

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI  
TIBBİ GENETİK DOKTORA PROGRAMI**

**EŞ ZAMANLI PRİMER ENDOMETRİUM VE OVER KANSERİ  
OLGULARINDA KLİNİK, HİSTOPATOLOJİK VE MOLEKÜLER  
PROFİLLERİNİN PROGNOZ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**HAZIRLAYAN**

**FERAH KAZANCI**

**DOKTORA TEZİ**

**ANKARA - 2024**

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI  
TIBBİ GENETİK DOKTORA PROGRAMI

EŞ ZAMANLI PRİMER ENDOMETRİUM VE OVER KANSERİ  
OLGULARINDA KLİNİK, HİSTOPATOLOJİK VE MOLEKÜLER  
PROFİLLERİNİN PROGNOZ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ

HAZIRLAYAN

FERAH KAZANCI

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. ZERRİN ÇELİK YILMAZ

ANKARA - 2024

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Ferah Kazancı tarafından hazırlanan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

**Tez Adı:** Eş Zamanlı Primer Endometrium ve Over Kanseri Olgularında Klinik, Histopatolojik ve Moleküler Profillerinin Prognoz Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi.

**Tez Jüri Üyeleri ( Unvanı, Adı - Soyadı, Kurumu )**

**İmza**

Dr. Mustafa Onan, Başkent Üniversitesi  
Dr. Nedatullah Başoğlu, Başkent Üniversitesi  
Dr. Feriye Kim, Hacettepe Üniversitesi  
Dr. Mustafa Onan, Başkent Üniversitesi

**ONAY**

Enstitü Müdürü

Tarih: ... / ... / .....

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU**

Tarih:

Öğrencinin Adı, Soyadı:Ferah Kazancı

Öğrencinin Numarası:

Anabilim Dalı:Tıbbi Genetik

Programı:Doktora

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı:Prof. Dr. Zerrin Çelik Yılmaz

Tez Başlığı:Eş Zamanlı Primer Endometrium ve Over kanseri Olgularında Klinik,  
Histopatolojik ve Moleküler Profillerinin Prognoz Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi.

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans/Doktora tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 64. sayfalık kısmına ilişkin, 20 / 12 / 2023 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 15'dir. Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç

2. Alıntılar hariç

3. Beş (5) kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

"Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını" inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası:.....

**ONAY**

Tarih: 20 / 12 / 2023.

Öğrenci Danışmanı Unvan, Ad, Soyad, İmza:

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sürecinde kıymetli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım gerek laboratuvar uygulamalarında gerekse tez yazımı boyunca desteklerini esirgemeyen doktora tez danışmanım çok değerli sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim boyunca vizyoner kişilikleri ile derslerde ve ders dışında, her konuda desteklerini bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen teşekkürlerimi sunarım. Doktora tezimde tez vakalarımın temininde benden yardımlarını esirgemeyen saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tezim sürecinde özel hayatımda ciddi sınavlara tabi tutuldum, çok sıkıntılı günler yaşadım. Benim bu zor günlerimde her zaman yanımda olan, bir aile sıcaklığı gösteren Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda çalışan tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim. Bu doktora tezi Başkent Üniversitesi tarafından KA21/502 proje koduyla desteklenmiştir

## ÖZET

**Eş zamanlı primer endometrium ve over kanseri olgularında klinik, histopatolojik ve moleküler profillerinin prognoz üzerine etkilerinin değerlendirilmesi. Başkent Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Genetik Doktora Programı, Doktora Tezi, 2024.**

Kadın genital sisteminin en sık görülen eş zamanlı tümörleri, over(OC) ve endometrium'un(EC) senkron kanser (SEOC)'leridir. SEOC'lerde doğru tanı histopatolojik ve moleküler incelemelerin birlikte konulur. Böylece, optimal adjuvan tedavi ve hasta prognozunu belirlemek mümkün olacaktır. Amacımız, hitopatolojik olarak SEOC'lu hastalarda homolog rekombinasyon eksikliği (HRD) gen paneli kapsamında *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *PPP2R2A*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L* ve *TP53* genlerini, yeni nesil dizileme yöntemi(YND) ile analiz ederek, tümörlerdeki genetik değişiklikleri ve prognoz üzerine etkilerini değerlendirmektir.

Temmuz 2005 ile Ağustos 2021 arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Jinekolojik Onkoloji Bilim Dalı'nda EC ve OC nedeni ile opere edilen 1673 hastadan histopatolojik olarak SEOC tanılı 5 yıl ve üzerinde yaşam süresi(OS) olan 7 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların formalinle sabitlenmiş parafine gömülü doku(FFPE) bloklarından DNA, Promega ReliaPrep FFPE gDNA Miniprep System kiti kullanılarak izole edildi. YND olan Illumina boyama temelli sekanslama yöntemi ile dizi analizi yapıldı. Örnekler Sophia homologous recombination solution DNA Kiti kullanılarak dizilendi. Data analizi Sophia DDM platformu ve in siliko araçlar (Franklin, ClinVar), ile yapıp varyantlar ACMG kriterlerine göre sınıflandırıldı.

EC ve OC en sık; *ATM* geninde [21 tane(%48.8), 24 tane(%60)] muhtemelen patojen(LP) ve patojen(P) mutasyon saptandı. EC'de OC'den farklı olarak, *PALB2* geninde 2 tane(%4.6), *CHEK2* geninde 2 tane(%4.6) ve OC'de EC'den farklı olarak *RAD51D* geninde 1 tane(%2.5), *RAD54L* geninde 2 tane (%5) LP ve P mutasyon saptandı. Histopatolojik özelliklerin yanısıra DNA dizi analizi sonuçları da bir hasta haricinde hem endometrium hem de over dokusunda farklı özellikleri gösterip SEOC'ler tanısını doğruladı.

SEOC tanılı hastalar, metastatik OC veya EC (MC) kanserlerinden farklı olarak daha iyi bir prognoza sahiptirler. SEOC ve MC'yi ayırt etmede sadece patolojinin kullanılması

hastaların yanlış evrenmesi ve yönetilmesine neden olmaktadır. SEOC'de doğru tanı ve yönetim için genetik incelemeler yapılmalıdır. MC ve SEOC'lerden ayırmak için klonalite analizleri yapılmış fakat SEOC'lerdeki genetik değişikliklerin prognozu öngörücü olup olmadığına dair sınırlı çalışmalar bulunmaktadır. *TP53*, *POLE* ve *CTNNB1* mutasyonlarının sıklığını fazla olduğu ve DNA mismatch repair (yanlış eşleşme onarımı) (MMR) eksikliğinin sağ kalımla anlamlı ilişkisi olmadığı saptanmıştır. Endometrioid tip SEOC'lerinde mikro satellit instabilite, *PTEN*, *ARID1A*, *PIK3CA*, *FGFR2*, *TP53* kaybı ve nükleer beta-katenin ekspresyonu saptanmıştır. Çalışmamızda aynı histopatolojik özelliği olan sadece bir olguda hem EC hem de OC'de *ATM* ve *TP53* genlerinde aynı mutasyon izlendi ve HRD'deki gen panelindeki moleküler değerlendirme SEOC tanısını (tek hasta dışında) destekledi.

SEOC tümör tanısı için ayrıntılı histopatolojik özellikleri ile birlikte genetik incelemelerin yapılması önerilmektedir. Bizim çalışmamızda HRD gen paneli kapsamında saptanan mutasyonların prognozu olumsuz etkilemediği saptanmıştır. Ancak hasta sayısının azlığı gözönüne alındığında bu verilerin daha geniş hasta serileri ile desteklenmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Senkron endometrium ve over kanseri, Prognoz, Homolog rekombinasyon eksikliği, Yeni nesil dizileme

Bu doktora tezi Başkent Üniversitesi tarafından KA21/502 proje koduyla desteklenmiştir.

## ABSTRACT

**Effects of molecular and histological characteristics on prognosis in synchronous endometrial and ovarian cancer cases. Baskent University, Institute of Health Sciences, Ph.D. on Medical Genetics, Ph.D. Thesis, 2024.**

The most common simultaneous tumors of genital tract are synchronous cancers (SEOC) of the ovary (OC) and endometrium (EC). In SEOCs, the correct diagnosis is made both by histopathological and molecular examinations. Our aim in this study was to investigate the patients with histopathological diagnosis of SEOC, with the homologous recombination deficiency (HRD) gene panel analyzing, detecting genetic changes in tumors and evaluating their effects on the prognosis of the disease.

Among 1673 patients who were operated for EC and OC in Gazi University between July 2005 and August 2021, 7 patients with a histopathological diagnosis of SEOC with a life expectancy of 5 years or more were included in the project. DNA from patients' formalin-fixed paraffin-embedded tissue (FFPE) blocks was isolated using the Promega ReliaPrep FFPE gDNA Miniprep System kit. Sequence analysis was performed with Illumina staining-based sequencing method. Samples were sequenced using the Sophia homologous recombination solution DNA Kit. Panel genes consist of *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L*, *PALB2*, *PPP2R2A*, *TP53*. Data analysis was performed with Sophia DDM platform and in silico vehicles (Franklin, ClinVar), and variants were classified according to ACMG criteria.

EC and OC most commonly had the Likely pathogen (LP) and pathogen (P) mutations, detected in the *ATM* gene (48.8%, 60%). Different from OC in EC, in *PALB2* and *CHEK2*, and in OC, unlike EC, in the *BIRP1*, *RAD51D*, and *RAD54L* gene LP and P mutations were detected. In addition to histopathological features, DNA sequence analysis results confirmed the diagnosis of SEOC, except for one patient.

The use of pathology alone to distinguish between SEOC and MC may reveal potential risks such as mistaging and mismanagement of patients. Genetic studies are required for accurate diagnosis in SEOC. Clonality analyzes have been performed to differentiate between MCs and SEOCs, and there are limited studies on whether genetic changes in SEOCs are predictive of biological behavior. It was found that the frequency of *TP53*, *POLE* and *CTNNB1* mutations was high and the lack of DNA mismatch repair (MMR) was not significantly associated with survival. In our study, molecular evaluation in the

gene panel in HRD supported the diagnosis of SEOC (except for one patient), and the prognosis of these patients was good.

For the diagnosis of SEOC tumor, detailed histopathological and genetic examinations are required. Mutations that did not adversely affect the prognosis were detected in the HRD gene panel in SEOC patients. However, these data should be supported by larger patient series.

**Key words:** Synchronous endometrial and ovarian cancer, Prognosis, Homologous recombination deficiency, Next generation sequencing.

Başkent University granted funding for this PhD thesis under project code KA21/502.



## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET .....	ii
ABSTRACT .....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ .....	viii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Endometrium Kanseri Ve Moleküler Özellikleri .....	2
2.1.1. Endometrium kanser .....	2
2.1.2. Endometrium kanserinde moleküler genetik değişiklikler .....	3
2.1.3. Endometrium kanserinde moleküler genetik özelliklerin adjuvan tedaviyi belirlemede kullanımı .....	4
2.1.4. Endometrium kanserinde moleküler genetik özelliklere göre hedefe yönelik tedaviler .....	4
2.2. Over Kanseri ve Moleküler Genetik Özellikleri .....	5
2.2.1. Over kanseri.....	5
2.2.2. Over kanserindeki moleküler genetik değişiklikler .....	6
2.2.3. Over kanserinde moleküler genetik özelliklere göre hedefe yönelik tedaviler.....	7
2.3. Senkron Tümörler Tanımı.....	7
2.3.1. Senkron endometrium ve over kanseri .....	8
2.3.2. Senkron endometrium ve over kanseri moleküler genetik değişiklikler .....	9
2.4. DNA onarım mekanizmaları.....	10
2.4.1. Homolog rekombinasyon mekanizması .....	11
2.5. Homolog rekombinasyon panelindeki genler.....	13
2.5.1. <i>ATM</i> (Ataksi-Telanjiectazi) Geni ( # 208900) .....	13
2.5.2. <i>BARD1</i> ( <i>BRCA1</i> ile ilişkili Ring domain 1) Geni ( #601593) .....	14
2.5.3. <i>BRCA1</i> (Breast Cancer Gene1) Geni (#113705) .....	14
2.5.4. <i>BRCA2</i> ( <i>BRCA2</i> DNA Repair-Associated Protein) Geni (# 600185).....	15
2.5.5. <i>BRIPI</i> ( <i>BRCA1</i> interaction protein C-terminal helikaz 1) Geni (# 605882) 15	
2.5.6. <i>CDK12</i> (Cyclin-Dependent Kinase 12) Geni (#615514).....	16
2.5.7. <i>CHEK1</i> (Checkpoint Kinase 1) Geni (#603078).....	16
2.5.8. <i>CHEK2</i> (Checkpoint Kinase 2) Geni ( #604373).....	17
2.5.9. <i>FANCL</i> (Fanconi Anemia, Complementation Group L) Geni (#608111)	17

2.5.10. <i>PALB2</i> ( <i>BRCA2</i> interacting protein, Partner and localized <i>BRCA2</i> ) Geni (#610355) .....	18
2.5.11. <i>PPP2R2A</i> (Protein Phosphatase2, Regulatory Subunit B, Alpha)Geni (#604941) .....	18
2.5.12. <i>RAD51</i> (RAD 51 Recombinaz )Gen Ailesi (#179617) .....	19
2.5.12.1. <i>RAD51B</i> (RAD51 Paralog B)(RAD51L1) Geni ( # 602948) .....	19
2.5.12.2. <i>RAD51C</i> (RAD51 Paralog C) Geni ( #602774).....	19
2.5.12.3. <i>RAD51D</i> ( RAD51 Paralog D) Geni ( #602954).....	20
2.5.12.4. <i>RAD54L</i> (RAD 54-LIKE) Geni ( #602954).....	20
2.5.13. <i>TP53</i> (Tumor Protein p53 ) Geni (#191170).....	20
2.6. Yeni Nesil Dizileme Yöntemi.....	21
2.6.1. Illumina sekanslama yöntemi.....	22
2.6.2. Illumina sekanslama yönteminin çalışma prensibi.....	22
2.6.2.1. Köprü yapılı çoğaltma .....	22
2.6.2.2. Genomik kütüphanenin hazırlanması.....	23
2.6.2.3. Adaptörlerin fonksiyonları.....	24
2.6.2.4. Köprü PCR (Bridge Amplification) yöntemi.....	24
2.6.2.5. Küme çoğaltma basamağı.....	25
2.6.2.6. Veri analizi .....	26
2.6.3. Illumina Sekanslamının Avantajları ve Dezavantajları.....	26
2.7. Varyant alel frekansı (VAF) .....	27
2.8. <i>Variant of uncertain significance</i> (VUS)(Önemi belirsiz genetik değişimler). 28	
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	30
3.1. Etik Kurul Onayı .....	30
3.2. Araştırma Değişkenleri .....	30
3.3. Sekanslama analizi.....	31
3.4. İstatistiksel Analiz.....	32
4. BULGULAR .....	33
5. TARTIŞMA .....	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
KAYNAKLAR.....	59

## TABLolar LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1: Klinikopatolojik özellikleri ve davranışları ile over kanseri tipleri .....	7
Tablo 2:Bağımsız primer tümörler(SEOC) için Scully kriterleri .....	8
Tablo 3:Eşzamanlı endometriyal ve over karsinomlarını bağımsız primer tümörler veya endometriyumdan overe metastaz olarak belirlemek için kullanılan özellikler, evreleme önerisi (DSÖ 2014).....	9
Tablo 4 :Hastaların demografik ve klinik bulguları .....	33
Tablo 5: Hastaların histopatolojik bulguları.....	34
Tablo 6:AE hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı .....	36
Tablo 7: AE hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyant ( <i>Variant of Uncertain Significance, VUS</i> ) ların dağılımı .....	36
Tablo 8:GK hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen(LP) ve patojen variantların(P) dağılımı .....	37
Tablo 9: GK hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyant ( <i>Variant of Uncertain Significance, VUS</i> ) ların dağılımı .....	38
Tablo 10: AN hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı .....	40
Tablo 11: AN hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyant ( <i>Variant of Uncertain Significance, VUS</i> ) ların dağılımı .....	40
Tablo 12: SG hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı .....	41
Tablo 13: SG hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyant ( <i>Variant of Uncertain Significance, VUS</i> ) ların dağılımı .....	42
Tablo 14:SÇ hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı .....	43
Tablo 15: SÇ hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyant ( <i>Variant of Uncertain Significance, VUS</i> ) ların dağılımı .....	44
Tablo 16: MA hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı .....	46
Tablo 17: MA hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyant ( <i>Variant of Uncertain Significance, VUS</i> ) ların dağılımı.....	47
Tablo 18: DU hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı .....	48
Tablo 19: DU hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyant ( <i>Variant of Uncertain Significance, VUS</i> ) ların dağılımı .....	48
Tablo 20: Overde ve endometriumda endometriod tip tümör histolojisi olan hastaların klinik bulguları ile birlikte DNA dizi analizi sonuçları .....	50
Tablo 21: Overde ve endometriumda nonendometriod tip tümör histolojisi olan hastaların klinik bulguları ile birlikte DNA dizi analizi sonuçları .....	50

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1: Herediter over kanserindeki genetik değişikliklerin dağılımı .....	6
Şekil 2:DNA hasarı tip, onarım yolları ve her yola dahil olan onarım enzimleri.....	11
Şekil 3: Homolog rekombinasyon (HR) sisteminde yer alan proteinler. ....	13
Şekil 4:Genomik DNA kütüphanesi hazırlama, gDNA'yı fragmentlere ayırmayı ve bu fragmentlere adaptörlerin eklenmesi sürecini içerir. ....	23
Şekil 5:Tüm fragmentlere adaptörler takıldıktan sonra katı bir faza entegre edilirler. Bu adaptörler fragmentlerin bu yüzeyde tutulmasını sağlar. Tüm fragmentler bu yüzey üzerinde PCR ile çoğaltılır. ....	24
Şekil 6:Köprü PCR basamağında, halihazırda bağlı bulunan fragmentler yine faza bağlı halde sentezlenir ve yeni sentezlenen zincirlerin kaybedilmesi, faza bağlı olduktan için önlenmiş olur. ....	25
Şekil 7:Fragment kümelerin çoğatılması, birçok okuma çerçevesi elde edilmesini sağlar ki bu da sekanslama sonrasında okuma yapıldığında, karşılaştırma yapılarak yapılan hata sayısının minimuma inmesini sağlar .....	25
Şekil 8:Her sekans döngüsünde, 3' ucunda bulunan florofor nedeniyle yalnızca bir baz okunabilmektedir. Aynı anda yüzlerce farklı fragmentte aynı işlemin yapılması, bu metodu hızlı kılan etmenlerden birisidir. Her döngüde yalnızca bir baz okunuyor olması, 'n' tane döngüde 'n' tane baz okunabilir anlamına gelmektedir. ....	26

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ACMG:	American College of Medical Genetics (Amerikan Tıbbi Genetik Koleji)
AACR GENIE:	American Association for Cancer Research Project Genomics Evidence Neoplasia Information Exchange ( Amerikan Kanser Araştırmaları Derneği Projesi Genomik Kanıt Neoplazi Bilgi Alışverişi)
CNL:	Copy Number Low( Kopya sayısı düşük)
CNH:	Copy Number High ( Kopya sayısı yüksek)
CTNNB1:	Beta catenin1
DNA :	Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
EC:	Endometrium kanseri
EEC:	Endometroid tip Endometrium Kanseri
ESGO:	European Society of Gynaecological Oncology (Avrupa Jinekolojik Onkoloji Derneği)
EOC:	Endometroid tip Over Kanseri
ESMO:	European Society for Medical Oncology (Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği)
ESTRO:	European Society for Radiotherapy & Oncology (Avrupa Radyoterapi ve Onkoloji Derneği)
IHC:	İmmünohistokimyasal
IT:	İmmünoterapi
HR:	Homolog rekombinasyon
HRD:	Homologous Recombination Deficiency (Homolog Rekombinasyon Eksikliği)
GWAS:	Genome Wide Association Study (Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları)
L1-CAM :	L1-Cell Adhesion Molecule ( L1-hücre adezyon molekül)
LFS:	Li ve Fraumeni Sendromu
MC:	Metastatik kanser
MMR:	Missmach repair
MSI :	Mikrosatellit stabil olmayan
MSS:	Mikrosatellit stabil
MRN kompleksi:	Mre11, Rad50 ve Nbs1 proteinlerinden oluşan kompleks
NHEJ:	Homolog olmayan uç birleştirme
OC:	Over kanseri
PARP:	Poli (ADP-riboz) polimeraz
POLE:	DNA polimeraz epsilon
PORTEC:	Post operative radiation therapy endometrial cancer
PORTEC-4a:	İnternational randomized trial of molecular profile-based adjuvant treatment for women with high-intermediate risk endometrial cancer
ProMisE:	Proactive Molecular Risk Classifier for Endometrial Cancer
PZR:	Polimeraz zincirleme tepkimesi
RPA:	Replikasyon proteini A
SEOC:	Senkron endometrium ve over kanseri
SNP :	Single nükleotid polimorfizm (tek nükleotitlik değişimleri)
TCGA:	The Cancer Genome Atlas (Kanser Genom Atlas Projesi)
YND:	Yeni nesil dizisi.....

# 1. GİRİŞ

Jinekolojik kanserlerde histopatolojik sınıflamanın yanı sıra, moleküler profillerin belirlenmesi, hem prognostik bilgi hem de tedavi yönetiminde konvansiyonel tedaviler dışında yeni arayışlarımıza yanıt bulma adına önemli bulgular sağlamaktadır. Over kanserinde moleküler yöntemlerle tespit edilen DNA(Deoksiribo Nükleik Asit) tamir mekanizmasındaki gen defektlerinin yüksek oranda varlığının tesbiti, hem rekküren hastalıkta hem de idame tedavide PARP(Poli ADP riboz polimeraz) inhibitörlerini kullanma imkanı sağladı, bu da hastalarda sağkalımda artışla seyreden önemli bir başarıyı yanında getirdi (1). Endometrium kanserine de, insan genom projesi ile yeni bir sınıflandırma yapıldı ve daha doğru prognostik ve prediktif belirteçler tespit edildi. Böylece, endometrium kanserinde de başta immunoterapiler olmak üzere pek çok hedefe yönelik tedavinin yolu açıldı (2). Çoklu primer tümörler, hastada aynı ya da farklı zaman dilimlerinde, histopatolojik olarak tanı almış ve birbirinden farklı özellikteki malignitelerdir. Primer tümör tanısından itibaren 6 ay içinde görülen maligniteler senkron tümörler olarak tanımlanmaktadır (3). Jinekolojik maligniteler arasında en sık görülen eş zamanlı tümörleri over ve endometriumun primer kanser (SEOC)'leridir. SEOC tanısı olan kadınlar, over veya endometriumun metastatik kanserlerinden(MC) farklı olarak daha iyi bir prognoza sahiptirler. SEOC ve MC'yi ayırt etmede patolojinin kullanılması yanlış evrelemeye yol açabilir; bu nedenle, hastaların yanlış yönetilmesine ilişkin potansiyel riskler ortaya çıkabilir (4). Saptanan malignitenin primer SEOC tümör olduğunun söylenebilmesi için ayrıntılı histopatolojik özellikleri ile birlikte ve genetik incelemelerin yapılması önerilmektedir (4).

İkili primer kanseri metastatik hastalıktan ayırt etmek, optimal adjuvan tedaviyi seçmek ve hasta prognozunu tahmin etmek için esastır. Bizim bu çalışmamızda amacımız, SEOC hastalarında Homolog Rekombinasyon Eksikliği [Homologous Recombination Deficiency (HRD)] gen paneli kapsamında *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *PPP2R2A*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L* ve *TP53* genlerini, yeni nesil dizileme yöntemi ile analiz ederek, tümörlerin genetik değişikliklerini tespit etmek ve bu değişikliklerin hastalığın prognoz üzerine etkilerini incelemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Endometrium Kanseri Ve Moleküler Özellikleri

#### 2.1.1. Endometrium kanser

Endometrium kanseri(EC) yılda 66,200 yeni vaka ve 13,030 ölüm ile, tüm kanserler arasında 4. en sık (%7) izlenen kanserdir. Jinekolojik kanserler arasında en sık izlenen malignite olup, kansere bağlı ölümlerde 6. sırada yer almaktadır (5). İnsan ömrünün uzaması, obezite, metabolik sendrom gibi nedenlerden dolayı EC sıklığında 2025 yılında %20.3 ve dolasıyla EC bağlı ölüm oranlarında %17.4 artış beklenmektedir (6). EC hastalığın yönetimi cerrahi evreleme ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi ile oluşan risk gruplarına göre olmaktadır. EC geleneksel olarak klinik patolojik ve moleküler özelliklerine göre tip 1 ve tip 2 olarak sınıflandırılmaktadır (7). Tip 1, en sık görülen grup olup, endometrioid histolojik özellikte, östrojen fazlalığı, obezite ve hormon reseptör pozitifliği ile ilişkili olup, iyi prognostik özellik gösterirken, tip 2 ise nonendometrioid histolojik özellikte (seröz %10, clear cell %3), daha yaşlı, obez olmayan hastalarda olup, kötü prognoz göstermektedir (7). Bu sınıflandırma günlük pratiğimizde prognostik değeri sınırlı olsa da, preoperatif değerlendirme ve cerrahi planlamada kullanılmaktadır (8). Bu sınıflandırmada iyi prognozlu endometrioid grupta %20 nüks izlenirken, nonendometrioid gruptaki vakaların ise %50'sinde nüks izlenmemektedir (9). EC'yi ESGO (Avrupa Jinekolojik Onkoloji Derneği), ESMO (Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği) ve ESTRO (Avrupa Radyoterapi ve Onkoloji Derneği) tarafından yapılan konsensustalarda, hastanın yaş, evre, tümörün grade'i histopatolojik tipi, myometrial invazyon derecesi, lenfovasküler alan invazyonu özellikleri değerlendirilerek düşük, orta ve yüksek risk gruplarına sınıflandırıldı (10). Bu sınıflandırmaya göre düşük risk grubunda %9 oranında yüksek nüks oranları izlenirken, yüksek riskli grupta ise %60 gibi oranlarda rekkürensiz izlenmediği saptandı (11).

