi 39 yaşında meme kanseri nedeniyle ex olmuştur. Diğer teyzesi 46 yaşında, kuzeni ise 48 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. *FGFR3* geninin 17. ekzonunda saptanan heterozigot c.2278G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00025'dir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 5

Olgumuz 59 yaşında kadın olup 45 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ablası 47 yaşında meme kanseri nedeniyle ex olan olgumuzun annesi ise mide kanseri sonucu ex olmuştur. Olgumuzun tümörü, derece 1, lüminal B ve invaziv karsinom sınıfındadır. *EGFR* geninin 23. ekzonunda saptanan heterozigot c.2709_2710invTG varyantı indel mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı bilinmemektedir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 6

Olgumuz 59 yaşında kadın olup 52 yaşında invaziv duktal karsinom tanısı almıştır. Ablası 57 yaşında invaziv duktal karsinom tanılı olgumuzun, annesi ise 80 yaşında invaziv lobüler karsinom tanılıdır. *RET* geninin 13. ekzonunda saptanan heterozigot c.2372A>T varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00209'dur. Varyant ClinVar'da meme kanseriyle ilişkili patojenik mutasyon olarak tanımlanmıştır. ACMG kriterlerine göre değerlendirildiğinde de varyant patojenik olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 7

33 yaşında kadın olan olgumuzun annesi yumurtalık kanseri ve *BRCA1* pozitifdir. *NOTCH1* geninin 18. ekzonunda saptanan heterozigot c.2962A>C varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı bilinmemektedir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre olası patojenik olarak sınıflandırılmıştır.

4.2.2. Klinik Önemi Belirsiz Varyantlar

37 olgumuzda toplam 48 tane VUS varyant tespit edilmiştir. Bu varyantların 46 tanesi kodlanan, 2 tanesi kodlanmayan bölgede bulunmaktadır. Varyantların 1'i çerçeve içi delesyon, 2'si çerçeve içi insersiyon, 1'i başlatıcı kodon ve 42'si yanlış anlamlı mutasyonlardır.

TP53 Geni Varyantları

Tablo 4.2. Olgularda saptanan TP53 geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 8	c.460G>A rs137852789	p.Gly154Ser	<0,01	58	YK	VUS

YK: Yumurtalık Kanseri.

Olgu 8

Olgumuz 60 yaşında kadın olup 58 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun gen ekspresyon çalışmalarına göre p53 pozitif ve ER negatiftir. *TP53* geninin 5. ekzonunda saptanan heterozigot c.460G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00000398'dir. ClinVar veritabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

CHEK2 Geni Varyantları

Tablo 4.3. Olgularda saptanan CHEK2 geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 9	c.678G>C rs745646057	p.Leu226Phe	<0,01	28	MK+ADK	VUS
Olgu 10	c.246_260delCCAAGAACCTGAGGA rs587780181	p.Asp82_Glu86del	<0,01	38	EMK	VUS
Olgu 11	c.1685G>T rs587780180	p.Arg562Leu	<0,01	48	MK+AÖ	VUS

MK: Meme Kanseri, EMK: Erken Meme Kanseri, AÖ: Aile Öyküsü, ADK: Ailede Diğer Kanseller.

Olgu 9

Olgumuz 30 yaşında kadın olup 28 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Anneanesi pankreas kanseri ve dedesi akciğer kanseri sonucunda ex olan olgumuzun babası ise tiroid kanseri tanılıdır. Olgumuzun tümörü, derece 2, lüminal A ve invaziv karsinom sınıfındadır. *CHEK2* geninin 5. ekzonunda saptanan homozigot c.678G>C varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000119'dur. ClinVar veritabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır. Olgunun aynı zamanda *NOTCH1* geninde de varyant tespit edilmiştir (ilgili bölümde açıklanacaktır).

Olgu 10

Olgumuz 40 yaşında kadın olup 38 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü invaziv duktal karsinom sınıfındadır ve lenf noduna metastazları mevcuttur. *CHEK2* geninin 2. ekzonunda saptanan heterozigot c.246_260delCCAAGAACCTGAGGA varyantı çerçeve içi delesyon mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000147'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır. Olgunun aynı zamanda *NFI* ve *FGFR2* genlerinde de varyant tespit edilmiştir (ilgili bölümlerde açıklanacaktır).

Olgu 11

Olgumuz 61 yaşında kadın olup 48 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Teyzesi meme kanseri olan olgumuzun kardeşi ise akciğer kanseri tanılıdır. Olgumuzun tümörü invaziv duktal karsinom sınıfındadır ve lenf noduna metastazları mevcuttur. Gen ekspresyon çalışmalarına göre ER, PR pozitifdir. *CHEK2* geninin 16. ekzonunda saptanan heterozigot c.1685G>T varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000223'tür. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

CDH1 Geni Varyantları

Tablo 4.4. Olgularda saptanan CDH1 geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 12	c.2629G>A rs555842031	p.Gly877Arg	<0,01	44	YK	VUS

YK: Yumurtalık Kanseri.

Olgu 12

Olgumuz 46 yaşında kadın olup 44 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır. Ablası da yumurtalık kanseri sebebiyle tedavi görmektedir. Olgumuzun tümör derecesi 3 olarak belirlenmiştir. *CDHI* geninin 16. ekzonunda saptanan heterozigot c.2629G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000119'dur. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır. Olgunun aynı zamanda *FGFR1* geninde de varyant tespit edilmiştir (ilgili bölümde açıklanacaktır).

NF 1 Geni Varyantları

Tablo 4.5. Olgularda saptanan NF1 geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 13	c.2393A>C rs745498566	p.Lys798Thr	NA	39	YK	VUS
Olgu 10	c.4813A>G rs199474766	p.Ile1605Val	<0,01	38	EMK	VUS
Olgu 14	c.4074_4075delCCinsAA rs1555617362	p.Pro1359Thr	NA	38	AÖ	VUS
Olgu 14	c.4075C>A rs745931495	p.Pro1359Thr	<0,01	38	AÖ	VUS
Olgu 15	c.3883A>G rs143836226	p.Thr1295Ala	<0,01	46	EMK	VUS

YK: Yumurtalık Kanseri, EMK: Erken Meme Kanseri, AÖ: Aile Öyküsü.

Olgu 13

Olgumuz 41 yaşında kadın olup 39 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır. Olgumuzun amcası 29 yaşında akciğer kanseri sebebiyle ex olmuştur. Olgumuzun tümör derecesi 2 olarak belirlenmiştir. *NF1* geninin 20. ekzonunda saptanan heterozigot c.2393A>C varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı bilinmemektedir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 10

Olgumuz 40 yaşında kadın olup 38 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü invaziv duktal karsinom sınıfındadır ve lenf noduna metastazları mevcuttur. *NFI* geninin 36. ekzonunda saptanan heterozigot c.4813A>G varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00000399'dur. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 14

Olgumuz 38 yaşında kadın olup ailede meme kanseri öyküsüyle bölümümüze başvurmuştur. Teyze ve anneannesi meme kanseri olan olgumuzun kız kardeşi yumurtalık kanseri ve dedesi prostat kanseri tanısı almıştır. *NFI* geninin 30. ekzonunda saptanan heterozigot c.4074_4075delCCinsAA ve c.4075C>A varyantları yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. c.4074_4075delCCinsAA varyantının alel frekansı bilinmezken, c.4075C>A varyantının 0,00000398'dir. Her ikisinde ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 15

Olgumuz 49 yaşında kadın olup 46 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü derece 2, HER2 bakımından zengin ve invaziv duktal karsinom sınıfındadır. Lenf noduna metastazları mevcuttur. *NFI* geninin 29. ekzonunda saptanan heterozigot c.3883A>G varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000111'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

FGFR Gen Varyantları

Tablo 4.6. Olgularda saptanan FGFR1 geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 12	c.495_497dupTGA rs138489552	p.Asp166dup	<0,01	44	YK	VUS
Olgu 16	c.485A>C rs765615419	p.Asp162Ala	<0,01	34	EMK	VUS
Olgu 17	c.495_497dupTGA rs138489552	p.Asp166dup	<0,01	37	YK	VUS

YK: Yumurtalık Kanseri, EMK: Erken Meme Kanseri.

Olgu 12 ve 17

Olgu 12, 46 yaşında kadın olup 44 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır. Kız kardeşi de (Olgu 17) 39 yaşında kadın olup 37 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır ve tedavi görmektedir. Olgu 12'nin tümör derecesi 3 olarak belirlenmiştir. Her iki olgumuzda da *FGFR1* geninin 5. ekzonunda saptanan heterozigot c.495_497dupTGA varyantı çerçeve içi insersiyon mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000272'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır. Olgu 17'nin aynı zamanda *NOTCH1* geninde de varyant tespit edilmiştir (ilgili bölümde açıklanacaktır).

Olgu 16

Olgumuz 36 yaşında kadın olup 34 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Olgumuzun tümörü invaziv karsinom sınıfındadır ve gen ekspresyon çalışmaları sonucunda ER, PR negatif bulunmuştur. *FGFR1* geninin 5. ekzonunda saptanan heterozigot c.485A>C varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000142'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Tablo 4.7. Olgularda saptanan FGFR2 geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 10	c.247A>G rs765682593	p.Asn83Asp	<0,01	38	EMK	VUS

EMK: Erken Meme Kanseri.

Olgu 10

Olgumuz 40 yaşında kadın olup 38 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü invaziv duktal karsinom sınıfındadır ve lenf noduna metastazları mevcuttur. *FGFR2* geninin 3. ekzonunda saptanan heterozigot c.247A>G varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00000398'dir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Tablo 4.8. Olgularda saptanan FGFR3 geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 18	c.1292C>A	p.Ala431Glu	NA	27	AÖ	VUS
Olgu 19	c.1739C>T rs989826317	p.Ser580Phe	<0,01	54	MK+ADK	VUS
Olgu 20	c.272C>T rs144995231	p.Pro91Leu	<0,01	37	EMK	VUS
Olgu 21	c.329G>A rs556916370	p.Arg110Gln	<0,01	47	AÖ	VUS
Olgu 22	c.329G>A rs556916370	p.Arg110Gln	<0,01	29	AÖ	VUS
Olgu 23	c.329G>A rs556916370	p.Arg110Gln	<0,01	22	AÖ	VUS

AÖ: Aile Öyküsü, MK: Meme Kanseri, ADK: Ailede Diğer Kanseler, EMK: Erken Meme Kanseri.

Olgu 18

Olgumuz 27 yaşında kadın olup ailede meme kanseri öyküsüyle bölümümüze başvurmuştur. Annesi 48 yaşında meme kanseri tanısı alan olgumuzun teyzesi 46 yaşında, anneannesi ise 50 yaşında meme kanseri nedeniyle ex olmuştur. Anneanneninin iki kardeşinden biri meme kanseri diğeri ise yumurtalık kanseridir. *FGFR3* geninin 10. ekzonunda saptanan heterozigot c.1292C>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı bilinmemektedir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 19

Olgumuz 56 yaşında kadın olup 54 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ablası tiroid, diğer kardeşi ise beyin kanseridir ve babası mesane kanseri nedeniyle ex olmuştur. Olgumuzun tümörü HER2 bakımından zengin ve invaziv karsinom sınıfındadır. *FGFR3* geninin 13. ekzonunda saptanan heterozigot c.1739C>T varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000969'dur. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 20

Olgumuz 39 yaşında kadın olup 37 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü derece 2 ve invaziv karsinom sınıfındadır. Gen ekspresyon çalışmaları sonucunda ER, PR negatif bulunmuştur. *FGFR3* geninin 3. ekzonunda saptanan heterozigot c.272C>T varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000176'dır. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 21, 22 ve 23

Olgu 21, 47 yaşında kadın olup olgu 22 (29 yaşında) ve olgu 23'ün (22 yaşında) teyzeleridir. Aile öyküsü nedeniyle bölümümüze başvurmuşlardır. Olgu 21'in ablası, 22 ve 23'ün teyzeleri 49 yaşında meme kanseri tanısı alırken, olgu 21'in annesi ve olgu 22 ve 23'ün anneanneleri de 59 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. *FGFR3* geninin 3. ekzonunda saptanan heterozigot c.329G>A varyantı üç olgumuzda da mevcuttur ve yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000705'tir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

EGFR Geni Varyantları

Tablo 4.9. Olgularda saptanan EGFR geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 24	c.3199C>A rs778095401	p.Gln1067Lys	<0,01	35	EMK	VUS
Olgu 25	c.3566G>C rs747600559	p.Gly1189Ala	<0,01	69	MK+AÖ	VUS
Olgu 26	c.2024G>A rs150423237	p.Arg675Gln	<0,01	63	MK+AÖ	VUS

MK: Meme Kanseri, EMK: Erken Meme Kanseri, AÖ: Aile Öyküsü.

Olgu 24

Olgumuz 46 yaşında kadın olup 34 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzda billateral meme kanseri gelişimi söz konusudur. *EGFR* geninin 27. ekzonunda saptanan heterozigot c.3199C>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00000401'dir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 25

Olgumuz 71 yaşında kadın olup 69 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Kız kardeşi 53 yaşında meme kanseri nedeniyle ex olmuştur. Tümör derecesi 1 olarak belirlenmiştir. *EGFR* geninin 28. ekzonunda saptanan heterozigot c.3566G>C varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000119'dur. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 26

Olgumuz 65 yaşında kadın olup 63 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Annesi 55 yaşında meme kanseri nedeniyle ex olan olgumuzun teyzeleri de yine meme kanseri sonucu ex olmuştur. Baba ve bir kardeşi ise akciğer kanseridir. Olgumuzun tümörü derece 3, lüminal B ve invaziv karsinom sınıfındadır. Lenf noduna metastazları mevcuttur. *EGFR* geninin 17. ekzonunda saptanan heterozigot c.2024G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu

ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000213'tür. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

ERBB2 Geni Varyantları

Tablo 4.10. Olgularda saptanan ERBB2 geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 27	c.3182T>C rs141142822	p.Leu1061Pro	<0,01	63	MK	VUS
Olgu 28	c.2790G>T rs138957632	p.Glu930Asp	<0,01	28	MK+AÖ	VUS

MK: Meme Kanseri, AÖ: Aile Öyküsü.

Olgu 27

Olgumuz 63 yaşında kadın olup meme kanseri tanısı almıştır. *ERBB2* geninin 26. ekzonunda saptanan heterozigot c.3182T>C varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00023'tür. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 28

Olgumuz 30 yaşında kadın olup 28 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ablası meme kanseri olan olgumuzun dedesi ise akciğer kanseridir. Olgumuzun tümörü derece 2, lüminal B ve invaziv duktal karsinom sınıfındadır. Lenf noduna metastazları mevcuttur. *ERBB2* geninin 23. ekzonunda saptanan heterozigot c.2790G>T varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000566'dır. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

RET Geni Varyantları

Tablo 4.11. Olgularda saptanan RET geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 29	c.1699G>A rs147219360	p.Asp567Asn	<0,01	57	YK	VUS
Olgu 30	c.785T>C rs139790943	p.Val262Ala	<0,01	65	DK+AÖ	VUS
Olgu 31	c.890G>A rs1480040525	p.Arg297His	NA	64	MK+AÖ	VUS
Olgu 32	c.961G>A rs377767388	p.Gly321Arg	<0,01	39	EMK	VUS

YK: Yumurtalık Kanseri, DK: Diğer Kanseler, AÖ: Aile Öyküsü, EMK: Erken Meme Kanseri.

Olgu 29

Olgumuz 59 yaşında kadın olup 57 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır. *RET* geninin 9. ekzonunda saptanan heterozigot c.1699G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000171'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır. Olgunun aynı zamanda APC geninde de varyant tespit edilmiştir (ilgili bölümde açıklanacaktır).

Olgu 30

Olgumuz 65 yaşında kadın olup 64 yaşında kolon kanseri tanısı almıştır. Ablası 56 yaşında meme kanseri tanısı alırken, annesi 96 yaşında melanomadır. Teyzesinin torununda da 40 yaş altı meme kanseri mevcuttur. *RET* geninin 4. ekzonunda saptanan heterozigot c.785T>C varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000247'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 31

Olgumuz 68 yaşında kadın olup 64 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Kız kardeşi 48 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almış ve 54 yaşında ex olmuştur. Olgumuzun tümörü derece 2, lüminal A ve invaziv duktal karsinom sınıfındadır. Sağ memeye metastaz olmuştur. *RET* geninin 5. ekzonunda saptanan heterozigot c.890G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı bilinmemektedir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır. Olgunun aynı zamanda *VHL* ve *NOTCH1* genlerinde de varyant tespit edilmiştir (ilgili bölümde açıklanacaktır).

Olgu 32

Olgumuz 42 yaşında kadın olup 39 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü, invaziv karsinom sınıfındadır ve gen ekspresyon çalışmaları sonucunda ER pozitif, PR negatif bulunmuştur. *RET* geninin 5. ekzonunda saptanan heterozigot c.961G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000766'dır. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

GNAS Geni Varyantları

Tablo 4.12. Olgularda saptanan GNAS geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 33	c.139G>A rs1324156819	p.Glu47Lys	<0,01	23	AÖ	VUS
Olgu 34	c.139G>A rs1324156819	p.Glu47Lys	<0,01	34	AÖ	VUS
Olgu 35	c.1169C>T	p.Thr390Ile	NA	27	MK+YK	VUS
Olgu 36	c.2069-3778C>T rs146581290	-	<0,01	32	AÖ	VUS

MK: Meme Kanseri, YK: Yumurtalık Kanseri, AÖ: Aile Öyküsü.