### 2.1.2. Endometrium kanserinde moleküler genetik değişiklikler

Günlük pratiğimizde de biz de kliniğimizde düşük risk grubunda olan hastaların erken dönemde nüks ettiklerini, yüksek risk grubunda olup ek adjuvan tedavi alan bazı hastalarda beklenilenden daha iyi prognoz gösterdiklerini saptamaktayız. Hastaların bir kısmı yetersiz tedavi alırken, bir kısmı ise gereğinden fazla tedaviler uygulanarak o tedavilerin komplikasyonlarına karşı maruz bırakılmaktadırlar. EC'nin heterojen yapısı nedeniyle histopatolojik değerlendirme yanısıra moleküler açıdan incelenme gerekliliğini doğurmuştur. Histopatolojik ve moleküler bulguların birlikte değerlendirilmesi hastalığı daha iyi tanımlamayı ve uygun tedavi yaklaşımlarını uygulamayı sağlayacaktır.

Kanser Genom Atlas Projesi (TCGA), 2013 yılında EC'leri için hem prognostik hem de tedavi seçenekleri için belirleyici olan 4 farklı moleküler alt grup belirlemiştir (12). TCGA sınıflandırmada; DNA polimeraz epsilon (*POLE*) ekzonükleaz domaininde mutasyon varlığı ya da ultramutasyona uğramış olan grup (%7), mikrosatellit stabil olmayan (MSI) ya da hipermutasyona uğramış grup(%28), somatik kopya alterasyon sayısı düşük olarak tanımlanan ve immunohistokimyasal (IHC) olarak p53 ile boyanmayan grup(p53 wilde type) (CNL= Copy Number Low)(%39), somatik kopya alterasyon sayısı yüksek olarak tanımlanan ve IHC olarak p53 ile boyanan ve mutasyon izlenen grup (CNH= Copy Number High)(%26) bulunmaktadır. *POLE* mutasyonu taşıyan grup en iyi prognoza sahip iken, p53 mutasyonu olan CNH olanlar ise kötü prognostik seyir göstermektedirler.

TCGA çalışmasının klinikte uygulanabilmesi için yapılan ProMisE ( Proactive Molecular Risk Classifier for Endometrial Cancer) çalışmasında Missmach repair (MMR) proteinlerine ve p53 proteinlerine IHC ile *POLE* exonuclease domain mutasyonuna ekzon dizileme ile bakılmıştır. *MMR*'de eksiklik *MMR-d*, *POLE* mutasyonu (+), *p53-wt* (wild tip) ve *p53-abn* (abnormal) olarak prognozları birbirinden farklı 4 alt tip kliniğe entegre edilmesinde umut vermiştir (13). ProMisE gruplarında dahil olduğu metaanalizde, histopatolojik tip, grade, myometrial invazyon, lenfovasküler invazyon ve ESGO-ESMO-ESTRO endometrium kanseri risk gruplarına göre özellikleri belirlenmiştir (14). Bu analiz sonrasında pek çok hastanın risk grupları ve histopatolojik özelliklerine tedavi edildiklerinde eksik ve fazla tedavi aldıkları izlenmiştir. En uygun tedaviyi moleküler ve histopatolojik özelliklerin beraber değerlendirilmesi ile mümkün olabileceği ileri sürülmüştür.

### **2.1.3. Endometrium kanserinde moleküler genetik özelliklerin adjuvan tedaviyi belirlemede kullanımı**

Endometrium kanserinde adjuvan tedavinin planlanmasında moleküler özelliklerin histopatolojik özelliklerle birlikte kullanımı, eksik ve fazla tedavilerin önüne geçmesini sağlamaktadır. *MMR-d* ve grade 3 endometrium kanser tanılı vakalarda adjuvan tedavi olarak radyoterapinin eklenmesinin rekkürensiz sağ kalımı artırdığı çok merkezli yapılan bir retrospektif çalışmada saptanmıştır (15). Çok merkezli prospektif faz 3 randomize PORTEC-4a çalışmasında; orta yüksek riskli EC olgularında adjuvan radyoterapinin etkinliğinin moleküler özellikleri ile birlikte karşılaştırılacaktır. Standart tedavi olarak brakiterapi, çalışma gruplarına da moleküler özelliklerine göre brakiterapi veya eksternal beam radyoterapi uygulanmaktadır. *POLE*-mutasyonu, *MSS* (Mikrosatellit stabil), *CTNNB1* (beta catenin1)-wild tipe olan grup gözlem; MSI ve *CTNNB1* mutasyonu olanlara brakiterapi; lenfovasküler invazyonu olanlar, *p53* mutasyonu veya %10'dan fazla *L1CAM* (L1-Cell Adhesion Molecule) boyanması olanlara eksternal beam radyoterapi uygulanarak, hastaların 5 yıllık süre sonunda vajinal rekkürens, rekkürensiz ve total sağkalım açısından değerlendirilecektir (16). Böylece, adjuvan tedavinin planlanmasında moleküler özellikleri kullanmanın faydasını değerlendirme imkanı olacaktır.

### **2.1.4. Endometrium kanserinde moleküler genetik özelliklere göre hedefe yönelik tedaviler**

**İmmünoterapi (IT)** tedavisi için prediktif bir marker olan MSI varlığının, tip I tümörlerde daha sık, tip II alt grupta ise daha az oranda izlenmektedir. DNA tamir bozukluğu olan tümörlerde, 100 ile 1000 kat oranında olan tümör mutasyon yükü sonucu artan neoantijenlerin tümör infiltre lenfositleri uyarması ile IT tedavilerine yanıtı artmaktadır (17). *POLE* mutasyonu olan grubundaki hastaların *MMR-d* birlikteliği ve tümör mutasyon yükünün fazla olmasından dolayı IT'yanıtları iyidir (18).

**BRCA mutasyon varlığı ve hedefe yönelik tedavi;** *BRCA1*, *BRCA2*, ve *BRIP1* başta olmak üzere homolog rekombinasyon onarım genleri ilişkili genlerde defekt (HRD) varlığı endometrial kanserlerde %5'inde izlenmektedir. HRD varlığı hem platin hem de PARP inhibitörüne *BRCA* mutasyonundan bağımsız olarak yanıt ile ilişkili bulunmuştur. TCGA verilerine göre HRD varlığı %25 oranında çoğunlukla seröz alt tip *TP53* mutasyonu olan grupta izlenmektedir, bu hastalar platine duyarlıdır ve PARP inhibitörlerine iyi yanıt gösterirler (19).

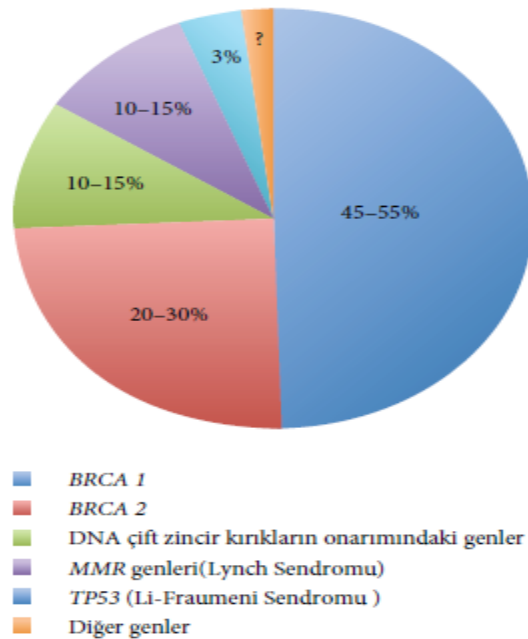
## 2.2. Over Kanseri ve Moleküler Genetik Özellikleri

### 2.2.1. Over kanseri

Over kanseri(OC), her yıl dünya çapında yaklaşık 313.959 yeni kanser vakası ve yaklaşık 207.252 ölüme neden olarak jinekolojik maligniteler arasında kanser ölümlerinin önde gelen nedenini oluşturmaktadır (5). Over kanseri hastalarında etkili erken teşhis stratejilerinin olmaması nedeniyle genellikle tanı anında ileri evre olup ve kötü prognoz ile seyretmektedirler. Bu nedenle,tüm ırklarda tüm evreler için beş yıllık göreceli sağkalım oranı(OS) %44 ile tüm jinekolojik maligniteler arasında en kötüsünü oluştururlar (20). Over kanseri klinik ve moleküler özellikleri açısından farklı biyolojik davranış sergileyen heterojen bir hastalıktır. Over kanserlerinin %90'dan fazlası epitel hücrelerden, yaklaşık %10'u germ hücrelerinden veya granüloza-teka hücrelerinden gelişir. Epitelyal tümörler over yüzey epitelinden gelişebileceği gibi fallop tüpü, endometriozis odakları veya peritondan da kaynaklanabilir (21). Epitelyal over kanseri seröz, endometrioid, müsinöz ve berrak hücreli olmak üzere dört ana histolojik tip ile karakterizedir. İlginç bir şekilde, her bir histolojik tip, normal dokulardaki morfolojik muadilleriyle bağıntılı olan gen ifade kalıplarını gösterir. Özellikle, seröz tümörlerdeki değişiklikler normal fallop tüpündekilerle, müsinöz kanserler normal kolonik mukozadakilerle ve hem endometrioid hem de berrak hücreli histotipler normal endometriumdaki değişikliklerle ilişkilidir (22).

## 2.2.2. Over kanserindeki moleküler genetik değişiklikler

Over kanserlerin %24'ünde germline mutasyon ve bunların %18'inde *BRCA1/2* patojenik mutasyonu izlenir (23). Bununla birlikte, *TP53*, *BARD1*, *CHEK2*, *PALB2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *RAD51C* ve *RAD51D* gibi tümör supresör gen ve onkogen genlerindeki patojenik mutasyonlar over kanserindeki diğer sık izlenen genetik bozukluklardır (23,24). Bugüne kadar, en az 16 genin kalıtsal over kanseri oluşumu mekanizmasına dahil olduğu bilinmektedir ve diğer bazı mutasyonlar bilinmemektedir ve spesifik testlerle tespit edilememektedir (24) (Şekil1). Klinik davranış ve moleküler genetik anormalliklere göre, over kanseri iki farklı tipte sınıflandırılabilir (Tablo1). Tip I tümörler arasında düşük dereceli seröz karsinomlar, borderline seröz tümörler, düşük dereceli endometrioid, müsinöz ve şeffaf hücreli karsinomlar bulunur. Bu tür tümörler nispeten genetik olarak stabildir ve en sık görülen mutasyonlar *KRAS*, *BRAF*, *ERBB2*, *PTEN*, *PIK3CA*, *CTNNB1*, *ARID1A* ve *PPP2RIA*'yı içerir. Öte yandan, tip II over kanserleri, yüksek dereceli seröz karsinomları, karsinosarkomları ve undifferensiyel(farklılaşmamış) kanserleri içerir. Tüm epitelyal tümörlerin yaklaşık %70'ini oluşturan tip II tümörler agresiftir ve ileri evrelerde saptanmaktadır. Yüksek genomik instabilite sergilerler ve hastaların %95'e varan bir kısmında mutasyona uğrayan gen *TP53*'tür. Ayrıca, bu tip tümör *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyon taşıyıcılarının karakteristiğidir ve çoğunlukla seröz tubal intraepitelyal karsinom (STIC)'lerden kaynaklanır (25).



Şekil 1: Hereditör over kanserindeki genetik değişikliklerin dağılımı (49).

Tablo 1: Klinikopatolojik özellikleri ve davranışları ile over kanseri tipleri

	Tip 1	Tip2
<b>Prevalans</b>	~%30	~%70
<b>Histotip</b>	Seröz Endometrioid Müsinöz Clear -cell	Seröz Miks malign mesodermal Karsinosarkom Undifferansiye
<b>Grade</b>	Düşük ve borderline	Yüksek
<b>Mutasyonlar</b>	<i>PTEN, KRAS, BRAF</i> <i>PIK3CA, ERBB2, CTNNB1,</i> <i>ARID1A, PPP2RIA</i> ve Mikrosatellit instabilite	<i>TP53</i> <i>BRCA1/2</i>
<b>Klinik Davranışı</b>	Tipik olarak overde sınırlı büyük kistik kitle, nispeten yavaş seyir	İleri evrelerde teşhis ve agresif davranış

### 2.2.3. Over kanserinde moleküler genetik özelliklere göre hedefe yönelik tedaviler

Yüksek dereceli seröz over kanserinde, germline *BRCA* mutasyonu %13-15 oranında, somatik *BRCA* mutasyonu ise %5-7 oranında izlenmektedir. Somatik *BRCA* mutasyonu HRD'ne yol açan genlerle birlikte wild type *BRCA* olarak adlandırılır. PARP inhibitörleri özellikle germline *BRCA* mutasyonu olan hastaların primer yada nüks sonrası idame tedavilerinde etkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (26).

### 2.3. Senkron Tümörler Tanımı

Çoklu primer tümörler, aynı vakada eş ya da farklı zamanlarda, birbirinden farklı dokularda histopatolojik olarak tanı alan tümörlerdir. Çoklu primer tümörlerde, her bir tümörün kendisine ait klinik belirtileri olmalı, farklı dokularda gelişmeli, ve diğer dokudan gelişen hastalığın o bölgeye metastazı olmamalıdır. Tümörlerin tanı alma zamanlarına göre; aynı anda (senkron) veya farklı zamanlarda (metakron) olabilir. Primer tümör tanısından 6 ay içinde görülen tümörler senkron, 6 ayda sonra tanı alanlara ise metakron tümörler olarak tanımlanmaktadır (3).

### 2.3.1. Senkron endometrium ve over kanseri

Senkron primer endometrium ve over tümörleri (SEOC) kadın genital sistemin en sık görülen eş zamanlı maligniteleridir (27). SEOC'ları, over malignitesi olan kadınların %10'unda ve endometrium malignitesi olan vakaların % 5'inde izlenir (28,29). Eş zamanlı olarak hem over ve hem de endometriumda malignite tanısı alan bir hastada üç olasılık değerlendirilmelidir. Bu ihtimalleri; primer endometriumdan kaynaklanan tümörün overe metastazı, primer over tümörünün endometriuma metastazı, ya da eş zamanlı olarak gelişen over ve endometriumun primer tümörü şeklinde tanımlayabiliriz. Metastatik ve senkron primer tümörlerin ayırıcı tanısı, histolojileri ayrı olduğunda nispeten kolay iken, aynı olduğunda ise zor olmaktadır (30,31).

Warren ve Gates tarafından 1932'de bu konudaki ilk literatür yayınlanmıştır (32). Senkron endometrium ve over kanser tanısı için histolojik kriterler Scully ve arkadaşları tarafından önerilmiş ve Ulbright ve Roth tarafından 1985'de güncellenmiştir (33,34). İki ayrı primer neoplazi olarak tanımlamak için; farklı histopatolojik tiplerde olma, aynı histolojik yapıda olup yanısıra overde bilateral, multinodüler ya da 5 cm. boyutundan büyük tümörün olması, tubal lümende invazyon olması, endometriumda tümörün derin myometrial invazyon ve lenfovasküler invazyon göstermesi gibi kriterleri kapsamalılar (33,34) (Tablo2). 2014 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), senkron endometriyal ve over karsinomlarının evrelemesi için kadın üreme sistemi tümörlerini sınıflandırma kriterlerini önermiştir (35) (Tablo3). Over ve endometriumun metastatik tümörleri ile SEOC'lerinin prognozları farklılıklar göstermektedir (27,34).

Tablo 2:Bağımsız primer tümörler(SEOC) için Scully kriterleri (34)

Tümörlerin histolojik farklılığı
Endometriyal tümörün miyometrial invazyonun sadece yüzeysel veya hiç olmaması
Endometriyal tümörün LVSI olmaması
Ek olarak atipik endometriyal hiperplazinin olması
Endometriyal tümörün yayıldığına dair başka kanıtların olmaması
Over tümörünün unilaterale ( vakaların 80%-90%'nında)
Over tümörünün parankimde lokalize olması
Overde LVSI, yüzeysel implantları veya baskın hiler yerleşiminin olmaması
Over tümörün yayıldığına dair başka kanıtların olmaması
Overde endometriozis varlığı
Tümörlerin DNA indekslerinin farklı ploidiileri*, anöploidi yapıları
Tümörlerde farklı moleküler genetik veya karyotipik anormallikler

LVSI: Lenfovasküler invazyon

\*Ploidi bulgularının değerlendirilmesinde tümör heterojenitesi olasılığı dikkate alınmalıdır.

Tablo 3:Eşzamanlı endometriyal ve over karsinomlarını bağımsız primer tümörler veya endometriyumdan overe metastaz olarak belirlemek için kullanılan özellikler, evreleme önerisi (35)

<b>Metastaz bulguları</b>	<b>Bağımsız primer tumor bulguları</b>
<b>Bilateral over tümörleri</b>	Uterus and overde sınırlı tümör
<b>Küçük over tümörleri</b>	Ayrı histotip/grade
<b>Over yüzeyinde invazyon</b>	Minimal veya hiç myometrial invazyon
<b>Multinodular şekilde overde büyüme</b>	Düşük grade
<b>Lenfovaskuler aralıkta tumor invazyonu(LVSI)</b>	

LVSI: Lenfovasküler invazyon

SEOC tanısı olan kadınlar, metastatik over veya endometrium kanserlerinden farklı olarak daha iyi bir prognoza sahiptirler. SEOC tanılı vakalarda tümör Ia olarak evrelendirilirken, MC'lilerde ise endometrium kanserine göre IIIa veya over kanserine göre II olarak evrelendirilmektedir. SEOC tanılı hastalarda 5 yıllık yaşam süresi %66-100 arasında iken, evre II over kanserlilerinde %45 ve evre IIIa endometrium kanseri olgularında ise %33-36 arasında seyretmektedir. Bu hastalardaki tedavi yaklaşımı farklılıklar göstermektedir. Evre Ia olarak tanı alan hastalarda, ek adjuvan tedaviye gerek yok iken, evre IIIa veya II olan hastalara ek adjuvan tedavi gerekmektedir. SEOC ve MC'yi ayırt etmede patolojinin kullanılması yanlış evrelemeye yol açabilir; bu nedenle, hastaların yanlış yönetilmesine ilişkin potansiyel riskler ortaya çıkabilir. Saptanan malignitenin primer SEOC tümör olduğunun söylenebilmesi için ayrıntılı histopatolojik özellikleri ile birlikte ve moleküler genetik incelemelerin yapılması önerilmektedir (27,34).

### 2.3.2. Senkron endometrium ve over kanseri moleküler genetik değişiklikler

Metastazlar ve eş zamanlı primer tümörler arasında ayırım yapmak için klonalite analizlerinden faydalanılmış ve eş zamanlı tümörlerdeki genetik değişikliklerin biyolojik davranışı öngörücü olup olmadığını değerlendirilen çalışmalar yapılmıştır. Ishikawa M ve arkadaşları *TP53*, *PTEN*, *POLE*, *PIK3CA*, *KRAS* ve *CTNNB1* genlerindeki mutasyonu sanger dizi yöntemi ile analiz etmişler ve *POLE* ve *CTNNB1* mutasyonlarının sıklığını önceki raporlardakinden daha yüksek saptamışlardır. Başlangıçta primer bağımsız tümörler olarak teşhis edilen altı vakadan üçünde genomik analizlerle klonal bir ilişki belirlemişler ve mutasyon lezyonu aynı olduğu için bu üç olgunun metastatik tümörler olduğu

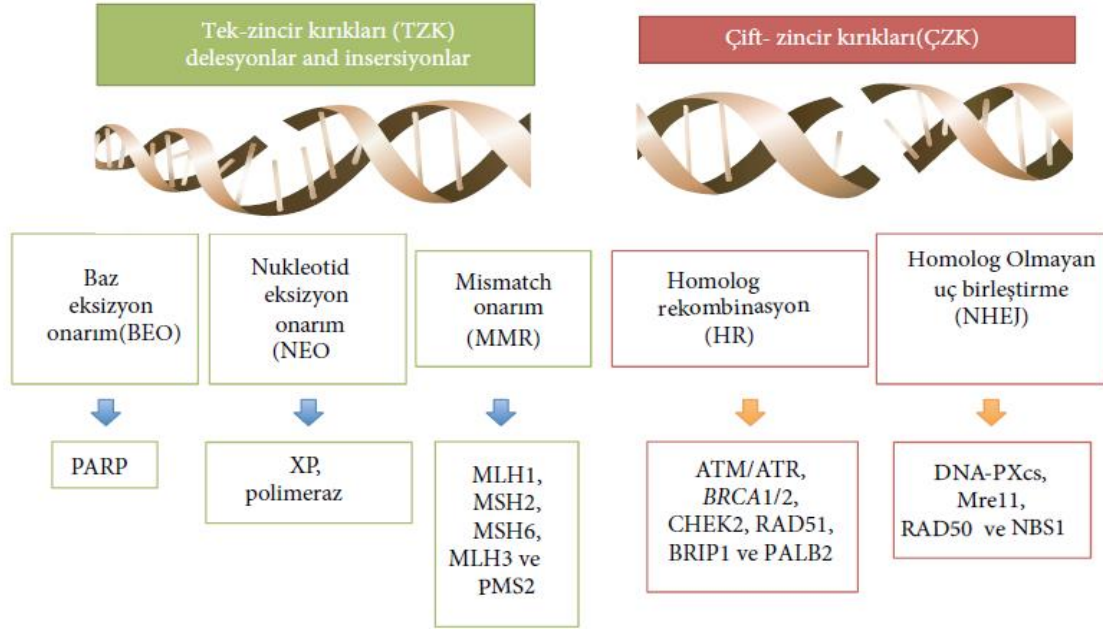
doğrulanmıştır. Dizilemeye dayalı yöntem ile sağlanan bu bilgi hastanın prognozunu belirlemek ve tedaviye karar vermek için faydalı olabileceği sonucuna varmışlardır (36). Son zamanlarda yapılan birkaç çalışma, derin dizileme ve paralel dizileme yaklaşımlarıyla klonalite sergileyen eş zamanlı primer tümörleri tanımlamıştır (37,38). Endometrial endometrioid karsinom ve overin endometrioid karsinomu birçok tutarlı histolojik özelliğe ve moleküler profile sahiptir. Bu paylaşılan değişimler, ortak bir endometriyal epitelyal öncü hücreden kaynaklandığından olabilir (39). Overin ve endometriumun endometrioid tip tümörlerinde mikro satellit instabilite, *PTEN*, *ARID1A*, *PIK3CA*, *FGFR2*, *TP53* kaybı ve nükleer beta-katenin ekspresyonu dahil olmak üzere bazı moleküler özellikleri paylaştığı da çalışmalarda rapor edilmiştir (37,40,41). Yoneaka ve arkadaşları, SEOC (endometrioid tip histolojisi olan)'nin prognostik faktörlerini ortaya koyan ve adjuvan kemoterapi almadan yeterince düşük nüks riski olan hastaları belirlemek için yaptıkları çalışmada, DNA mismatch repair (yanlış eşleşme onarımı) (*MMR*) protein ekspresyonunun immünohistokimyasal değerlendirdiler. *MMR* eksikliği olguların %28.3'ünde gözlemlendiği ve hem endometrium hem de over tümörleri aynı *MMR* ekspresyonuna sahip olduğu ve *MMR* eksikliğinin sağkalım ile anlamlı olarak ilişkisi olmadığını saptadılar (42).

#### 2.4. DNA onarım mekanizmaları

Genomumuzda her gün ortalama  $10^4$  'ten daha fazla DNA hasarı, tek baz değişimi (deaminasyon, depürinasyon, baz alkilasyonu, delesyon, insersiyon vs), tek veya çift zincir kırıkları, aynı veya farklı DNA zincirleri arasında çapraz bağlanma gibi çeşitli şekillerle oluşmaktadır (43,44). DNA hasarının boyutu ve tipine göre, hücre döngüsünün durdurulması, gen ifadesinin değişmesi, DNA onarımın uyarılması, programlı hücre ölümü (apoptozis), kanser ya da yaşlanma gibi reaksiyonlar olmaktadır (45).