Olgu 33 ve 34

Olgu 33 (23 yaşında), olgu 34 (34 yaşında) iki kız kardeş olup ailede meme kanseri öyküsü nedeniyle bölümümüze başvurmuşlardır. Anneleri 43 yaşında meme kanseri tanısı alan olgularımızın teyzeleri de meme kanseri nedeniyle ex olmuştur. Ablaları ise lenfomadır. *GNAS* geninin 1. ekzonunda saptanan heterozigot c.139G>A varyantı her iki olgumuzda da mevcuttur ve yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00000524'tür. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 35

Olgumuz 30 yaşında kadın olup 27 yaşında yumurtalık, 29 yaşında ise meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü, invaziv karsinom sınıfındadır. *GNAS* geninin 1. ekzonunda saptanan heterozigot c.1169C>T varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı bilinmemektedir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 36

Olgumuz 32 yaşında kadın olup ailede meme kanseri öyküsüyle bölümümüze başvurmuştur. Annesi (Olgu 6) 53 yaşında invaziv duktal karsinom tanısı alan olgumuzun teyzesi 57 yaşında tanı almıştır. Anneannesi ise 80 yaşında invaziv lobüler karsinom tanılıdır. *GNAS* geninin kodlanmayan bölgesi 1. intronunda saptanan heterozigot c.2069-3778C>T varyantı intron mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00003'tür. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

VHL Geni Varyantları

Tablo 4.13. Olgularda saptanan VHL geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 37	c.607C>A -	p.Gln203Lys	NA	43	AÖ	VUS
Olgu 31	c.3G>A rs578091032	p.Met1?	<0,01	64	MK+ADK	VUS
Olgu 31	c.631A>C rs200019083	p.Met211Leu	<0,01	64	MK+ADK	VUS

AÖ: Aile Öyküsü, MK: Meme Kanseri, ADK: Ailede Diğer Kanseler

Olgu 37

Olgumuz 43 yaşında kadın olup ailede meme kanseri öyküsüyle bölümümüze başvurmuştur. Anne 57 yaşında billateral meme kanseri tanısı alan olgumuzun ablası ise 46 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Babası mide kanseri ve dayısı lenfoma nedeniyle ex olmuştur. *VHL* geninin 3. ekzonunda saptanan heterozigot c.607C>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı bilinmemektedir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 31

Olgumuz 68 yaşında kadın olup 64 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Kız kardeşi 48 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almış ve 54 yaşında ex olmuştur. Olgumuzun tümörü derece 2, lüminal A ve invaziv duktal karsinom sınıfındadır. Sağ memeye metastaz olmuştur. *VHL* geninin 1. ve 3. ekzonunda saptanan heterozigot sırasıyla c.3G>A ve c.631A>C varyantları başlangıç kodonu ve yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantların alel frekansı sırasıyla 0,0000647 ve 0,0000199'dur. Her iki varyantta ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmaktadır.

APC Geni Varyantları

Tablo 4.14. Olgularda saptanan APC geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 29	c.3920T>A rs1801155	p.Ile1307Lys	<0,01	57	YK	VUS
Olgu 38	c.3920T>A rs1801155	p.Ile1307Lys	<0,01	37	EMK	VUS
Olgu 39	c.2026A>G rs745529713	p.Ile676Val	<0,01	48	EMK	VUS

YK: Yumurtalık Kanseri, EMK: Erken Meme Kanseri.

Olgu 29

Olgumuz 59 yaşında kadın olup 57 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır. *APC* geninin 16. ekzonunda saptanan heterozigot c.3920T>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00201'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 38

Olgumuz 38 yaşında kadın olup 37 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü derece 3, lüminal B ve invaziv karsinom sınıfındadır. *APC* geninin 16. ekzonunda saptanan heterozigot c.3920T>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00201'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 39

Olgumuz 58 yaşında kadın olup 48 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. *APC* geninin 16. ekzonunda saptanan heterozigot c.2026A>G varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000239'dur. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

NOTCH1 Geni Varyantları

Tablo 4.15. Olgularda saptanan NOTCH1 geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 40	c.6739C>G rs377165086	p.Leu2247Val	<0,01	53	MK+YK	VUS
Olgu 41	c.4492A>G rs745681787	p.Lys1498Glu	<0,01	40	MK+AÖ	VUS
Olgu 42	c.3853G>A rs756972680	p.Val1285Met	<0,01	50	MK+AÖ	VUS
Olgu 9	c.6781G>A -	p.Gly2261Ser	NA	28	MK+ADK	VUS
Olgu 31	c.6739C>G rs377165086	p.Leu2247Val	<0,01	64	MK+ADK	VUS
Olgu 31	c.125G>A rs754666783	p.Gly42Asp	<0,01	64	MK+ADK	VUS
Olgu 17	c.823G>A rs371333249	p.Gly275Ser	<0,01	39	YK	VUS

MK: Meme Kanseri, YK: Yumurtalık Kanseri, AÖ: Aile Öyküsü, ADK: Ailede Diğer Kanseller.

Olgu 40

Olgumuz 55 yaşında kadın olup 51 yaşında yumurtalık, 53 yaşında ise meme kanseri tanısı almıştır. Kız kardeşi 40 yaş altı meme kanseri tanılıdır. Olgumuzun tümörü derece 2, lüminal A ve invaziv karsinom sınıfındadır. Lenf nodu karaciğer ve yumurtalık metastazları mevcuttur. *NOTCH1* geninin 34. ekzonunda saptanan heterozigot c.6739C>G varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,000371'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 41

Olgumuz 42 yaşında kadın olup 40 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Anneanesi de meme kanseridir. Olgumuzun tümörü derece 2, lüminal A ve invaziv duktal karsinom sınıfındadır. Lenf nodu metastazları mevcuttur. *NOTCH1* geninin 25. ekzonunda saptanan heterozigot c.4492A>G varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000365'tir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 42

Olgumuz 52 yaşında kadın olup 50 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Bir amca kızı (60 yaşında ex) ve bir hala kızı 50 yaş üzeri meme kanseri tanılı olan olgumuzun halasının oğlu ise akciğer kanseri sonucunda ex olmuştur. Olgumuzun tümörü derece 1, lüminal A ve invaziv lobüler karsinom sınıfındadır. *NOTCH1* geninin 23. ekzonunda saptanan heterozigot c.3853G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000551'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

Olgu 9

Olgumuz 30 yaşında kadın olup 28 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Anneannesi pankreas kanseri ve dedesi akciğer kanseri sonucunda ex olan olgumuzun babası ise tiroid kanseri tanılıdır. Olgumuzun tümörü, derece 2, lüminal A ve invaziv karsinom sınıfındadır. *NOTCH1* geninin 34. ekzonunda saptanan heterozigot c.6781G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı bilinmemektedir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 31

Olgumuz 68 yaşında kadın olup 64 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Kız kardeşi 48 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almış ve 54 yaşında ex olmuştur. Olgumuzun tümörü derece 2, lüminal A ve invaziv duktal karsinom sınıfındadır. Sağ memeye metastaz olmuştur. *NOTCH1* geninin 34. ve 2. ekzonunda saptanan heterozigot sırasıyla c.6739C>G ve c.125G>A varyantları yanlış anlam mutasyonları ile sonuçlanmaktadır. Varyantların alel frekansı sırasıyla 0,0000371 ve 0,0000265'tir. c.6739C>G varyantı ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılırken, c.125G>A varyantının verisi bulunmamaktadır ve ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Olgu 17

Olgumuz 39 yaşında kadın olup 37 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır. *NOTCH1* geninin 5. ekzonunda saptanan heterozigot c.823G>A varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,0000322'dir. ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz varyant olarak sınıflandırılmaktadır.

KRAS Geni Varyantları

Tablo 4.16. Olgularda saptanan KRAS geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 43	c.451-5563C>T -	-	NA	35	EMK	VUS

EMK: Erken Meme Kanseri.

Olgu 43

Olgumuz 38 yaşında kadın olup 35 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü, üçlü negatif ve invaziv duktal karsinom sınıfındadır. *KRAS* geninin kodlanmayan bölgesi 4. intronunda saptanan heterozigot c.451-5563C>T varyantı intron mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı bilinmemektedir. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

HNF1A Geni Varyantları

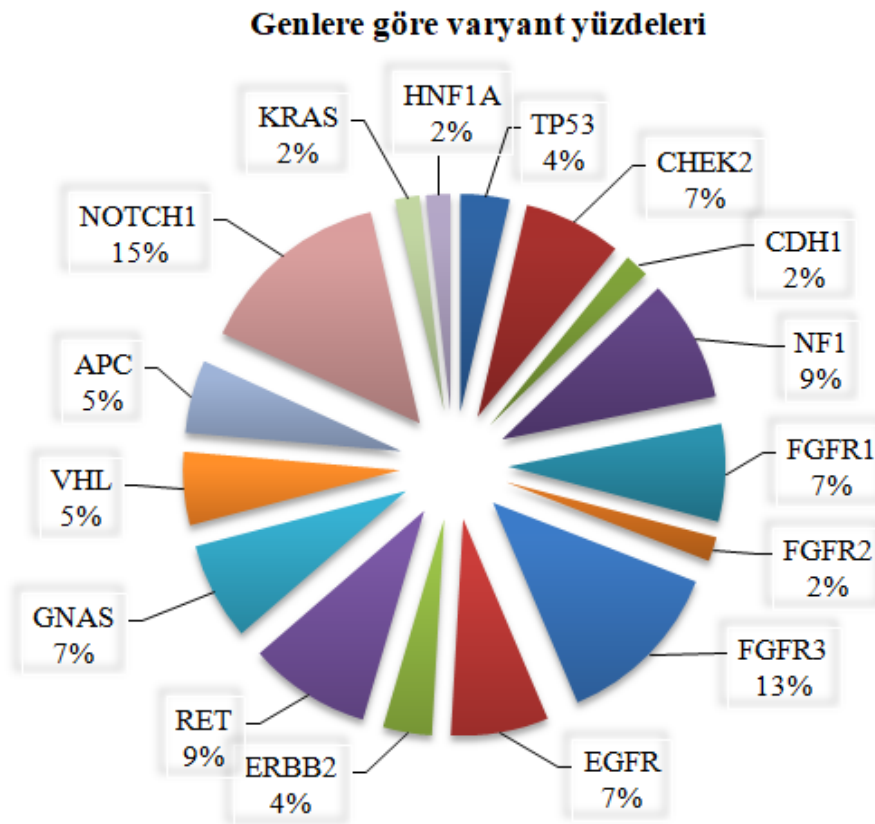
Tablo 4.17. Olgularda saptanan HNF1A geni varyantları.

Olgu No	cDNA rs ID	Protein	MAF	Yaş	Klinik	Sınıflama
Olgu 1	c.1841A>T rs779019818	p.Asn614Ile	<0,01	35	EMK	VUS

EMK: Erken Meme Kanseri.

Olgu 1

Olgumuz 49 yaşında kadın olup 35 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü, derece 3, üçlü negatif ve invaziv karsinom sınıfındadır. Olgumuzun kanserli memesi opere olduktan sonra hastalık tekrar nüks etmiştir. Olguda *HNF1A* geninin 10. ekzonunda saptanan heterozigot c.1841A>T varyantı yanlış anlam mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. Varyantın alel frekansı 0,00000399'dur. ClinVar'da verisi olmayan varyant ACMG kriterlerine göre klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.7. Genlere göre varyant yüzde dağılımları.

5. TARTIŞMA

Meme kanseri, kadınlarda en yaygın görülen kanser türüdür ve dünya çapında bu popülasyonda kanser ölümlerinin önde gelen nedenidir ve en yüksek insidans 45 ile 65 yaş arasındadır (Ferlay ve ark, 2015). Meme kanseri, klinik, morfolojik ve moleküler çok farklı özellikleri içeren karmaşık bir hastalıktır. Bu heterojenlik sadece tümör boyutu, lenf nodu tutulumu, histolojik derece, yaş gibi klinik parametrelerle veya hastaların tanı ve tedavisinde rutin olarak kullanılan östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) gibi biyobelirteçler tarafından açıklanamaz. Son yıllarda araştırmalar, bu hastalığın moleküler biyolojisine derinlemesine odaklanmıştır. Teknolojik atılımlar ve özellikle yüksek verimli yaklaşımlar, araştırmacıların meme kanserinin doğasını araştırmasına izin vererek, bu hastalığın çeşitli sinyal yollarının birbirine bağlanmasını gerektirdiğini ve hem hücrel mikro ortamın hem de hastanın doğuştan gelen özelliklerinin hastalık patofizyolojisini ve tedavi yanıtını etkilediğini ortaya çıkarmıştır. Bu bulgular, bunun sadece bir hastalık değil, birçok hastalık olduğunu ve her hastanın kişiselleştirilmiş tıbbın önemli bir rol oynayabileceği özel bir vakayı temsil ettiğini göstermiştir (Eroles, Bosch, Pérez-Fidalgo & Lluch, 2012).

Genomik teknolojilerdeki gelişmeler, önemli miktarda yaygın düşük penetrans lokuslarını tanımlayan genom çapında ilişki çalışmalarında (GWAS) büyük ölçekli genotiplemeye yol açmıştır. Büyük ilerleme kaydedilmiştir, ancak hereditör meme kanserindeki genetik geçmişin önemli bir kısmı henüz açıklanamamıştır. Ek olarak, halihazırda tanımlanmış bazı risk genlerinin işlevsel ve klinik etkileri sınırlıdır çünkü sağlam risk tahminleri eksiktir ve poligenik bağlamları net değildir.

Birçok faktörün kombinasyonu, meme bezinin normal fonksiyonunu ve gelişimini modüle eden sinyal yollarının deregülasyonuna yol açmaktadır. Bu nedenle, bu hastalığın arkasındaki moleküler mekanizmanın çözülmesi, erken (ve daha doğru) tanıya kılavuzluk etmenin yanı sıra olası tedavi için daha iyi hedefler sağlamaktadır. Bu bağlamda çalışmamızda, meme kanseri tanısı almış veya belirlenen kriterleri karşılayan fakat

BRCA1/2 genlerinde herhangi bir patojenik varyant bulunmayan 96 olguda NGS yöntemi ile 34 gen (*TP53*, *PTEN*, *STK11*, *CDH1*, *CHEK2*, *NF1*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *PIK3CA*, *ERBB2*, *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *HRAS*, *PTPN11*, *ALK*, *RET*, *MET*, *NOTCH1*, *BRAF*, *APC*, *CTNBN1*, *EPCAM*, *CDKN2A*, *CDK4*, *SMAD4*, *BMPRIA*, *VHL*, *PRSS1*, *GNAS*, *CSFIR*, *GNA11*, *HNF1A*) analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda, 16 gende (% 47) toplam 49 farklı varyant saptanmıştır. Bu varyantların 3'ü patojenik, 4'ü olası patojenik ve 42'si klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmaktadır. Varyant tespit edilen olguların klinik özellikleri ve varyantlar mevcut literatür ile karşılaştırılmıştır.

5.1. TP53 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

Meme kanseri ile ilgili önceki birçok çalışma, *TP53* fonksiyon kaybının meme karsinomuyla sonuçlandığını bildirmiştir. Ailesel meme kanseri ve diğer neoplazmalar geliştiren kalıtsal bir tümör sendromu olan Li-Fraumeni sendromuna germ hattı *TP53* mutasyonları neden olur. Kadın mutasyon taşıyıcıları, erkekler için % 73'e kıyasla, yaklaşık % 100 yaşam boyu kanser riskine sahiptir. Bu farkın nedeni ise meme kanseridir. Meme kanseri, 60 yaşından önce % 49 etkilenme riski ile en yaygın tümördür, ancak çoğu kadına 40 yaşından önce teşhis konur (Wendt & Margolin, 2019). Hastalıkla ilişkili varyantlar için artmış meme kanseri riskinin > 100 kat olduğu bildirilmiştir (yaşa göre ayarlanmış rölatif risk 105 CI 62-165) (Easton ve ark, 2015).

Panel testi yaptıran kadınlar arasında *TP53* mutasyonlarının prevalansı, yapılan çalışmalarda % 1'in altında bulunmuştur. Buys ve ark., 25 kanser geninden oluşan bir panel kullanarak test yaptıran meme kanserli 35.409 kadın arasında *TP53* mutasyonu olan 61 kadın (% 0.17) bulmuştur (Buys ve ark, 2017). Moran ve ark., güçlü aile öyküsü ve *BRCA1/2* mutasyonu negatif olan 190 meme kanseri hastasında bir *TP53* mutasyonu (% 0.53) tespit etmiştir (Moran ve ark, 2017). Kapoor ve ark., meme cerrahları tarafından çoklu gen panelleri (5-43 gen, ortalama 14.7) kullanılarak gen testi teklif edilen 377 kadında bir *TP53* mutasyonu (% 0.27) bulmuşlardır (Kapoor ve ark, 2015). Susswein ve ark., germ hattı kanser genlerinin değerlendirilmesi için sevk edilen 10.000'den fazla ardışık vaka için sonuçlar rapor etmiştir. Daha önce *BRCA1/2* testi yaptırmamış meme kanserli 3315 kadında dokuz patojenik ve bir olası patojenik *TP53* mutasyonu (% 0,30) ve daha önce *BRCA1/2* testi yaptırmış meme kanserli 1894 kadın arasında üç patojenik ve bir olası patojenik *TP53* mutasyonu (% 0.21) bildirmişlerdir (Susswein ve ark, 2016).

Erken başlangıçlı meme kanseri olan kadınlar arasında *TP53* mutasyonlarının prevalansı çeşitli popülasyonlarda incelenmiştir. McCuaig ve ark., 30 yaşın altında teşhis edilmiş meme kanseri olan ve *BRCA1/2*'de patojenik varyantı olmayan kadınların % 5-8'inin *TP53*'te patojenik bir varyantı olacağını ve 30-39 yaşlarında meme kanseri teşhisi konulan kadınların daha küçük bir oranının olduğunu öngörmüşlerdir (McCuaig ve ark, 2012). Erken başlangıçlı kansere sahip olduğu için tespit edilen germline *TP53* mutasyonu olan bir hasta serisinde, mutasyonların % 7-20'sinin de novo olduğu tahmin edilmiştir (Gonzalez, ve ark, 2009). Bu, de novo mutasyonların son derece nadir olduğu *BRCA1/2* gen mutasyonlarına bağlı herediter meme ve yumurtalık kanseri sendromunun tam tersidir. Bu gözlem, aile öyküsü olmasa bile, çok erken başlangıçlı meme kanseri hastalarının *TP53* için test edilmesini desteklemektedir.

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 2'sinde (2/96) *TP53* geninde varyasyon tespit edilmiştir. Bu varyasyonların, biri patojenik, diğeri klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Stoltze ve ark, Danimarka'daki tanımlanan tüm *TP53* mutasyon taşıyıcı ailelerinin ülke çapında bir soyağacı araştırmasını yapmışlardır. Çalışma sonucunda iki ailede de bir c.80del, p.(Pro27Leufs*17), ekson 4'te çerçeve kayması mutasyonu bulunmuştur ve bu da kodon 43'te erken durmaya yol açmıştır. Mutasyon tanımlanan ilk olgu ve annesi meme kanseri tanılıdır. İkinci olgu ise yumurtalık kanseri tanılı kız kardeşe ve 22 yaşında meme kanseri teşhisi konan bir kıza sahiptir (Stoltze ve ark, 2018).

Patojenik c.80delC (p.Pro27LeufsTer17) varyantı tespit edilen olgumuz, 35 yaş tanılı erken başlangıçlı meme kanserine sahiptir. Ailesinde herhangi bir kanser öyküsü bulunmamaktadır. Yapılan gen ekspresyon çalışmaları sonucunda, ER, PR, HER2 negatif bulunmuştur. Bu özellikler ışığında olgumuz, üçlü negatif meme kanseri hastasıdır. ClinVar veri tabanında rs1192416464 numaralı varyantla ilgili rapor bulunmamaktadır. Varyantı, ACMG kriterlerine göre 1 çok güçlü (PVS1), 1 orta (PM2) ve 1 destekleyici (PP3) kanıt ile patojenik olarak sınıflandırabiliriz (Tablo 3.2).

Yang ve ark., 467 meme kanseri hastasında *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *TP53* ve *PTEN* genlerini analiz etmiştir. Çalışma sonucunda *TP53* geninde c.460G>A (p.Gly154Ser) varyantı üçlü negatif meme kanseri bir olguda saptanmıştır (Yang ve ark, 2017). Çalışmamızda klinik önemi belirsiz c.460G>A (p.Gly154Ser) varyantı tespit edilen olgumuz, 58 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır. ClinVar veri tabanında rs137852789 numaralı varyant kalıtsal kansere yatkınlık sendromu ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir.

Bu çalışmalar göz önüne alındığında, *TP53* gen mutasyonlarının meme kanseri gelişimi ve ilerlemesinde önemli rollere sahip olduğu açıktır. Çalışmamızda saptadığımız iki TP53 mutasyonu da literatür ile uyumlu bulunmuştur.

5.2. CHEK2 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

CHEK2, meme kanseri riskini iki ila üç kat arttırabilen orta derecede penetran bir meme kanserine yatkınlık genidir. Genel popülasyonda *CHEK2* patojenik varyantlarının prevalansı yaklaşık % 1 olarak bulunmuştur (Couch ve ark, 2017).

CHEK2 taşıyıcılarında ortaya çıkan meme kanseri tümörlerinin çoğu lüminaldır ve duktal hücrelerden kaynaklanan yüksek östrojen ve progesteron reseptörlerinin ekspresyonu ile karakterize edilir. Dikkate değer, çok sayıda çalışmada, *CHEK2* taşıyıcılarının kanser teşhisinde yaş nispeten genç görünmektedir ve bunların üçte ikisi 50 yaşından önce teşhis edilmektedir (Apostolou ve ark, 2018).

CHEK2 genindeki en yaygın varyant, güdük bir proteini kodlayan çerçeve kayması mutasyonu 1100delC'dir. Bu patojenik varyant, güçlü aile öyküsü olanlarda daha yüksek riskle birlikte, % 28-37 meme kanseri riskiyle ilişkilidir (Tung ve ark, 2020). *CHEK2* c.1100delC, meme kanserli genç kadınlarla ilgili popülasyon tabanlı çalışmalarda araştırılmıştır. Geniş bir takip çalışmasında, beş ülkeden (Birleşik Krallık, Hollanda, Finlandiya, Almanya ve Avustralya) 10.860 meme kanseri vakası incelenmiştir. 1100delC mutasyonunun en yüksek prevalansı Hollanda'da (% 3,5) ve onu takiben Finlandiya (% 2,2), Birleşik Krallık (% 1,2), Almanya (% 0,8) ve Avustralya (% 0,7) vakalarında bulunmuştur (CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium, 2004).

CHEK2 mutasyonları nadir olmakla birlikte, *truncating* (dur kodonu ile sonlanan baz değişimi) mutasyonların taşıyıcılarında meme kanserine yakalanma riski daha yüksektir. Bu risk, aile öyküsü ile ilişkilidir ve taşıyıcıların etkilenen birinci ve ikinci derece akrabaları olduğunda artar (Apostolou & Papanotiou, 2017). Cybulski ve ark., 7.490 *BRCA1* negatif meme kanseri olgusunda ve 4.346 kontrolle yaptıkları çalışmada *CHEK2*'deki dört kurucu mutasyonu (del5395, IVS2+1G>A, 1100delC, and I157T) genotiplendirmişlerdir. 227 hastada ve 37 kontrolde bir *truncating* mutasyon bulmuşlardır. *CHEK2 truncating* mutasyon taşıyıcılarının yaşam boyu risklerini etkilenmiş akrabası olmayan bir kadın için % 20, etkilenen bir ikinci derece akrabası olan kadın için % 28, birinci derece akrabası etkilenen bir kadın için % 34 ve hem birinci hem de ikinci derece akrabası etkilenen bir kadın için % 44 olarak tahmin etmişlerdir (Cybulski ve ark, 2011).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 4'ünde (4/96) *CHEK2* geninde varyasyon tespit edilmiştir. Bu varyasyonların, biri patojenik, üçü ise klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Patojenik c.290G>A (p.Trp97Ter) varyantı tespit edilen olgumuz, 35 yaşında kadın olup 33 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Annesi meme kanseri nedeniyle 58 yaşında ex olmuştur. Varyanta neden olan baz değişimi, erken dur kodonu oluşturan *truncating* mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. ClinVar veri tabanında varyantla ilgili rapor bulunmamaktadır. Varyantı, ACMG kriterlerine göre 1 çok güçlü (PVS1), 1 orta (PM2) ve 1 destekleyici (PP3) kanıt ile patojenik olarak sınıflandırabiliriz (Tablo 3.2). Ancak patojenisitesi hakkında kesin yorum yapabilmek için fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Rainville ve ark., 6.473 *CHEK2* monoallel taşıyıcının kanser geçmişini 31 *CHEK2* bialelik taşıyıcıyla karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda, meme kanseri sıklığı, bialelik *CHEK2* patojenik varyant taşıyıcılarında (% 80.6, 25/31) monoallel taşıyıcılardan (% 41.2, 2668/6473; p<0.0001) daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca patojenik varyantı olmayan kadınlarla karşılaştırıldığında, bialelik patojenik varyant taşıyıcılarının duktal invaziv meme kanseri ve in situ duktal karsinom geliştirme riski monoallel taşıyıcılardan daha yüksek bulunmuştur. Bu veriler, bialelik *CHEK2* patojenik varyant taşıyıcılarının meme kanseri için daha yüksek bir riske sahip olduğunu, daha genç teşhis

edilme ihtimalinin olduğunu ve monoallelik taşıyıcılara kıyasla birden çok birincil meme kanserine sahip olduklarını göstermiştir (Rainville ve ark, 2020).

Bialelik klinik önemi belirsiz c.678G>C (p.Leu226Phe) varyantı tespit edilen olgumuz, 30 yaşında kadın olup 28 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. ClinVar veri tabanında rs745646057 numaralı varyant ailesel meme kanseri ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir. Bulgularımız bialelik *CHEK2* mutasyon taşıyıcılarında erken teşhis ihtimaliyle uyumludur.

Bugüne kadar *CHEK2* geninde, tek veya bazı baz çifti değişimleri, insersiyon/delesyonları ve bazı kilobazların delesyon/duplikasyonu dahil olmak üzere bir dizi Büyük Genomik Yeniden Düzenlemeler (LGR'ler) tanımlanmıştır. Apostolou ve ark., 2355 meme kanseri hastası ve 1580 kontrol grubuyla yaptıkları çalışmada iki yeni *CHEK2* genomik yeniden düzenlemesi ve daha spesifik olarak, genin 2 ve 3 ekzonlarının ~ 6 kb ve ~ 7 kb delesyonu, başlangıçta yüksek riskli bir meme kanseri risk kohortunda analiz yoluyla tespit etmişlerdir ve Yunan meme kanseri hastaları arasında bu *CHEK2* LGR'lerin prevalansını ele almak için 2355 vakayı taramışlardır. Çalışma sonucunda bu büyük delesyonlardan yalnızca biri 5 meme kanseri hastasında (%0,22) saptanmıştır. Varyant, çerçeve içi olmasına rağmen, bu LGR'nin maya bazlı bir fonksiyonel test ve yapı-fonksiyon tahminleri tarafından zarar verici olduğu tahmin edilmektedir (Apostolou ve ark, 2018).

Çalışmamızda, klinik önemi belirsiz c.246_260delCCAAGAACCTGAGGA (p.Asp82_Glu86del) varyantı tespit edilen olgumuz, 38 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Varyant, çerçeve içi delesyon (15 bp) mutasyonu ile sonuçlanmaktadır. ACMG kriterlerine göre varyant, 1 güçlü (PS3), 2 orta (PM2, PM4) ve 1 destekleyici (PP3) kanıt ile olası patojenik olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo 3.2). ClinVar veri tabanında rs587780181 numaralı varyant ailevi meme kanseri ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir.

Çalışmamızda, klinik önemi belirsiz c.1685G>T (p.Arg562Leu) varyantı tespit edilen olgumuz, 48 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Teyzesi meme kanseri olan olgumuzun kardeşi ise akciğer kanseri tanılıdır. ClinVar veri tabanında rs587780180 numaralı varyant ailesel meme kanseri ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir.

Çalışmamızda tespit ettiğimiz dört *CHEK2* mutasyonunda, en çok çalışılan kurucu mutasyon grubundan değildi. Yapılan çalışmalarda *CHEK2* kurucu mutasyonları ve kurucu olmayan mutasyon taşıyıcılarında kişisel ve aile geçmişleri arasında önemli bir fark görülmemiştir (Leedom ve ark, 2016). Bu da *CHEK2* kurucu popülasyonlarında bildirilen kanser risklerinin tüm *CHEK2* mutasyon taşıyıcıları için genelleştirilebileceğini düşündürmektedir.

5.3. RET geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

RET reseptör tirozin kinaz, çeşitli kanserlerin gelişimine katılan bir proto-onkogendir. *RET* geni genomik değişiklikleri, meme kanserinde yeni tanımlanmış olmasına rağmen, bağımsız çalışmalardan elde edilen sonuçlar *RET* aşırı ekspresyonunun meme kanseri patogenezinde ve tedavi yanıtında anahtar bir işlev oynadığını göstermektedir (Gattelli, Hynes, Schor & Vallone, 2020).

Meme kanserinde *RET* nokta mutasyonları çok nadirdir. Kato ve ark., 506 meme kanseri hastasından oluşan bir grupta, bir *RET* yanlış anlam mutasyonu (% 0,2), C634R tanımlayabilmiştir (Kato ve ark, 2017). Paratala ve ark., 9693 meme kanseri hastasından (3859 primer ve 5834 metastaz) oluşan daha büyük bir grubun analiziyle, 25 vakada (% 0.3) *RET* yanlış anlam mutasyonlarını ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmada, C634R ve M918T ile karakterize mutasyonların yanı sıra yeni *RET* aktive edici hücre dışı alanda E511K, C611R, C620F, L633V, C634F ve T636M ve kinaz alanında V804M mutasyonları da bulunmuştur. Ayrıca *RET* yanlış anlam mutasyonlarının, metastatik bölgelerde primer tümörlere göre daha sık tespit edildiği bulunmuştur, bu da *RET* değişikliklerinin ilerlemiş hastalıkla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (Paratala ve ark, 2018).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 5'inde (5/96) *RET* geninde yanlış anlamli nokta mutasyonu tespit edilmiştir. Bu varyasyonların, biri patojenik, dördü ise klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

Çalışmamızda, patojenik c.2372A>T (p.Tyr791Phe) varyantı tespit edilen olgumuz, 52 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ablası ve annesi de meme kanseridir. ClinVar veri tabanında rs77724903 numaralı varyant ailesel meme kanseri ile ilişkili patojenik olarak bildirilmiştir. Varyantı, ACMG kriterlerine göre de 1 güçlü (PP5), 2 orta (PM1,

PM2) ve 2 destekleyici (PP2, PP3) kanıt ile patojenik olarak sınıflandırabiliriz (Tablo 3.2). Melloni ve ark., yeni meme kanseri yatkınlık varyantlarını tanımlamak için yaptıkları çalışmada, 673 meme kanseri hastasının genomlarını etnik kökene göre eşleştirilmiş 27.173 kontrolle karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda, bir meme kanseri hastasında *RET* geninde Tyr791Phe protein değişimiyle sonuçlanan mutasyon tespit etmişlerdir (Melloni ve ark, 2017).

Çalışmamızda, c.1699G>A (p.Asp567Asn) varyantı tespit edilen olgumuz, 57 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır. ClinVar veri tabanında rs147219360 numaralı varyant klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir. c.785T>C (p.Val262Ala) varyantı tespit edilen olgumuz, 64 yaşında kolon kanseri tanısı almıştır ve ailesinde meme kanseri öyküsü mevcuttur. Varyant, ACMG kriterlerine göre 2 orta (PM1, PM2) ve 2 destekleyici (PP2, PP3) kanıt ile olası patojenik olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo 3.2). ClinVar veri tabanında rs139790943 numaralı varyant kalıtsal kansere yatkınlık sendromu ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir. c.890G>A (p.Arg297His) varyantı tespit edilen olgumuz, 64 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Kız kardeşi yumurtalık kanseri sebebiyle ex olan olgumuzun diğer memeye metastazı mevcuttur. ClinVar veri tabanında rs1480040525 numaralı varyant kalıtsal kansere yatkınlık sendromu ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir. Son olarak, c.961G>A (p.Gly321Arg) varyantı tespit edilen Olgumuz, 39 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. ClinVar veri tabanında rs377767388 numaralı varyant klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir.

RET geninin meme kanseri üzerindeki etkisi kesin olarak bilinmemekle birlikte çalışmamızda tespit edilen patojenik varyantın bir çalışmayla uyumlu olduğu görülmüştür.

5.4. CDH1 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

E-kaderin kodlayan *CDH1* bir tümör baskılayıcı gendir ve fonksiyonel E-kaderin kaybının sıklıkla malignitelerle, özellikle yaygın mide kanseri ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. *CDH1*'in fonksiyon kaybı mutasyonları, meme kanseri tanısı almış tüm hastaların % 5-15'inde teşhis edilen ikinci en yaygın meme kanseri tipi olan invaziv lobüler karsinom (ILC) ile de ilişkilidir (Sagara ve ark, 2015). Ek olarak, mide kanseri olan hastalar, ILC'li ailelerde, en yaygın meme kanseri türü olan invaziv duktal karsinom (IDC) olanlara göre üç kat daha sık bulunmuştur (% 7.2'ye karşı % 2.3) (Chikman ve ark, 2016).

Tüm meme kanseri hastalarının yüzde birinden daha azının *CDHI*'de germ hattı mutasyonu olduğu bildirilirken, ILC'nin % 30-60'ında *CDHI*'in somatik mutasyonları bildirilmiştir (Desmedt ve ark, 2016).

CDHI patojenik varyant taşıyıcıları arasında yaşam boyu mide kanseri riski, kadınlar için % 56 ile % 83 arasında bildirilmiştir (Hansford ve ark 2015; Pharoah, Guilford, Caldas & International Gastric Cancer Linkage Consortium, 2001). Ek olarak, kadın taşıyıcılar arasında lobüler meme kanseri riskinin % 39 ile % 42 arasında olduğu bulunmuştur. Tanı anında ortalama yaş mide kanserleri için 40 (aralık, 14-85) ve meme kanserleri için 53 (aralık, 39-64) olarak bildirilmiştir (Pharoah ve ark, 2001).

Schubert ve ark., *BRCA* mutasyonları bakımından negatif 237 yüksek riskli herediter meme/yumurtalık kanseri hastasında, NGS tabanlı çoklu gen paneli analizinde iki *CDHI* patojenik mutasyonu (% 0,8) tespit etmişlerdir (Schubert ve ark, 2019). Li ve ark., riskli herediter meme kanseri 397 Çinli olguda, *BRCA1/2*'de dahil olmak üzere 40 kansere yatkınlık genindeki germ hattı mutasyonları araştırmışlardır. Çalışma sonucunda 2 hastada *CDHI* mutasyonları (% 0,2) bulmuşlardır. Ancak bu hastaların ikisinde de ailede lobüler meme kanseri ve mide kanseri öyküsü yoktur (Li ve ark, 2019). Shin ve ark., kalıtsal kanser sendromlarının klinik özellikleri olan 496 meme kanseri hastasında 64 geni içeren çoklu gen paneli analizi gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda, başka bir birincil kanserli meme kanserinde % 11,6, ailede meme kanseri öyküsü olanlarda % 5,3, iki taraflı meme kanseri hastalarında % 5,3, 40 yaş altı meme kanseri tanısı olan hastalarda %3 *CDHI* mutasyonu bulmuşlardır (Shin ve ark, 2020).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 1'inde (1/96) *CDHI* geninde varyasyon tespit edilmiştir. Saptanan bu varyasyon klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

c.2629G>A (p.Gly877Arg) varyantı saptanan olgumuz, 44 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır. Kız kardeşi de yumurtalık kanseri sebebiyle tedavi görmektedir. ClinVar veri tabanında rs555842031 numaralı varyant kalıtsal kansere yatkınlık sendromu ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir. Momozawa ve ark., 7051 meme kanseri hastası ve Japon 11,241 kadın kontrolle yaptıkları çalışmada, 11 kalıtsal meme kanseri geninin kodlama bölgelerindeki varyantlar için bir vaka-kontrol ilişki çalışması

gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda *CDHI* geninde, c.2629G>A (p.Gly877Arg) varyantı bir hastada tanımlanmıştır (Momozawa ve ark, 2018).

5.5. NF1 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

NF1 germ hattı mutasyonları, ciltteki pigment değişiklikleri ve tipik olarak çoklu periferik sinir kılıfı tümörleri (nörofibromlar) ve optik gliomlar gibi diğer iyi huylu sinir sistemi tümörlerinin görünümü ile klinik olarak karakterize edilen baskın bir otozomal bozukluk olan Nörofibromatozis tip 1 (NF1) ile ilişkilidir. Germ hattı *NF1* mutasyonu, özellikle 50 yaşın altındaki kadınlarda meme kanseri ve kansere bağlı ölüm riskini artırabileceği bulunmuştur (Uusitalo ve ark, 2016). *NF1*'de somatik mutasyonlar birincil kanserde nadirdir, ancak kötü prognoz ve artmış nüks riski ile ilişkili bulunmuştur (Griffith ve ark, 2018). *NF1* ekspresyonunun kaybı, preklinal modellerde tamoksifen direnci ile sonuçlanmıştır (Mendes-Pereira ve ark, 2012).