İnsanda DNA onarımında 130'dan fazla gen görev almakta, fakat bu genlerden sadece %50'sinin fonksiyonu bilinmektedir (46). Çift zincir kırıkları, genetik bütünlüğün kaybıyla sonuçlanabilen kromozomal kırıklardır. Çift zincir kırıkları; iyonize radyasyon ve genotoksik bileşenler gibi ekzojen kaynaklarla ya da hücre metabolizmanın yan ürünleri olan reaktif oksijen türlerinin endojenik etkisiyle replikasyon, mayotik rekombinasyon ve DNA onarımı sırasında replikasyon çatalının bozulması sonucu oluşmaktadır (43,45).

Onarılamayan çift zincir kırıkları hücre ölümüne neden olabilmektedir. İnsanda çift zincir kırıklarının tamiri iki majör mekanizma ile sağlanmaktadır: homolog rekombinasyon (HR) ve homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ) (45,46).



Şekil 2:DNA hasarı tip, onarım yolları ve her yola dahil olan onarım enzimleri (49).

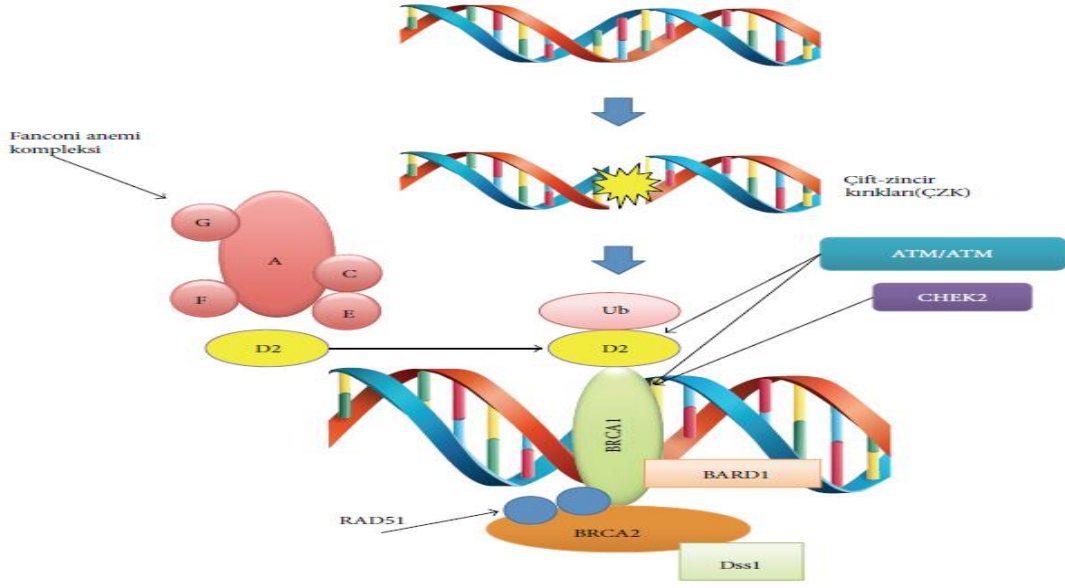
#### 2.4.1.Homolog rekombinasyon mekanizması

Homolog rekombinasyon(HR) sürecinde DNA çift zincir kırıklarının hatasız onarılması sağlanır. Bu onarım sırasında kardeş kromatid iplikçığı kalıp olarak kullanılır. Hücre döngüsünün S,G2/M fazında yani homolog kardeş kromatide ulaşılabildiği dönemde HR gerçekleşmektedir. HR, replikasyon çatalının ve mayozu I'de kromozom dağılımının korunmasında, ayrıca telomer bakımında önemli rol alır. HR genom bütünlüğünün sağlanması ve karsinogenezin baskılanması için çok önemlidir (47). Bir çift homolog dupleks DNA dizisi arasında DNA ipliklerinin değiş tokuşudur. Bu değiş tokuş bir dupleks DNA ipliğini kalıp olarak kullanarak diğer dupleks iplikteki kayıp veya hasarlı bilginin geri kazanılmasını sağlar. Kalıp iplik komplementerliğine bağımlı olmadığından HR çok sayıda DNA hasarının onarılmasını sağlar. HR oluşumunu DNA baz eşleşimi yönlendirir. HR çift iplik kırıklarını onarım bölgesinde nükleotid değişimi olmaksızın tam olarak

onarır. Bu onarımın yapılabilmesi için kırık DNA, kalıp oluşturacak homolog kırık olmayan DNA ile yakın olmalıdır. Bu nedenle HR sadece DNA replikasyonundan hemen sonra oluşur. HR sırasında ilk olarak kırık DNA'nın uçları nükleazlarca kesilir, 3' açık uçlar ortaya çıkarılır. İkinci aşamada tek iplikli 3' uçlar kalıp duplekse doğru yönelenip komplementer dizilerini bulmaya çalışır. Stabil baz eşleşimi gerçekleştiğinde DNA polimeraz hasarlı DNA'yı tamamlar. Son basamakta ligasyon ile onarım tamamlanır (47).

HR'unun ilk basamağında çift zincir kırıkları MRN kompleksi tarafından tanınır. MRN kompleksi içinde Mre11, Rad50 ve Nbs1 proteinleri yer almaktadır. MRN kompleksi bir kırık sensörü gibi görev yapar (43). MRN, kırık olan bölgenin etrafındaki DNA'ya bağlanır ve 5'-3' bağlı uç yönündeki bu alandaki DNA'yı keser. Bu kesim olayı, HR'nin ilk aşamalarında MRN kompleksi ile CtIP'nin etkileşimi sonucunda gerçekleşmektedir. Bunu takiben, Exo1 tarafından tek zincir DNA'nın uzun şekilde gerilmesi için daha geniş kapsamlı bir kesim uygulanır. Replikasyon proteini A(RPA), uzamış tek zincir DNA'ya bağlanır ve *BRCA1* tarafından kırık olan lezyon alanın bulunduğu bölgede kalması sağlanır (48). Tek zincir DNA RPA'nın bağlanması ile stabilize hale gelir ve böylece nükleazların etkisinden korunur. *BRCA2* geni aracılığıyla rekombinaz *RAD51* DNA'ya yüklenir ve RPA buradan çıkartılır. *RAD51*, tek zincir DNA boyunca bir nükleoprotein filament oluşturur. Bu filament yapısı kardeş kromatidin zincir invazyonunu sağlar, değişim ve invazyon sonrası, DNA polimeraz  $\delta$  tarafından uzatılır ve ligasyonla süreç tamamlanır.

*BRCA1* kırık uçların işlenmesi sırasındaki erken basamağı katalizler. Yokluğunda kırık uçlar HR için doğru biçimde işlenemez, nonhomolog uç uca ekleme yoluyla yanlıştır onarım yapılır. *BRCA2*, *RAD51* proteinine bağlanarak DNA üzerinde polimerize olmasını engeller, gereksinim olana kadar inaktif biçimde tutar. Genellikle DNA hasarı durumunda *BRCA2*, *RAD51* proteinini hızla hasar bölgesine getirir, yerine geldiğinde aktif biçiminde tek iplikli DNA'ya verir (43).



Şekil 3: Homolog rekombinasyon (HR) sisteminde yer alan proteinler (49).

## 2.5. Homolog rekombinasyon panelindeki genler

### 2.5.1. *ATM* (Ataksi-Telanjiektazi) Geni ( # 208900)

Sitogenetik lokalizasyonu 11q22.3 dir. *ATM* geni, protein kinazı kodlar. *BRCA1*, *p53* ve *CHK2*'yi içeren downstream proteinlerin fosforilasyonu yoluyla DNA çift sarmal kırıklarında hücresel yanıtta rol oynar (50). *ATM* geni tipik olarak ataksi-telanjiektazi (AT) adı verilen otozomal resesif bir durumla ilişkilidir. AT, erken yaşta kas koordinasyon eksikliği (serebellar ataksi), göz beyazlarında genişlemiş kan damarları (telanjiektaziler), bağışıklık kusurları ve özellikle lösemi ve lenfoma gibi bazı kanserlere yakınlık ile karakterizedir. Bir bireyin AT'ye sahip olması için, her iki ebeveyninden de *ATM* geninin değiştirilmiş veya mutasyona uğramış bir kopyasını almış olması gerekir. Populasyonda *ATM* heterozigot patojenik variant saptanma oranı %1-2'dir. *ATM* geninde patojenik veya muhtemelen patojenik variantları taşıyıcılarında 80 yaşına kadar meme kanseri (%17-52), prostat (%26-44) ve pankreas (%5) kanser riski artmaktadır. *ATM* geninde patojenik veya muhtemelen patojenik variantları içerenlerde over kanser riski 2 kat daha fazla izlenmektedir (51).

### 2.5.2. *BARD1* (*BRCA1* ile ilişkili Ring domain 1) Geni ( #601593)

Sitogenetik lokalizasyonu 2q35 dir. *BARD1*, hem tümör baskılayıcı ve hem de onkogen görevi gördüğü için kanser gelişimi ve ilerlemesinde ikili bir rol sergiler. RING domaini, oldukça korunmuş bir alan olan RING parmak motifinin 24-64 kalıntılarından oluşur ve ubiquitinasyonda (*BRCA1*'in E3-ubikütün ligaz aktivitesinden sorumlu) anahtar rol oynar. Bu domain *BARD1* (*BRCA1* ile ilişkili RING alan protein1 ) ile etkileşime girer (52). Hücre siklusunun S evresinde devamı için DNA replikasyonu üzerine, *BRCA1* ve *BARD1*'in etkileşimleri gereklidir. *BARD1* mutasyonları herediter meme ve over kanserlerinde yaygındır (49). Ek olarak, *BARD1*'in, *TP53*'e bağlı apoptotik sinyal yolu gibi tümör baskılanmasında (*BRCA1*'den bağımsız yol) rol alan diğer yollarda yer aldığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, anlamsız (nonsense) ve çerçeve kayması (frameshift) mutasyonları veya delesyonları nedeniyle tam uzunluktaki *BARD1*'den farklı olan çok sayıda *BARD1* izoformu vardır. Nöroblastom, akciğer, meme ve serviks kanserleri dahil olmak üzere çeşitli kanserlere duyarlılıkla ilişkili olduğu bulunmuştur (52).

### 2.5.3. *BRCA1* (Breast Cancer Gene1) Geni (#113705)

Sitogenetik lokalizasyonu 17q21.31 kromozomunda olup, DNA hasarının onarımı, hücre siklusu kontrol noktasının kontrolü ve genomik stabilitenin korunması gibi fonksiyonları vardır (53). *BRCA1* geni 24 ekzondan oluşur oldukça kompleks genomik yapıdadır. *BRCA1* geni çift iplikçikli DNA kırıklarının HR ile onarımı ve kromatinin yeniden şekillenmesinde fonksiyonu olan E3 ubikütün ligaz enzimini kodlar (53). *BRCA1* proteini, diğer tümör baskılayıcı genlerle birlikte *BRCA1* ile ilişkili genom gözetim kompleksi (*BRCA1*-associated genome surveillance complex, BASC) olarak adlandırılan birçok alt birimli protein kompleksi meydana getirirler (54). *BRCA1* geni *BARD1*, *BRCA2*, *CHK1* ve *RAD51* gibi bir çok gen ile iletişime geçmektedir. *BRCA1* genindeki germline patojenik mutasyonu taşıyıcı 70 yaşına kadar kadınlarda meme ve over kanseri geliştirme riski sırasıyla %57-65 ve %39-44 iken erkeklerde ise meme kanseri riski %1.2'dir (55,56). Ayrıca, *BRCA1* genindeki germline patojenik mutasyonu artmış kolon, prostat ve pankreas

kanseri riski ile birliktelik gösterir (57,58). *BRCA1* mutasyonu taşıyıcılarında endometriumun endometriod kanser ve seröz papiller karsinom prevalansı sırasıyla %0,62, %0.2 olup, bu hastalarda profilaktik prosedürlerde (eşzamanlı histerektomi ile ilgili karar) hastanın yaşı, mutasyon tipi, gelecekteki hormon replasman tedavisi ihtiyacı, meme kanseri öyküsü, tamoksifen kullanımı ve kişisel ameliyat riskleri temelinde her hasta için ayrı ayrı değerlendirerek yönetimler planlamalıdır (59).

#### **2.5.4. *BRCA2* (*BRCA2* DNA Repair-Associated Protein) Geni (# 600185)**

Kromozom (13q13.1) üzerinde bulunur ve çift iplikçikli DNA hasarının homolog rekombinasyon (HR) yoluyla onarılmasında rol oynayan bir nükleer proteini kodlar (53,60). *BRCA2* geni 27 ekzondan oluşur oldukça kompleks genomik yapıdadır. *BRCA2* proteini, *BRCA1-PALB2-BRCA2* kompleksinin oluşumu yoluyla, rekombinaz *RAD51*'in DNA çift zincir kırıklarına alınmasını sağlar (61). *BRCA2* genindeki germline patojenik mutasyonu taşıyıcılarında 70 yaşına kadar meme ve over kanseri geliştirme riski sırasıyla %45-55 ve %11-18'dir (55). Erkek popülasyondaki *BRCA2* genindeki germline patojenik mutasyonu taşıyıcılığında 70 yaşına kadar meme kanseri gelişme riski %6.8 olup, ek olarak prostat, pankreas ve uveal melanom kanseri riskinde artışla birliktedir (62,63). *BRCA2* mutasyonu taşıyıcılarında endometrial kanser ve uterin seröz papiller karsinom prevalansı sırasıyla %0.47 ve %0.08'dir (59).

#### **2.5.5. *BRIP1* (*BRCA1* interaction protein C-terminal helikaz 1) Geni (# 605882)**

17q23.2 kromozomu üzerinde, *BRCA1* genin C-terminal bölgesinde (*BRCT*) bölgesinde yerleşmiştir. *BRCA1* genin *BRCT* tekrar bölgelerine doğrudan bağlanarak, HR sürecinde çift zincir kırıklarının onarımı için gerekli olan DNA helikaz enzimini kodlar (64).

*BRIP1* genindeki (önceden *FANCF*) biallelik patojenik mutasyonları Fankoni anemisi (FA) ile ilişkili iken, monoalelik patojenik mutasyonlarında ise over kanseri riskinde artışla (yaşam boyu yaklaşık %6) birliktedir. *PALB2* geninin aksine, *BRIP1* patojenik mutasyon

taşıyıcılarında meme kanseri riskinin düşük olduğu veya hiç olmadığı tahmin edilmekte ve risk yönetimi için yeterli kanıt bulunmamaktadır (49).

### **2.5.6. *CDK12* (Cyclin-Dependent Kinase 12) Geni (#615514)**

Sitotogenetik lokalizasyonu 17q12'dir. *CDK12*, siklin K (CCNK; 603544) ile protein kompleksleri oluşturur. *CDK12-CCNK* kompleksi, birçoğu DNA bakım ve onarımında rol oynayan uzun kompleks genlerin ekspresyonunu düzenlemek için RNA polimeraz II seviyesinde etki eder (65). Bu gen, hücre döngüsü düzenlemesine katılan bir serin/treonin protein kinaz ailesinin bir üyesini kodlar. Kodlanmış protein, hücre döngüsü boyunca ilerlemeyi düzenleyen sikline bağımlı protein kinaz kompleksinin katalitik alt birimidir. Bu proteinin aktivitesi özellikle G1'den S fazına geçiş sırasında kritiktir. Bu protein, siklin A veya E, *CDK* inhibitörü p21Cip1 (CDKN1A) ve p27Kip1 (CDKN1B) dahil olmak üzere kompleksin diğer alt birimleri ile birleşir ve bunlar tarafından düzenlenir (66). Dubbury ve ark.(2018), *CDK12*'nin fare embriyonik kök hücrelerinde intronik poliadenilasyon olaylarını küresel olarak bastırdığını tespit etmiştir. Birçok homolog rekombinasyon geni, diğer eksprese edilmiş genlerden daha fazla intronik poliadenilasyon bölgesi barındırır ve bu bölgeler, özellikle *CDK12* kaybına karşı hassastır (67). Kanserde yer alan moleküler mekanizmalar hakkında bilgiler, karsinogenезin bir özelliği olarak hücre döngüsündeki sikline bağımlı kinazların (CDK'ler) düzensiz aktivitesi ve yeni bir ilaç sınıfının CDK inhibitörleri (CDK'ler) gelişimini sağlamış, endometrium kanserinin tedavisinde kullanımı ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (68).

### **2.5.7. *CHEK1* (Checkpoint Kinase 1) Geni (#603078)**

Sitotogenetik lokalizasyonu 11q24.2'dir. Kontrol noktası yolları, hücre döngüsü geçişlerinin sırasını ve zamanlamasını kontrol eder ve DNA replikasyonu ve kromozom ayrımı gibi kritik olayların yüksek doğrulukla tamamlanmasını sağlar (69). *CHEK1* geni, DNA hasarı kontrol noktası için gerekli olan bir protein kinazı kodlar. *CHEK1*'i *ATM* ve *ATR* ile ilişkili olup, *CHEK1*'in *ATM* ve *ATR*'den gelen sinyalleri entegre etmekte rol oynar

ve programlanmış DNA kırılmalarını içeren bir süreç olan mayotik rekombinasyonun izlenmesinde yer almaktadır (69). CHEK1 amplifikasyonu, AACR GENIE vakalarının %0,06'sında mevcuttur; miyelodisplazi ile ilişkili değişikliklere sahip akut miyeloid lösemi, meme invaziv duktal karsinom, akut miyeloid lösemi, yüksek dereceli over seröz adenokarsinomu ve invaziv meme karsinomu en yüksek prevalansa sahiptir (70).

#### **2.5.8. CHEK2 (Checkpoint Kinase 2) Geni (#604373)**

Sitotogenetik lokalizasyonu 22q12.1'dir. DNA hasarına yanıt olarak aktive olan bir protein kinaz olan CHEK2, hücre döngüsünün durmasında rol oynar. DNA onarımında ve DNA hasar yanıtında, özellikle DNA çift sarmallı kırılmalar yanıt olarak ATM-CHEK2-p53 yolunda bir efektör kinaz olarak tanınan kontrol noktası kinaz 2 proteinini (CHK2) kodlayan CHEK2 geni fonksiyon görmektedir (71). ATM-CHEK2-p53 sinyal kaskadının yetkinliği, transforme hücrelerde hücre döngüsü blokajını, apoptozu veya yaşlanmayı indükleyerek erken tümöregenezi önleyen bir bariyer olarak varsayılmıştır (71). Bartkova ve ark., mesane, meme, akciğer ve kolondaki insan tümörlerinin farklı evrelerinden alınan örneklerde, erken öncü lezyonların normal dokularda değil, genellikle aktive edilmiş bir DNA hasarı tepkisinin belirteçlerini ifade ettiğini göstermiştir. Bunlara fosforile kinazlar ATM ile CHK2 ve fosforile histon H2AX ile p53'ü içermektedir. ATM-CHEK2-p53 yolundaki defektler dahil olmak üzere bu kontrol noktasını etkileyen mutasyonlar, hücre çoğalmasına, hayatta kalmasına, artan genomik kararsızlığa ve tümörün ilerlemesine neden olabilmektedir (72).

#### **2.5.9. FANCL (Fanconi Anemia, Complementation Group L) Geni (#608111)**

Sitotogenetik lokalizasyonu 2p16.1'dir. FANCL (FA Tamamlama Grubu L), bir protein kodlama genidir. Bu gen, Fanconi anemi tamamlama grubunun (FANC) bir üyesi olan bir ubiquitin ligazı kodlar. Bu grubun üyeleri, sekans benzerliğinden ziyade ortak bir nükleer protein kompleksi halinde birleşmeleri ile ilişkilidir (73). Bu gen, FANCD2'nin yanı sıra FANCI'nin mono-orbitülasyonuna aracılık eden L grubu tamamlama için proteini

kodlar. Fanconi anemisi, sitogenetik instabilite, DNA çapraz bağlama maddelerine aşırı duyarlılık, artan kromozomal kırılma ve kusurlu DNA onarımı ile karakterize genetik olarak heterojen resesif bir hastalıktır. Homolog DNA eşleştirme ve zincir değişimi ve *BRCA1* yolağında rol oynar (73).

#### **2.5.10. *PALB2* (*BRCA2* interacting protein, Partner and localized *BRCA2* ) Geni (#610355)**

16p12.2 kromozom üzerinde yer alır ve nükleer bölgede *BRCA2* ile birlikte lokalizedir (74). Nükleer yapılarda lokalizasyonunu ve stabilitesini destekleyen ve rekombinasyon onarımı ve kontrol (checkpoint) noktası fonksiyonlarını sağlayan bir proteini kodlar (74). *PALB2*, tek zincirli DNA'yı bağlar ve HR sırasında zincire invazyonu uyarmak için doğrudan rekombinaz *RAD51* ile etkileşime girer. *PALB2* genindeki (önceden *FANCN* diye tanımlanırdı) biallelik patojenik mutasyonları FA ile ilişkili iken, monoallelik mutasyonları ise, her iki cinsiyet (80 yaşına kadar erkekler için %1, kadınlar için %53) için yüksek meme kanseri riski ile birlikte (75). Ayrıca over kanseri (%5) ve pankreas kanseri (%3) risk artışı ile birlikte olup, NCCN kriterlerine göre risk azaltıcı mastektomi bir seçenek olarak önerilirken, risk azaltıcı salpingooferektomi için yeterli kanıt olmayıp, aile hikayesi göz önünde bulundurularak kişiye özel uygulamalar yapılabilir (75,76).

#### **2.5.11. *PPP2R2A*(Protein Phosphatase2, Regulatory Subunit B, Alpha)Geni (#604941)**

Sitogenetik lokalizasyonu 8p21.2'dir. *PPP2R2A* (Protein Fosfataz 2 Düzenleyici Alt Birim Balpha), bir protein kodlama genidir. Protein fosfataz 2, dört ana Serin/Threonin fosfatazdan biridir ve hücre büyümesi ve bölünmesinin negatif kontrolünde yer alır.

*PPP2R2A* ile ilişkili hastalıklar arasında akciğer kanseri ve hepatoselüler karsinom bulunur. İlgili yolları arasında "Hücre Döngüsü, Mitotik" ve p70S6K Sinyali bulunur (77).

### **2.5.12. RAD51 (RAD 51 Recombinaz )Gen Ailesi (#179617)**

*RAD51* geni HR yoluyla çift iplikçikli hasarlı DNA'ların onarımında yer alan bir proteini kodlar. Memelilerde *RAD51*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *XRCC2*, *XRCC3* ve *DMC1* olmak üzere yedi farklı *RAD51* paralog gen tanımlanmıştır (78). Paralog genler iki kompleks oluşturur: HR'nın farklı aşamalarında fonksiyonu olan *BCDX2* (*RAD51B-RAD51C-RAD51D-XRCC2*) ve *CX3* (*RAD51C-XRCC3*) kompleksleridir. *BCDX2* kompleksi, *RAD51*'in hasarlı bölgelere alınmasından veya stabilizasyondan sorumlu iken *CX3* kompleksi bu sürecin ilerleyen aşamalarında görev almaktadır (78). *RAD51*, *RAD51C* ve *XRCC2* genlerinin (eski adları sırasıyla *FANCR*, *FANCO* ve *FANCU*) biallelik patojenik mutasyonları FA ile ilişkili iken, özellikle *RAD51* geninin ve paralog genlerinin monoallelik patojenik mutasyonlarının ise kansere yakınlıkla ilgisi olduğu saptanmıştır (79). Over kanserinde *RAD51B*, *RAD51C* ve *RAD51D*, meme kanserinde *RAD51*, *RAD51B* ve *XRCC2* genlerinin patojenik mutasyonu izlenmiştir. Bununla birlikte, *RAD51C* ve *RAD51D* kanser riski ile ilişkili olduğu en fazla bilinen iki gendir (80).

#### **2.5.12.1. RAD51B (RAD51 Paralog B)(RAD51L1) Geni ( # 602948)**

Sitogenetik lokalizasyonu 14q24.1'dir. *RAD51B*(*RAD51L1*) dahil olmak üzere *RAD51* ailesinin üyeleri, hem mitotik hem de mayotik homolog rekombinasyonda ve DNA çift sarmallı kırık onarımında işlev görür (78).

#### **2.5.12.2. RAD51C (RAD51 Paralog C) Geni ( #602774)**

17q22 kromozomu üzerinde bulunur ve HR'de rol oynayan ve diğer *RAD51* paralogları ile kompleksler oluşturan bir proteini kodlamaktadır (81). *RAD51C*'nin patojenik mutasyon taşıyıcıları için yaşam boyu over kanseri riskinin %7 civarında olduğu tahmin edilirken, meme kanseri riski üzerindeki etkisi tartışmalıdır (79).

### **2.5.12.3. RAD51D ( RAD51 Paralog D) Geni ( #602954)**

17q12 kromozomunda bulunur ve *RAD51C*'nin yanı sıra HR sürecinde diğer *RAD51* paralogları ile etkileşime giren bir proteini kodlar. *RAD51D*'nin patojenik mutasyon taşıyıcıları için yaşam boyu over kanseri riskinin %15 civarında olduğu tahmin edilirken, meme kanseri riski üzerindeki etkisi tartışmalıdır (82).