Madanikia ve ark., *NF1* mutasyonu olan 20 yaşından büyük 126 kadını incelemiştir. Çalışma sonucunda, *NF1* patojenik ve olası patojenik varyant taşıyan kadınların, 50 yaşından önce meme kanseri geliştirme açısından önemli ölçüde artmış riske sahip olduğunu bulmuşlardır (Madanikia, Bergner, Ye & Blakeley, 2012). Zeng ve ark., 831 invaziv meme kanseri vakası ve 839 kontrolle yaptıkları çalışmada, 25 meme kanseri yatkınlık geni varyantlarını değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, 21 hastada *BRCA1/2* dışında diğer genlerde patojenik değişimler bulunmuştur. Bu değişimlerin 2'si *NF1* geninde tespit edilmiştir. Ayrıca *NF1* mutasyonu tespit edilen iki hasta da meme kanseridir (Zeng ve ark, 2020). Frayling ve ark., 78 *NF1* pozitif meme kanseri hastasındaki yapısal *NF1* mutasyonlarını, veri tabanındakilerle (n=3432) karşılaştırmıştır. Çalışma sonucunda tam veya kısmi delesyona sahip hiçbir hasta görülmemiştir. Mutasyon pozisyonlarıyla ilgili büyük bir ilişki gözlenmemiştir. Anlamsız ve yanlış anlamlı mutasyonların daha yüksek oranları bulunmuştur. 11 yanlış anlamlı mutasyondan 10'u yaşı 50'den küçük meme kanseri hastalarında bulunmuştur (Frayling ve ark, 2019).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 4'ünde (4/96) *NF1* geninde 5 farklı varyasyon tespit edilmiştir. Saptanan bu varyasyonların hepsi klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmaktadır.

Çalışmamızda, c.2393A>C (p.Lys798Thr) varyantı tespit edilen olgumuz, 39 yaşında yumurtalık kanseri tanısı almıştır ve şuan 41 yaşındadır. Varyant, ACMG kriterlerine göre 2 orta (PM1, PM5) ve 2 destekleyici (PP2, PP3) kanıt ile olası patojenik olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo 3.2). ClinVar veri tabanında rs745498566 numaralı varyant Nörofibromatozis tip 1 ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir. c.4813A>G (p.Ile1605Val) varyantı tespit edilen olgumuz, 38 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Varyant, ACMG kriterlerine göre 2 orta (PM1, PM2) ve 2 destekleyici (PP2, PP5) kanıt ile olası patojenik olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo3.2). ClinVar veri tabanında rs199474766 numaralı varyant kalıtsal kansere yatkınlık sendromu ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda, iki klinik önemi belirsiz c.4074_4075delCCinsAA (p.Pro1359Thr) ve c.4075C>A (p.Pro1359Thr) varyantları tespit edilen Olgumuz, 38 yaşındadır ve güçlü aile öyküsüyle bölümümüze başvurmuştur. Teyze ve anneanesi meme kanseridir. c.4074_4075delCCinsAA varyantı, ACMG kriterlerine göre 2 orta (PM1, PM2) ve 2 destekleyici (PP2, PP3) kanıt ile olası patojenik olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo 3.2). ClinVar veri tabanında sırasıyla rs1555617362 ve rs745931495 numaralı varyantlar kalıtsal kansere yatkınlık sendromu ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir.

Yap ve ark., *NFI* mutasyonu olan meme kanseri 18 kadının klinik ve patolojik özelliklerini, *NFI* mutasyonu bulunmayan 7132 meme kanseriyle karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda, *NFI* negatif meme kanserlerine kıyasla, pozitif hastalar arasında derece 3, östrojen reseptörü (ER) negatif ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) pozitif tümörlerin sıklığı daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca *NFI* pozitif hastaların genel sağkalımları da daha düşük bulunmuştur (Yap ve ark, 2018). Çalışmamızda, c.3883A>G (p.Thr1295Ala) varyantı tespit edilen olgumuz, 46 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailede herhangi bir kanser öyküsü mevcut değildir. Olgumuzun tümörü derece 2, HER2 bakımından zengin ve invaziv duktal karsinom sınıfındadır. Lenf noduna metastazları mevcuttur. ClinVar veri tabanında rs143836226 numaralı varyant kalıtsal kansere yatkınlık sendromu ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir.

Literatürde *NFI* pozitif hastalarda meme kanseri ile ilgili çok az veri bulunmaktadır. Bununla birlikte çalışmamızda, *NFI* mutasyonu bulunan hastalarımızın hepsi 50 yaşın altındadır. Bulgularımız, yapılan çalışmalarda 50 yaş altındaki kadınlarda, *NFI* mutasyonlarının meme kanseri riskini arttırabileceği görüşü ile uyumlu bulunmuştur.

5.6. FGFR geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

FGF/FGFR sinyal yolunun, meme kanserinin gelişimi ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. *FGFR*'ler meme kanserinde nadiren mutasyona uğrar, ancak sıklıkla aşırı eksprese edilir (Wang & Ding, 2017).

FGFR1'in kromozomal bölgesinin amplifikasyonu (8p11–12), insan meme kanserlerinin yaklaşık % 10'unda, ağırlıklı olarak ER pozitif kanserlerde saptanmıştır ve meme kanserinde genel sağkalım üzerinde azaltıcı bir etkiye sahiptir (Turner & Grose, 2010). *FGFR1* amplifikasyonları, tümörlerin invaziv bileşenlerinde ve invaziv meme kanserinde in situ duktal karsinomadan daha sık görülmektedir (Jang ve ark, 2012).

Önceki çalışmalar, *FGFR2*'yi meme kanseri yatkınlık geni olarak tanımlamıştır ve *FGFR2*'nin ikinci intronundaki SNP'ler, meme kanseri gelişme riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir (Easton ve ark, 2007). *FGFR2*'nin ekspresyonu ve amplifikasyonunun meme tümörlerinin % 5-10'unda arttığı uzun zamandır bilinmektedir (Wang & Ding, 2017).

Liang ve ark., 1049 meme kanseri hastasını ve 1073 kansersiz kontrolleri incelemiştir. *FGFR2* polimorfizmlerinin Çinli kadınlarda meme kanseri riski ile ilişkili ve bu ilişkilerin endojen östrojenlere daha fazla maruz kalmayı düşündüren üreme geçmişi olan kadınlarda daha güçlü olup olmadığını değerlendirmiştir. Elde ettikleri sonuçlar, rs2981582 C / T, rs1219648 A / G ve rs2420946 C / T'nin artmış meme kanseri riski ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu ve *FGFR2*'deki genetik varyantların Çinli kadınlarda meme kanseri oluşumuna muhtemelen östrojen ve / veya progesteron ile ilgili yollarla katkıda bulunabileceğini göstermiştir (Liang ve ark, 2008).

Xia ark., 185 meme kanseri hastası ve farklı meme kanseri ve menopoz durumlarından 199 sağlıklı kadın kontrol dahil olmak üzere Han Çin popülasyonunda 14 SNP ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi analiz etmiştir. *FGFR2* genindeki rs2981579'un meme kanserine yatkınlıkla ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Xia ve ark, 2015). Cui ve ark., toplam 121.740 vaka ve 198.549 kontrol içeren elli üç çalışmayla, *FGFR2*'nin intron 2'sindeki 23 varyant ile meme kanseri riski arasındaki ilişkileri incelemiştir. En sık değerlendirilen 10 varyant için ilişkiler- rs1078806, rs11200014,

rs1219648, rs2420946, rs2981578, rs2981579, rs2981582, rs3135718, rs10736303 ve rs3750817 - bir meta analize dayalı olarak oluşturulmuştur. İlginç bir şekilde, 10 varyantın hepsinin meme kanseri riski ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Cui ve ark, 2016). Bu bulgular, *FGFR2*'nin bir meme kanserine yatkınlık geni olduğunu güçlü bir şekilde göstermektedir.

Kuroso ark., çalışmasından elde edilen sonuçlar, *FGFR3* ekspresyonunun, invazif meme kanserinde spesifik klinikopatolojik veya moleküler parametrelerle önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermemiştir. Bununla birlikte, yüksek *FGFR3* seviyelerinin, insan meme kanserinde zayıf genel sağkalım ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir (Kuroso ve ark, 2010). Sahlin ve ark.'nın yaptığı çalışma, ayrıca *FGFR3*'ün yeni bir meme kanserine yatkınlık geni olabileceğini ve *FGFR3*'ün meme kanserine neden olan ortak bir moleküler yolla işlev görebileceğini de göstermiştir (Sahlin, Tarnow, Martinsson & Stenman, 2009). Liang ve ark., 156 inflamatuvar meme kanseri dokusunda, meme kanseri ile ilişkili 91 aday geni yeni nesil dizi analiziyle incelemişler. Çalışma sonucunda hastaların % 6,4'ünde *FGFR3* mutasyonu bulmuşlardır (Liang ve ark, 2018).

Zuo ve ark., geniş bir kanser grubuyla yaptığı çalışmada, 371 meme kanseri, 293 yumurtalık kanseri hastasında *FGFR* gen değişikliklerini yeni nesil dizi analizi yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışma sonucunda meme kanseri hastalarının % 4,3'ünde SNV, % 0,5'inde füzyon, % 8,4'ünde amplifikasyon, yumurtalık kanseri hastalarının ise % 4,8'inde SNV, % 0,3'ünde füzyon, % 4,1'inde amplifikasyon bulunmuştur (Zuo ve ark, 2020).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 12'sinde (12/96) *FGFR* genlerinde 2 olası patojenik (*FGFR1*, *FGFR3*) ve 7 (*FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*) klinik önemi belirsiz olmak üzere 9 farklı varyasyon tespit edilmiştir.

Toplamda 4 (% 4) olgumuzda, *FGFR1* geni varyantı (c.495_497dupTGA, c.485A>C, c.338G>A) mevcuttur. Literatürde bu varyantların meme kanseri ile ilişkisi üzerine bir çalışma bulunmamaktadır. Saptanan c.495_497dupTGA (p.Asp166dup) varyantı, yumurtalık kanseri iki kız kardeş olgumuzda (Olgu 12 ve 17) bulunmuştur. rs138489552 numaralı varyant ClinVar veri tabanında klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir. c.485A>C (p.Asp162Ala) varyantı saptanan olgumuz, 34 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. rs765615419 numaralı varyant ClinVar veri tabanında klinik önemi

belirsiz olarak bildirilmiştir. c.338G>A (p.Arg113His) varyantı saptanan olgumuz 37 yaşında olup ailede meme kanseri öyküsüyle bölümümüze başvurmuştur. rs201055054 numaralı varyantla ilgili ClinVar'da veri bulunmamaktadır. Varyantı, ACMG kriterlerine göre, 2 orta (PM1, PM2) ve 2 destekleyici (PP2, PP3) kanıt ile olası patojenik olarak sınıflandırabiliriz (Tablo 3.2). Ancak patojenisitesi hakkında kesin yorum yapabilmek için fonksiyonel çalışmaların yapılması gereklidir.

Çalışmamızda *FGFR2* geni varyantı yalnızca 1 (% 1) olgumuzda bulunmuştur. c.247A>G (p.Asn83Asp) varyantı saptanan olgumuz, 38 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. rs765682593 numaralı varyantla ilgili ClinVar'da veri bulunmamaktadır. Varyant, ACMG kriterlerine göre, 2 orta (PM1, PM2) ve 1 destekleyici (PP2) kanıt ile klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 3.2).

7 (% 7) olgumuzda ise, *FGFR3* geni varyantı (c.1292C>A, c.2278G>A, c.1739C>T, c.272C>T, c.329G>A) mevcuttur. Literatürde bu varyantlarla ilgili çalışma bulunmamaktadır. c.329G>A (p.Arg110Gln) varyantı, bölümümüze ailede meme kanseri öyküsü ile başvurmuş iki kız kardeş ve teyzelerinde (Olgu 21, 22 ve 23) tespit edilmiştir. rs556916370 numaralı varyantla ilgili ClinVar'da veri bulunmamaktadır. Varyant, ACMG kriterlerine göre, 1 orta (PM2) ve 2 destekleyici (PP2, BP4) kanıt ile klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 3.2). c.2278G>A (p.Asp760Asn) varyantı saptanan olgumuz ailede güçlü meme kanseri öyküsüyle bölümümüze başvurmuştur. rs56266857 numaralı varyantla ilgili ClinVar'da veri bulunmamaktadır. Varyant, ACMG kriterlerine göre, 2 orta (PM1, PM2) ve 2 destekleyici (PP2, PP3) kanıt ile olası patojenik olarak sınıflandırabiliriz (Tablo 3.2). Ancak patojenisitesi hakkında kesin yorum yapabilmek için fonksiyonel çalışmalar yapılmalıdır. Diğer *FGFR3* geni varyantları ise güçlü aile öyküsüne sahip bir olgu (c.1292C>A) ve meme kanseri tanılı (c.1739C>T, c.272C>T) iki olguda bulunmuş ve klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

5.7. EGFR geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

EGFR mutasyonları, çeşitli kanser türlerinde tanımlanmıştır ve *EGFR*, genişleyen bir antikanser tedavileri sınıfının hedefidir. Teng ve ark., 70 üçlü negatif meme tümörü örneğinde *EGFR* geninin 18-21. ekzonlarını incelemiştir. Çalışma sonucunda örneklerin 8'inde (% 11,4) *EGFR* mutasyonu bulunmuştur. Bu çalışma, üçlü negatif meme kanserinde *EGFR* mutasyonlarının varlığını belgeleyen ve yaygınlığını tahmin eden ilk çalışmalar arasındadır (Teng ve ark, 2011).

Weber ve ark., 48 sporadik meme karsinomunun 7'sinde ve 24 kalıtsal meme karsinomunun 11'inde *EGFR* mutasyonları bulmuşlardır. Bu çalışma ayrıca *EGFR* mutasyonlarının, kalıtsal olarak sporadik meme kanserine kıyasla önemli ölçüde daha yüksek sıklıkta meydana geldiğini ($P = 0.0079$) ve yanlış anlam mutasyonlarının çoğunun *EGFR* ekzon 20'nin tirozin kinaz alanında olduğunu göstermiştir (Weber ve ark, 2005). Bu veriler, üçlü negatif oranının, kalıtsal meme kanseri olan hastalar arasında sporadik meme kanseri olan hastalara göre daha yüksek olduğu gerçeğiyle uyumludur (Gonzalez-Angulo ve ark, 2011).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 4'ünde (4/96) *EGFR* geninde 1 olası patojenik ve 3 klinik önemi belirsiz olmak üzere 4 farklı varyasyon tespit edilmiştir.

Çalışmamızda, c.2709_2710invTG (p.Val904Ile) varyantı tespit edilen olgumuz, 45 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Ailesinde meme kanseri öyküsü mevcuttur. ClinVar'da verisi olmayan varyantı, ACMG kriterlerine göre, 2 orta (PM2, PM2) ve 2 destekleyici (PP2, PP3) kanıt ile olası patojenik olarak sınıflandırabiliriz (Tablo 3.2). Ancak patojenisitesi hakkında kesin yorum yapabilmek için fonksiyonel çalışmalar yapılması gereklidir. c.3199C>A (p.Gln1067Lys) varyantı tespit edilen olgumuz, 34 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. Olgumuzda bilateral meme kanseri gelişimi söz konusudur. rs778095401 numaralı varyantla ilgili ClinVar'da veri bulunmamaktadır. Varyant, ACMG kriterlerine göre, 1 orta (PM2) ve 2 destekleyici (PP2, PP3) kanıt ile klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 3.2). c.3566G>C (p.Gly1189Ala) varyantı tespit edilen olgumuz, 69 yaşında meme kanseri tanısı almış ve kız kardeşi de 53 yaşında meme kanseri nedeniyle ex olmuştur. rs747600559 numaralı varyant ClinVar veri tabanında akciğer kanseri ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir. c.2024G>A

(p.Arg675Gln) varyantı tespit edilen olgumuz, 63 yaşında meme kanseri tanısı almıştır ve ailesinde güçlü meme kanseri öyküsü mevcuttur. rs150423237 numaralı varyant ClinVar veri tabanında kalıtsal kanser ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir.

Akciğer kanserinin aksine, meme kanserinde *EGFR* mutasyonları nadirdir. *EGFR* varyantlarının, meme kanseri ile ilişkisinin açıklanabilmesi ve tedavi stratejilerinin meme kanserinde uygulanabilmesi için daha fazla araştırma yapılmalıdır.

5.8. ERBB2 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

ERBB2 mutasyonları, meme kanserlerinin yaklaşık % 2'sinde bildirilmiştir (Ross ve ark, 2016). *ERBB2* aşırı ekspresyonu veya amplifikasyon durumuna bakılmaksızın, *ERBB2* mutasyonlu meme kanseri, *ERBB2* hedefli tedaviye yanıt verebilir. Bu nedenle, *ERBB2* mutasyona uğramış meme kanserinin tanımlanması klinik öneme sahiptir. Ding ve ark., metastatik meme kanserli hasta grubunda *ERBB2* mutasyonlarını taramışlardır. Çalışma sonucunda, 18 hastada *ERBB2* mutasyonu bulunmuştur. Bu mutasyonlar, hem tirozin kinaz alanında (n = 14) hem de hücre dışı alanda (n = 4) tanımlanmıştır (Ding ve ark, 2019).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 2'sinde (2/96) *ERBB2* geninde klinik önemi belirsiz varyasyon tespit edilmiştir. c.3182T>C (p.Leu1061Pro) ve c.2790G>T (p.Glu930Asp) varyantları saptanan olgularımızın ikisi de meme kanseridir. Ancak literatürde, rs141142822 ve rs138957632 numaralı varyantlarla ilgili fonksiyonel çalışmalar bulunmamaktadır. Özetle, mevcut veriler şu anda bu varyantların hastalığındaki rolünü belirlemek için yetersizdir. Bu nedenle, klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır.

5.9. NOTCH1 geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

NOTCH1 aktive edici mutasyonlar, üçlü negatif meme kanseri, T hücreli akut lenfoblastik lösemi (T-ALL) dahil olmak üzere birçok kanserde onkogen olarak tanımlanmıştır (Gharaibeh, Elmadany, Alwosaibai & Alshaer, 2020).

NOTCH yolu, çoklu mutasyon mekanizmaları yoluyla anormal şekilde aktive edilir ve üçlü negatif tümör gelişiminden sorumludur. *NOTCH1* proteinindeki PEST domaini mutasyonları esas olarak T-ALL'daki onkojenik olayları ele alsa da, Wang ve ark., üçlü

negatif meme kanserinin yaklaşık % 13'ünün *NOTCH1* ekzonları 21-27'nin çerçeve içi delesyonlarını sergilediğini, bunun da NRR ve HD alanlarını bozarak onun ya ligandan bağımsız reseptör aktivasyonunun ya da N1ICD yarılanma ömrünün uzamasının neden olduğu yolun yukarı regülasyonuna yol açtığını göstermişlerdir. Sonuç olarak, *NOTCH1*-mutasyona uğramış üçlü negatif meme kanserleri, *NOTCH1* negatif tümörlere kıyasla *NOTCH1* hedef genlerinin güçlü bir aşırı ekspresyonunu gösterdiği ve böylece üçlü negatif meme kanserlerinin fenotipinin onkogenik sonuçlandığını bulmuşlardır (Wang ve ark, 2015). *NOTCH1*'in ayrıca meme kanseri kök hücrelerinin davranışlarıyla yakından bağlantılı olduğu ve *NOTCH1* sinyalinin bloke edilmesinin kök hücrelerin malign davranışlarını inhibe edebileceği bildirilmiştir (Peng ve ark, 2014).

Philipovski ve ark., 25 üçlü negatif meme kanseri hastasında gen mutasyon profillerini analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda *NOTCH* genleri en çok mutasyona uğramış ikinci gen olarak bulunmuştur. *NOTCH1* hastaların % 25'inde mutasyona uğramıştır (Philipovski ve ark, 2020). Bertucci ve ark., 101 inflamatuvar meme kanseri ve 2351 normal meme kanseri hastasıyla yaptıkları çalışmada, mutasyonel profillemeye için 493 genden oluşan panel kullanılmıştır. Çalışma sonucunda inflamatuvar meme kanseri hastalarında, *NOTCH1* geninde % 12 mutasyon bulunmuştur. Bu mutasyonların çoğunluğu SNV'ler olarak belirlenmiştir (Bertucci ve ark, 2020).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 8'inde (8/96) *NOTCH1* geninde 1 olası patojenik (c.2962A>C) ve 6 (c.6739C>G, c.4492A>G, c.3853G>A, c.6781G>A, c.125G>A, c.823G>A) klinik önemi belirsiz olmak üzere 7 farklı varyasyon tespit edilmiştir. Çalışmamızda saptadığımız tüm *NOTCH1* mutasyonları SNV'lerden oluşmaktadır. Literatürde bu varyasyonları, meme kanseri ile ilişkilendiren çalışma bulunmamaktadır. *NOTCH1* geni mutasyonları pek çok kanserle ilişkilendirilmiştir. Ancak meme kanseri gelişimi ve prognozu üzerine yapılan *NOTCH1* çalışmaları genellikle genin yüksek ekspresyon seviyeleri üzerine odaklanmıştır. Bu nedenle meme kanserindeki *NOTCH1* mutasyonel durumunun anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

5.10. APC geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

APC tümör baskılayıcı geni, ailesel adenomatöz polipozis (FAP) ile ilgilidir ve kolorektal kanser, prostat kanseri, mide kanseri ve meme kanseri gibi çeşitli kanser türleri için karsinogenezi başlatmaktadır (Saelee & Pongtheerat, 2020).

Redston ve ark., *APC* I1307K taşıyıcıları (% 95 CI = 1.2-2.0) arasında meme kanseri için OR'nın 1.5 olduğunu ve Woodage ve ark., *APC* I1307K taşıyıcılarının, taşıyıcı olmayanlara göre birinci derece akrabalarında meme kanserine sahip olma ihtimalinin daha yüksek olduğunu bildirmiştir (Redston ve ark, 1998; Woodage ve ark, 1998). Ancak diğer çalışmalar böyle bir ilişki göstermemiştir.

Liang ve ark., yaptıkları meta-analizde, *APC* I1307K varyantını taşıyan Aşkenaz Yahudilerinin kolorektal neoplazi için önemli ölçüde artmış risk altında olduğunu ve havuzlanmış olasılık oranının (OR) 2,17 (% 95 CI 1,64–2,86) olduğunu bildirmiştir (Liang ve ark, 2013). Leshno ve ark., *APC* I1307K varyantı ile genel kanser riski arasındaki ilişkiyi değerlendirmeye yönelik yaptıkları çalışmada, varyantın kolorektal dışındaki kanserlerle ilişkisini incelemişlerdir. 1.611 kanser hastası ve 13.013 sağlıklı kontrolde *APC* I1307K prevalansı karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda, kadınlar arasında taşıyıcı prevalansı sadece meme ve deri kanserlerinde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, *APC* I1307K varyantı genel kanser riski için güvenilir bir belirteç (OR 2.53) ve kadın taşıyıcıların daha iyi prognoza ve daha uzun ömre sahip olduğu görülmüştür (Leshno ve ark, 2016).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 3'ünde (3/96) *APC* geninde klinik önemi belirsiz varyasyon tespit edilmiştir. Bu varyasyonların hepsi *APC* geninin 16. ekzonunda bulunmuştur.

APC I1307K (c.3920T>A) varyantı bir yumurtalık ve bir meme kanseri olmak üzere iki olgumuzda tespit edilmiştir. rs1801155 numaralı varyant ClinVar veri tabanında kolorektal kanser ve kalıtsal kansere yatkılık sendromuyla ilişkili risk faktörü olarak bildirilmiştir. Varyantın meme kanseri riski üzerindeki etkileri tartışmalıdır ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle varyant klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır. *APC* geninde diğer c.2026A>G (p.Ile676Val) varyantı bulunan olgumuz

ise 48 yaşında meme kanseri tanısı almıştır. rs745529713 numaralı varyantın meme kanseri ile ilişkisine yönelik çalışma bulunmamaktadır. ClinVar veri tabanında varyant kalıtsal kansere yatkınlık sendromuyla ilişkili klinik önemi belirsiz olarak bildirilmiştir.

5.11. GNAS geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

Genellikle hipofiz ve pankreas kanserlerinde bulunan *GNAS* mutasyonları meme kanserlerinde nadir görülen mutasyonlardır. Liu ve ark., 80 meme kanseri hastasından alınan tümör örneklerini 45 gen için analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda *GNAS* mutasyon oranı % 1,3 olarak belirlenmiştir (Liu ve ark, 2015).

Fibröz displazi (FD), malignitelerde de tanımlanan *GNAS* genindeki mutasyonların neden olduğu nadir bir kemik hastalığıdır. Majoor ve ark., Hollanda ve Amerika Birleşik Devletleri'nden iki fibröz displazi grubunda meme kanseri ve fibröz displazi arasındaki potansiyel ilişkiyi araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, toplam 15 hastada meme kanseri olduğu bulunmuştur. Genel nüfus ile karşılaştırıldığında Hollanda grubunda meme kanseri riski 3.4 kat (% 95 güven aralığı [CI] 1.6-5.9), ABD'de ise 3,9 kat (% 95 CI 1,2–8,2) artmıştır. *GNAS* mutasyonu ise 4 meme kanseri örneğinde (% 44) pozitif bulunmuştur (Majoor ve ark, 2018).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 4'ünde (4/96) *GNAS* geninde 3 farklı klinik önemi belirsiz varyasyon tespit edilmiştir. Bu varyasyonlardan biri kodlanmayan bölgede intron 1'de yer alırken diğerleri ekzon 1'de bulunmuştur. c.139G>A (p.Glu47Lys) varyantı güçlü aile öyküsüyle bölümümüze başvurmuş, iki kız kardeş olgumuzda bulunmuştur. c.1169C>T (p.Thr390Ile) varyantı tespit edilen olgumuz, 27 yaşında yumurtalık, 29 yaşında ise meme kanseri tanısı almıştır. c.2069-3778C>T intron 1 varyantı ise güçlü aile öyküsü ile bölümümüze başvurmuş bir olgumuzda tespit edilmiştir. Tüm bu bulgular ışığında, *GNAS* gen mutasyonları meme kanserinde nadir görülse de daha fazla çalışma yapılarak hastalıkla ilişkisinin açıklığa kavuşturulması gerekmektedir.

5.12. VHL geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

Von Hippel-Lindau (VHL) tümör baskılayıcı geninin germline inaktivasyonu, von Hippel-Lindau kalıtsal kanser sendromuna neden olur. Bu sendrom en sık görülen çoklu sistem ailesel kanser sendromlarından biridir. Hastalık, *VHL* tümör baskılayıcı gendeki germ hattı mutasyonundan kaynaklanmaktadır. *VHL* genindeki mutasyon, transkripsiyonel düzenleme, hücre dışı matris oluşumu, apoptoz ve özellikle hipoksiye hücre adaptif yanıt dahil olmak üzere birçok hücre sel süreci etkiler. Sonuç olarak, retina, beyin ve omurgayı etkileyen vasküler tümörlerin yanı sıra iç organlarda iyi huylu ve kötü huylu tümörler ve / veya kistler spektrumunda yaygın bir gelişme söz konusudur (Aronow ve ark, 2019). Bugüne kadar *VHL* gen mutasyonlarını doğrudan meme kanseri ile ilişkilendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Nassar ve ark., 46 Mısırlı meme kanseri hastasında, NGS yöntemiyle 409 geni analiz etmişler ve çalışma sonucunda bir hastanın (% 2) patojenik *VHL* mutasyonu barındırdığını bulmuşlardır (Nassar ve ark, 2020).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 2'sinde (2/96) *VHL* geninde 3 farklı klinik önemi belirsiz varyasyon tespit edilmiştir. c.3G>A (p.Met1?) ve c.631A>C (p.Met211Leu) varyantları tespit edilen olgumuz, 64 yaşında meme kanseri tanısı almıştır ve diğer memeye metastaz söz konusudur. rs578091032 numaralı varyant, ClinVar'da kalıtsal kansere yatkınlık sendromu ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılırken, rs200019083 numaralı varyant *VHL* sendromu ile ilişkili klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmaktadır. Diğer c.607C>A (p.Gln203Lys) varyantı ise bölümümüze güçlü aile öyküsü ile başvurmuş bir hastamızda tespit edilmiştir.

5.13. KRAS geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

KRAS sinyali, birkaç kanserde kanserin ilerlemesi ile ilişkilidir. *KRAS* sinyalinin yukarı regülasyonu, pankreas kanseri ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri gibi yüksek *KRAS* mutasyon oranı barındıran kanserlerde sıklıkla görülür. Meme kanserinde sadece % 2'den daha azının *KRAS* mutasyonuna sahip olduğu bildirilmiştir (Cancer Genome Atlas Network, 2012). Bu nedenle meme kanserinde, *KRAS* mutasyonlarının klinik önemi belirsizliğini korumaktadır.

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 1'inde (1/96) *KRAS* geninde klinik önemi belirsiz varyasyon tespit edilmiştir. c.451-5563C>T intronik varyantı tespit edilen olgumuz, 35 yaşında tanı almıştır ve üçlü negatif meme kanseri hastasıdır. Varyantla ilgili ClinVar'da veri bulunmamaktadır. Varyant, ACMG kriterlerine göre, 1 orta (PM2) ve 1 destekleyici (BP4) kanıt ile klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 3.2).

5.14. HNF1A geni varyantlarının literatür ile karşılaştırılması

Zhang ve ark., yaptıkları çalışmada, biyoinformatik analiz yoluyla kanserde *HNF1A*'nın ekspresyonunu ve işlevini açıklamaya odaklanmışlardır. Çalışma sonucunda, *HNF1A* geninin kodladığı transkripsiyon faktörünün birçok kanserin gelişmesi ve ilerlemesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Meme kanserli hastaların % 48.78'inde *HNF1A*'da yanlış anlamlı mutasyonlar bulunmuştur (Zhang, Huang & He ve ark, 2021).

Çalışmamıza dahil edilen olguların yaklaşık % 1'inde (1/96) *HNF1A* geninde klinik önemi belirsiz varyasyon tespit edilmiştir. c.1841A>T (p.Asn614Ile) varyantı tespit edilen olgumuz, 35 yaş tanı üçlü negatif meme kanseri hastasıdır. rs779019818 numaralı varyantla ilgili ClinVar'da veri bulunmamaktadır. Varyant, ACMG kriterlerine göre, 1 orta (PM2) ve 2 destekleyici (PP2, PP3) kanıt ile klinik önemi belirsiz olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 3.2).

Sonuç olarak, çoklu gen panel testinin uygulanması, klinik uygulamada, özellikle kansere yakınlıkla ilişkili germ hattı mutasyonlarının değerlendirilmesinde hızla artmaktadır. Kalıtsal kanser için yüksek riskli bireylerde kansere yakınlık genlerindeki zararlı mutasyonların belirlenmesi, kişiselleştirilmiş gözetimin etkinliğini artırarak, hem bireylerde hem de aile üyelerinde kalıtsal kanserin erken teşhisine veya profilaktik tedavisine imkan sağlayabilir. Erken teşhis ve profilaktik tedavi için yoğun gözetim, zararlı mutasyonları olan hastalarda daha iyi sağkalım ile doğrudan bağlantılıdır.

5.15. Sınırlılıklar

Çok genli panel testlerinin sınırlamaları vardır. Patojenik mutasyon ve VUS prevalansı ırklara ve etnik kökenlere göre değişir. Dahası, mutasyonların penetrans ve fenotipi bireyler arasında farklıdır. Zararlı bir mutasyonun tespiti, her zaman bir bireyin kanser geliştireceği ve tersine, çok genli panel testinin negatif bir sonucu, bireyin kansere yakalanma riskinin olmadığı anlamına gelmez.

Diğer bir sınırlama, NGS ve Sanger dizileme arasındaki dizileme sonuçlarını, örnek miktarının yetersizliği nedeniyle aynı kan örneğiyle karşılaştıramamamızdır. NGS tabanlı çoklu gen panel testi, Sanger dizileme ile karşılaştırıldığında büyük insersiyon/ delesyon ve kopya sayısı varyasyonu gibi mutasyonları tespit etmede zayıftır. Bu zayıflıklar teknik iyileştirme ile aşılabilsede uzun vadeli sonuçları içeren klinik çıkarımlar dikkatlice tartışılmalıdır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

NGS tabanlı çoklu gen panel testi kullanılarak, kalıtsal kanserin klinik özelliklerine sahip, 96 Türk meme kanseri olgusunda, toplam 34 gen analiz edilmiştir. Genel olarak, 43 olgunun 16 hücre sinyal geninde 49 farklı varyasyon taşıdığı bulunmuştur. Genlere göre mutasyon sıklıkları, *NOTCH1* (n= 8), *FGFR3* (n= 7), *RET* (n= 5), *NF1* (n= 5), *CHEK2* (n= 4), *FGFR1* (n= 4), *EGFR* (n= 4), *GNAS* (n= 4), *APC* (n= 3), *VHL* (n= 3), *TP53* (n= 2), *ERBB2* (n= 2), *CDH1* (n= 1), *FGFR2* (n= 1), *KRAS* (n= 1) ve *HNF1A* (n= 1) şeklindedir.

Çalışmamızda patojenik mutasyon tespit edilen genler sırasıyla *TP53*, *CHEK2* ve *RET* genleridir. *RET* geninde saptadığımız patojenik c.2372A>T (p.Tyr791Phe) varyantı ile *TP53* geninde saptadığımız patojenik c.80delC (p.Pro27LeufsTer17) varyantı bizim dışımızdaki çalışmalarda da meme kanseri ile ilişkilendirilmiştir. Ancak *CHEK2* geninde saptadığımız patojenik c.290G>A (p.Trp97Ter) varyantını literatürde meme kanseri ile ilişkilendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu varyant ACMG kriterlerine göre patojenik olarak sınıflandırılmıştır. Ancak patojenitesi hakkında kesin yorum yapabilmek için popülasyon tabanlı fonksiyonel çalışmalar yapılmalıdır. Diğer olası patojenik mutasyon bulunan genler *FGFR1*, *FGFR3*, *EGFR* ve *NOTCH1* olarak belirlenmiştir. Bu genlerin meme kanseri yatkınlığındaki rolü bilinmemekle birlikte yapılan çalışmalar genellikle ekspresyon seviyeleri üzerine odaklanmıştır. Bu nedenle bu genlerin meme kanserindeki mutasyonel durumunu öğrenebilmek için daha fazla çalışmaya gerek duyulmaktadır. Çalışmamızda aynı zamanda olgularımızda, 48 VUS varyant saptanmıştır. Bu varyantların 7 tanesi ACMG kriterlerine göre sınıflandırıldığında zararlı bulunmuştur. Bu nedenle, bu tür varyantlar, kanserin kalıtsallığına önemli bir katkı sağlayabilir. VUS'ların şu anda klinik kararlar vermek için kullanılmaması gerekse de, yapılacak ek çalışmalar, bunların kanserdeki rolünü ve klinik kullanımını tanımlayabilir.

Hücre sinyal iletimi, kanserin gelişimi ve ilerlemede temel bir süreçtir. Tümör içi genetik heterojenliğin derecesi ise git gide daha da karmaşık hale gelmektedir. Bu zorlukların üstesinden gelmek, direnç mekanizmalarının doğası ve farklı hücrel sinyal ağlarının, heterojen tümör hücresi popülasyonlarında dirençli durumlara nasıl aracılık ettiğini anlayarak tümör gelişiminin ayırt edici özelliklerini hedeflemek, bu hastalığı ortadan kaldırmanın yolu gibi görünmektedir.

Kalıtsal meme kanseri için belirlenmiş kriterleri karşılayan ancak *BRCA1/2* mutasyonları için negatif olan olguların incelenmesi, ailelerin yaklaşık % 45'i için ek bilgi sağlamıştır. Bulgularımız, yeni nesil dizilemenin, meme kanserinde altta yatan genetik nedenleri araştırmak için güçlü bir araç olduğunu göstermektedir. Türk toplumunda meme kanseri gelişim ve ilerlemede rol oynayan genlerin belirlenmesi için daha fazla sayıda geni kapsayan popülasyon çalışmaları ve fonksiyonel çalışmaların yapılması hastalığın anlaşılmasında ve mevcut sonuçların değerlendirilmesinde önemli fayda sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

Aftab, A., Shahzad, S., Hussain, H. M. J., Khan, R., Irum, S., & Tabassum, S. (2019). CDKN2A/P16INK4A variants association with breast cancer and their in-silico analysis. *Breast Cancer*, 26(1), 11-28.