### **2.5.12.4. RAD54L (RAD 54-LIKE) Geni ( #602954)**

Sitogenetik lokalizasyonu, 1p34.1'dir. DNA'nın HR ile onarımında yer aldığı bilinen bir protein olan *Saccharomyces cerevisiae* *RAD54* ile benzerliği paylaşır. Bu proteinin, DNA çift sarmal kırıklarının homolog rekombinasyonla ilgili onarımında rol oynadığı gösterilmiştir. Bu proteinin çift sarmallı DNA'ya bağlanması, homolog DNA eşlenmesini kolaylaştırdığı ve DNA rekombinasyonunu uyardığı düşünülen bir DNA topolojik değişikliğini indükler. *RAD54L* ile ilişkili hastalıklar arasında lenfoma, Non-Hodgkin, ailesel over ve meme duktal karsinomu yer alır. Bu gen nükleik asit bağlama ve helikaz aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu *RAD54B*'dir (83).

### **2.5.13. TP53 (Tumor Protein p53 ) Geni (#191170)**

Sitotogenetik lokalizasyonu 17p13.1'dir. *TP53* geni, tümör proteini p53 isimli bir proteini kodlar. Bu protein, bir tümör baskılayıcı fonksiyonu olup, hücrenin bölünmesini düzenler. Bu fonksiyonu, hücrelerin çok hızlı veya kontrolsüz bir şekilde büyümesini ve bölünmesini (çoğalmasını) önleyerek yerine getirir. p53 proteini, direk DNA'ya bağlandığı hücrelerin çekirdeğinde yer alır (84). Güneş ışığı, toksik kimyasallar, radyasyon veya ultraviyole ışınları gibi etkenlerle bir hücredeki DNA hasarı oluştuğunda, DNA'nın onarılıp onarılmayacağı veya hasarlı hücrenin kendi kendini yok edip etmeyeceğini (apoptozise

uğrayacağını) belirlemede p53 proteini kritik bir rol oynar. p53 proteini, DNA tamiri sırasında hasarı düzeltmek için diğer genleri aktive eder. DNA tamir edilemiyorsa, bu protein hücrenin bölünmesini engeller ve hücreye apoptoz geçirmesi için sinyal verir, böylece mutasyona uğramış veya hasar görmüş DNA'ya sahip hücrelerin bölünmesini durdurarak, tümörlerin gelişimini engeller (84). p53, bu fonksiyonlarından dolayı "genomun koruyucusu (gardiyanı)" olarak adlandırılmıştır. Germline ve sporadik vakalarda gözlemlenen en yaygın mutasyon, kusurlu bir transkripsiyonel aktivite ile sonuçlanan yanlış anlamlı (missense) mutasyondur (yaklaşık %75) (49).

*TP53* mutasyonlarından gelişen tümörler daha kötü survey oranları, kemoterapi ve radyasyona karşı artan direnç ve yüksek nüks oranları karakterizedir. Li ve Fraumeni Sendromu (LFS), çok sayıda tümörün erken gelişimi ile karakterize kalıtsal bir kanser sendromudur. Özellikle, LFS'li hastaların yaklaşık %50'si ilk tümörü 30 yaşına kadar geliştirir ve meme kanser, sarkom ve beyin ve adrenokortikal karsinom, LFS ile ilişkili tümörlerin yaklaşık %77-80'ini oluşturur. LFS ile ilişkili daha az görülen maligniteler ise; lösemi, akciğer, kolorektal, deri, mide ve over kanseri olup bunlar tümörlerin %15'ini oluşturur. Germline *TP53* mutasyonlarından kaynaklanan tümörler beklenen medyandan daha erken teşhis yaşına sahiplerdir. Özellikle over kanseri için medyan sporadik vakalar için yaş 64,3'e kıyasla 39,5'tir (49).

## 2.6. Yeni Nesil Dizileme Yöntemi

Yeni nesil dizileme(YND), ikinci nesil dizileme olup, genomik araştırmalarda devrim yaratan bir DNA dizileme teknolojisidir. YND'de Sanger dizileme olduğu gibi kapiller elektroforezi uygulanır. Genomik DNA fragmentlere bölünür ve her bir parçadaki bazlar, kalıp DNA zincirine bağlandığında yayılan sinyallerle tanımlanır. YND, aynı anda çok miktarda paralel olması, reaksiyonların çip üzerinde gerçekleşmesi, hızlı, düşük maliyetli, daha kısa okuma parçaları (50-700bp) olması gibi özellikleri nedeniyle Sanger dizilemeden yöntem olarak farklılıklar gösterir. YND, kütüphane hazırlama, amplifikasyon ve dizileme olmak üzere üç temel aşamada gerçekleşir. Kütüphane hazırlama aşamasında; rastgele parçalara ayrılan DNA'ya, sonrasında özel bağlayıcılar(custom linker) ile bağlanır ve kütüphane oluşturulur. Amplifikasyon (çoğaltma) basamağında; kütüphane PZR ve

klonal amplifikasyon yöntemleri ile çoğaltılırken, dizileme de ise hibridizasyon ve sentezle dizileme şeklinde farklı metodlar kullanılır.

Yeni nesil DNA dizileme yöntemi ile birlikte oluşan büyük ölçekteki bilginin depolanması, analizi ve değerlendirmesi için nitelikli biyoinformatik analiz programlarına gereksinim olmaktadır (85).

### **2.6.1. Illumina sekanslama yöntemi**

Tek bir döngüde milyon bazlara varan veri sağlama imkanı sağlayan ve hata oranı Sanger gibi eski yöntemlere kıyasla oldukça düşük olan yeni nesil dizileme yöntemidir. Genellikle organizmaların tüm genomlarının sekanslanmasında, GWAS (Genome Wide Association Study) (Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları) araştırmalarında ve ekzom sekanslama çalışmalarında kullanılan bir yöntemdir.

### **2.6.2. Illumina sekanslama yönteminin çalışma prensibi**

Illumina boyama temelli sekanslama yöntemi en temel düzeyde; çoğaltma, dizileme ve analiz olmak üzere üç adımdan oluşur. DNA'nın saflaştırılması ile başlar, sonrası DNA fragmentlere ayrılır ve referans noktası fonksiyonu içeren segmentleri olan adaptörler bu fragmentlere nano kuyularında eklenir. Fragmentlerin adaptörlere bağlandığında "köprü yapılı çoğaltma "(bridge amplification) başlar.

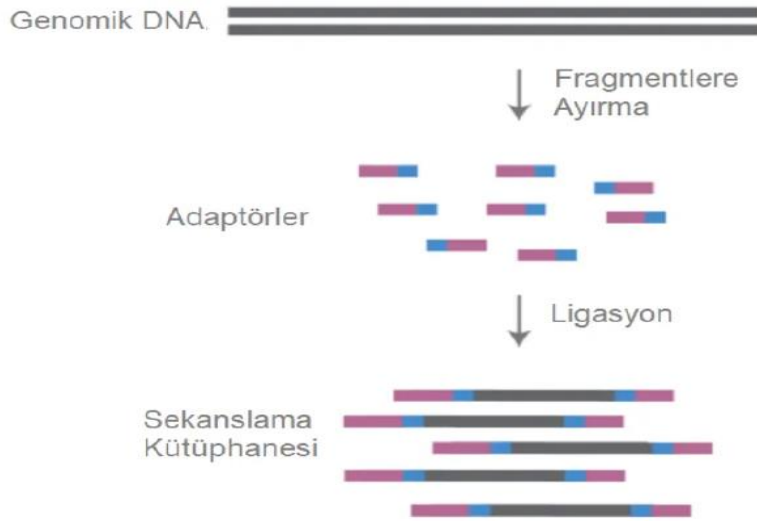
#### **2.6.2.1.Köprü yapılı çoğaltma**

DNA parçalarının katı bir faza eklenmesi ile oluşan PZR işlemi temeline dayanır. Primerler ve tersinir 3'floresan blokerine sahip nükleotitler katı faza eklenir. DNA polimeraz, fragmentlere bir seferde sadece tek bir nükleotid ekler ve sentez aşamasının hemen sonrası bir kamera katı fazın fotoğrafını çeker. Bir bilgisayar, floresan etiketin dalga

boyu tarafından hangi bazın eklendiğini belirler ve katı faz üzerindeki her nokta için bunu kaydeder. Her sentez aşamasından sonra, birleşmemiş fragmentler ortamdaki uzaklaştırılır. Daha sonra 3' floresan terminal blok grubunu çıkarmak için bir "kimyasal blok çözme" adımı gerçekleştirilir. İşlem, tüm DNA molekölü dizilenene kadar devam eder. Bu prosedürdeki işlem basamakları detaylı incelenecek olursa:

### 2.6.2.2. Genomik kütüphanenin hazırlanması

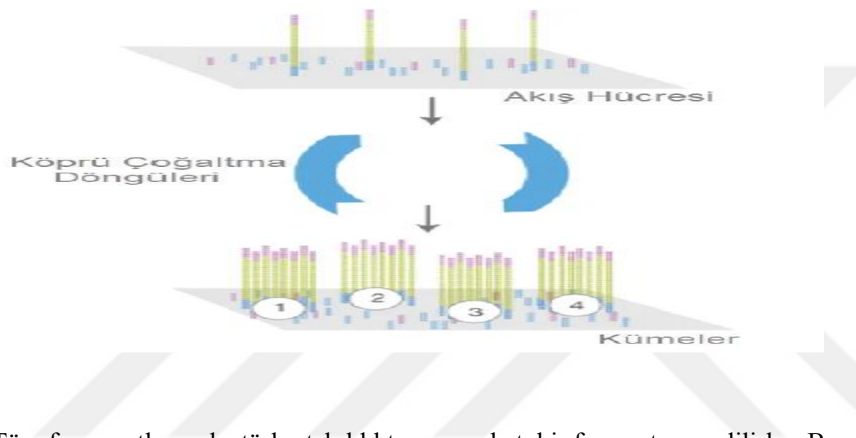
DNA saflaştırıldıktan sonra sonifikasyon denilen ultrasonik dalgalar ile DNA'nın parçalanması ve etiketleme yöntemi yani transposaz kullanılmak üzere iki farklı yöntemle bir genomik kütüphane oluşturulur. Genomik kütüphane oluştururken genomik DNA kullanılması önemli bir noktadır. Genomik DNA, ekzon, intron ve Alu dizileri gibi tekrar dizilerini, yani DNA elemanlarının tamamını içerir.



Şekil 4: Genomik DNA kütüphanesi hazırlama, gDNA'yı fragmentlere ayırmayı ve bu fragmentlere adaptörlerin eklenmesi sürecini içerir(86).

### 2.6.2.3.Adaptörlerin fonksiyonları

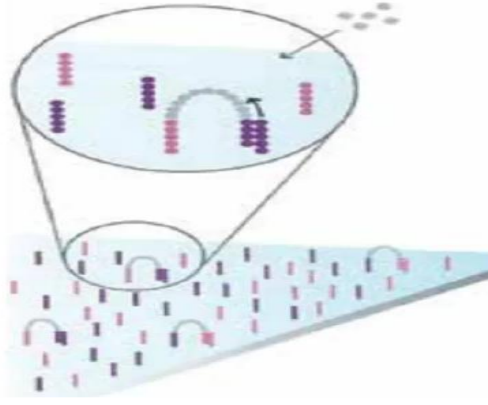
DNA veya RNA'ların ucuna eklenen ve spesifik diziler içeren oligonükleotit dizileri adaptör olarak tanımlanır. DNA fragmentlerini çoğaltma işleminin gerçekleşeceği katı faza bağlanması adaptörler tarafından yapılmaktadır. Bu katı faz akrilamid kaplı cam bir ortamdır. Adaptörler ayrıca, içerisinde bulunan altı nükleotitlik bir etiket ile fragmentlerin kimliğini oluşturmaktadır. Bu aşamada hatanın olmaması için, fragmentler adaptörlere bağlandıktan sonra katı faz yıkanır; böylece adaptöre bağlanmamış fragmentler uzaklaştırılması sağlanır.



Şekil 5: Tüm fragmentlere adaptörler takıldıktan sonra katı bir faza entegre edilirler. Bu adaptörler fragmentlerin bu yüzeyde tutulmasını sağlar. Tüm fragmentler bu yüzey üzerinde PCR ile çoğaltılır (86).

### 2.6.2.4.Köprü PCR (Bridge Amplification) yöntemi

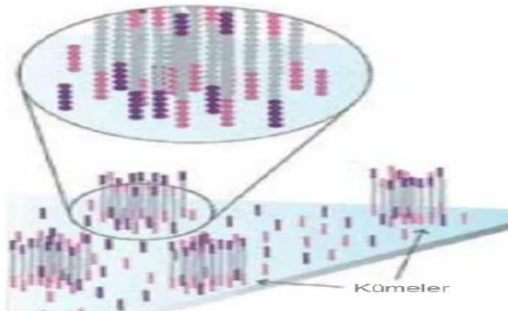
Katı faza bağlanma gerçekleştikten sonra başlar. Bu yöntemin amacı, birbirinin aynısı yüzlerce DNA fragmenti üretmektir. Bu işlem sonrasında çoğaltılmış olan fragmentler ileri veya geri yönlü zincirlere ait olabilir, bu nedenle adaptörler sol ve sağ olmak üzere iki çeşit kullanılır. Bu PCR yöntemiyle fragment “kümeleri” oluşturulur. Bağlı olan fragmentler klasik bir PCR işlemi ile eşlenir ve çift zincirli bir yapı oluşur. Çoğaltılan örnekler de başlangıçta “köprü” şeklindedir ve katı ortama bağlı haldedir. Eşleme işlemi sona erdikten sonra zincirler denatüre edilip tek zincirli hale getirilir ve ayrı ayrı hallerde ileri ve geri zincirler elde edilir. Tüm bu sürece “köprü” çoğaltma işlemi denir.



Şekil 6:Köprü PCR basamağında, halihazırda bağlı bulunan fargmentler yine faza bağlı halde sentezlenir ve yeni sentezlenen zincirlerin kaybedilmesi, faza bağlı olduktan için önlenmiş olur(86).

#### 2.6.2.5.Küme çoğaltma basamağı

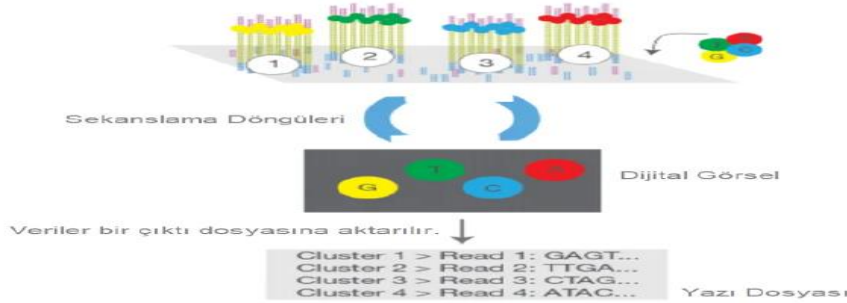
Köprü PCR sırasında oluşturulmuş ileri ve geri zincir fragmentlerinin sayısının çoğaltılması işlemidir. Farklı ileri ve geri fragmentlerin oluşturduğu gruplara küme (cluster) adı verilir ve bu basamakta her kümedeki fragment çift zincirli hale gelecek şekilde eşlenip çoğaltılır. Bu basamağın amacı bir nevi kalite kontrolüdür. Bazı laboratuvarların analizlerinde minimum %97 benzerlik eşiği kullanılmaktadır.



Şekil 7:Fragment kümelerinin çoğaltılması, birçok okuma çerçevesi elde edilmesini sağlar ki bu da sekanslama sonrasında okuma yapıldığında, karşılaştırma yapılarak yapılan hata sayısının minimuma inmesini sağlar(86).

Klonal amplifikasyonun sonunda, bütün geri zincirlerin parçaları yıkamayla (ortamda sol ve sağ adaptöre eklenmesi ile) uzaklaştırılır ve geriye yalnızca ileri zincir fragmentleri kalır. İleri zincirin adaptör bölgesindeki bağlama bölgesine ortama eklenen primerler bağlanır sonrasında DNA polimeraz zincire floresan olarak işaretlenmiş bir dNTP ekler. 3' ucundaki florofor (bir floresan kimyasal bileşik) sentezi bloke eder ve polimeraz her

döngüde yalnızca bir nükleotit ekleyebilir. Ortama eklenen farklı türdeki nükleotitler farklı türde renk ve emisyon yaparlar; bu emisyon farklılıkları sayesinde bilgisayar nükleotitleri ayırt edebilir. Bu süreç yeni zincirin sentezi sonlanana kadar tekrarlanır.



Şekil 8: Her sekans döngüsünde, 3' ucunda bulunan florofor nedeniyle yalnızca bir baz okunabilmektedir. Aynı anda yüzlerce farklı fragmentte aynı işlemin yapılması, bu metodu hızlı kılan etmenlerden birisidir. Her döngüde yalnızca bir baz okunuyor olması, 'n' tane döngüde 'n' tane baz okunabilir anlamına gelmektedir(86).

#### 2.6.2.6. Veri analizi

Veri analizi, contig adı verilen, özdeş bölgelere sahip dizilerin örtüşen bölgelerinin üst üste getirilip sekansların okunması işlemidir. Binlerce contig dizisi bu şekilde örtüştürülerek ve sıralanarak sekans doğruluk oranı yüksek bir DNA dizisi elde edilir. Bu yöntem sayesinde, eğer bir referans fragment varsa, SNP'ler ve varyantlar da tespit edilebilmektedir.

#### 2.6.3. Illumina Sekanslamanın Avantajları ve Dezavantajları

Illumina'nın köken aldığı Sanger metoduna göre en temel avantajı, aynı anda birçok fragment kullanıldığı için görece daha hızlı olmasıdır. Sanger metodunda her döngüde yalnızca tek fragment çeşidi kullanıldığı için sekanslama işlemi uzun sürmektedir ancak Illumina'da işlem daha hızlıdır. Bunun yanında Illumina fragment kümeleri kullandığı için sekanslamanın ne kadar doğru gerçekleştiğini kontrol etmek de mümkündür. Ayrıca Illumina sekanslama yöntemi örnek başına 1 ila 5 milyon veri okuması verebilir ki bu Sanger ile ulaşılması mümkün olmayan bir sayıdır.

Avantajlarının yanında Illumina sekanslamasının en büyük dezavantajı pahalı ekipmanlara ihtiyaç duymasıdır. Çoğu yeni nesil sekanslama yöntemi gibi modifiye enzimlere ihtiyaç duymasa da Illumina sekanslamasının yapıldığı ekipmanlar ve yazılımlar oldukça pahalıdır.

## 2.7. Varyant alel frekansı (VAF)

Varyant alel frekansı(VAF), bir numunede varyantın tespit edilme sıklığıdır. VAF, bir genetik lokus içindeki değişken sıralama okumalarının fraksiyonunu temsil eder. VAF, tümör heterojenliğine dair bilgi sağlar. Çoğunlukla hastalık yükünün bir göstergesi olarak kullanılır (87). Dahası, *driver*(sürücü) mutasyonu *passenger*(yolcu) mutasyonlardan ve genom değişikliklerin potansiyel germ hattı durumundan ayırt edilebilir. Onkolojide, hedefe yönelik tedavi seçimi için ek öngörücü biyobelirteçler gereklidir. Bir genomik lokus içindeki değişken alellerin oranını ölçen değişken alel frekansı (VAF), somatik genomik testlerde tümör klonalitesi hakkında bilgi sağlayarak baskın kanser hücresi popülasyonlarını hedeflemek için güçlü bir kaynak sağlar. VAF'nin prognostik ve prediktif rolleri farklı çalışmalarda değerlendirilmiştir. Yeni nesil dizileme teknolojileri, kan ve doku örneklerinde VAF'ı ölçebilir. Ancak, doğrulanmış VAF eşik değerlerinin bulunmaması ve dizileme analizleri arasında standardizasyon eksikliği, şu anda klinik kullanımını engellemektedir. Bu nedenle analitik ve klinik validasyonun daha fazla incelenmesi gerekmektedir (87, 88). Her hasta için en etkili tedaviyi oluşturmak amacıyla tümörlerdeki moleküler değişiklikler tanımlanmalıdır. Bu yaklaşım temel olarak klinik uygulamada giderek yaygınlaşan ve solid tümörlerin biyolojisine ilişkin anlayışımızı büyük ölçüde genişleten genomik dizileme ile mümkün olmaktadır (89).

VAF, belirli bir DNA varyantıyla eşleşen gözlenen dizi okumalarının o mahaldeki genel kapsama bölünmesiyle elde edilen yüzdesidir. YND neredeyse rasgele bir numune sağladığından, VAF, varyantı taşıyan orijinal numunedeki DNA moleküllerinin oranının yerine geçen bir ölçüdür. Yapısal genetik testler için VAF, diploid zigositinin bir ölçüsüdür: heterozigot lokuslar %50 VAF'ye yakın olmalı, homozigot lokuslar %100'e yakın olmalı ve referans lokuslar %0'a yakın olmalıdır. Bu üç beklenen değerden sapmalar, yanlış temel çağrılar veya hizalamadan kaynaklanan potansiyel hatalar olarak şüpheli olarak değerlendirilmelidir. Somatik test için, normal hücrelerden kontaminasyon ve tümör

heterojenliği birleşerek öngörülemeyen VAF'lere neden olur. Bir hastayı terapötik direnç mutasyonları için test etmek gibi bazı klinik senaryolarda, istenen hassasiyet, düşük VAF'ye sahip varyantların aşağı akış analizine dahil edilmesini zorunlu kılar. Tüm bunlar, kabul edilebilir bir hassasiyet seviyesini korumak için, somatik varyant için varyant filtrelemenin teknik geçerlilik açısından oldukça izin verici olması gerektiği anlamına gelir (90).

Patolojiden elde edilen VAF ve tümör hücresi yüzdesi tahmini oldukça uyumsuzsa, geçersiz veya bildirilemez bir varyantı gösterebilir. VAF beklenenden çok daha yüksekse, varyantın germ hattı veya heterozigotluk kaybı (LoH) bölgesinde olduğunu gösterebilir. Varyant, LoH'nin beklenmediği bir gendeyse (örneğin, mekanizmanın aktive edici mutasyonlar olduğu bir onkogen), germ hattı daha olası açıklama olabilir. Beklenenden çok daha düşük bir VAF, yanlış pozitifliği veya düşük seviyeli tümör heterojenitesini gösterebilir. Beklenenden daha düşük bir VAF varyantının teknik geçerliliği çok güçlüyse, tümör heterojenitesi daha olasıdır. Durum buysa, mutasyonun önemi mutasyon tipi, tümör tipi ve hasta tedavi geçmişi gibi bağlamsal hususlara bağlı olabilir. Örneğin, bilinen bir tekrarlayan kazanılmış direnç mutasyonunun düşük bir görel VAF'sinin gözlemlenmesi, tedavi görmüş bir hastada, daha önce tedavi görmemiş bir hastadaki aynı gözlemden çok daha güçlü klinik geçerliliğe sahiptir. Yüzde tümör hücresi tahmininin, özellikle cerrahi patoloji/histolojinin, asla yüksek oranda doğru veya kesin ölçümler elde etmeyi amaçlamayan niteliksel değerlendirmeler olduğunu unutmamak da önemlidir (91).

## **2.8. Variant of uncertain significance(VUS)(Önemi belirsiz genetik değişimler)**

Kanser oluşturmadaki önemi henüz belli olmayan genetik değişimler *variant of uncertain significance* (VUS) olarak raporlanır. DNA sekansı veya kromozom düzeyindeki varyasyonu yorumlamak için tipik olarak beş aşamalı bir sınıflandırma sistemi kullanılır (92). 'Patojenik/muhtemelen patojenik' veya 'iyi huylu/muhtemelen iyi huylu' olarak sınıflandırılmayacak şekilde hastalık ilişkisini destekleyen yetersiz veya çelişkili kanıtlara sahip varyantlar VUS'lardır. İlgili gen veya kromozomda bile VUS'un varlığı genetik tanıyı doğrulamaz. VUS'ların hastalıklarla olan ilişkisi tam bilinmemektedir ve VUS'ların raporlanmasında farklı parametreler ve veri bankaları kullanılmaktadır. Çoklu gen panel testlerinin kullanımı ile VUS prevalansı %20-40 oranlarına çıkmıştır (93). Bu durum aynı

genetik variant için farklı genetik laboratuvarınca değişik yorumlar yapılmasına sebep olur ve bu da hem test yaptıranlar hemde raporu veren kişileri için çözümleri zor sonuçlar doğurur. Bu yüzden, VUS sonuçlarının uygun bir şekilde gözden geçirilmesi ve tartışılması kaçınılmazdır. Bu durum, tabiki VUS literatürüne iyi derecede hakim olmayı ve veri bankalarının güncel takibini gerektirir. Sonuç olarak, VUS verilerinin etkileri tam olarak bilinmeli ve hasta yanlış yönlendirilmemelidir.



### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

Temmuz 2005 ile Ağustos 2021 arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Jinekolojik Onkoloji Bilim Dalı'nda endometrium ve over kanseri nedeni ile opere edilen 1673 hastanın tıbbi kayıtları incelendi 73(%4.36) tane eş zamanlı endometrium ve over kanseri vakası tespit edildi. Histopatolojik kriterlerine göre değerlendirme sonucu 43(%2.57) vakada senkron primer bağımsız endometrium ve over kanseri (SEOC) ve 30 vakada ise metastatik endometrium veya over kanseri saptandı. Histopatolojik olarak SEOC olan 5 yıl ve üzerinde yaşam süresi (OS) olan 7 hasta çalışmaya dahil edildi.

#### **3.1.Etik Kurul Onayı**

Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından 13.01.2022 tarihinde KA21/502 nolu projenin etik kurul onayı alınmıştır.

#### **3.2.Araştırma Değişkenleri**

SEOC vakaların klinik özelliklerle ilgili tüm veriler (yaş, vücut kitle indeksi (VKİ), menopoz durumu, hastaların başvuru şikayeti, sistemik hastalık öyküsü varlığı, serum Ca-125 düzeyi, tümör boyutu, cerrahi yaklaşım, histerektominin radikalliği, lenf nodu (LN) diseksiyonu ve ameliyat sonrası adjuvan tedavi kayıtları) elektronik tıbbi kayıtlardan elde edildi ve patolojik verileri patoloji bölümünden sağlandı. Scully ve 2014 DSÖ kriterlerine göre primer bağımsız senkron endometriyum ve yumurtalık kanserini metastatik kanserden teşhis etmek ve ayırt etmek için jinekopatologlar tarafından histopatolojik incelemeler yapıldı. Bu çalışmada 2014 yılına kadar başvuran hastalarda SEOC'ları MC'den ayırmak için Scully kriterleri kullanılmış olup, 2014 yılından sonra başvuran hastalarda hastaların ayırıcı tanısı DSÖ histopatolojik kriterlerine göre yapılmıştır. Bu raporda over ve endometriyal malignitelerin evrelerini belirlemek için FIGO 2009 sınıflandırma

sisteminden yararlanılmıştır. Ameliyat sonrası her hasta ilk 2 yıl 3 ayda bir, 2-5 yıl 6 ayda bir ve sonrasında yılda bir kez olmak üzere bölümümüzde takip edildi. Bu çalışmada kurumumuzda ameliyat olan ancak burada takip edilmeyen olgular çalışma dışı bırakıldı.

### 3.3.Sekanslama analizi

Hastaların formalinle sabitlenmiş parafine gömülü doku (FFPE) bloklarına Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Bölümünden temin edildi. FFPE bloklarından Promega ReliaPrep FFPE gDNA Miniprep System kiti kullanılarak DNA izole edildi. Yeni nesil dizileme yöntemi(YND) olan Illumina boyama temelli sekanslama yöntemi ile dizi analizi yapıldı. Illumina sekanslama yöntemi; çoğaltma, dizileme ve analiz basamaklarından oluşmaktadır. İlk olarak DNA'nın saflaştırılması ile başlandı, saflaştırılan DNA fragmentlere ayrıldı ve referans noktası görevi gören segmentleri içeren adaptörler bu fragmentlere eklendi. Bu ekleme nano kuyu adı verilen ortamlarda gerçekleştirildi. Fragmentlerin adaptörlere bağlandığından emin olduğunda "köprü yapılı çoğaltma" işlemi başlatıldı. Daha sonra, primerler ve modifiye edilmiş nükleotitler bu katı faza eklendi. Bu nükleotitler, tersinir bir 3'floresan blokerine sahiptir, bu nedenle DNA polimeraz, DNA fragmentlerine bir seferde yalnızca bir nükleotit eklemektedir. Her sentez aşamasından sonra, bir kamera katı fazın fotoğrafını çekildi. Floresan etiketin dalga boyu tarafından hangi bazın eklendiğini belirlendi ve katı faz üzerindeki her nokta için kayıt edildi. Her sentez aşamasından sonra, birleşmemiş fragmentler ortamdaki uzaklaştırıldı. Daha sonra 3 'floresan terminal blok grubunu çıkarmak için bir "kimyasal blok çözme" basamağı gerçekleştirildi. İşlem, tüm DNA molekülü dizilenene kadar devam edidi.

Örnekler Sophia homologous recombination solution DNA Kiti kullanılarak dizilendi. Panel genleri *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L*, *PALB2*, *PPP2R2A*, *TP53*'den oluşmaktadır. Data analizi Sophia DDM platformu ve in siliko araçlar (Franklin, ClinVar), ile yapıp varyantlar Amerikan Tıbbi Genetik Kurulu (American College of Medical Genetics, ACMG) kriterlerine göre sınıflandırıldı. Çalışmamızda tümör dokusunda VAF oranı %5 ve üzerinde olan değişiklikler değerlendirilmiştir.

### 3.4.İstatistiksel Analiz

Statistical Package for Social Sciences (SPSS), sürüm 22.0 (SPSS Inc. Chicago, USA) bilgisayar paket programı araştırma verilerinin istatistiksel analizleri için kullanıldı. Kategorik değişkenler için sayı, yüzde verilerek; sürekli değişkenler için ise ortalama  $\pm$  standart sapma ve ortanca değerleri ile sunuldu. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak değerlendirildi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırma analizlerinde Ki-kare testi kullanıldı.

Sağkalım hızları Kaplan-Meier yöntemiyle hesaplandı. Sağkalım üzerine benzer etki gösteren birbiri ile ilişkili parametrelerden modele klinik açıdan anlamlı olanlar seçildi. Sağkalımın tek değişkenli analizlerle incelenmesi Log rank testi ile yapıldı, çok değişkenli analizde, önceki analizlerde belirlenen olası faktörler kullanılarak sağkalımı öngörmedeki bağımsız etkenler Cox regresyon analizi kullanılarak incelendi. Bu çalışmada istatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmamıza senkron primer over ve endometrium kanseri tanısı olan 7 hasta dahil edildi. Hastalarımızın tanı anındaki yaş ortalaması 49 olup, demografik ve klinik özellikleri tablo4'te sunulmuştur. Hastalarımızın 4'ü hem over dokusunda hem de endometrium dokusunda endometriod tip histopatolojiye sahip iken, 3'ünde over ve endometriumda dokusunda nonendometriod tip özellik gösterdiği saptanmıştır (Tablo 5).

Tablo 4 :Hastaların demografik ve klinik bulguları

Hasta	n,(%)
<b>Yaş(med/min-max)</b>	49(38-64)
<b>Premenopozal dönem</b>	4(57.1)
<b>Postmenopozal dönem</b>	3(42.9)
<b>Nullipar/multipar</b>	3(42.9)/4(57.2)
<b>BMI(med/min-max)</b>	30(27-32)
<b>Başvuru semptomu</b>	
Anormal uterin kanama	2(28.6)
Pelvik ağrı	3(42.9)
Abdominal distansiyon	2(28.6)
<b>Ek hastalık öyküsü</b>	
Yok	3(42.9)
Diabetes mellitus(DM)	1(14.3)
Hipertansiyon(HT)	1(14.3)
DM+HT	1(14.3)
Malignite öyküsü	1(14.3)
<b>Ca-125 seviyesi(med/min-max)</b>	16(11-776)
<b>Preop.Biyopsi(+)/(-)</b>	2/5(28.6/71.4)
<b>LS/LT</b>	0/7(100)
<b>Lenfadenektomi(+)/(-)</b>	0/7(100)
<b>Malign sitoloji(+)/(-)</b>	1/6(14.3/85.7)
<b>Adjuvan tedavi</b>	
RT+KT	4(57.1)
KT	3(42.9)
<b>Rekkürens</b>	1(14.3)
<b>OS(med/min-max)</b>	101(61-128)
<b>RFS(med/min-max)</b>	101(13-128)
<b>Toplam</b>	<b>7</b>

Tablo 5: Hastaların histopatolojik bulguları

Endometrium histoloji	n(%)	End. Grade (n,%)	End. FIGO Evre(n,%)
Endometriod	6(85.7)	G1-2(28.6)	Ia-6(85.7)
Nonendometriod	1(14.3)	G2-4(57.1)	IIIc1-1(14.3)
Seröz	1(14.3)	G3-1(14.3)	
<b>MI</b>			
Sadece yüzeyel	2(28.6)		
<1/2	5(71.4)		
Servikal tutulum(+)/(-)	1/6(14.3/85.7)		
Endometrial LVSI(+)/(-)	1/6(14.3/85.7)		
Ovarian histoloji	n(%)	Ovaian grade(n,%)	Over FIGO Evre(n,%)
Endometriod	4(57.1)	G1-1(14.3)	Ia-4(57.1)
Nonendometrioid	3(42.9)	G2-3(42.9)	Ib-1(14.3)
Seröz	2(28.6)	G3-3(42.9)	IIIc-2(28.6)
Mixed	1(14.3)		
Ovarian LVSI(+)/(-)	2/5(28.6/71.4)		
Endometriozis(+)/(-)	4/3(57.1/42.9)		
<b>Toplam(hasta,n)</b>	<b>7</b>		

Sekanslama sonucuda; endometrium dokusunda; *ATM* geninde 21 tane (%48.8), *BARD1* geninde 5 tane(%11.6), *BRCA2* geninde 8 (%18.6), *BIRP1* geninde 2 tane(%4.6), *Tp53* geninde 3 tane(%6.9), *PALB2* geninde 2 tane(%4.6), *CHEK2* geninde 2 tane(%4.6) muhtemelen patojen (LP) ve patojen(P) mutasyon saptandı. Over dokusunda ise; *ATM* geninde 24 tane (%60), *BARD1* geninde 2 tane(%5), *BRCA2* geninde 6 tane(%15), *BIRP1* geninde 1 tane(%2.5), *RAD51D* geninde 1 tane(%2.5), *RAD54L* geninde 2 tane(%5) *Tp53* geninde 5 tane (%12.5) LP ve P mutasyon saptandı.

Hastalarımızın 4 ünde hem endometrium hem de over dokusunda endometriod tip tümör (EN-SEOC) histopatolojik olarak incelendiğinde vakaların hepsinde tümörün endometriumda myometrial dokuyu <1/2 invaze ettiği ve gradenin <2 olduğu, over dokusunda aynı şekilde gradenin <2 olduğu saptandı. Tümör dokularında dizileme sonuçlarında endometrium ve over dokusunda farklı mutasyonlar izlendi. Vaka başına değerlendirdiğimizde; AE kodlu vakamızda sadece over dokusunda *ATM*, *BRCA2* ve *TP53* genlerinde P ve LP mutasyon izlenirken (Tablo6); GK kodlu vakamızda over ve endometriumda *ATM* geninde farklı bölgelerinde P ve LP mutasyon (Tablo8); AN kodlu vakamızda sadece over dokusunda *ATM* geninde P ve LP mutasyon (Tablo10); SG kodlu vakamızda ise endometrium dokusunda *CHEK2* geninde, over dokusunda ise *ATM* geninde P ve LP mutasyon (Tablo 12) izlendi. EN-SEOC vakalarında, endometrium dokusunda *ATM* ve *CHEK2* genlerinde, over dokusunda *ATM*, *BRCA2* ve *TP53* genlerinde P ve LP mutasyon izlendi. EN-SEOC vakalarının hepsinde histopatolojik bulgulara ek olarak tümör dokularındaki dizi analizi sonucu tesbit edilen genlerdeki mutasyonlardaki farklılıklar da primerlerinin farklı olduğunu destekledi (Tablo20).

Vakalarımızın 2'sinde endometriumda endometriod tümör overinde ise seröz tip histoloji var iken, 1 inde ise hem endometrium hem de over dokusunda seröz tip tümör mevcuttu. Vakaların hepsinde tümör endometriumda myometrial invazyon derecesi  $<1/2$  iken, over dokusunda seröz histoloji olduğu için grade 3 idi. Bir vakada nüks izlenirken tüm vakaların 5 yılın üzerinde genel sağ kalım oranlarına sahip idi (Tablo21). Endometriumda endometriod tip, overinde seröz tip histolojik özellik gösteren 2 vakamızdan, SÇ kodlu olanda sadece over dokusunda *TP53* geninde P ve LP mutasyon izlenirken (Tablo 14), MA kodlu hastada ise endometriumda *CHECK2* geninde, over dokusunda ise *ATM* ve *TP53* geninde P ve LP mutasyon saptandı (Tablo16). Bu iki vakamızın farklı histolojik özelliklerin yanısıra genlerdeki mutasyonlarda SEOC tanısını destekledi. Over ve endometrium dokusunda seröz histoloji gösteren DU kodlu hastamızda enometrium ve overde *ATM*, *TP53* genlerinde ortak P ve LP mutasyon izlendi. Bu vakamızda endometriumda ek *BRC A2* geninde P ve LP mutasyon vardı. Bu hastamız seröz histoloji , grade 3 özellikte olmasına rağmen, metastatik olduğu düşünülse de beklenenin aksine iyi prognoz gösterdi (Tablo 18).

Tablo 6: AE hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	E	O
<i>ATM</i>	c.818_819insC	p.(Ser274Phefs*8)	NM_000051	5,8	PVS1, PM2	(-)	(+)
<i>BRCA2</i>	c.2141_2143delinsCAT	p.(Glu714_Gly715delinsAla*)	NM_000059	7,2	PVS1, PM2	(-)	(+)
<i>Tp53</i>	c.707A>G	p.(Tyr236Cys)	NM_000546	10,8	PM2, PM1, PP3, PM5, PP2, PP5	(-)	(+)
<p>49 yaşında, G3, P3                      Yapılan Operasyon: TAH+BSO+PPLND                      Tümörlerin histopatolojik Özellikleri: <b>Endometrium'da endometriod tip, Over'de endometriod tip</b>                      Adjuvan tedavi öyküsü: RT+KT  <b>OS:128 ay, DFS:128 ay</b></p>							

Kısaltmalar: TAH+BSO+PPLND(Total abdominal histerektomi+bilateral salpingooferektomi+pelvik ve paraaortik lenf nodu disseksiyonu), RT+KT (Radyoterapi+Kemoterapi), OS (Sağ kalım süresi), DFS (Rekürrensiz sağ kalım süresi)

*ATM* genindeki mutasyon, 11. kromozomda, 7. ekzonda, INDEL, frameshift mutasyon, ACMG kriterlerine göre PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan) ve PM2( patojenitesi için orta seviyeli kanıt) özellikler gösterir.

*BRCA2* genindeki mutasyon, 13. kromozomda, 11. ekzonda, INDEL, missense mutasyon, ACMG kriterlerine göre, PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan) ve PM2(patojenitesi için orta seviyeli kanıt) özellikler gösterir.

*Tp53* genindeki mutasyon,17. kromozomda, 7. ekzonda, SNP, missense mutasyon, ACMG kriterlerine göre, PPM1, PM2,PM5 ( patojenitesi için orta seviyeli kanıt), PP2, PP3, PP5 (Patojeniteyi destekleyen kanıtlar) özellikler gösterir.

Histopatolojik kriterleri SEOC kriterlerine uyan hastamızın genetik değişiklikleri SEOC olduğunu (over dokusunda saptanan mutasyonlar endometriumda izlenmemiştir) desteklemektedir.

Tablo 7: AE hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyant (*Variant of Uncertain Significance =VUS*) ların dağılımı

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
ATM	c.2639G>A	p.(Gly880Asp)	NM_000051	12	PM2, PP3	(+)	(+)
	c.825A>T	p.(Leu275Phe)	NM_000051	6	PM2	(+)	(+)
	c.832del	p.(Val278Serfs*42)	NM_000051	6,7	PM2	(+)	(-)
	c.818_819insC	p.(Ser274Phefs*8)	NM_000051	8,7	PM2	(+)	(-)
BRCA2	c.1659A>C	p.(Leu553Phe)	NM_000059	9,3/10	PM2	(+)	(+)
	c.1651_1652delinsTC	p.(Asp551Ser)	NM_000059	8,8/7,8	PM2	(+)	(+)
	c.2130_2132delinsCTT	p.(Cys711Phe)	NM_000059	7,7	PM2	(-)	(+)
	c.1644G>T	p.(Gln548His)	NM_000059	6,1/5	PM2	(+)	(+)
	c.103_104delinsAG	p.(Leu35Ser)	NM_000059	5	PM2, PM1	(-)	(+)
CHEK2	c.1585C>T	p.(Leu529Phe)	NM_001005735	14	PM2, PM1	(-)	(+)
	c.1193T>A	p.(Leu398Gln)	NM_001005735	11	PM2	(-)	(+)
PPP2R2A	c.803-2A>T	p.(?)	NM_002717	8	PM2, PVS1	(-)	(+)
RAD51B	c.1130G>A	p.(Cys377Tyr)	NM_133509	11/6,4	PM2, BP4	(+)	(+)
	c.1127T>C	p.(Met376Thr)	NM_133509	11	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1138_1142delinsGCCTG	p.(Thr380_Gln381delinsAlaTrp)	NM_133509	11	PM2	(-)	(+)
	c.1141C>T	p.(Gln381*)	NM_133509	11	PM2	(-)	(+)
	c.1082_1085delinsAAGC	p.(Pro361_Glu362delinsGlnAla)	NM_133509	11	PM2	(-)	(+)
	c.1139C>T	p.(Thr380Ile)	NM_133509	11	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1082_1085delinsAAGT	p.(Pro361_Glu362delinsGlnVal)	NM_133509	11	PM2	(-)	(+)
	c.1094C>T	p.(Pro365Leu)	NM_133509	11	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1108G>A	p.(Glu370Lys)	NM_133509	7,2	PM2	(+)	(-)
	c.1141_1142delinsTG	p.(Gln381Trp)	NM_133509	8,8	PM2	(+)	(-)
	c.1155A>T	p.(*385Tyrext*?)	NM_133509	7	PM2, PM4	(+)	(-)
RAD54L	c.1304A>G	p.(Glu435Gly)	NM_001142548	13	PM2	(-)	(+)
TP53	c.1146del	p.(Lys382Asnfs*?)	NM_000546	11	PM2, PVS1	(-)	(+)

Tablo 8: GK hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
<i>ATM</i>	c.818_819insC	p.(Ser274Phefs*8)	NM_000051	7	PVS1, PM2	(+)	(-)
	c.1236-2A>T	p.(?)	NM_000051	6	PVS1, PP5, PM2	(-)	(+)
49 yaşında, G0, P0 Yapılan Operasyon: TAH+BSO+PPLND Tümörlerin histopatolojik Özellikleri: <b>Endometrium'da endometriod tip, Over'de endometriod tip</b> Adjuvan tedavi öyküsü: KT <b>OS:114 ay, DFS:114 ay.</b>							

Kısaltmalar: TAH+BSO+PPLND(Total abdominal histerektomi+bilateral salpingooferektomi+pelvik ve paraaortik lenf nodu disseksiyonu), KT (Kemoterapi), OS (Sağ kalım süresi), DFS (Rekürrensiz sağ kalım süresi)

- 38 *ATM* genindeki mutasyon (c.818\_819insC), 11. kromozomda, 7. ekzonda, INDEL, frameshift mutasyon, ACMG kriterlerine göre PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan) ve PM2 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt) özellikler gösterir.
- ATM* genindeki mutasyon c.1236-2A>T, 11. kromozomda, 10. ekzonda, SNP, missense mutasyon, ACMG kriterlerine göre, PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan), PM2 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt) ve PP5 (Patojeniteyi destekleyen kanıtlar) özellikler gösterir. Histopatolojik kriterleri SEOC kriterlerine uyan hastamızın genetik değişiklikleri SEOC olduğunu desteklenmektedir.

Tablo 9: GK hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyantın (*Variant of Uncertain Significance, VUS*) ların dağılımı.

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
<i>ATM</i>	c.3408T>A	p.(His1136Gln)	NM_000051	6,6	PM2, BP4	(-)	(+)
<i>BRCA2</i>	c.1651_1652delinsTC	p.(Asp551Ser)	NM_000059	9,1/13,5	PM2	(+)	(+)
	c.1644G>T	p.(Gln548His)	NM_000059	7,6/11,4	PM2	(+)	(+)
	c.103_104delinsAG	p.(Leu35Ser)	NM_000059	5,2	PM2, PM1	(+)	(-)
	c.1659A>C	p.(Leu553Phe)	NM_000059	14/14	PM2	(+)	(+)
<i>RAD51B</i>	c.1141_1142delinsTG	p.(Gln381Trp)	NM_133509	9,9/5,5	PM2	(+)	(+)
	c.1130G>A	p.(Cys377Tyr)	NM_133509	9,4	PM2, BP4	(+)	(-)
	c.1127T>C	p.(Met376Thr)	NM_133509	8,9/9,9	PM2, BP4	(+)	(+)
	c.1107_1111delinsCAAGT	p.(Glu370_Gln371delinsLys*)	NM_133509	5,6/5,2	PM2	(+)	(+)
	c.1137_1138delinsCG	p.(Thr380Ala)	NM_133509	5	PM2	(+)	(-)
	c.1082_1085delinsAAGC	p.(Pro361_Glu362delinsGlnAla)	NM_133509	5,5	PM2	(-)	(+)
	c.1129_1130delinsCA	p.(Cys377His)	NM_133509	11,6	PM2	(-)	(+)
	c.1155A>T	p.(*385Tyrext*?)	NM_133509	8,2	PM2, PM4	(-)	(+)
	c.1128G>A	p.(Met376Ile)	NM_133509	7,8	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1138_1142delinsGCCTG	p.(Thr380_Gln381delinsAlaTrp)	NM_133509	5,8	PM2	(-)	(+)
	c.1107_1108delinsCA	p.(Glu370Lys)	NM_133509	5,2	PM2	(-)	(+)
	c.1152_1153del	p.(Phe384Leufs*?)	NM_133509	5,1	PM2	(-)	(+)

Tablo 10: AN hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
<i>ATM</i>	c.832del	p.(Val278Serfs*42)	NM_000051	4	PVS1, PM2	(-)	(+)
	c.818_819insC	p.(Ser274Phefs*8)	NM_000051	4,3	PVS1, PM2	(-)	(+)
47 yaşında, G1, P0 <b>Yapılan Operasyon:</b> TAH+BSO+PPLND Tümörlerin histopatolojik Özellikleri: <b>Endometrium'da endometriod tip, Over'de endometriod tip</b> Adjuvan tedavi öyküsü: RT+KT <b>OS:65 ay, DFS:65 ay.</b>							

Kısaltmalar: TAH+BSO+PPLND(Total abdominal histerektomi+bilateral salpingooferektomi+pelvik ve paraaortik lenf nodu disseksiyonu), RT+KT (Radyoterapi+Kemoterapi), OS (Sağ kalım süresi), DFS (Rekürrensiz sağ kalım süresi)

*ATM* genindeki mutasyon (c.818\_819insC, c.832de), 11. kromozomda, 7. ekzonda , INDEL, frameshift mutasyon, ACMG kriterlerine göre PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan) ve PM2( patojenitesi için orta seviyeli kanıt) özellikler gösterir.

Histopatolojik kriterlere göre SEOC kabul edilen hastamızın genetik değişiklikleri de bunu durumu desteklenmektedir.

Tablo 11: AN hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyantın (*Variant of Uncertain Significance, VUS*) ların dağılımı.