Alexandrov, L. B., Nik-Zainal, S., Wedge, D. C., Aparicio, S. A., Behjati, S., Biankin, A. V., ... & Stratton, M. R. (2013). Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*, 500(7463), 415-421.

Aloraifi, F., McDevitt, T., Martiniano, R., McGreevy, J., McLaughlin, R., Egan, C. M., ... & Bracken, A. P. (2015). Detection of novel germline mutations for breast cancer in non-BRCA1/2 families. *The FEBS journal*, 282(17), 3424-3437.

Alqahtani, A., Ayesah, H. S., & Halawani, H. (2020). PIK3CA gene mutations in solid malignancies: association with clinicopathological parameters and prognosis. *Cancers*, 12(1), 93.

Apostolou, P., & Papatirou, I. (2017). Current perspectives on CHEK2 mutations in breast cancer. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, 9, 331.

Apostolou, P., Fostira, F., Mollaki, V., Delimitsou, A., Vlassi, M., Pentheroudakis, G., ... & Konstantopoulou, I. (2018). Characterization and prevalence of two novel CHEK2 large deletions in Greek breast cancer patients. *Journal of human genetics*, 63(8), 877-886.

Apostolou, P., Fostira, F., Mollaki, V., Delimitsou, A., Vlassi, M., Pentheroudakis, G., ... & Konstantopoulou, I. (2018). Characterization and prevalence of two novel CHEK2 large deletions in Greek breast cancer patients. *Journal of human genetics*, 63(8), 877-886.

Aronow, M. E., Wiley, H. E., Gaudric, A., Krivosic, V., Gorin, M. B., Shields, C. L., ... & Chew, E. Y. (2019). von Hippel-Lindau disease: Update on Pathogenesis and Systemic Aspects. *Retina*, 39(12), 2243-2253.

Bertucci, F., Rypens, C., Finetti, P., Guille, A., Adélaïde, J., Monneur, A., ... & Van Laere, S. (2020). NOTCH and DNA repair pathways are more frequently targeted by genomic alterations in inflammatory than in non-inflammatory breast cancers. *Molecular oncology*, 14(3), 504-519.

Biegging, K. T., Mello, S. S., & Attardi, L. D. (2014). Unravelling mechanisms of p53-mediated tumour suppression. *Nature Reviews Cancer*, *14*(5), 359-370.

Board, P. A. T. E. (2019). Breast Cancer Treatment During Pregnancy (PDQ®). In *PDQ Cancer Information Summaries [Internet]*. National Cancer Institute (US).

Bracci, M., Ciarapica, V., Eléxpuru Zabaleta, M., Tartaglione, M. F., Pirozzi, S., Giuliani, L., ... & Santarelli, L. (2019). BRCA1 and BRCA2 gene expression: Diurnal variability and influence of shift work. *Cancers*, *11*(8), 1146.

Brady, N. J., Chuntova, P., Bade, L. K., & Schwertfeger, K. L. (2013). The FGF/FGF receptor axis as a therapeutic target in breast cancer. *Expert review of endocrinology & metabolism*, *8*(4), 391-402.

Bray, F. (2014). Transitions in human development and the global cancer burden. *World cancer report*, *34*.

Bray, F., Ferlay, J., Laversanne, M., Brewster, D. H., Gombe Mbalawa, C., Kohler, B., ... & Forman, D. (2015). Cancer Incidence in Five Continents: inclusion criteria, highlights from Volume X and the global status of cancer registration. *International journal of cancer*, *137*(9), 2060-2071.

Broca, P. (1866). *Traité des tumeurs* (Vol. 1). P. Asselin.

Buys, S. S., Sandbach, J. F., Gammon, A., Patel, G., Kidd, J., Brown, K. L., ... & Daly, M. B. (2017). A study of over 35,000 women with breast cancer tested with a 25-gene panel of hereditary cancer genes. *Cancer*, *123*(10), 1721-1730.

Cancer Genome Atlas Network. (2012). Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, *490*(7418), 61.

Cannarile, M. A., Weisser, M., Jacob, W., Jegg, A. M., Ries, C. H., & Rüttinger, D. (2017). Colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) inhibitors in cancer therapy. *Journal for immunotherapy of cancer*, *5*(1), 1-13.

Caronia, L. M., Phay, J. E., & Shah, M. H. (2011). Role of BRAF in thyroid oncogenesis. *Clinical cancer research*, *17*(24), 7511-7517.

Castéra, L., Krieger, S., Rousselin, A., Legros, A., Baumann, J. J., Bruet, O., ... & Vaur, D. (2014). Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes. *European Journal of Human Genetics*, 22(11), 1305-1313.

Catana, A., Apostu, A. P., & Antemie, R. G. (2019). Multi gene panel testing for hereditary breast cancer-is it ready to be used?. *Medicine and pharmacy reports*, 92(3), 220.

Chang, Y. S., Lin, C. Y., Yang, S. F., Ho, C. M., & Chang, J. G. (2016). Analysing the mutational status of adenomatous polyposis coli (APC) gene in breast cancer. *Cancer cell international*, 16(1), 1-6.

CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium. (2004). CHEK2* 1100delC and susceptibility to breast cancer: a collaborative analysis involving 10,860 breast cancer cases and 9,065 controls from 10 studies. *The American Journal of Human Genetics*, 74(6), 1175-1182.

Chikman, B., Davidson, T., Kais, H., Jeroukhimov, I., Leshno, A., Sandbank, J., ... & Lavy, R. (2016). Is there an association between invasive lobular carcinoma of the breast and a family history of gastric cancer?. *Familial cancer*, 15(1), 41-47.

Chong, H. K., Wang, T., Lu, H. M., Seidler, S., Lu, H., Keiles, S., ... & Elliott, A. M. (2014). The validation and clinical implementation of BRCAplus: a comprehensive high-risk breast cancer diagnostic assay. *PloS one*, 9(5), e97408.

Churpek, J. E., Walsh, T., Zheng, Y., Moton, Z., Thornton, A. M., Lee, M. K., ... & Olopade, O. I. (2015). Inherited predisposition to breast cancer among African American women. *Breast cancer research and treatment*, 149(1), 31-39.

Cimino, A., Halushka, M., Illei, P., Wu, X., Sukumar, S., & Argani, P. (2010). Epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) is overexpressed in breast cancer metastases. *Breast cancer research and treatment*, 123(3), 701-708.

Cocco, E., Lopez, S., Santin, A. D., & Scaltriti, M. (2019). Prevalence and role of HER2 mutations in cancer. *Pharmacology & therapeutics*, 199, 188-196.

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.

Couch, F. J., Hart, S. N., Sharma, P., Toland, A. E., Wang, X., Miron, P., ... & Fasching, P. A. (2015). Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer. *Journal of clinical oncology*, 33(4), 304.

Couch, F. J., Shimelis, H., Hu, C., Hart, S. N., Polley, E. C., Na, J., ... & Dolinsky, J. S. (2017). Associations between cancer predisposition testing panel genes and breast cancer. *JAMA oncology*, 3(9), 1190-1196.

Cui, F., Wu, D., Wang, W., He, X., & Wang, M. (2016). Variants of FGFR2 and their associations with breast cancer risk: a HUGE systematic review and meta-analysis. *Breast cancer research and treatment*, 155(2), 313-335.

Cybulski, C., Lubiński, J., Wokołorczyk, D., Kuźniak, W., Kashyap, A., Sopik, V., ... & Akbari, M. R. (2015). Mutations predisposing to breast cancer in 12 candidate genes in breast cancer patients from Poland. *Clinical genetics*, 88(4), 366-370.

Cybulski, C., Wokołorczyk, D., Jakubowska, A., Huzarski, T., Byrski, T., Gronwald, J., ... & Lubiński, J. (2011). Risk of breast cancer in women with a CHEK2 mutation with and without a family history of breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 29(28), 3747-3752.

Çoban, Z., & Güran, Ş. (2013). Hücre içi sinyal iletimi mekanizmalarının kanser tanı ve tedavisindeki rolü. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, 35(2), 302-310.

Deckers, M., van Dinther, M., Buijs, J., Que, I., Löwik, C., van der Pluijm, G., & ten Dijke, P. (2006). The tumor suppressor Smad4 is required for transforming growth factor β -induced epithelial to mesenchymal transition and bone metastasis of breast cancer cells. *Cancer research*, 66(4), 2202-2209.

del Pilar Camacho-Leal, M., Sciortino, M., & Cabodi, S. (2017). ErbB2 receptor in breast cancer: Implications in cancer cell migration, invasion and resistance to targeted therapy. *Breast Cancer Biol Med*.

Della Corte, C. M., Viscardi, G., Di Liello, R., Fasano, M., Martinelli, E., Troiani, T., ... & Morgillo, F. (2018). Role and targeting of anaplastic lymphoma kinase in cancer. *Molecular cancer*, 17(1), 1-9.

Desmedt, C., Yates, L., & Kulka, J. (2016). Catalog of genetic progression of human cancers: breast cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 35(1), 49-62.

Desmedt, C., Zoppoli, G., Gundem, G., Pruneri, G., Larsimont, D., Fornili, M., ... & Sotiriou, C. (2016). Genomic characterization of primary invasive lobular breast cancer. *Journal of clinical oncology*, 34(16), 1872-1881.

Desmond, A., Kurian, A. W., Gabree, M., Mills, M. A., Anderson, M. J., Kobayashi, Y., ... & Ellisen, L. W. (2015). Clinical actionability of multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer risk assessment. *JAMA oncology*, 1(7), 943-951.

Ding, Q., Chen, H., Lim, B., Damodaran, S., Chen, W., Tripathy, D., ... & Sahin, A. A. (2019). HER2 somatic mutation analysis in breast cancer: correlation with clinicopathological features. *Human pathology*, 92, 32-38.

Dirican, E., Akkiprik, M., & Özer, A. (2016). Mutation distributions and clinical correlations of PIK3CA gene mutations in breast cancer. *Tumor Biology*, 37(6), 7033-7045.

Doherty, J., Bonadies, D. C., & Matloff, E. T. (2015). Testing for hereditary breast cancer: panel or targeted testing? Experience from a clinical cancer genetics practice. *Journal of genetic counseling*, 24(4), 683-687.

Donepudi, M. S., Kondapalli, K., Amos, S. J., & Venkateshan, P. (2014). Breast cancer statistics and markers. *Journal of cancer research and therapeutics*, 10(3), 506.

Du, Q., Guo, X., Wang, M., Li, Y., Sun, X., & Li, Q. (2020). The application and prospect of CDK4/6 inhibitors in malignant solid tumors. *Journal of hematology & oncology*, 13, 1-12.

Easton, D. F., Pharoah, P. D., Antoniou, A. C., Tischkowitz, M., Tavtigian, S. V., Nathanson, K. L., ... & Foulkes, W. D. (2015). Gene-panel sequencing and the prediction of breast-cancer risk. *New England Journal of Medicine*, 372(23), 2243-2257.

Easton, D. F., Pooley, K. A., Dunning, A. M., Pharoah, P. D., Thompson, D., Ballinger, D. G., ... & Ponder, B. A. (2007). Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature*, 447(7148), 1087-1093.

Economopoulou, P., Dimitriadis, G., & Psyrris, A. (2015). Beyond BRCA: new hereditary breast cancer susceptibility genes. *Cancer treatment reviews*, 41(1), 1-8.

Ely, S., & Vioral, A. N. (2007). Breast cancer overview. *Plastic Surgical Nursing*, 27(3), 128-133.

Eroles, P., Bosch, A., Pérez-Fidalgo, J. A., & Lluch, A. (2012). Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways. *Cancer treatment reviews*, 38(6), 698-707.

Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., ... & Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*, 136(5), E359-E386.

Frayling, I. M., Mautner, V. F., Van Minkelen, R., Kallionpää, R. A., Aktas, S., Baralle, D., ... & Upadhyaya, M. (2019). Breast cancer risk in neurofibromatosis type 1 is a function of the type of NF1 gene mutation: a new genotype-phenotype correlation. *Journal of medical genetics*, 56(4), 209-219.

Galiè, M. (2019). RAS as supporting actor in breast cancer. *Frontiers in oncology*, 9, 1199.

Gattelli, A., Hynes, N. E., Schor, I. E., & Vallone, S. A. (2020). Ret receptor has distinct alterations and functions in breast cancer. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 25(1), 13-26.

Gervin, E., Shin, B., Opperman, R., Cullen, M., Feser, R., Maiti, S., & Majumder, M. (2020). Chemically Induced Hypoxia Enhances miRNA Functions in Breast Cancer. *Cancers*, 12(8), 2008.

Geyer, F. C., Lacroix-Triki, M., Savage, K., Arnedos, M., Lambros, M. B., MacKay, A., ... & Reis-Filho, J. S. (2011). β -Catenin pathway activation in breast cancer is associated with triple-negative phenotype but not with CTNNB1 mutation. *Modern pathology*, 24(2), 209-231.

Gharaibeh, L., Elmadany, N., Alwosaibai, K., & Alshaer, W. (2020). Notch1 in cancer therapy: Possible clinical implications and challenges. *Molecular Pharmacology*, 98(5), 559-576.

Giuli, M. V., Giuliani, E., Screpanti, I., Bellavia, D., & Checquolo, S. (2019). Notch signaling activation as a hallmark for triple-negative breast cancer subtype. *Journal of oncology*, 2019.

Gonzalez, K. D., Buzin, C. H., Noltner, K. A., Gu, D., Li, W., Malkin, D., & Sommer, S. S. (2009). High frequency of de novo mutations in Li-Fraumeni syndrome. *Journal of medical genetics*, 46(10), 689-693.

Gonzalez-Angulo, A. M., Timms, K. M., Liu, S., Chen, H., Litton, J. K., Potter, J., ... & Meric-Bernstam, F. (2011). Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 17(5), 1082-1089.

Gottfried, O. N., Viskochil, D. H., & Couldwell, W. T. (2010). Neurofibromatosis Type 1 and tumorigenesis: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Neurosurgical focus*, 28(1), E8.

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.

Griffith, O. L., Spies, N. C., Anurag, M., Griffith, M., Luo, J., Tu, D., ... & Ellis, M. J. (2018). The prognostic effects of somatic mutations in ER-positive breast cancer. *Nature communications*, 9(1), 1-16.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *cell*, 100(1), 57-70.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, 144(5), 646-674.

Hansford, S., Kaurah, P., Li-Chang, H., Woo, M., Senz, J., Pinheiro, H., ... & Huntsman, D. G. (2015). Hereditary diffuse gastric cancer syndrome: CDH1 mutations and beyond. *JAMA oncology*, 1(1), 23-32.

Harbeck, N., Penault-Llorca, F., Cortes, J., Gnant, M., Houssami, N., Poortmans, P., ... & Cardoso, F. (2019). Breast cancer (Primer) *Nat. Rev. Dis. Primers*, 66.

Helffferich, J., Nijmeijer, R., Brouwer, O. F., Boon, M., Fock, A., Hoving, E. W., ... & de Bont, E. S. (2016). Neurofibromatosis type 1 associated low grade gliomas: a comparison with sporadic low grade gliomas. *Critical reviews in oncology/hematology*, 104, 30-41.

Howlader, N. (2011). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008, National Cancer Institute, Bethesda, MD. http://seer.cancer.gov/csr/1975_2008/, based on November 2010 SEER data submission, posted to the SEER web site.

Hu, Z., Fang, H., Wang, X., Chen, D., Chen, Z., & Wang, S. (2014). Overexpression of SHP2 tyrosine phosphatase promotes the tumorigenesis of breast carcinoma. *Oncology reports*, 32(1), 205-212.

Hussain, M. R. M., Baig, M., Mohamoud, H. S. A., Ulhaq, Z., Hoessli, D. C., Khogeer, G. S., ... & Al-Aama, J. Y. (2015). BRAF gene: From human cancers to developmental syndromes. *Saudi journal of biological sciences*, 22(4), 359-373.

Jang, M. H., Kim, E. J., Choi, Y., Lee, H. E., Kim, Y. J., Kim, J. H., ... & Park, S. Y. (2012). FGFR1 is amplified during the progression of in situ to invasive breast carcinoma. *Breast Cancer Research*, 14(4), 1-12.

Kapoor, N. S., Curcio, L. D., Blakemore, C. A., Bremner, A. K., McFarland, R. E., West, J. G., & Banks, K. C. (2015). Multigene panel testing detects equal rates of pathogenic BRCA1/2 mutations and has a higher diagnostic yield compared to limited BRCA1/2 analysis alone in patients at risk for hereditary breast cancer. *Annals of surgical oncology*, 22(10), 3282-3288.

Kato, S., Subbiah, V., Marchlik, E., Elkin, S. K., Carter, J. L., & Kurzrock, R. (2017). RET aberrations in diverse cancers: next-generation sequencing of 4,871 patients. *Clinical Cancer Research*, 23(8), 1988-1997.

Keller, L., Werner, S., & Pantel, K. (2019). Biology and clinical relevance of EpCAM. *Cell Stress*, 3(6), 165.

King, T. D., Suto, M. J., & Li, Y. (2012). The wnt/ β -catenin signaling pathway: A potential therapeutic target in the treatment of triple negative breast cancer. *Journal of cellular biochemistry*, 113(1), 13-18.

Kleibl, Z., & Kristensen, V. N. (2016). Women at high risk of breast cancer: Molecular characteristics, clinical presentation and management. *The Breast*, 28, 136-144.

Kodaz, H., Kostek, O., Hacıoglu, M. B., Erdogan, B., Kodaz, C. E., Hacibekiroglu, I., ... & Cicin, I. (2017). Frequency of RAS mutations (KRAS, NRAS, HRAS) in human solid cancer. *Breast cancer*, 7(5).

Kotani, T., Murata, Y., Saito, Y., & Matozaki, T. (2018) Tyrosine-Protein Phosphatase Nonreceptor Type 11 (PTPN11). In: Choi S. (eds) *Encyclopedia of Signaling Molecules*. Springer, Cham.