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
BRCA2	c.1659A>C	p.(Leu553Phe)	NM_000059	6,2/7	PM2	(+)	(+)
	c.1651_1652delinsTC	p.(Asp551Ser)	NM_000059	7,4	PM2	(+)	(-)
	c.1644G>T	p.(Gln548His)	NM_000059	5,6	PM2	(+)	(-)
BRIP1	c.3039_3040delinsCA	p.(Gly1014Ser)	NM_032043	19,6/17,7	PM2	(+)	(+)
	c.3029A>G	p.(Gln1010Arg)	NM_032043	8,4/8,5	PM2, BP4	(+)	(+)
	c.454_457delinsCATC	p.(Asp152_Asp153delinsHisHis)	NM_032043	6,8	PM2	(+)	(-)
CDK12	c.2688_2691delinsAATG	p.(Ile897Met)	NM_015083	5	PM2	(+)	(-)
CHEK2	c.1245_1246delinsTG	p.(Lys416Glu)	NM_001005735	6,9	PM2, PM4	(+)	(-)
RAD51B	c.1111C>T	p.(Gln371*)	NM_133509	16,7/15,4	PM2	(+)	(+)
	c.1153_1154delinsGT	p.(*385Valex*?)	NM_133509	12,6/14	PM2, PM4	(+)	(+)
	c.1125_1126insGC	p.(Met376Alafs*8)	NM_133509	12,1/10,3	PM2	(+)	(+)
	c.1138A>G	p.(Thr380Ala)	NM_133509	10,8/11,6	PM2, BP4	(+)	(+)
	c.1130G>A	p.(Cys377Tyr)	NM_133509	7,4	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1107_1108delinsCA	p.(Glu370Lys)	NM_133509	6,8	PM2	(-)	(+)
	c.1154_1155delinsTT	p.(*385Pheext*?)	NM_133509	6,7	PM2, PM4	(-)	(+)
	c.1126A>G	p.(Met376Val)	NM_133509	6,5/9,2	PM2, BP4	(+)	(+)
	c.1141_1142delinsTG	p.(Gln381Trp)	NM_133509	10,1	PM2	(+)	(-)
	c.1128G>A	p.(Met376Ile)	NM_133509	7,1	PM2, BP4	(+)	(-)
	c.1154A>T	p.(*385Leuext*?)	NM_133509	7	PM2, PM4	(+)	(-)
	c.1126_1127delinsGC	p.(Met376Ala)	NM_133509	5,3	PM2	(+)	(-)
	c.1142A>G	p.(Gln381Arg)	NM_133509	5	PM2, PM4	(+)	(-)

Tablo 12: SG hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
<i>ATM</i>	c.818_819insC	p.(Ser274Phefs*8)	NM_000051	6,2	PVS1, PM2	(-)	(+)
	c.832del	p.(Val278Serfs*42)	NM_000051	5,6	PVS1, PM2	(-)	(+)
<i>CHEK2</i>	c.1549C>T	p.(Arg517Cys)	NM_001005735	6,5	PM2, PM5, PM1, PP3	(+)	(-)
38 yaşında, G0, P0 Yapılan Operasyon: TAH+BSO+PPLND Tümörlerin histopatolojik Özellikleri: <b>Endometrium'da endometriod tip, Over'de endometriod tip</b> Adjuvan tedavi öyküsü: RT+KT <b>OS:121 ay, DFS:121 ay.</b>							

Kısaltmalar: TAH+BSO+PPLND(Total abdominal histerektomi+bilateral salpingooferektomi+pelvik ve paraaortik lenf nodu disseksiyonu), RT+KT (Radyoterapi+Kemoterapi), OS (Sağ kalım süresi), DFS (Rekürrensiz sağ kalım süresi)

*ATM* genindeki mutasyon (c.818\_819insC ve c.832del ), 11. kromozomda, 7. ekzonda , INDEL, frameshift mutasyon, ACMG kriterlerine göre PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan) ve PM2 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt) özellikler gösterir.

*CHEK2* genindeki mutasyon (c.1549C>T) 22. kromozomda, 5. ekzonda, SNP, missense mutasyon, ACMG kriterlerine göre, PM1,PM2, PM5 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt) ve PP3 (Patojeniteyi destekleyen kanıtlar) özellikler gösterir. Herediter kanser sendromlarında, ailesel meme kanseri, kolon kanseri, akciğer ve prostat kanserinde bu mutasyon izlenmiş.

Histopatolojik kriterleri SEOC kriterlerine uyan hastamızın genetik değişiklikleri bu durumu desteklenmektedir.

Tablo 13: SG hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyantın (*Variant of Uncertain Significance, VUS*) ların dağılımı.

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
<i>ATM</i>	c.825A>T	p.(Leu275Phe)	NM_000051	6,2	PM2	(-)	(+)
<i>BRCA2</i>	c.7977-123_7977-2dup	p.(?)	NM_000059	35,6		(+)	(-)
	c.1651_1652delinsTC	p.(Asp551Ser)	NM_000059	9,8/6	PM2	(+)	(-)
	c.1659A>C	p.(Leu553Phe)	NM_000059	9,6/5,6	PM2	(+)	(+)
	c.1644G>T	p.(Gln548His)	NM_000059	7,9	PM2	(+)	(-)
	c.8639C>A	p.(Thr2880Lys)	NM_000059	5	PM2	(+)	(-)
<i>BRIP1</i>	c.3039_3040delinsCA	p.(Gly1014Ser)	NM_032043	17,1	PM2	(-)	(+)
	c.3029A>G	p.(Gln1010Arg)	NM_032043	8	PM2, BP4	(-)	(+)
<i>RAD51B</i>	c.1126A>C	p.(Met376Leu)	NM_133509	25,8/8,2	PM2, BP4	(+)	(-)
	c.1107_1108delinsCA	p.(Glu370Lys)	NM_133509	9,4	PM2	(+)	(-)
	c.1129_1130delinsCA	p.(Cys377His)	NM_133509	8,8	PM2	(+)	(-)
	c.1141C>T	p.(Gln381*)	NM_133509	7	PM2	(+)	(-)
	c.1127T>C	p.(Met376Thr)	NM_133509	6,7	PM2, BP4	(+)	(-)
	c.1155A>T	p.(*385Tyrext*?)	NM_133509	5,8/5,9	PM2, PM4	(+)	(+)
	c.1138_1142delinsGCCTG	p.(Thr380_Gln381delinsAlaTrp)	NM_133509	5	PM2	(+)	(-)
	c.1111C>T	p.(Gln371*)	NM_133509	16,5	PM2	(-)	(+)
	c.1153_1154delinsGT	p.(*385Valext*?)	NM_133509	12	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1138A>G	p.(Thr380Ala)	NM_133509	11,4	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1125_1126insGC	p.(Met376Alafs*8)	NM_133509	9,9	PM2	(-)	(+)
	c.1126A>G	p.(Met376Val)	NM_133509	9,8	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1141_1142delinsTG	p.(Gln381Trp)	NM_133509	8,5	PM2	(-)	(+)
	c.1108G>A	p.(Glu370Lys)	NM_133509	7,4	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1154A>T	p.(*385Leuext*?)	NM_133509	6,6	PM2, BP4	(-)	(+)

Tablo 14: SÇ hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
TP53	c.859G>T	p.(Glu287*)	NM_000546	10.1	PVS1, PM2	(-)	(+)
	c.532del	p.(His178Thrs*69)	NM_000546	7,6	PVS1, PM2, PP5	(-)	(+)
64 yaşında, G4, P3 Yapılan Operasyon: TAH+BSO+PPLND Tümörlerin histopatolojik Özellikleri: <b>Endometrium'da endometriod tip, Over'de seröz tip</b> Adjuvan tedavi öyküsü: KT <b>OS:70 ay, DFS:70 ay.</b>							

Kısaltmalar: TAH+BSO+PPLND(Total abdominal histerektomi+bilateral salpingooferektomi+pelvik ve paraaortik lenf nodu disseksiyonu), KT (Kemoterapi), OS (Sağ kalım süresi), DFS (Rekürrensiz sağ kalım süresi)

4 **TP53** genindeki c.859G>T mutasyon ,17. kromozomda, 8. ekzonda, SNP, nonsense mutasyon, ACMG kriterlerine göre, PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan) ve PM2( patojenitesi için orta seviyeli kanıt) özellikler gösterir

**TP53** genindeki c.532del mutasyon ,17. kromozomda, 5. ekzonda, INDEL, frameshift mutasyon, ACMG kriterlerine göre, PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan), PM2 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt), PP5 (Patojeniteyi destekleyen kanıtlar) özellikler gösterir

Histopatolojik kriterleri SEOC kriterlerine uyan hastamızın genetik değişiklikleri bu durumu desteklenmektedir.

Tablo 15: SÇ hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyantın (*Variant of Uncertain Significance, VUS*) ların dağılımı.

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
<i>BRCA2</i>	c.793+242_1910-166del	p.(?)	NM_000059	17,3		(-)	(+)
	c.1651_1652delinsTC	p.(Asp551Ser)	NM_000059	6,5	PM2	(+)	(-)
	c.1644G>T	p.(Gln548His)	NM_000059	5,8	PM2	(+)	(-)
	c.1659A>C	p.(Leu553Phe)	NM_000059	5,3	PM2	(+)	(-)
<i>BIRP1</i>	c.3039_3040delinsCA	p.(Gly1014Ser)	NM_032043	12,3	PM2	(-)	(+)
	c.3029A>G	p.(Gln1010Arg)	NM_032043	5,2	PM2, BP4	(-)	(+)
<i>RAD51B</i>	c.1111C>T	p.(Gln371*)	NM_133509	12,7	PM2	(-)	(+)
	c.1138A>G	p.(Thr380Ala)	NM_133509	11,6	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1153_1154delinsGT	p.(*385Valex*?)	NM_133509	10,3	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1126A>G	p.(Met376Val)	NM_133509	8,9	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1125_1126insGC	p.(Met376Alafs*8)	NM_133509	7,3	PM2	(-)	(+)
	c.1154A>T	p.(*385Leuext*?)	NM_133509	6,5	PM2, PM4	(-)	(+)
	c.1107_1108delinsCA	p.(Glu370Lys)	NM_133509	6,4	PM2	(-)	(+)
	c.1141_1142delinsTG	p.(Gln381Trp)	NM_133509	5,9	PM2	(-)	(+)
	c.1127T>C	p.(Met376Thr)	NM_133509	5,3	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1130G>A	p.(Cys377Tyr)	NM_133509	6,4	PM2, BP4	(+)	(-)
	c.1107_1111delinsCAAGT	p.(Glu370_Gln371delinsLys*)	NM_133509	5,9	PM2	(+)	(-)
	c.1155A>T	p.(*385Tyrext*?)	NM_133509	5,2	PM2, PM4	(+)	(-)

Tablo 16: MA hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
<i>ATM</i>	c.818_819insC	p.(Ser274Phefs*8)	NM_000051	5,2	PVS1, PM2	(-)	(+)
<i>CHEK2</i>	c.721+1G>A	p.(?)	NM_001005735	5,4	PVS1, PM2, PP5	(+)	(-)
<i>TP53</i>	c.641A>G	p.(His214Arg)	NM_000546	59,8	PS3, PM2, PM1, PP3, PM5, PP2, PP5, PS4	(-)	(+)
64 yaşında, G10, P5 Yapılan Operasyon: TAH+BSO+PPLND Tümörlerin histopatolojik Özellikleri: <b>Endometrium'da endometriod tip, Over'de seröz tip</b> Adjuvan tedavi öyküsü: RT+KT <b>OS:61ay, DFS:13 ay</b> ( Karaciğer metastazı var, cerrahi rezeksiyon ve arkasından KT almış)							

Kısıltmalar: TAH+BSO+PPLND(Total abdominal histerektomi+bilateral salpingooferektomi+pelvik ve paraaortik lenf nodu disseksiyonu), RT+KT (Radyoterapi+Kemoterapi), OS (Sağ kalım süresi), DFS (Rekürrensiz sağ kalım süresi)

46

*ATM* genindeki mutasyon (c.818\_819insC), 11. kromozomda, 7. ekzonda, INDEL, frameshift mutasyon, ACMG kriterlerine göre PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan) ve PM2 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt) özellikler gösterir.

*CHEK2* genindeki mutasyon (c.721+1G>A,) 22. kromozomda, 5. ekzonda, SNP, ACMG kriterlerine göre, PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan), PM2 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt) ve PP5 (Patojeniteyi destekleyen kanıtlar) özellikler gösterir.

*TP53* genindeki mutasyon,17. kromozomda, 6. ekzonda, SNP, missense mutasyon, ACMG kriterlerine göre, PS3, PS4 (patojenitesi için yüksek kanıt olan), PPM1, PM2,PM5 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt), PP2, PP3, PP5 (Patojeniteyi destekleyen kanıtlar) özellikler gösterir

Histopatolojik kriterleri SEOC kriterlerine uyan hastamızın genetik değişiklikleri de bu durumu desteklenmektedir.

Tablo 17: MA hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyantın (*Variant of Uncertain Significance, VUS*) ların dağılımı.

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
<i>ATM</i>	c.825A>T	p.(Leu275Phe)	NM_000051	6,5	PM2	(-)	(+)
<i>BRCA2</i>	c.1651_1652delinsTC	p.(Asp551Ser)	NM_000059	5,8/5	PM2	(+)	(+)
	c.1659A>C	p.(Leu553Phe)	NM_000059	5,4	PM2	(+)	(-)
<i>BIRP1</i>	c.3039_3040delinsCA	p.(Gly1014Ser)	NM_032043	15,8	PM2	(+)	(-)
	c.3029A>G	p.(Gln1010Arg)	NM_032043	8,4	PM2, PM4	(+)	(-)
<i>CHEK2</i>	c.1549C>T	p.(Arg517Cys)	NM_001005735	5,8	PM2, PM5, PM1, PP3	(-)	(+)
<i>RAD51B</i>	c.1141_1142delinsTG	p.(Gln381Trp)	NM_133509	9/6,9	PM2	(+)	(+)
	c.1127_1128delinsCA	p.(Met376Thr)	NM_133509	7,6/7,3	PM2	(+)	(+)
	c.1129T>C	p.(Cys377Arg)	NM_133509	7,3	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1138A>G	p.(Thr380Ala)	NM_133509	13,5	PM2, BP4	(+)	(-)
	c.1111C>T	p.(Gln371*)	NM_133509	13,4	PM2	(+)	(-)
	c.1153_1154delinsGT	p.(*385Valex*?)	NM_133509	12,5	PM2, PM4	(+)	(-)
	c.1125_1126insGC	p.(Met376Alafs*8)	NM_133509	11,5	PM2	(+)	(-)
	c.1126A>G	p.(Met376Val)	NM_133509	8,4	PM2, BP4	(+)	(-)

Tablo 18: DU hastasının klinikopatolojik bulguları ve tümör dokularında saptanan muhtemelen patojen (LP) ve patojen variantların (P) dağılımı

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
	c.818_819insC	p.(Ser274Phefs*8)	NM_000051	6,4/8,3	PVS1, PM2	(+)	(+)
<i>ATM</i>	c.832del	p.(Val278Serfs*42)	NM_000051	5,2/7	PVS1PM2	(+)	(+)
<i>BRCA2</i>	c.2141_2143delinsCAT	p.(Glu714_Gly715delinsAla*)	NM_000059	5,3	PVS1, PM2	(+)	(-)
<i>TP53</i>	c.859G>T	p.(Glu287*)	NM_000546	69,6/22,4	PVS1, PM2	(+)	(+)
57 yaşında, G4, P3 Yapılan Operasyon: TAH+BSO+PPLND Tümörlerin histopatolojik Özellikleri: <b>Endometrium'da seröz tip, Over'de seröz tip</b> Adjuvan tedavi öyküsü: KT <b>OS:101 ay, DFS:101ay.</b>							

Kısıltmalar: TAH+BSO+PPLND(Total abdominal histerektomi+bilateral salpingooferektomi+pelvik ve paraaortik lenf nodu disseksiyonu), KT (Radyoterapi+Kemoterapi), OS (Sağ kalım süresi), DFS (Rekürrensiz sağ kalım süresi)

*ATM* genindeki mutasyon (c.832del , c.818\_819insC), 11. kromozomda, INDEL, frameshift mutasyon, ACMG kriterlerine göre PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan) ve PM2 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt) özellikler gösterir.

*BRCA2* genindeki mutasyon, 13. kromozomda, 11. ekzonda , INDEL, missense mutasyon, ACMG kriterlerine göre, PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan) ve PM2 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt) özellikler gösterir.

*Tp53* genindeki mutasyon,17. kromozomda, 7. ekzonda, SNP, nonsense mutasyon, ACMG kriterlerine göre PVS1 (patojenitesi için yüksek kanıt olan) ve PM2 (patojenitesi için orta seviyeli kanıt) özellikler gösterir.

Histopatolojik kriterleri SEOC kriterlerine uysada hastamızdaki genetik değişikliklerle ( over ve endometrium dokusunda saptanan ortak mutasyonlar nedeniyle) desteklenmemektedir.

Tablo 19: DU hastasının tümör dokularında saptanan belirsiz öneme sahip varyantın (*Variant of Uncertain Significance, VUS*) ların dağılımı

Gen	cDNA	Protein	Referans Dizi	Varyant Saptanma oranı (ALT/REF)	ACMG Kriterlerine Göre Değerlendirme	Endometrium	Over
<i>ATM</i>	c.825A>T	p.(Leu275Phe)	NM_000051	8,2/6,5	PM2	(+)	(+)
<i>BRCA2</i>	c.9370_9383delinsCT	p.(Asn3124_Arg3128delinsLeu)	NM_000059	60,1/69,7	PM2, PM4, PM1	(+)	(+)
	c.1651_1652delinsTC	p.(Asp551Ser)	NM_000059	8,1/6,3	PM2	(+)	(+)
	c.1659A>C	p.(Leu553Phe)	NM_000059	6,5	PM2	(+)	(-)
	c.1644G>T	p.(Gln548His)	NM_000059	6,2	PM2	(+)	(-)
	c.2130_2132delinsCTT	p.(Cys711Phe)	NM_000059	5	PM2	(+)	(-)
<i>BIRP1</i>	c.3039_3040delinsCA	p.(Gly1014Ser)	NM_032043	16,7/15,5	PM2	(+)	(+)
	c.454_457delinsCATC	p.(Asp152_Asp153delinsHisHis)	NM_032043	7,1	PM2	(+)	(-)
	c.3029A>G	p.(Gln1010Arg)	NM_032043	7/6,4	PM2, BP4	(+)	(+)
<i>CDK12</i>	c.2688_2691delinsAATG	p.(Ile897Met)	NM_015083	6,2	PM2	(+)	(-)
<i>RAD51B</i>	c.1111C>T	p.(Gln371*)	NM_133509	13,1/16,1	PM2	(+)	(-)
	c.1153_1154delinsGT	p.(*385Valex*?)	NM_133509	12,4/12,7	PM2, PM4	(+)	(-)
	c.1138A>G	p.(Thr380Ala)	NM_133509	12,2/16,2	PM2, PM4	(+)	(-)
	c.1125_1126insGC	p.(Met376Alafs*8)	NM_133509	12,1/14,1	PM2	(+)	(-)
	c.1126A>G	p.(Met376Val)	NM_133509	10,1	PM2, PM4	(+)	(-)
	c.1129T>C	p.(Cys377Arg)	NM_133509	9	PM2, PM4	(+)	(-)
	c.1130G>A	p.(Cys377Tyr)	NM_133509	7,2	PM2, BP4	(+)	(-)
	c.1128G>A	p.(Met376Ile)	NM_133509	6,2	PM2, BP4	(+)	(-)
	c.1154A>T	p.(*385Leuext*?)	NM_133509	5,6/10,1	PM2, BP4	(+)	(+)
	c.1142A>G	p.(Gln381Arg)	NM_133509	12,6	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1126A>G	p.(Met376Val)	NM_133509	12	PM2, BP4	(-)	(+)
	c.1141C>T	p.(Gln381*)	NM_133509	9,8	PM2	(-)	(+)
	c.1155A>T	p.(*385Tyrext*?)	NM_133509	6,8	PM2, PM4	(-)	(+)
<i>PPP2R2A</i>	c.803-2A>T	p.(?)	NM_002717	8,7	PM2, PVS1	(-)	(+)

Tablo 20: Overde ve endometriumda endometriod tip tümör histolojisi olan hastaların klinik bulguları ile birlikte DNA dizi analizi sonuçları

	<b>AN</b>	<b>AE</b>	<b>GK</b>	<b>SG</b>
Yaş	47	49	49	38
Ca-125(IU/ml)	16	12	11	90
Endometrium Grade	2	2	2	2
MI	<1/2	<1/2	Sadece endometrium	<1/2
Endometrial hiperplaziler/polip	-/-	-/-	-/+	-/-
Endometrium mutasyon	-	-	<i>ATM</i> <sup>1</sup>	<i>CHEK2</i>
Over grade	2	1	2	2
Ovarian endometriozis	(+)	(+)	(+)	(+)
Ovarian mutasyon	<i>ATM</i>	<i>ATM</i> <i>BRCA2</i> <i>TP53</i>	<i>ATM</i> <sup>1</sup>	<i>ATM</i>
Adjuvan tedavi	RT+KT	RT+KT	KT	RT+KT
Rekkurens	-	-	-	-
Ölüm	-	-	-	-
OS	65	128	114	121
RFS	65	128	114	121

<sup>1</sup>Endometrium ve over dokusundaki aynı gendeki farklı mutasyonlar

Tablo 21: Overde ve endometriumda nonendometriod tip tümör histolojisi olan hastaların klinik bulguları ile birlikte DNA dizi analizi sonuçları

	<b>MA<sup>‡</sup></b>	<b>DU*</b>	<b>SÇ<sup>‡</sup></b>
Yaş	64	57	64
Ca-125(IU/ml)	776	14	361
Endometrium Grade	1	3	1
MI	<1/2	<1/2	Sadece endometrium
Endometrial hiperplaziler/polip	-/-	-/-	-/+
Endometrium mutasyon	<i>CHEK2</i>	<i>ATM</i> <sup>2</sup> <i>TP53</i> <sup>2</sup> <i>BRCA2</i>	-
Over grade	3	3	3
Ovarian endometriozis	(+)	(+)	(+)
Ovarian mutasyon	<i>ATM</i> <i>TP53</i>	<i>ATM</i> <sup>2</sup> <i>TP53</i> <sup>2</sup>	<i>TP53</i>
Adjuvan tedavi	RT+KT	KT	KT
Rekkurens	Karaciğer	-	-
Ölüm	-	-	-
OS	65	101	70
RFS	13	101	70

<sup>2</sup> Endometrium ve Overde aynı genindeki aynı mutasyonlar \*Endometrium ve Overde aynı histoloji (seröz)

<sup>‡</sup>Endometrium ve Overde farklı histoloji (endometrium endometriod, overde seröz)

## 5. TARTIŞMA

Endometrium ve overi eşzamanlı olarak tutan karsinomların bağımsız primer tümörler (SEOC) mi yoksa over veya endometriumun metastazı karsinomlar mı olup olmadığını klinik ve histopatolojik kriterleri kullanarak belirlemek çoğu zaman zordur. Senkron endometrium ve over kanser tanısı için histolojik kriterler ilk olarak Scully ve arkadaşları tarafından önerildi ve Ulbright ve Roth tarafından 1985’de güncellendi (33,34). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2014’de, SEOC’leri evrelemek için yeni bir sınıflandırma kriterleri önerdi. Bizim çalışmamızda 2014 yılı öncesi başvuran vakalar Scully kriterlerine, 2014 sonrası vakalar ise DSÖ kriterlerine göre SEOC tanısı konuldu. Turashvili ve ark, klinik ve histopatolojik özellikleri kullanarak düşük ve yüksek riskli hasta gruplarını belirlemişlerdi (94). Over ve endometriumun metastatik tümörleri ile SEOC’lerinin prognozları farklılıklar göstermektedir (27,34). Bu nedenle SEOC’lerinin doğru tanı konulması için hem histopatolojik hemde genetik değişiklikler değerlendirilmesi ve hastalara uygun tedavilerin uygulanması önerilmektedir.

Bu çalışmada SEOC tanısı alan ve 5 yıl takip edilen 7 hastada HRD gen paneli kullanılarak over ve endometrium tümör dokuları incelenmiş, VUS, patojenik ve muhtemelen patojenik olan varyasyonları belirlenerek önceki SEOC tanısı ve prognoz açısından bulgular değerlendirilmiştir.

Eş zamanlı endometrial ve over tümörleri üzerine yapılan ilk genetik çalışmalarda, heterozigotluk kaybı, ploidi, mikrosatellit kararsızlığı ve tek gen mutasyonları analizleri kullanılmıştır (95-98). Bu çalışmalarda, eşzamanlı endometrial ve over tümörlerinde ortak genetik değişikliklerin bulunmamasının, tümörlerin her bölgedeki bağımsız patogenezi gösterdiği ve bunların SEOC olduğu kavramını desteklediği düşünüldü. Bununla birlikte, kullanılan analizler genomun sınırlı bir kısmına odaklandığından, endometriyal ve over tümörlerinin en azından bazılarında ortak değişiklikler bu çalışmalarda tespit edilmemiş olabilmektedir.

Yakın zamanda yapılan iki genomik çalışma, SEOC’ler olarak sınıflandırılan sporadik endometrioid tümörlerin sıklıkla klonal olarak ilişkili olduğunu tanımlamıştır (37,38). Schultheis ve ark, 22 tane endometrioid tip SEOC vakaların yüksek derinlikli, massif paralel dizilimi ile analiz ederek bu vakalarda klonal ilişki olduğu saptamışlardır. Sadece bir Lynch Sendromu vakasında, endometrioid tip endometrium (EEC) ve

endometriod tip over (EOC) kanserinin ortak somatik mutasyonları olmayan bağımsız kanserler olduğunu belirlemişlerdir (37). Anglesio ve ark; eş zamanlı endometrium ve over kanseri olan 18 hastada klonalite analizi yaptılar. Bu vakaların 11'inin histopatolojik kriterlere göre primer SEOC özellikleri gösterdiği ve bu 11 vakanın 10'unda aynı klonalite özelliği paylaştığını belirlemişlerdir. Bu vakaların ayrı primer SEOC olmadığı ve metastatik endometrium ve over kanseri olgular olduğunu düşündüler. Anglesio ve ark.'ları bu primer SEOC'lar düşünülüp, hem endometrium hemde over dokusundaki aynı genetik özellik gösteren tümörler için metastaz hücrelerinin saptanması olayını; fiziksel erişebilirlik ve mikro ortamla uyumlu alanlarda sınırlı olabilme, ancak daha fazla metastaz kapasitesi olmadan hareketsiz kalabilme şeklinde yorumladılar. Dizileme sonucunda endometrium ve over dokusunda en sık izlenen ortak mutasyonun *PTEN* (9 vakada 14 değişiklik) ve *CTNNB1* (9 vakada 9 değişiklik) genlerinde izlendiğini raporlamışlardır (38).