Königsberg, R., Obermayr, E., Bises, G., Pfeiler, G., Gneist, M., Wrba, F., ... & Dittrich, C. (2011). Detection of EpCAM positive and negative circulating tumor cells in metastatic breast cancer patients. *Acta oncologica*, 50(5), 700-710.

Kullmann, L., & Krahn, M. P. (2018). Controlling the master—upstream regulation of the tumor suppressor LKB1. *Oncogene*, 37(23), 3045-3057.

Kurian, A. W., Hare, E. E., Mills, M. A., Kingham, K. E., McPherson, L., Whittemore, A. S., ... & Ford, J. M. (2014). Clinical evaluation of a multiple-gene sequencing panel for hereditary cancer risk assessment. *Journal of clinical oncology*, 32(19), 2001.

Kuroso, K., Imai, Y., Kobayashi, M., Yanagimoto, K., Suzuki, T., Kojima, M., & Ueda, Y. (2010). Immunohistochemical detection of fibroblast growth factor receptor 3 in human breast cancer: correlation with clinicopathological/molecular parameters and prognosis. *Pathobiology*, *77*(5), 231-240.

Kuusisto, K. M., Bebel, A., Vihinen, M., Schleutker, J., & Sallinen, S. L. (2011). Screening for BRCA1, BRCA2, CHEK2, PALB2, BRIP1, RAD50, and CDH1 mutations in high-risk Finnish BRCA1/2-founder mutation-negative breast and/or ovarian cancer individuals. *Breast Cancer Research*, *13*, 1-13.

LaDuca, H., Stuenkel, A. J., Dolinsky, J. S., Keiles, S., Tandy, S., Pesaran, T., ... & Chao, E. (2014). Utilization of multigene panels in hereditary cancer predisposition testing: analysis of more than 2,000 patients. *Genetics in medicine*, *16*(11), 830-837.

Lakhani, S. R., Ellis, I. O., Schnitt, S., Tan, P. H., & van de Vijver, M. (2012). WHO Classification of Tumours of the Breast.

Langerød, A., Zhao, H., Borgan, Ø., Nesland, J. M., Bukholm, I. R., Ikdahl, T., ... & Jeffrey, S. S. (2007). TP53 mutation status and gene expression profiles are powerful prognostic markers of breast cancer. *Breast cancer research*, *9*(3), 1-16.

Leedom, T. P., LaDuca, H., McFarland, R., Li, S., Dolinsky, J. S., & Chao, E. C. (2016). Breast cancer risk is similar for CHEK2 founder and non-founder mutation carriers. *Cancer genetics*, *209*(9), 403-407.

Leshno, A., Shapira, S., Liberman, E., Kraus, S., Srour, M., Harlap-Gat, A., ... & Moshkowitz, M. (2016). The APC I1307K allele conveys a significant increased risk for cancer. *International journal of cancer*, *138*(6), 1361-1367.

Li, J. Y., Jing, R., Wei, H., Wang, M., Xiaowei, Q., Liu, H., ... & Jiang, J. (2019). Germline mutations in 40 cancer susceptibility genes among Chinese patients with high hereditary risk breast cancer. *International journal of cancer*, *144*(2), 281-289.

Li, K., Li, G. D., Sun, L. Y., & Li, X. Q. (2018). PTEN and SHIP: impact on lymphatic metastasis in breast cancer. *Journal of cancer research and therapeutics*, *14*(12), 937.

Li, Q., Wu, L., Oelschläger, D. K., Wan, M., Stockard, C. R., Grizzle, W. E., ... & Cao, X. (2005). Smad4 inhibits tumor growth by inducing apoptosis in estrogen receptor- α -positive breast cancer cells. *Journal of Biological Chemistry*, *280*(29), 27022-27028.

Liang, J., Chen, P., Hu, Z., Zhou, X., Chen, L., Li, M., ... & Shen, H. (2008). Genetic variants in fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) contribute to susceptibility of breast cancer in Chinese women. *Carcinogenesis*, 29(12), 2341-2346.

Liang, J., Lin, C., Hu, F., Wang, F., Zhu, L., Yao, X., ... & Zhao, Y. (2013). APC polymorphisms and the risk of colorectal neoplasia: a HuGE review and meta-analysis. *American journal of epidemiology*, 177(11), 1169-1179.

Liang, X., Vacher, S., Boulai, A., Bernard, V., Baulande, S., Bohec, M., ... & Callens, C. (2018). Targeted next-generation sequencing identifies clinically relevant somatic mutations in a large cohort of inflammatory breast cancer. *Breast Cancer Research*, 20(1), 1-12.

Lincoln, S. E., Kobayashi, Y., Anderson, M. J., Yang, S., Desmond, A. J., Mills, M. A., ... & Ellisen, L. W. (2015). A systematic comparison of traditional and multigene panel testing for hereditary breast and ovarian cancer genes in more than 1000 patients. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 17(5), 533-544.

Liu, D., & Zhou, K. (2020). BRAF/MEK pathway is associated with breast cancer in ER-dependent mode and improves ER status-based cancer recurrence prediction. *Clinical breast cancer*, 20(1), 41-50.

Liu, N., Yu, C., Shi, Y., Jiang, J., & Liu, Y. (2015). SMAD4 expression in breast ductal carcinoma correlates with prognosis. *Oncology letters*, 10(3), 1709-1715.

Liu, Q., Guo, L., Zhang, S., Wang, J., Lin, X., & Gao, F. (2019). PRSS1 mutation: a possible pathomechanism of pancreatic carcinogenesis and pancreatic cancer. *Molecular Medicine*, 25(1), 1-11.

Liu, S., Wang, H., Zhang, L., Tang, C., Jones, L., Ye, H., ... & Zhou, T. (2015). Rapid detection of genetic mutations in individual breast cancer patients by next-generation DNA sequencing. *Human genomics*, 9(1), 1-10.

Liu, Y., Zhang, R. X., Yuan, W., Chen, H. Q., Tian, D. D., Li, H., ... & Wang, Y. (2018). Knockdown of bone morphogenetic proteins type 1a receptor (BMPRIa) in breast cancer cells protects bone from breast cancer-induced osteolysis by suppressing RANKL expression. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 45(5), 1759-1771.

Lv, Y., Sun, C., Tian, Y., Zhao, S., Bian, Y., Cheng, L., ... & Ma, J. (2017). Association study of HNF1A in women with polycystic ovary syndrome. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 34(5), 677-682.

Madanikia, S. A., Bergner, A., Ye, X., & Blakeley, J. O. N. (2012). Increased risk of breast cancer in women with NF1. *American journal of medical genetics Part A*, 158(12), 3056-3060.

Majoor, B. C., Boyce, A. M., Bovée, J. V., Smit, V. T., Collins, M. T., Cleton-Jansen, A. M., ... & Appelman-Dijkstra, N. M. (2018). Increased risk of breast cancer at a young age in women with fibrous dysplasia. *Journal of Bone and Mineral Research*, 33(1), 84-90.

Makki, J. (2015). Diversity of breast carcinoma: histological subtypes and clinical relevance. *Clinical Medicine Insights: Pathology*, 8, CPath-S31563.

Mamoor, S. (2021). GNA11 is differentially expressed in lymph node metastasis in human breast cancer.

Mauer, C. B., Pirzadeh-Miller, S. M., Robinson, L. D., & Euhus, D. M. (2014). The integration of next-generation sequencing panels in the clinical cancer genetics practice: an institutional experience. *Genetics in Medicine*, 16(5), 407-412.

Massagué, J., & Obenauf, A. C. (2016). Metastatic colonization by circulating tumour cells. *Nature*, 529(7586), 298-306.

Masuda, H., Zhang, D., Bartholomeusz, C., Doihara, H., Hortobagyi, G. N., & Ueno, N. T. (2012). Role of epidermal growth factor receptor in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 136(2), 331-345.

Mattox, T. E., Chen, X., Maxuitenko, Y. Y., Keeton, A. B., & Piazza, G. A. (2020). Exploiting RAS nucleotide cycling as a strategy for drugging RAS-Driven cancers. *International journal of molecular sciences*, 21(1), 141.

Maxwell, K. N., Wubbenhorst, B., D'Andrea, K., Garman, B., Long, J. M., Powers, J., ... & Nathanson, K. L. (2015). Prevalence of mutations in a panel of breast cancer susceptibility genes in BRCA1/2-negative patients with early-onset breast cancer. *Genetics in medicine*, 17(8), 630-638.

McCuaig, J. M., Armel, S. R., Novokmet, A., Ginsburg, O. M., Demsky, R., Narod, S. A., & Malkin, D. (2012). Routine TP53 testing for breast cancer under age 30: ready for prime time?. *Familial cancer*, 11(4), 607-613.

Melloni, G. E., Mazarella, L., Bernard, L., Bodini, M., Russo, A., Luzi, L., ... & Riva, L. (2017). A knowledge-based framework for the discovery of cancer-predisposing variants using large-scale sequencing breast cancer data. *Breast Cancer Research*, 19(1), 1-14.

Mendes-Pereira, A. M., Sims, D., Dexter, T., Fenwick, K., Assiotis, I., Kozarewa, I., ... & Ashworth, A. (2012). Genome-wide functional screen identifies a compendium of genes affecting sensitivity to tamoxifen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(8), 2730-2735.

Minuti, G., & Landi, L. (2015). MET deregulation in breast cancer. *Annals of translational medicine*, 3(13).

Momozawa, Y., Iwasaki, Y., Parsons, M. T., Kamatani, Y., Takahashi, A., Tamura, C., ... & Kubo, M. (2018). Germline pathogenic variants of 11 breast cancer genes in 7,051 Japanese patients and 11,241 controls. *Nature communications*, 9(1), 1-7.

Moran, O., Nikitina, D., Royer, R., Poll, A., Metcalfe, K., Narod, S. A., ... & Kotsopoulos, J. (2017). Revisiting breast cancer patients who previously tested negative for BRCA mutations using a 12-gene panel. *Breast cancer research and treatment*, 161(1), 135-142.

Morandi, A., Plaza-Menacho, I., & Isacke, C. M. (2011). RET in breast cancer: functional and therapeutic implications. *Trends in molecular medicine*, 17(3), 149-157.

Moulder, S., & Hortobagyi, G. N. (2008). Advances in the treatment of breast cancer. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83(1), 26-36.

Murphy, C. G. (2019). The role of CDK4/6 inhibitors in breast cancer. *Current treatment options in oncology*, 20(6), 1-13.

Murphy, C. G., & Dickler, M. N. (2015). The role of CDK4/6 inhibition in breast cancer. *The oncologist*, 20(5), 483.

Nassar, A., Abouelhoda, M., Mansour, O., Loutfy, S. A., Hafez, M. M., Gomaa, M., ... & Zekri, A. R. N. (2020). Targeted next generation sequencing identifies somatic mutations in a cohort of Egyptian breast cancer patients. *Journal of advanced research*, 24, 149-157.

Németh, B. C., & Sahin-Tóth, M. (2014). Human cationic trypsinogen (PRSS1) variants and chronic pancreatitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 306(6), G466-G473.

Nevanlinna, H., & Bartek, J. (2006). The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility. *Oncogene*, 25(43), 5912-5919.

Nik-Zainal, S., Davies, H., Staaf, J., Ramakrishna, M., Glodzik, D., Zou, X., ... & Stratton, M. R. (2016). Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences. *Nature*, 534(7605), 47-54.

Norris, A., & Korc, M. (2018). Smad4/TGF- β Signaling Pathways in Pancreatic Cancer Pathogenesis. In *Pancreatic Cancer*.

Owens, P., Pickup, M. W., Novitskiy, S. V., Giltneane, J. M., Gorska, A. E., Hopkins, C. R., ... & Moses, H. L. (2015). Inhibition of BMP signaling suppresses metastasis in mammary cancer. *Oncogene*, 34(19), 2437-2449.

Paratala, B. S., Chung, J. H., Williams, C. B., Yilmazel, B., Petrosky, W., Williams, K., ... & Hirshfield, K. M. (2018). RET rearrangements are actionable alterations in breast cancer. *Nature communications*, 9(1), 1-13.

Parish, A. J., Nguyen, V., Goodman, A. M., Murugesan, K., Frampton, G. M., & Kurzrock, R. (2018). GNAS, GNAQ, and GNA11 alterations in patients with diverse cancers. *Cancer*, 124(20), 4080-4089.

Patra, K. C., Kato, Y., Mizukami, Y., Widholz, S., Boukhali, M., Revenco, I., ... & Bardeesy, N. (2018). Mutant GNAS drives pancreatic tumorigenesis by inducing PKA-mediated SIK suppression and reprogramming lipid metabolism. *Nature cell biology*, 20(7), 811-822.

Patsialou, A., Wang, Y., Pignatelli, J., Chen, X., Entenberg, D., Oktay, M., & Condeelis, J. S. (2015). Autocrine CSF1R signaling mediates switching between invasion and proliferation downstream of TGF β in claudin-low breast tumor cells. *Oncogene*, 34(21), 2721-2731.

Pei, J., & Wang, B. (2015). Notch-1 promotes breast cancer cells proliferation by regulating LncRNA GAS5. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(8), 14464.

Peng, G. L., Tian, Y., Lu, C., Guo, H., Zhao, X. W., Guo, Y. W., ... & Liu, C. P. (2014). Effects of notch-1 down-regulation on malignant behaviors of breast cancer stem cells. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 34(2), 195-200.

Perez-Garcia, J., Muñoz-Couselo, E., Soberino, J., Racca, F., & Cortes, J. (2018). Targeting FGFR pathway in breast cancer. *The Breast*, 37, 126-133.

Perou, C. M., Sørli, T., Eisen, M. B., Van De Rijn, M., Jeffrey, S. S., Rees, C. A., ... & Botstein, D. (2000). Molecular portraits of human breast tumours. *nature*, 406(6797), 747-752.

Pharoah, P. D., Guilford, P., Caldas, C., & International Gastric Cancer Linkage Consortium. (2001). Incidence of gastric cancer and breast cancer in CDH1 (E-cadherin) mutation carriers from hereditary diffuse gastric cancer families. *Gastroenterology*, 121(6), 1348-1353.

Philipovskiy, A., Dwivedi, A. K., Gamez, R., McCallum, R., Mukherjee, D., Nahleh, Z., ... & Gaur, S. (2020). Association between tumor mutation profile and clinical outcomes among Hispanic Latina women with triple-negative breast cancer. *PloS one*, 15(9), e0238262.

Ponder, B. A. (2001). Cancer genetics. *Nature*, 411(6835), 336-341.

Prior, I. A., Hood, F. E., & Hartley, J. L. (2020). The frequency of Ras mutations in cancer. *Cancer research*, 80(14), 2969-2974.

Psinakis, F., Katseli, A., Koutsandrea, C., Frangia, K., Florentin, L., Apostolopoulou, D., ... & Brouzas, D. (2017). Uveal melanoma: GNAQ and GNA11 mutations in a Greek population. *Anticancer research*, 37(10), 5719-5726.

Qin, L., & Beier, F. (2019). EGFR signaling: friend or foe for cartilage?. *JBMR plus*, 3(2), e10177.

Rainville, I., Hatcher, S., Rosenthal, E., Larson, K., Bernhisel, R., Meek, S., ... & Manley, S. (2020). High risk of breast cancer in women with biallelic pathogenic variants in CHEK2. *Breast cancer research and treatment*, 180(2), 503-509.

Redston, M., Nathanson, K. L., Yuan, Z. Q., Neuhausen, S. L., Satagopan, J., Wong, N., ... & Offit, K. (1998). The APC I1307K allele and breast cancer risk. *Nature genetics*, 20(1), 13-14.

Ren, Y., Wu, L., Frost, A. R., Grizzle, W., Cao, X., & Wan, M. (2009). Dual effects of TGF- β on ER α -mediated estrogenic transcriptional activity in breast cancer. *Molecular Cancer*, 8(1), 1-11.

Revillion, F., Bonnetterre, J., & Peyrat, J. P. (1998). ERBB2 oncogene in human breast cancer and its clinical significance. *European Journal of Cancer*, 34(6), 791-808.

Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., ... & Rehm, H. L. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine*, 17(5), 405-423.

Rosati, E., Baldoni, S., De Falco, F., Del Papa, B., Dorillo, E., Rompietti, C., ... & Sportoletti, P. (2018). NOTCH1 aberrations in chronic lymphocytic leukemia. *Frontiers in oncology*, 8, 229.

Ross, J. S., Gay, L. M., Wang, K., Ali, S. M., Chumsri, S., Elvin, J. A., ... & Stephens, P. J. (2016). Nonamplification ERBB2 genomic alterations in 5605 cases of recurrent and metastatic breast cancer: an emerging opportunity for anti-HER2 targeted therapies. *Cancer*, 122(17), 2654-2662.

Rowbotham, D. A., Enfield, K. S., Martinez, V. D., Thu, K. L., Vucic, E. A., Stewart, G. L., ... & Lam, W. L. (2014). Multiple components of the VHL tumor suppressor complex are frequently affected by DNA copy number loss in pheochromocytoma. *International journal of endocrinology*, 2014.

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), 68-78.

Rusan, N. M., & Peifer, M. (2008). Original CIN: reviewing roles for APC in chromosome instability. *The Journal of cell biology*, 181(5), 719-726.

Saelee, P., & Pongtheerat, T. (2020). APC Promoter Hypermethylation as a Prognostic Marker in Breast Cancer Patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 21(12), 3627-3632.

Sagara, Y., Barry, W. T., Mallory, M. A., Vaz-Luis, I., Aydogan, F., Brock, J. E., ... & Metzger-Filho, O. (2015). Surgical options and locoregional recurrence in patients diagnosed with invasive lobular carcinoma of the breast. *Annals of surgical oncology*, 22(13), 4280-4286.

Sahlin, P., Tarnow, P., Martinsson, T., & Stenman, G. (2009). Germline mutation in the FGFR3 gene in a TWIST1-negative family with saethre-chotzen syndrome and breast cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 48(3), 285-288.

Samuels, Y., Wang, Z., Bardelli, A., Silliman, N., Ptak, J., Szabo, S., ... & Velculescu, V. E. (2004). High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science*.

Santolla, M. F., & Maggiolini, M. (2020). The FGF/FGFR System in Breast Cancer: Oncogenic Features and Therapeutic Perspectives. *Cancers*, 12(10), 3029.