Chao ve ark, 14 tane endometrioid tip ve iki tane farklı histolojik tipe sahip SEOC vakasını, masif paralel dizileme ve mikrodizileme (microarray) ile incelemiştir. Farklı histolojik özellikleri olan bu hastalarda endometrium dokusunda endometriod tip, overde ise bir vakada seröz tip, diğerinde ise berrak hücreli(clear cell) tip histolojik özellik gösteriyordu. Hastaların yaş ortalaması 44 idi. Endometrioid tip SEOC 14 olgunun 13'ü, hem endometrium hem de overdeki lezyonları tarafından paylaşılan ortak somatik mutasyonları olup, birbirine çok yakın yüksek klonalite endekslerine sahipti ve klonal olarak ilişkili kabul edildi. Aynı paylaşılan somatik mutasyonlar arasında bulunan en yaygın genler *PIK3CA*, *PTEN*, *CTNNB1* ve *ARID1A* idi. Genomik analizlerle belirlenen klonal ilişki, 14 olgunun 11'inde klinikopatolojik kriterlerle uyumlu değildi. Farklı histopatolojik özellik gösteren iki vaka da somatik hotspot mutasyonları paylaşmıyordu ve ikili primer tümör olarak kabul edildi. Berrak hücreli tip histolojisine sahip olguda *ARID1A* ve *PIK3CA* geninde mutasyon tespit edildi ve bu bulgu berrak hücreli karsinom için literatür bilgisi ile uyumluydu. Adjuvan kemoterapi almayan ve nüks hastalık yaşamayan 4 hastada hem over hem de endometriyal karsinomlarda minimal CNA'lar (kopya sayı değişiklikleri) tanımlandı. Buna karşılık, kromozomal olarak stabil olmayan kanserleri olan 10 hastadan ikisinde tekrarlayan tümörler gelişti. Chao ve ark.'ları, SEOC'ların tek bir tümörden kaynaklandığı konseptini destekler bulguları yanısıra, CNA'ların değerlendirilmesinin adjuvan tedavi ihtiyacını belirlenmesinde yardımcı olabileceği göstermiştir (40).

Over ve endometriumun endometrioid karsinomlarının her ikisinin de *PTEN*, *PIK3CA*, *ARID1A*, *PPP2R1A* ve *CTNNB1* ( $\beta$ -*katenin*) mutasyonları daha önce yapılan çalışmalarda tanımlanmıştır, ancak mutasyonların sıklığı bu tümör tiplerinde farklılık gösterdiği de bildirilmektedir (99,100). Overin ve endometriumun endometrioid karsinomları birçok ortak histolojik ve moleküler değişikliği paylaşmaktadır. Bu benzerlikler her iki kanserin muhtemelen ortak bir endometrial epitelyal öncü hücreden köken aldığını desteklemekle birlikte overin endometrioid karsinomlarının çoğunun endometrioizisten geliştiği bildirilmektedir. Bizim vakalarımızda da overlerde endometrioizis mevcuttu.

Morfolojik olarak benzer olan over ve endometriumun endometrioid karsinomu olan vakaların mutasyon profillerini doğrudan karşılaştırmak için ekzom dizileme sonrası bir gen paneli (*ARID1A*, *PTEN*, *PIK3CA*, *KRAS*, *CTNNB1*, *PPP2R1A*, *TP53*) oluşturularak verilerin analiz edildiği bir çalışmada (101) *PTEN* mutasyonlarının düşük dereceli endometrial endometrioid karsinomlarda (%67,0) düşük dereceli over endometrioid karsinoma (%16,6) göre istatistiksel olarak anlamlı olarak daha sık izlenirken ( $p<0.0001$ ), *CTNNB1* mutasyonu düşük dereceli overin endometrioid karsinomlarında (%53,3), düşük dereceli endometrial endometrioid karsinoma (%27,5) kıyasla anlamlı derecede farklı saptanmıştır ( $p<0,005$ ). *CTNNB1* mutasyon sıklığındaki bu fark, farklı mikro ortamları yansıtıyor olabilir; over içindeki endometriotik kisti kaplayan epitel hücreleri, tümör oluşumunu teşvik eden oldukça oksidatif bir ortama maruz kalırlar (101).

Huang ve arkadaşları, endometrium ve overin endometrioid adenokarsinomları arasındaki moleküler değişikliklerin rolünü ve farklılıklarını değerlendirdikleri raporda; 26 over , 42 endometrium ve 19 senkron endometrium ve overin endometrioid tip adenokanser histolojisine sahip vakalarda *PTEN*, *ARID1A* ve mismatch repair proteinlerin ekspresyonu ile *PTEN*, *KRAS*, *CTNNB1* ve *PIK3CA* mutasyonları değerlendirildi. Mikrosatellit kararsızlığı (instabilite) (*MSI-H*) overin endometrioid karsinomu olan 26 vakanın birinde, endometriumun endometrioid karsinomu olan 42 vakanın 12'sinde ve 19 senkron endometrioid karsinomu olan 4'ünde izlendi. Senkron endometrioid karsinomu olan 19 vakanın 4'ünde endometrium ve overde aynı moleküler değişiklikler izlendi. *ARID1A* veya *PTEN* ekspresyonu kaybı ve *MSI-H*, endometriumun endometrioid karsinomu olanlarda overin endometrioid karsinomu olanlardan daha yaygındı. Endometrial endometrioid adenokarsinomlar ve over endometrioid adenokarsinomları arasındaki moleküler genetik değişikliklerin farklı sıklıkları, bunların tümör oluşumunda veya tümör ilerlemesinde farklı süreçlerin rol oynayabileceğini göstermektedir (104). Bizim

endometrioid tip SEOC vakalarında, endometrium dokusunda *ATM* ve *CHECK2* genlerinde, over dokusunda *ATM*, *BRCA2* ve *TP53* genlerinde P ve LP mutasyon izlendi. Endometrioid tip SEOC endometrium dokusunda izlenen mutasyon over dokusunda, over dokusunda saptanan mutasyon endometrium dokusunda saptanmadı. Endometrioid tip SEOC vakalarımızın hepsinde histopatolojik bulgulara ek olarak tümör dokularındaki dizi analizi sonucu tesbit edilen genlerdeki mutasyonlardaki farklılıklar da primerlerinin farklı olduğunu destekledi.

Aynı endometrioid histolojiyi paylaşan SEOC'ların aynı klonalite özelliği taşıdığı için genellikle bir organdan diğerine metastatik yayılma sonucu olduğu kabul edilmektedir (37, 38,40). Bizim çalışmamızda klonalite analizi olmamakla birlikte, HRD gen paneli analizinde, hem over hem de endometrium dokusunda endometrioid tip histolojiye sahip olmasına rağmen farklı genlerde mutasyon izlendi, bu nedenle vakaların her iki dokuda da primerlerinin farklı olduğu düşünüldü. Bu vakalar tek tek ele aldığımızda; AE kodlu vakamızda sadece over dokusunda *ATM*, *BRCA2* ve *TP53* genlerinde, GK kodlu vakamızda over ve endometriumda *ATM* geninde farklı bölgelerinde, AN kodlu vakamızda sadece over dokusunda *ATM* geninde, SG kodlu vakamızda ise endometrium dokusunda *CHECK2* geninde, over dokusunda ise *ATM* geninde P ve LP mutasyon izlendi.

Farklı histolojilere sahip SEOC'ler birbirinden bağımsız olarak ortaya çıkan ayrı primer lezyonlar olarak kabul edilir. Senkron uterin endometrioid ve overin berrak hücreli karsinomu olan 4 vakada yapılan mutasyon analizinde SEOC'lerin %50'sinde aynı mutasyonları paylaştığı ve bu tümörlerin klonal olarak birbiriyle ilişkili olduğu görülmüştür. Bu hastaların prognozlarının izole overin berrak hücreli kanser olgularına göre daha olumlu olduğu bildirilmiştir (103). Bizim çalışmamızda 2 vaka (SÇ ve MA kodlu hastalarımız) endometriumda endometrioid tümör ve overde ise seröz tip tümör olmak üzere iki ayrı histolojiye sahip tümör mevcuttu, genetik değerlendirmede her iki dokuda da farklı mutasyonlar izlendi (SÇ'de sadece over dokusunda *TP53* geninde ve MA'da ise endometriumda *CHECK2* geninde, over dokusunda ise *ATM* ve *TP53* geninde P ve LP mutasyon saptandı), bu hastaların genel sağ kalımları 5 yılın üzerinde idi. Bir vakamızda (DU kodlu) ise hem endometriumda hemde overde seröz tip histolojide tümör vardı, bu vakada aynı histoloji paylaşmasına rağmen kriterlere göre tamamen birbirinden bağımsız iki tümör özelliği taşıyordu, ancak genetik analiz ile her iki tümörde ortak mutasyonlar mevcuttu (Endometrium ve overde *ATM*, *TP53* genlerinde ortak P ve LP mutasyon). Bu hastamız seröz histoloji, grade 3 özellikte olmasına rağmen bu vaka metastatik olduğu düşünülse de beklenenin aksine iyi prognoz göstermiştir.

SEOC tanısı olan kadınlar, metastatik over veya endometrium kanserlerinden farklı olarak daha iyi bir prognoza sahiptirler. SEOC tanılı vakalarda tümör Ia olarak evrelendirilirken, MC'lilerde ise endometrium kanserine göre IIIa veya over kanserine göre II olarak evrelendirilmektedir. SEOC tanılı hastalarda 5 yıllık yaşam süresi %66-100 arasında iken, evre IIa over kanserlilerinde %45 ve evre III endometrium kanseri olgularında ise %33-36 arasında seyretmektedir. Son genomik çalışmalar, tümörlerdeki klonal ilişkilerden dolayı bir çok eşzamanlı endometrial ve over tümörünün bağımsız primer tümörler olmadığını ortaya koysa da, bu tümörlere sahip hastalar sıklıkla paradoksal olarak iyi klinik sonuçlar sergilediler. Klonal olarak ilişkili SEOC'li hastaların metastatik vakaların aksine paradoksal iyi prognoz sergilemesini, araştırmacılar "öncül kaçışının (precursor escape)" bir sonucu olarak yorumladılar (103). Bu hipotezde endometrial kanserin öncü hücreleri uterusun ötesine yayılarak pelvise ulaşır ve sonunda artan mutasyon yükü altında bir overde kanser geliştirir. Bu terim ilk olarak Soong ve arkadaşları tarafından, çok erken tubal prekanseröz proliferasyonların (erken seröz proliferasyonlar ve seröz tubal intraepitelyal karsinom dahil), yüksek dereceli seröz karsinomunun gelişimiyle sonuçlanan bir dizi olayı başlatabileceği olasılığını açıklamak için kullanıldı (104-106). Bu süreç, fallop tüpünde bir intraepitelyal lezyona yol açan bir başlangıç genetik hasarını gerektirecektir; bu lezyondan hücreler kaçabilir ve daha sonra pelviste bariz bir tubal karsinomun bulunmadığı daha ilerlemiş bir over kanseri olarak ortaya çıkabilir (104-106).

Ishikawa ve ark.'ları SEOC vakalarında klonalite analizlerinin faydasını belirlemek için Sanger dizileme yöntemi ile *TP53*, *PTEN*, *POLE*, *PIK3CA*, *KRAS* ve *CTNNB1*'deki kodlayıcı ekzonların mutasyon durumunu analiz ettikleri bir çalışmada *POLE* ve *CTNNB1* mutasyonlarının frekanslarını Schultheis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki oranlarına göre daha yüksek bildirmiştir (36,37). Ishikawa ve ark.'ları; *TP53*, *PTEN*, *CTNNB1*, *KRAS* ve *POLE*'deki somatik mutasyonların sıklığı endometrium dokusunda sırasıyla %37.5, %25, %37.5, %0 ve %62,5 over dokusunda ise %37.5, %25, %37.5, %12.5 ve %62.5 oranlarında tespit ettiler. Bizim çalışmamızda, HRD panel genleri içinde, endometrium dokusunda *ATM* geninde 21 tane (%48.8), *BARD1* geninde 5 tane(%11.6), *BRCA2* geninde 8 (%18.6), *BIRP1* geninde 2 tane(%4.6), *TP53* geninde 3 tane(%6.9), *PALB2* geninde 2 tane(%4.6), *CHEK2* geninde 2 tane(%4.6), over dokusunda ise; *ATM* geninde 24 tane (%60), *BARD1* geninde 2 tane(%5), *BRCA2* geninde 6 tane(%15), *BIRP1* geninde 1 tane(%2.5), *RAD51D* geninde 1 tane(%2.5), *RAD54L* geninde 2 tane(%5) *TP53* geninde 5

tane (%12.5) LP ve P mutasyon saptandı. Böylece HRD panel testi hastalarımızın klonalite analizi için kullanılabilir.

SEOC'lu hastalar 2 veya daha fazla malign ve bazende ilerlemiş hastalığa sahip olmasına rağmen iyi bir prognozla seyrederek. Bazı raporlarda mikrosatellit kararsızlığının SEOC'lu vakalarda iyi prognozla ilişkili olduğu bildirilmiştir (107,108). Ishikawa ve ark.'ları SEOC'larda *POLE* mutasyonu olan hastalar, *POLE* mutasyonu olmayan hastalarla karşılaştırıldığında anlamlı derece daha uzun progresyonsuz sağkalım göstermektedirler (36). *POLE* mutasyonu endometrial kanserlerde daha önce yapılan çalışmalarda iyi prognoz göstergesi olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda *ATM* geninde mutasyonu diğer HRD panelindeki genlerden daha fazla saptandı, bu hastalarımızın hepsinde 5 yılın üzerinde genel sağkalım oranları mevcuttu. *ATM* mutasyonlu kolorektal tümörleri olan hastalarda ortalama genel sağkalım, *ATM* wilde tip olanlara göre istatistiksel olarak önemli ölçüde daha uzun olduğu (64,9'a karşı 34,8 ay; HR, 0,50; %95 CI, 0,29-0,85; P<0,01) daha önceki çalışmada saptanmıştır (109). Sun LL ve ark, *ATM* genindeki mutasyonun endometriyal kanser için bağımsız bir prognostik faktör olduğunu bildirmişlerdir. *ATM* kinazın, progesteronun uyarılması yoluyla endometriyumun malignitesini önlediği bulunmuştur. Tümörü infiltre eden T lenfositlerin, özellikle sitotoksik lenfositler, *ATM* mutasyonları olan tümörlerde genellikle daha fazla miktarda saptandığı bildirilmiştir (110). Bu nedenle, bağımsız bir prognostik faktör olarak *ATM* mutasyonlarını ve endometriyal kanserde immün checkpoint noktası tedavisi için potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür (110). Bizim bulgularımızda, çalışılan hasta sayısı az olmakla birlikte bu bulguları destekler niteliktedir.

Ayrıca çalışmamızda, Ishikawa'dan farklı olarak endometrium(%6.9) ve over dokusunda (%12.5) *TP53* geninde mutasyon sıklığını daha az izledik. *TP53* genindeki patojenik mutasyonlar kötü prognozla ilişkili olup, bizim hastalarımızın iyi prognoz göstermesinde bu gende daha az mutasyon varlığının etkin olabileceği düşünüldü.

Germinal *BRCA1/2* mutasyonu ile ilişkili over karsinomlarının en önemli özellikleri kemoresistivite ve gelişmiş sağkalımdır, ayrıca *BRCA1/2* ve diğer homolog rekombinasyon DNA onarım genlerindeki somatik mutasyonlar, önemli ölçüde birincil platin duyarlılığı ve genel hayatta sağ kalımla ilişkili olduğu da çalışmalarda gösterilmiştir (111). Homolog rekombinasyon genlerindeki germline ve somatik mutasyonlar sadece seröz tip histolojide olmayıp seröz olmayan histolojilerde de mevcuttur (111). Bu bulgu bizim çalışmamızda desteklenmiştir. Çalışmamızdaki 4 vakamızda hem over hem de endometriumda endometrioid tip histolojide malignite izlenmesine rağmen, endometrium dokusunda *ATM*

ve *CHECK2* genlerinde, over dokusunda *ATM*, *BRCA2* ve *TP53* genlerinde P ve LP mutasyon izlenmiştir.

HRD endometriyal kanserlerde özellikle de endometrioid olmayan, seröz histolojiye sahip tümörlerde (TP53-mutant endometrial kanserlerle sınırlı) izlenmektedir (112). Bizim çalışmamızda da endometrioid tip endometrium dokusunda 1 vakada (GK kodlu ) *ATM*, 2 vakada (SG ve MA kodlu) *CHECK2* geninde P ve LP mutasyon izlenirken, seröz tip histolojiye sahip 1 vakanın( DU kodlu) endometrium dokusunda *ATM*, *BRCA2* ve *TP53* genlerinde P ve LP mutasyon izlendi. Daha önceleri yapılan çalışmalarda germline ve /veya somatik *BRCA1/2* mutasyonu olan hastalarda PARP inhibitörleri ile yapılan hedefe yönelik tedavilerle başarılı sağ kalım oranlarını elde edilmişti (109). Bizim çalışmamızda retrospektif olarak değerlendirdiğimizde vakalarımızın ortalama sağ kalım süreleri 101 ay olup, hastalarımızın 4'ü hem radyoterapi ve kemoterapi, 3'ü ise sadece kemoterapi almıştı. Bu adjuvan tedavilerin olumsuz bir çok yan etkilerine maruz kalmışlardı. Çalışmamız, SEOC tanılı vakalarda HRD panelindeki genlerin somatik mutasyonlarını değerlendirerek, hedefe yönelik tedaviden fayda sağlayacak hastaların seçilmesinin mümkün olduğunu göstermiştir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

SEOC'leri over ve endometriumun metastatik tümörlerinden farklı prognoz göstermektedir. Bu nedenle SEOC tanısının konulması hastalara uygun tedavilerin uygulanması açısından önemlidir. Doğru tanı için hem histopatolojik hem de genetik değişikliklerin birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir. Bu çalışmada, histopatolojik olarak SEOC tanısı konan ve 5 yılın üzerinde sağ kalım oranlarına sahip 7 hastada HRD paneli ile *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L*, *PALB2*, *PPP2R2A*, *TP53* genlerin analizi yapıldı. Hastalarımızın biri dışında HRD panelindeki genlerde endometrium ve overdeki tümörlerinin farklı mutasyonlar içerdiği görüldü ve bu nedenle tümörlerin primerlerinin de farklı olduğu belirlendi.

Tek vakada her iki tümöründe aynı mutasyonları taşıdığı izlendi, bu durum "öncül kaçıışı ( precursor escape) " olarak yorumlandı.

*ATM* gen mutasyonu en sık izlenen değişiklikti, bunun iyi prognozla ilişkisi olabileceği düşünüldü. Fakat vaka sayımızın düşük olması nedeniyle bu bulgunun doğruluğunun daha geniş vaka serileri içeren yayınlarla desteklenmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Kaufman B, Shapira-Frommer r, Schmutzler rK, Audeh MW, Friedlander M, Balmaña J, et al. Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline Brca1/2 mutation. *J clin Oncol.* 2015;33(3): 244-50. doi: 10.1200/Jco.2014.56.2728.
2. Cancer Genome Atlas research Network, Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, Shen H, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature.* 2013;497(7447):67-73. doi:10.1038/nature12113. Erratum in: *Nature.* 2013;500(7461):242.
3. Hemminki K, Boffetta P. Multiple primary cancers as clues to environmental and heritable causes of cancer and mechanisms of carcinogenesis. *IARC Sci Publ* 2004;157:289–97
4. Castro IM, Connell PP, Waggoner S, Rotmensch J, Mundt AJ. Synchronous ovarian and endometrial malignancies. *Am J Clin Oncol.* 2000; 23(5): 521-5.
5. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023 *CA Cancer J Clin.* 2023;73:17–48. doi: 10.3322/caac.21763
6. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2018*; American Cancer Society: Atlanta, GA, USA, 2017.
7. Bokhman, J.A.N.V. Two Pathogenetic Types of Endometrial Carcinoma. *Gynecol. Oncol.* 1983; 15: 10–17.
8. Morice P, Leary A, Creutzberg C, Abu-Rustum N, Darai E. Endometrial cancer. *Lancet* 2016;387: 1094-1108.
9. Coll-de Rubia E, Martinez- Garcia E, Dittmar G, Gil- Moreno A, Cabrera S and Colas E. Prognostic Biomarkers in Endometrial Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine* June 2020.
10. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martín A, Ledermann J, Marth, C, Nout R, Querleu D Mirza M.R, et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: Diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* 2016;27:16–41.
11. Vizza E, Cuttillo G, Bruno V, Sperduti I, Mancini E, Baiocco E, Chiofalo B, Cicchillitti L, Certelli C, Zampa A, et al. Pattern of recurrence in patients with endometrial cancer: A retrospective study. *Eur. J. Surg. Oncol.* 2020, in press.

12. TCGA, Cancer Genome Atlas Research Network; Kandoth C, Schultz N, Chmiack AD, Akbani R, Liu Y, Shen H et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013;497: 67–73.
13. Talhouk A, McConechy MK, Leung S, Yang W, Lum A, Senz J. Confirmation of ProMisE: A simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer*. 2017;123:802-813.
14. Raffone A, Travaglino A, Mascolo M, Carotenuto C, Guida M, Mollo A et al. Histopathological characterization of ProMisE molecular groups of endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2020;157:252-259.
15. Reijnen C, Kusters-Vandeveld HVN, Prinsen CF, Massuger LFAG, Snijders MPML, Kommos S et al. Mismatch repair deficiency as a predictive marker for response to adjuvant radiotherapy in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2019;154:124– 130
16. Wortman BG, Bosse T, Nout RA, Lutgens LCHW, van der Steen-Banasik EM, Westerveld H et al. PORTEC Study Group. Molecular integrated risk profile to determine adjuvant radiotherapy in endometrial cancer: evaluation of the pilot phase of the PORTEC-4a trial. *Gynecol Oncol*. 2018;151:69–75.
17. Howitt BE, Shukla SA, Sholl LM, Ritterhouse LL, Watkins JC, Rodig S, et al. Association of polymerase e-mutated and microsatellite-instable endometrial cancers with neoantigen load, number of tumor-infiltrating lymphocytes, and expression of pD-1 and pD-11. *JAMA Oncol*. 2015;1(9):1319-23. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.2151.
18. Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, Di Giacomo AM, De Jesus-Acosta A, Delord JP, et al. Efficacy of pembrolizumab in patients with noncolorectal high microsatellite instability/mismatch repair-deficient cancer: results from the phase II KEYNOTE-158 study. *J clin Oncol*. 2020;38(1):1-10. doi: 10.1200/Jco.19.02105
19. Slomovitz BM, Jiang Y, Yates MS, Soliman PT, Johnston T, Nowakowski M, et al. Phase II study of everolimus and letrozole in patients with recurrent endometrial carcinoma. *J clin Oncol*. 2015;33(8):930-6. doi: 10.1200/Jco.2014.58.3401.
20. Siegel R, Ma J, Zou Z, and Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA—Cancer Journal for Clinicians* 2014; 64;.1:9–29.
21. Bast Jr RC, Hennessy B, and Mills GB. The biology of ovarian cancer: new opportunities for translation,.*Nature Reviews Cancer*, 2009; 9(6): 415–428.
22. Marquez RT, Baggerly KA, Patterson AP et al. Patterns of gene expression in different histotypes of epithelial ovarian cancer correlate with those in normal fallopian tube, endometrium, and colon. *Clinical Cancer Research*. 2005; 11(17): 6116-6126.