Schon, K., & Tischkowitz, M. (2018). Clinical implications of germline mutations in breast cancer: TP53. *Breast cancer research and treatment*, 167(2), 417-423.

Schroeder, C., Faust, U., Sturm, M., Hackmann, K., Grundmann, K., Harmuth, F., ... & Rump, A. (2015). HBOC multi-gene panel testing: comparison of two sequencing centers. *Breast cancer research and treatment*, 152(1), 129-136.

Schubert, S., van Luttikhuisen, J. L., Auber, B., Schmidt, G., Hofmann, W., Penkert, J., ... & Steinemann, D. (2019). The identification of pathogenic variants in BRCA1/2 negative, high risk, hereditary breast and/or ovarian cancer patients: High frequency of FANCM pathogenic variants. *International journal of cancer*, 144(11), 2683-2694.

Shawarby, M. A., Al-Tamimi, D. M., & Ahmed, A. (2013). Molecular classification of breast cancer: an overview with emphasis on ethnic variations and future perspectives. *Saudi Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(1), 14.

Shenoy, S. (2019). CDH1 (E-cadherin) mutation and gastric cancer: genetics, molecular mechanisms and guidelines for management. *Cancer management and research*, 11, 10477.

Shin, H. C., Lee, H. B., Yoo, T. K., Lee, E. S., Kim, R. N., Park, B., ... & Han, W. (2020). Detection of germline mutations in breast cancer patients with clinical features of hereditary cancer syndrome using a multi-gene panel test. *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association*, 52(3), 697.

Siraj, A. K., Beg, S., Jehan, Z., Prabhakaran, S., Ahmed, M., Hussain, A. R., ... & Al-Kuraya, K. S. (2015). ALK alteration is a frequent event in aggressive breast cancers. *Breast Cancer Research*, 17(1), 1-12.

Steeg, P. S. (2006). Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nature medicine*, 12(8), 895-904.

Stefanski, C. D., Keffler, K., McClintock, S., Milac, L., & Prosperi, J. R. (2019). APC loss affects DNA damage repair causing doxorubicin resistance in breast cancer cells. *Neoplasia*, *21*(12), 1143-1150.

Stoltze, U., Skytte, A. B., Roed, H., Hasle, H., Ejlertsen, B., Overeem Hansen, T. V., ... & Wadt, K. (2018). Clinical characteristics and registry-validated extended pedigrees of germline TP53 mutation carriers in Denmark. *PloS one*, *13*(1), e0190050.

Susswein, L. R., Marshall, M. L., Nusbaum, R., Postula, K. J. V., Weissman, S. M., Yackowski, L., ... & Chung, W. K. (2016). Pathogenic and likely pathogenic variant prevalence among the first 10,000 patients referred for next-generation cancer panel testing. *Genetics in Medicine*, *18*(8), 823-832.

Tan, H. L., Glen, E., Töpf, A., Hall, D., O'Sullivan, J. J., Sneddon, L., ... & Keavney, B. D. (2012). Nonsynonymous variants in the SMAD6 gene predispose to congenital cardiovascular malformation. *Human Mutation*, *33*(4), 720-727.

Teng, Y. H. F., Tan, W. J., Thike, A. A., Cheok, P. Y., Tse, G. M. K., Wong, N. S., ... & Tan, P. H. (2011). Mutations in the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene in triple negative breast cancer: possible implications for targeted therapy. *Breast Cancer Research*, *13*(2), 1-9.

Thompson, E. R., Rowley, S. M., Li, N., McNerny, S., Devereux, L., Wong-Brown, M. W., ... & Campbell, I. G. (2016). Panel testing for familial breast cancer: calibrating the tension between research and clinical care. *Journal of Clinical Oncology*, *34*(13), 1455-1459.

Touat, M., Ileana, E., Postel-Vinay, S., André, F., & Soria, J. C. (2015). Targeting FGFR signaling in cancer. *Clinical cancer research*, *21*(12), 2684-2694.

Tung, N., Battelli, C., Allen, B., Kaldate, R., Bhatnagar, S., Bowles, K., ... & Hartman, A. R. (2015). Frequency of mutations in individuals with breast cancer referred for BRCA 1 and BRCA 2 testing using next-generation sequencing with a 25-gene panel. *Cancer*, *121*(1), 25-33.

Tung, N. M., Boughy, J. C., Pierce, L. J., Robson, M. E., Bedrosian, I., Dietz, J. R., ... & Zakalik, D. (2020). Management of hereditary breast cancer: American society of clinical oncology, American society for radiation oncology, and society of surgical oncology guideline. *Journal of Clinical Oncology*, *38*(18), 2080-2106.

Tung, N., Lin, N. U., Kidd, J., Allen, B. A., Singh, N., Wenstrup, R. J., ... & Garber, J. E. (2016). Frequency of germline mutations in 25 cancer susceptibility genes in a sequential series of patients with breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, *34*(13), 1460.

Turner, N., & Grose, R. (2010). Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. *Nature Reviews Cancer*, 10(2), 116-129.

Ullah, M. F. (2019). Breast cancer: current perspectives on the disease status. *Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance*, 51-64.

Uusitalo, E., Rantanen, M., Kallionpää, R. A., Pöyhönen, M., Leppävirta, J., Ylä-Outinen, H., ... & Peltonen, J. (2016). Distinctive cancer associations in patients with neurofibromatosis type 1. *Journal of Clinical Oncology*, 34(17), 1978-1986.

Van der Groep, P., Van Der Wall, E., & Van Diest, P. J. (2011). Pathology of hereditary breast cancer. *Cellular oncology*, 34(2), 71-88.

Varshney, N., Kebede, A. A., Owusu-Dapaah, H., Lather, J., Kaushik, M., & Bhullar, J. S. (2017). A review of Von Hippel-Lindau syndrome. *Journal of kidney cancer and VHL*, 4(3), 20.

Velloso, F. J., Bianco, A. F., Farias, J. O., Torres, N. E., Ferruzo, P. Y., Anschau, V., ... & Correa, R. G. (2017). The crossroads of breast cancer progression: insights into the modulation of major signaling pathways. *OncoTargets and therapy*, 10, 5491.

Veronesi, U., Goldhirsch, A., Boyle, P., Orecchia, R., & Viale, G. (2005). Breast cancer.[Accessed September 9, 2017]. *Discov Med*, 5(27), 271-277.

Walsh, T., Casadei, S., Coats, K. H., Swisher, E., Stray, S. M., Higgins, J., ... & King, M. C. (2006). Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer. *Jama*, 295(12), 1379-1388.

Walsh, T., Casadei, S., Lee, M. K., Pennil, C. C., Nord, A. S., Thornton, A. M., ... & Swisher, E. M. (2011). Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(44), 18032-18037.

Wang, K., Zhang, Q., Li, D., Ching, K., Zhang, C., Zheng, X., ... & Olson, P. (2015). PEST domain mutations in Notch receptors comprise an oncogenic driver segment in triple-negative breast cancer sensitive to a γ -secretase inhibitor. *Clinical cancer research*, 21(6), 1487-1496.

Wang, S., & Ding, Z. (2017). Fibroblast growth factor receptors in breast cancer. *Tumor Biology*, 39(5), 1010428317698370.

Weber, F., Fukino, K., Sawada, T., Williams, N., Sweet, K., Brena, R. M., ... & Eng, C. (2005). Variability in organ-specific EGFR mutational spectra in tumour epithelium and stroma may be the biological basis for differential responses to tyrosine kinase inhibitors. *British journal of cancer*, 92(10), 1922-1926.

Weber, G. F. (2008). Molecular mechanisms of metastasis. *Cancer letters*, 270(2), 181-190.

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.

WHO. International Agency for Research on Cancer. (2020). Erişim adresi: <https://gco.iarc.fr/today/home>. Erişim 1 Haziran, 2021.

Woodage, T., King, S. M., Wacholder, S., Hartge, P., Struewing, J. P., McAdams, M., ... & Brody, L. C. (1998). The APC I1307K allele and cancer risk in a community-based study of Ashkenazi Jews. *Nature genetics*, 20(1), 62-65.

Xia, P., Li, B., Geng, T., Deng, Z., Dang, C., Chang, D., ... & Chen, C. (2015). FGFR2 gene polymorphisms are associated with breast cancer risk in the Han Chinese population. *American journal of cancer research*, 5(5), 1854.

Xu, W., & Kimelman, D. (2007). Mechanistic insights from structural studies of β -catenin and its binding partners. *Journal of cell science*, 120(19), 3337-3344.

Yahyazadeh Mashhadi, S. M., Kazemimanesh, M., Arashkia, A., Azadmanesh, K., Meshkat, Z., Golichenari, B., & Sahebkar, A. (2019). Shedding light on the EpCAM: an overview. *Journal of cellular physiology*, 234(8), 12569-12580.

Yamashita, K., Mimori, K., Inoue, H., Mori, M., & Sidransky, D. (2003). A tumor-suppressive role for trypsin in human cancer progression. *Cancer research*, 63(20), 6575-6578.

Yang, X. R., Chang-Claude, J., Goode, E. L., Couch, F. J., Nevanlinna, H., Milne, R. L., ... & Radice, P. (2011). Associations of breast cancer risk factors with tumor subtypes: a pooled analysis from the Breast Cancer Association Consortium studies. *Journal of the National Cancer Institute*, 103(3), 250-263.

Yang, X. R., Devi, B. C., Sung, H., Guida, J., Mucaki, E. J., Xiao, Y., ... & Dean, M. (2017). Prevalence and spectrum of germline rare variants in BRCA1/2 and PALB2 among breast cancer cases in Sarawak, Malaysia. *Breast cancer research and treatment*, 165(3), 687-697.

Yang, X., Wu, J., Lu, J., Liu, G., Di, G., Chen, C., ... & Hu, Z. (2015). Identification of a comprehensive spectrum of genetic factors for hereditary breast cancer in a Chinese population by next-generation sequencing. *PLoS One*, 10(4), e0125571.

Yap, Y. S., Munusamy, P., Lim, C., Chan, C. H., Prawira, A., Loke, S. Y., ... & Lee, A. S. (2018). Breast cancer in women with neurofibromatosis type 1 (NF1): a comprehensive case series with molecular insights into its aggressive phenotype. *Breast cancer research and treatment*, 171(3), 719-735.

Yates, L. R., & Desmedt, C. (2017). Translational genomics: practical applications of the genomic revolution in breast cancer.

Yates, L. R., Gerstung, M., Knappskog, S., Desmedt, C., Gundem, G., Van Loo, P., ... & Campbell, P. J. (2015). Subclonal diversification of primary breast cancer revealed by multiregion sequencing. *Nature medicine*, 21(7), 751.

Yuvaraj, S., Al-Lahham, S. A. H., Somasundaram, R., Figaroa, P. A., Peppelenbosch, M. P., & Bos, N. A. (2012). E. coli-produced BMP-2 as a chemopreventive strategy for colon cancer: a proof-of-concept study. *Gastroenterology research and practice*, 2012.

Zauber, P., Marotta, S. P., & Sabbath-Solitare, M. (2016). GNAS gene mutation may be present only transiently during colorectal tumorigenesis. *International journal of molecular epidemiology and genetics*, 7(1), 24.

Zelli, V., Compagnoni, C., Cannita, K., Capelli, R., Capalbo, C., Di Vito Nolfi, M., ... & Tessitore, A. (2020). Applications of next generation sequencing to the analysis of familial breast/ovarian cancer. *High-throughput*, 9(1), 1.

Zeng, C., Guo, X., Wen, W., Shi, J., Long, J., Cai, Q., ... & Zheng, W. (2020). Evaluation of pathogenetic mutations in breast cancer predisposition genes in population-based studies conducted among Chinese women. *Breast cancer research and treatment*, 181(2), 465-473.

Zhang, E., Huang, X., & He, J. (2021). Integrated bioinformatic analysis of HNF1A in human cancers. *Journal of International Medical Research*, 49(3), 0300060521997326.

Zhang, Y., Park, J., Han, S. J., Yang, S. Y., Yoon, H. J., Park, I., ... & Lee, S. R. (2020). Redox regulation of tumor suppressor PTEN in cell signaling. *Redox biology*, 101553.

Zhao, R., Choi, B. Y., Lee, M. H., Bode, A. M., & Dong, Z. (2016). Implications of genetic and epigenetic alterations of CDKN2A (p16INK4a) in cancer. *EBioMedicine*, 8, 30-39.

Zuo, W., He, Y., Li, W., Wu, H., Zhao, Z., Zhang, Y., ... & Yin, Y. (2020). Landscape of FGF/FGFR Alterations in 12,372 Chinese Cancer Patients. *Journal of Cancer*, 11(22), 6695.



8. ÖZGEÇMİŞ

<u>Kişisel Bilgiler</u>	
Adı Soyadı	Cansu UĞURTAŞ
Doğum Yeri ve Tarihi	
İletişim Adresi	
Telefon	
E- posta	
Eğitim	Lise - Burhaniye Anadolu Lisesi (2011 – 2015). Lisans - Uşak Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik - 3,39 (2015 – 2019). Yüksek Lisans - Kocaeli Üniversitesi, Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji - 3,73 (2019 – 2021).
Mesleki Deneyim/ İş Yeri	Sitogenetik (Staj) – Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıbbi Genetik A.D., 2018. <ul style="list-style-type: none">• Karyotip Analizi Moleküler Genetik – Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Genetik A.D., 2019- <ul style="list-style-type: none">• Kandan DNA İzolasyonu• Real Time PCR Yöntemiyle Tromboz genleri, HLA B27 ve JAK2 mutasyon analizleri• NGS Veri Analizi
Yabancı Dil	İngilizce
<u>Bilimsel Etkinlikler</u>	
Bildiriler	<ul style="list-style-type: none">• Uğurtaş, C., Kuru, S. Şen, E. A., Aydın, D., Gökbayrak, M., Demir, G., Sertdemir N., Savlı, H., Çine, N., “BRCA 1/2 Negatif Meme Kanserinde Diğer Yatkınlık Genlerinin İncelenmesinde Yeni Nesil Dizi Analizinin Rolü”, 3. Ulusal Meme Cerrahisi Kongresi, Çevrimiçi, 2021 (Poster).• Kuru, S., Uğurtaş, C., Şen, E. A., Aydın, D., Gökbayrak, M., Demir, G., Sertdemir N., Savlı, H., Çine, N., “DNA Onarımında Rol Alan Gen Mutasyonlarının Yeni Nesil Dizileme Yöntemiyle Saptanması Meme ve Over Kanseri ile İlişkilendirilmesi”, 3. Ulusal Meme Cerrahisi Kongresi, Çevrimiçi, 2021 (Poster).
Ödüller	3. Ulusal Meme Cerrahisi Kongresi, Poster Bildiri İkincilik Ödülü, 2021.

9. EKLER

EK- 1. Etik Kurul Onayı



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Dekanlığı



Sayı : 80418770-730.99/85524
Konu : Etik Kurul Başvurusu

11/12/2020

Sayın Doç.Dr. Naci ÇİNE

GOKAEK-2020/21.14 GOKAEK 26 Kasım 2020 tarihli toplantısında görüşülen, Doç. Dr. Naci ÇİNE sorumluluğunda yürütülmesi planlanan **2020/339** proje numaralı "Meme kanseri tanısı almış hastalarda hücre sinyal iletiminde görev alan genlerdeki varyasyon sıklıklarının belirlenmesi ve tümör gelişimine etkisinin araştırılması" başlıklı proje değerlendirilmiş; araştırmanın amacı ve yöntemi (prospektif mi retrospektif mi olduğu, mevcut kanların yeniden mi kullanılacağı, hastalardan yeniden kan mı alınacağı, herediter kanser raporlarının neden eklendiği, hastanın doğrudan yarar elde edip etmeyeceği, istatistiksel analizlerin nasıl yapılacağı) anlaşılamamıştır. Araştırma yönteminin rutin uygulamalar/araştırma amaçlı uygulamalar ayrımı açıkça yapılarak, bu çerçevede onam ve bütçe hazırlanarak yazılmasının ardından yeniden değerlendirilmesine karar verilmiştir. Sorumlu araştırmacı tarafından 08.12.2020 tarih ve 27990976-730.99/84545 sayılı dilekçe ile gönderilen düzeltme metnine göre projenin başlığı "Herediter meme kanseri olgularında hücre sinyal iletiminde görev alan genlerdeki varyasyon sıklıklarının belirlenmesi ve tümör gelişimine etkisinin araştırılması" şeklinde değiştirilmiş ve çalışmanın depolanmış materyal ile yapılacağı anlaşılmış, koleksiyon materyalinin kullanılmasının uygun olduğuna dair ilgili merkez müdürünün onayının sunulması koşuluyla yürütülmesi uygun bulunmuştur.

KARAR: KABUL, İLGİLİ MERKEZ MÜDÜRÜNÜN UYGUNLUK ONAYININ SUNULMASININ ARDINDAN PROJENİN YÜRÜTÜLMESİ UYGUNDUR.

Projenizin etik kurul başvurusunda revize haliyle yürütülmesi uygun bulunmuştur. Araştırmaya başlamak için Etik Kurul Onay Formu'nu almanız, Araştırmaya Etik Kurul onay tarihinden sonra en geç 90 gün içinde başlamanız, (i) Başlayamadığımızda veya protokolde bildirdiğiniz hususlarda herhangi bir değişiklik yaptığımızda Değişiklik Bilgi Formu ile, (ii) Araştırmanızı onay aldığımız şekilde tamamladığımızda Sonuç Raporu ile Etik Kurul'a başvurunuzun gerekmektedir.

Doç.Dr. Nurettin Özgür DOĞAN
Kurul Başkanı

EK- 2. Tez Denetleme Listesi

Tez, aşağıdaki denetimler yapılarak tamamlanmıştır.

- Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen şekilde (yazının yönüne dikkat!) ad, program, yıl yazıldı.
- Onay sayfası uygun şekilde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürü'nün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı.
- Ön sayfalara i, ii, iii şeklinde Romen rakamları konuldu.
- Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde yazıldı.
- Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde yazıldı.
- Ana metin satır aralığı 1,5 olacak şekilde yazıldı.
- Kaynaklar alfabetik sıralamaya göre yazıldı.
- Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu.
- Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.
- Lisansüstü eğitim sırasında yapmış olduğu yayınlar ve bildiriler eklendi.
- Teze ait intihal raporu eklendi.

..... / / 20....

Cansu UĞURTAŞ

İmza

..... / / 20....

Doç. Dr. Naci ÇİNE

İmza