23. Lancaster JM, Powell BC, Chen L, Richardson DL, on behalf of the SGO Clinical Practice Committee. Society of Gynecologic Oncology statement on risk assessment for inherited gynecologic cancer predispositions. *Gynecol Oncol.*2015;136(1):3-7. Doi: 10.1016/j.ygyno.2014.09.009.
24. Liliac L, Amalinei C, Balan R, Grigoras A, and Caruntu ID. Ovarian cancer: Insights into genetics and pathogeny. *Histology and Histopathology.* 2012;27(6):707–719.
25. Kurman RJ. Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma. *Annals of Oncology.*2013; 24(10):16-21.
26. Kaufman B, Shapira-Frommer r, Schmutzler rK, Audeh MW, Friedlander M, Balmaña J, et al. Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline Brca1/2 mutation. *J clin Oncol.* 2015;33(3): 244-50. doi: 10.1200/Jco.2014.56.2728
27. Castro IM, Connell PP, Waggoner S, Rotmensch J, Mundt AJ. Synchronous ovarian and endometrial malignancies. *Am J Clin Oncol.* 2000; 23(5): 521-5.
28. Zaino R, Whitney C, Brady M, Degeest K, Burger R, Buller R. Simultaneously detected endometrial and ovarian carcinomas- a prospective clinicopathologic study of 74 cases a gynecologic oncology group study. *Gynecol Oncol* 2001; 83: 355-62.
29. Grammatoglou X, Skafida E, Glava C, Katsamagkou E, Delliou E, Vasilakaki T. Synchronous endometrioid carcinoma of the uterine corpus and ovary. A case report and review of the literature. *Eur J Gynaecol Oncol* 2009; 30(4):437-9
30. Ma SK, Zhang HT, Sun YC, Wu LY. Synchronous primary cancers of the endometrium and ovary: review of 43 cases. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2008; 30(9):690-4.
31. Kır G, Karateke A, Aker F: Eş zamanlı over ve endometrium tümörlerinin klinik ve histopatolojik özellikleri. *Kadın Doğum Derg* 2003; 1(4):296-99.
32. Warren S, Gates O. Multiple primary malignant tumors. A survey of the literature and a statistical study. *Am J Cancer* 1932;16:1358-414.
33. Ulbright T, Roth L. Metastatic and independent cancers of the endometrium and ovary: a clinicopathologic study of 34 cases. *Hum Pathol* 1985;16:28–34
34. Scully RE. Tumors of the ovary and maldeveloped gonads. Washington, D.C.: Armed Forces Institute of Pathology; 1979
35. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th ed. Lyon: WHO Press, 2014; 316.
36. Ishikawa M, Nakayama K, Nakamura K, Ono R, Yamashita H, Ishibashi T, Minamoto T, et al. High frequency of POLE mutations in synchronous endometrial and ovarian carcinoma. *Human Pathology.* 2019 ;85: 92 -100

<https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.11.001>

37. Schultheis AM, Ng CK, De Filippo MR, Piscuoglio S, Macedo GS, Gatus S, Perez Mies B, Soslow RA, Lim RS, Viale A, Huberman KH, Palacios JC, Reis-Filho JS, Matias-Guiu X, Weigelt B. Massively parallel sequencing-based clonality analysis of synchronous endometrioid endometrial and ovarian carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 2016; 108: djv427.
38. Anglesio MS, Wang YK, Maassen M, et al. Synchronous endometrial and ovarian carcinomas: evidence of clonality. *J Natl Cancer Inst*. 2016;108:djv428.
39. Prowse AH, Manek S, Varma R, et al. Molecular genetic evidence that endometriosis is a precursor of ovarian cancer. *IntJ Cancer*. 2006;119:556Y562.
40. Chao A, Wu RC, Jung SM, Lee YS, Chen SJ, Lu YL, Tsai CL, Lin CY, Tang YH, Chen MY, Huang HJ, Chou HH, Huang KG, Chang TC, Wang TH, Lai CH. Implication of genomic characterization in synchronous endometrial and ovarian cancers of endometrioid histology. *Gynecol Oncol* 2016;143:60-7
41. Yang L, Zhang L, Qiujuan Huang QS, Liu C, Qi, L, Li L, Tongyuan Qu T, Wang Y, Liu, S, Meng B, Sun B, Wenfeng Cao W. Combination of Scoring Criteria and Whole Exome Sequencing Analysis of Synchronous Endometrial and Ovarian Carcinomas. *Int J Gynecol Cancer* 2018;00: 00-00
42. Yoneoka Y, Yoshida H, Ishikawa M, Shimizu H, Uehara T, Murakami T, et al. Prognostic factors of synchronous endometrial and ovarian endometrioid carcinoma. *J Gynecol Oncol*. 2019;30(1):e7. <https://doi.org/10.3802/jgo.2019.30.e7>
43. Iyama T, Wilson DM. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. *DNA Repair*. 2013;12(8):620-36 doi: 10.1016/j.dnarep.2013.04.015
44. Ciccia, A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell*. 2010;40(2):179-204..
45. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem*. 2004;73:39-85.
46. Sherman MH, Bassing CH, Teitell MA. Regulation of cell differentiation by the DNA damage response. *Trends Cell Biol*. 2011;21(5):312-9
47. Jeppesen DK, Bohr VA, Stevnsner T. DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Prog Neurobiol*. 2011;94(2):166-200. doi: 10.1016/j.pneurobio.2011.04.013.
48. Jekimovs C, Bolderson E, Suraweera A, Adams M, O'Byrne KJ, Richard DJ. Chemotherapeutic compounds targeting the DNA doublestrand break repair pathways: the good, the bad, and the promising. *Front Oncol*. 2014;4:86.

49. Toss A, Tomasello C, Razzaboni E, Contu G, Grandi G, Cagnacci A, Schildr RJ and Cortesi L. Hereditary Ovarian Cancer: Not Only BRCA1 and BRCA Genes. Review Article. *Biomed Res Int.* 2015; ID341723, 11p <http://dx.doi.org/10.1155/2015/341723>
50. Hall MJ, Bernhisel R, Hughes E, Larson K, Rosenthal ET, Singh NA, Lancaster MJ, Kurian AW et al. Germline Pathogenic Variants in the Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) Gene are Associated with High and Moderate Risks for Multiple Cancers. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2021 14:433-440. PMID: 33509806. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-20-0448.
51. Kurian A, Huges E, Handorf EA, Gutin A, Allen B, Hartman AR, Hall M. Breast and Ovarian Cancer Penetrance Estimates Derived From Germline Multiple-Gene Sequencing Results in Women. *JCO Precision Oncol*. 2017 Epub ahead of print June 27, 2017. <https://doi.org/10.1200/PO.16.00066>
52. Hawsawi YM, Shams A, Theyab A, Abdali WA, Hussien NA, Alatwi HE, Alzahrani OR, Oyouni AAA, Babalghith AO and Alreshidi M. BARD1 mystery: tumor suppressors are cancer susceptibility genes *BMC Cancer*. 2022 Jun 1;22(1):599doi: 10.1186/s12885-022-09567-4
53. Foulkes W.D, Shuen A.Y. In brief: BRCA1 and BRCA2. *J. Pathol*. 2013;230(4): 347–349. Doi: 10.1002/path.4205.
54. Wang Y, Cortez D, Yazdi P, Neff N, Elledge S.J, Qin, J. BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures. *Genes Dev*. 2000; 14(8): 927–939. PMID: [10783165](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10783165/)
55. Mavaddat N, Peock S, Frost D, Ellis S, Platte R, Fineberg E, et al. Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: Results from prospective analysis of EMBRACE. *J. Natl. Cancer Inst*. 2013; 105(11): 812–822. Doi: 10.1093/jnci/djt095.
56. Tai Y.C, Domchek,S, Parmigiani G, Chen S. Breast cancer risk among male BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J. Natl. Cancer Inst*. 2007;99(23): 1811–1814. Doi: 10.1093/jnci/djm203.
57. Ghiorzo P, Pensotti V, Fornarini G, Sciallero S, Battistuzzi L, Belli F, et al. Contribution of germline mutations in the BRCA and PALB2 genes to pancreatic cancer in Italy. *Fam. Cancer* 2012;11(1):41–47. Doi: 10.1007/s10689-011-9483-5.
58. Leongamornlert D, Mahmud N, Tymrakiewicz M, Saunders E, Dadaev T, Castro E, et al. Germline BRCA1 mutations increase prostate cancer risk. *Br. J. Cancer* 2012; 106(10): 1697–1701. Doi: 10.1038/bjc.2012.146.

59. Matanes E, Volodarsky-Perel A, Eisenberg N, Rottenstreich M, Yasmeeen A, Mitric C, Lau S, Salvador S, Gotlieb WH, Kogan L. Endometrial Cancer in Germline BRCA Mutation Carriers: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Minim Invasive Gynecol.* 2021 May;28(5):947-956. doi: 10.1016/j.jmig.2020.11.023. Epub 2020 Nov 27. PMID: 33249269.
60. Roy R, Chun J, Powell S.N. BRCA1 and BRCA2: Different roles in a common pathway of genome protection. *Nat. Rev. Cancer* 2011; 12: 68–78. Doi:10.1038/nrc3181
61. Buisson R, Dion-Côté A-M, Coulombe Y, Launay H, Cai H, Stasiak AZ, et al. Cooperation of breast cancer proteins PALB2 and piccolo BRCA2 in stimulating homologous recombination. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2010;17(10):1247–1254. Doi: 10.1038/nsmb.1915
62. Iqbal, J, Ragone A, Lubinski J, Lynch H.T, Moller P, Ghadirian P, et al. The incidence of pancreatic cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Br. J. Cancer* 107(12): 2005–2009 . Doi: 10.1038/bjc.2012.483
63. Moran A, O’Hara C, Khan S, Shack L, Woodward E, Maher E.R, et al. Risk of cancer other than breast or ovarian in individuals with BRCA1 and BRCA2 mutations. *Fam. Cancer* 2012; 11(2):235–242. Doi: 10.1007/s10689-011-9506-2.
64. Weber-Lassalle N, Hauke J, Ramser J, Richters L, Groß E, Blümcke B, et al. BRIP1 loss-of-function mutations confer high risk for familial ovarian cancer, but not familial breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2018; 20: 7 Doi: 10.1186/S13058-018-0935-9
65. Blazek D, Kohoutek J, Bartholomeeusen K, Johansen E, Hulinkova P, Luo Z, Cimermancic, P, Ule, J, Peterlin B. M. The cyclin K/ Cdk12 complex maintains genomic stability via regulation of expression of DNA damage response genes. *Genes Dev.* 25: 2158-2172, 2011. doi: 10.1101/gad.16962311.
66. Bourne Y, Watson MH, Hickey MJ, Holmes W, Rocque W, Reed SI, Tainer JA. Crystal structure and mutational analysis of the human CDK2 kinase complex with cell cycle-regulatory protein CksHs1. *Cell.* 1996 Mar 22;84(6):863-74. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81065-x. PMID: 8601310
67. Dubbury S. J, Boutz P. L., Sharp P. A. CDK12 regulates DNA repair genes by suppressing intronic polyadenylation. *Nature* 564: 141-145, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0758-y>

68. Giannone G, Tuninetti V, Ghisoni E, Genta S, Scotto G, Mittica G, Valabrega G. Role of Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors in Endometrial Cancer. *Int J Mol Sci.* 2019 May 12;20(9):2353. doi: 10.3390/ijms20092353. PMID: 31083638; PMCID: PMC6539322.
69. Flaggs G, Plug A W, Dunks KM, Mundt KE, Ford J.C, Quiggle MRE, Taylor EM, Westphal CH, Ashley T, Hoekstra MF, Carr AM. Atm-dependent interactions of a mammalian Chk1 homolog with meiotic chromosomes. *Curr. Biol.* 7: 977-986, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(06\)00417-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(06)00417-9)
70. AACR Project GENIE Consortium. AACR Project GENIE: Powering Precision Medicine through an International Consortium. *Cancer Discov.* 2017 Aug;7(8):818-831. doi: 10.1158/2159-8290.
71. Stolarova L, Kleiblova P, Janatova M, Soukupova J, Zemankova P, Macurek Land Kleibl Z. *CHEK2* Germline Variants in Cancer Predisposition: Stalemate Rather than Checkmate. *Cells.* 2020; 9(12): 2675. doi: 10.3390/cells9122675
72. Bartkova J, Horejsí Z, Koed K, Krämer A, Tort F, Zieger K, Guldborg P, Sehested M, Nesland JM, Lukas C, Ørntoft T, Lukas J, Bartek J. DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature.* 2005 Apr 14;434(7035):864-70. doi: 10.1038/nature03482. PMID: 15829956
73. Shakeel S, Rajendra E, Alcon P, O'Reilly F, Chorev DS, Maslen S, Degliesposti G, Russo CJ, He S, Hill CH et al. Structure of the Fanconi anaemia monoubiquitin ligase complex. *Nature* 2019;575: 234-237. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1703-4>
74. Antoniou AC, Casadei S, Heikkinen T, Barrowdale D, Pylkäs K, Roberts J, et al. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2. *N. Engl. J. Med.* 2014;371: 497–506. Doi: 10.1056/Nejmoa1400382
75. Yang X, Leslie G, Doroszuk A, Schneider S, Allen J, Decker B, et al. Cancer Risks Associated with Germline PALB2 Pathogenic Variants: An International Study of 524 Families. *J. Clin. Oncol.* 2020 Mar 1;38(7):674-685. Doi: 10.1200/JCO.19.01907.
76. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Guidelines: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian and Pancreatic. Version 1. 2022. Available online: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/genetics\\_bop.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_bop.pdf) (accessed on 11 August 2021).
77. Xu Y, Chen Y, Zhang P, Jeffrey PD, Shi Y. Structure of a protein phosphatase 2A holoenzyme: insights into B55-mediated Tau dephosphorylation. *Molec. Cell* 2008;31: 873-885. Doi: 10.1016/j.molcel.2008.08.006

78. Chun J, Buechelmaier E.S, Powell S.N. Rad51 paralog complexes BCDX2 and CX3 act at different stages in the BRCA1-BRCA2-dependent homologous recombination pathway. *Mol. Cell. Biol.* 2013;33: 387–395. Doi: 10.1128/MCB.00465-12.
79. Song H, Dicks E, Ramus SJ, Tyrer JP, Intermaggio MP, Hayward J, et al. Contribution of Germline Mutations in the RAD51B, RAD51C, and RAD51D Genes to Ovarian Cancer in the Population. *J. Clin. Oncol.* 2015;33:2901–2907. Doi: 10.1200/JCO.2015.61.2408.
80. Golmard L, Castéra L, Krieger S, Moncoutier V, Abidallah K, Tenreiro H, et al. Contribution of germline deleterious variants in the RAD51 paralogs to breast and ovarian cancers. *Eur. J. Hum. Genet.* 2017; 25: 1345–1353. Doi: 10.1038/s41431-017-0021-2
81. Kauff ND, Domchek SM, Friebel TM, Robson ME, Lee J, Garber JE, et al. Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of BRCA1- and BRCA2-associated breast and gynecologic cancer: A multicenter, prospective study. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 1331–1337. Doi:10.200/JGO.2007.13.9626
82. Loveday C, Turnbull C, Ramsay E, Hughes D, Ruark E, Frankum, JR, et al. Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat. Genet.* 2011; 43: 879–882. Doi: 10.1038/ng.893
83. Bugreev D, Mazina O & Mazin A. Rad54 protein promotes branch migration of Holliday junctions. *Nature.*2006; 442:590–593. <https://doi.org/10.1038/nature04889>
84. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010 Jan;2(1):a001008. doi: 10.1101/cshperspect.a001008. Review.
85. Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, et al. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genetics in Medicine : Official Journal of the American College of Medical Genetics.* 2013 Sep;15(9):733-747. DOI: 10.1038/gim.2013.92. PMID: 23887774; PMCID: PMC4098820.
86. Illumina. HiSeq X Ten Series of Sequencing Systems. 2014. ([www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet-hiseq-x-ten.pdf](http://www.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet-hiseq-x-ten.pdf)).
87. Boscolo Bielo L, Trapani D, Repetto M, Crimini E, Valenza C, Belli C, Criscitiello C, Marra A, Subbiah V, Curigliano G. Variant allele frequency: a decision-making tool in precision oncology? *Trends Cancer.* 2023 Dec;9(12):1058-1068. doi: 10.1016/j.trecan.2023.08.011. Epub 2023 Sep 12. PMID: 37704501.
88. Prasad V, Fojo T, Brada M. Precision oncology: origins, optimism, and potential. *Lancet Oncol.* 2016 Feb;17(2):e81-e86. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00620-8. PMID: 26868357.

89. Cheng DT, Mitchell TN, Zehir A, Shah RH, Benayed R, Syed A, Chandramohan R, Liu ZY, Won HH, Scott SN, Brannon AR, O'Reilly C, Sadowska J, Casanova J, Yannes A, Hechtman JF, Yao J, Song W, Ross DS, Oultache A, Dogan S, Borsu L, Hameed M, Nafa K, Arcila ME, Ladanyi M, Berger MF. Memorial Sloan Kettering-Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets (MSK-IMPACT): A Hybridization Capture-Based Next-Generation Sequencing Clinical Assay for Solid Tumor Molecular Oncology. *J Mol Diagn.* 2015 May;17(3):251-64. doi: 10.1016/j.jmoldx.2014.12.006. Epub 2015 Mar 20. PMID: 25801821; PMCID: PMC5808190.
90. Strom SP. Current practices and guidelines for clinical next-generation sequencing oncology testing. *Cancer Biol Med.* 2016 Mar;13(1):3-11. doi: 10.28092/j.issn.2095-3941.2016.0004. PMID: 27144058; PMCID: PMC4850126.
91. D'Entropio SC, Leshchiner I, Haase K, Tarabichi M, Wintersinger J, Deshpande AG, Yu K, Rubanova Y, Macintyre G, Demeulemeester J, Vázquez-García I, Kleinheinz K, Livitz DG, Malikic S, Donmez N, Sengupta S, Anur P, Jolly C, Cmero M, Rosebrock D, Schumacher SE, Fan Y, Fittall M, Drews RM, Yao X, Watkins TBK, Lee J, Schlesner M, Zhu H, Adams DJ, McGranahan N, Swanton C, Getz G, Boutros PC, Imielinski M, Beroukhi R, Sahinalp SC, Ji Y, Peifer M, Martincorena I, Markowitz F, Mustonen V, Yuan K, Gerstung M, Spellman PT, Wang W, Morris QD, Wedge DC, Van Loo P; PCAWG Evolution and Heterogeneity Working Group and the PCAWG Consortium. Characterizing genetic intra-tumor heterogeneity across 2,658 human cancer genomes. *Cell.* 2021 Apr 15;184(8):2239-2254.e39. doi: 10.1016/j.cell.2021.03.009. Epub 2021 Apr 7. PMID: 33831375; PMCID: PMC8054914.
92. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med* 2020;22(2):245–57 doi: 10.1038/s41436-019-0686-8.
93. Eggington JM, Bowles KR, Moyes K, Manley S, Esterling L, Sizemore S, Rosenthal E, Theisen A, Saam J, Arnell C et al: A comprehensive laboratory-based program for classification of variants of uncertain significance in hereditary cancer genes. *Clinical Genetics* 2014, 86(3):229-237. doi: 10.1111/cge.12315
94. Turashvili G, Gómez-Hidalgo NR, Flynn J, Gonen M, Leitao MM Jr, Soslow RA, Murali R. Risk-based stratification of carcinomas concurrently involving the endometrium and ovary. *Gynecol Oncol.* 2019 Jan;152(1):38-45. doi: 10.1016/j.ygyno.2018.10.033. Epub 2018 Nov 6. PMID: 30413340; PMCID: PMC6321787.

95. Shenson DL, Gallion HH, Powell DE, Pieretti M. Loss of heterozygosity and genomic instability in synchronous endometrioid tumors of the ovary and endometrium. *Cancer*. 1995;76:650–7. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19950815\)76:4<650::AID-CNCR2820760417>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19950815)76:4<650::AID-CNCR2820760417>3.0.CO;2-1)
96. Prat J, Matias-Guiu X, Barreto J. Simultaneous carcinoma involving the endometrium and the ovary. A clinicopathologic, immunohistochemical, and DNA flow cytometric study of 18 cases. *Cancer*. 1991 ;68:2455–9. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19911201\)68:11<2455::AID-CNCR2820681122>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19911201)68:11<2455::AID-CNCR2820681122>3.0.CO;2-Q)
97. Moreno-Bueno G, Gamallo C, Perez-Gallego L, de Mora JC, Suarez A, Palacios J. beta-Catenin expression pattern, beta-catenin gene mutations, and microsatellite instability in endometrioid ovarian carcinomas and synchronous endometrial carcinomas. *Diagn Mol Pathol*. 2001;10:116–22.
98. Irving JA, Catusus L, Gallardo A, Bussaglia E, Romero M, Matias-Guiu X, et al. Synchronous endometrioid carcinomas of the uterine corpus and ovary: alterations in the beta-catenin (CTNNB1) pathway are associated with independent primary tumors and favorable prognosis. *Hum Pathol*. 2005;36:605–19. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2005.03.005>
99. Kurman RJ, Shih Ie M. Molecular pathogenesis and extraovarian origin of epithelial ovarian cancer--shifting the paradigm. *Hum Pathol*. 2011; 42(7):918–931. doi: 10.1016/j.humpath.2011.03.003. PMID: 21683865; PMCID: PMC3148026.
100. McConechy MK, Anglesio MS, Kalloger SE, Yang W, Senz J, Chow C, Heravi-Moussavi A, Morin GB, Mes-Masson AM; Australian Ovarian Cancer Study Group; Carey MS, McAlpine JN, Kwon JS, Prentice LM, Boyd N, Shah SP, Gilks CB, Huntsman DG. Subtype-specific mutation of PPP2R1A in endometrial and ovarian carcinomas. *J Pathol*. 2011;223(5):567-73. doi: 10.1002/path.2848. PMID: 21381030.
101. McConechy MK, Ding J, Senz J, Yang W, Melnyk N, Tone AA, Prentice LM, Wiegand KC, McAlpine JN, Shah SP, Lee CH, Goodfellow PJ, Gilks CB, Huntsman DG. Ovarian and endometrial endometrioid carcinomas have distinct CTNNB1 and PTEN mutation profiles. *Mod Pathol*. 2014 Jan;27(1):128-34. doi: 10.1038/modpathol.2013.107. Epub 2013 Jun 14. PMID: 23765252; PMCID: PMC3915240.
102. Huang HN, Lin MC, Tseng LH, Chiang YC, Lin LI, Lin YF, Huang HY, Kuo KT. Ovarian and endometrial endometrioid adenocarcinomas have distinct profiles of microsatellite instability, PTEN expression, and ARID1A expression. *Histopathology*. 2015 Mar;66(4):517-28. doi: 10.1111/his.12543. Epub 2014 Dec 22. PMID: 25195947.

103. Weng CH, Wu RC, Chen SJ, Chen HC, Tan KT, Lee YS, Huang SS, Yang LY, Wang CJ, Chou HH, Chao AS, Chao A, Lai CH. Molecular evidence for a clonal relationship between synchronous uterine endometrioid carcinoma and ovarian clear cell carcinoma: a new example of "precursor escape"? *J Mol Med (Berl)*. 2021 Jul;99(7):959-966. doi: 10.1007/s00109-021-02064-4. Epub 2021 Mar 25. PMID: 33768299.
104. Soong TR, Howitt BE, Miron A, Horowitz NS, Campbell F, Feltmate CM, Muto MG, Berkowitz RS, Nucci MR, Xian W, Crum CP. Evidence for lineage continuity between early serous proliferations (ESPs) in the fallopian tube and disseminated high-grade serous carcinomas. *J Pathol* .2018; 246:344–351 doi: 10.1002/path.5145.
105. Soong TR, Kolin DL, Teschan NJ, Crum CP. Back to the future? The fallopian tube, precursor escape and a dualistic model of high-grade serous carcinogenesis. *Cancers (Basel)* 2018;10(12):468. doi: 10.3390/cancers10120468.
106. Soong TR, Howitt BE, Horowitz N, Nucci MR, Crum CP. The fallopian tube, "precursor escape" and narrowing the knowl-edge gap to the origins of high-grade serous carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2019;152:426–433 .doi: 10.1016/j.ygyno.2018.11.033.
107. Kelemen LE, Rambau PF, Koziak JM, Steed H, Köbel M. Synchronous endometrial and ovarian carcinomas: predictors of risk and associations with survival and tumor expression profiles. *Cancer Causes Control* 2017;28:447-57. doi: 10.1007/s10552-017-0855-5.
108. Kobayashi Y, Nakamura K, Nomura H, et al. Clinicopathologic analysis with immunohistochemistry for DNA mismatch repair protein expres-sion in synchronous primary endometrial and ovarian cancers. *Int J Gynecol Cancer* 2015;25:440-6. doi: 10.1097/IGC.0000000000000377.
109. Randon G, Fucà G, Rossini D, Raimondi A, Pagani F, Perrone F, Tamborini E, Busico A, Peverelli G, Morano F, Niger M, Antista M, Corallo S, Saggio S, Borelli B, Zucchelli G, Milione M, Pruneri G, Di Bartolomeo M, Falcone A, de Braud F, Cremolini C, Pietrantonio F. Prognostic impact of ATM mutations in patients with metastatic colorectal cancer. *Sci Rep*. 2019;9(1):2858. doi: 10.1038/s41598-019-39525-3.
110. Sun L, Run-Chang Wang RC, Qing Zhang Q, Lin-Lang Guo LL. ATM mutations as an independent prognostic factor and potential biomarker for immune checkpoint therapy in endometrial cancer. *Path Res Reach*.2020;216(18):153032 <https://doi.org/10.1016/j.prp.2020.153032>
111. Pennington KP, Walsh T, Harrell MI, Lee MK, Pennil CC, Rendi MH, Thornton A, Norquist BM, Casadei S, Nord AS, Agnew KJ, Pritchard CC, Scroggins S, Garcia RL,

King MC, Swisher EM. Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2014 Feb 1;20(3):764-75. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2287. Epub 2013 Nov 15. PMID: 24240112; PMCID: PMC3944197.

112. de Jonge MM, Auguste A, van Wijk LM, Schouten PC, Meijers M, Ter Haar NT, Smit VTHBM, Nout RA, Glaire MA, Church DN, Vrieling H, Job B, Boursin Y, de Kroon CD, Rouleau E, Leary A, Vreeswijk MPG, Bosse T. Frequent Homologous Recombination Deficiency in High-grade Endometrial Carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2019 Feb 1;25(3):1087-1097. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1443. Epub 2018 Nov 9. PMID: 30413523.

