

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**PREMM₅ RİSK MODELLEMESİNİN LYNCH
SENDROMU ÖN TANILI HASTALARDA MUTASYON
SAPTANMASINI ÖNGÖRMEDEKİ BAŞARISININ
RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ALİ GÜLEN

İZMİR

2024

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**PREMM₅ RİSK MODELLEMESİNİN LYNCH
SENDROMU ÖN TANILI HASTALARDA MUTASYON
SAPTANMASINI ÖNGÖRMEDEKİ BAŞARISININ
RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ALİ GÜLEN

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. AHMET OKAY ÇAĞLAYAN

İZMİR

2024

İÇİNDEKİLER

TABLolar DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
KISALTMALAR.....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Risk Prediksiyon Modellemeleri.....	4
2.1.1 MMRPro.....	6
2.1.2 MMRPredict.....	6
2.1.3 PREMM ₅	7
2.2 Kolorektal Kanser.....	8
2.2.2 Kalıtsal Kolorektal Kanser Sendromları.....	9
2.2.2.1 Polipozis Sendromları.....	10
2.2.2.1.1 Ailesel Adenomatöz Polipozis.....	10
2.2.2.1.2 Peutz-Jeghers Sendromu.....	11
2.2.2.1.3 PTEN Hamartom/Tümör Sendromu.....	12
2.2.2.1.4 Juvenil Polipozis Sendromu.....	12
2.2.2.1.5 Polimeraz Düzeltmeyle İlişkili Sendrom.....	13
2.2.2.1.6 <i>MUTYH</i> İlişkili Polipozis.....	14
2.2.2.1.7 <i>NTHL1</i> İlişkili Polipozis.....	14
2.2.2.1.8 Yapısal Yanlış Eşleşme Tamir Bozukluğu.....	15
2.2.2.2 Nonpolipozis Sendromları.....	17
2.2.2.2.1 Lynch Sendromu.....	17
2.2.2.2.2 Lynch Benzeri Sendrom.....	20
2.2.2.2.3 X Tipi Ailesel Kolorektal Kanser.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1 Hasta Seçimi.....	22
3.2 Verilerin Toplanması.....	22
3.3 DNA İzolasyonu.....	23
3.4 DNA Konsantrasyon ve Saflığının Spektrofotometreyle Ölçülmesi.....	24
3.5 Hedefli Yeni Nesil Dizileme.....	24
3.5.1 Yeni Nesil Dizileme Islak Laboratuvar Aşamaları.....	24

3.5.2 Yeni Nesil Dizileme Verilerinin Biyoinformatik Analizi.....	25
3.5.3 Yeni Nesil Dizilemeyle Saptanan Varyantların Yorumlanması.....	25
3.6 PREMM ₅ Skorlarının Hesaplanması.....	26
3.7 Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz.....	27
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
7. KAYNAKLAR.....	54
8. EKLER.....	62
EK 1. Etik Kurul Onayı.....	62
EK 2. Veri Kayıt Formu.....	63



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Prediksiyon Programlarının Karşılaştırması.....	5
Tablo 2. Yapısal Yanlış Eşleşme Tamir Bozukluğu Test Kriterleri.....	16
Tablo 3. Kalıtsal Kanseri NGS Panelinde Bulunan Genler ve Transkript Numaraları.....	24
Tablo 4. Kalıtsal Kolorektal Kanseri İlişkili Patojenik/Muhtemel Patojenik Varyant Saptanan Hastalar.....	30
Tablo 5. Kolorektal Kanseri Sendromu İçin Tanısal Olmayan Varyant Saptanan Hastalar.....	32
Tablo 6. Bethesda Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	34
Tablo 7. Amsterdam Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	34
Tablo 8. İHK Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	34
Tablo 9. MSI Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	34
Tablo 10. %2,5 Eşik Değerinde PREMM ₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	35
Tablo 11. %5 Eşik Değerinde PREMM ₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	35
Tablo 12. Çalışmada Değerlendirilen Kriterlerin Sensitivite, Spesifite, PPV ve NPV Değerleri.....	36
Tablo 13. Endometrium Kanseri Hastalarda Bethesda Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	36
Tablo 14. Endometrium Kanseri Hastalarda Amsterdam Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	37
Tablo 15. Endometrium Kanseri Hastalarda İHK Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	37
Tablo 16. Endometrium Kanseri Hastalarda MSI Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	37
Tablo 17. Endometrium Kanseri Hastalarda %2,5 Eşik Değerinde PREMM ₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	37
Tablo 18. Endometrium Kanseri Hastalarda %5 Eşik Değerinde PREMM ₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	38
Tablo 19. Endometrium Kanseri Hastalarda Çalışmada Değerlendirilen Kriterlerin Sensitivite, Spesifite, PPV ve NPV Değerleri.....	38
Tablo 20. Kolorektal Kanseri Hastalarında Bethesda Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	39
Tablo 21. Kolorektal Kanseri Hastalarında Amsterdam Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	39
Tablo 22. Kolorektal Kanseri Hastalarında İHK Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	39
Tablo 23. Kolorektal Kanseri Hastalarında MSI Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	39

Tablo 24. Kolorektal Kanser Hastalarında %2,5 Eşik Değerinde PREMM ₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	40
Tablo 25. Kolorektal Kanser Hastalarında %5 Eşik Değerinde PREMM ₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	40
Tablo 26. Kolorektal Kanser Hastalarında Çalışmada Değerlendirilen Kriterlerin Sensitivite, Spesifite, PPV ve NPV Değerleri.....	41
Tablo 27. PREMM ₅ 'in Sensitivite, Spesifite, PPV ve NPV Değerlerini Belirten Seçilmiş Çalışmalar.....	47



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kalıtsal Kolorektal Kanserlerinin Fenotip ve Kalıtım Şekillerine Göre Sınıflaması....	10
Şekil 2. Lynch Sendromu İçin Tanı Algoritması.....	19
Şekil 3. Hasta Seçim Şeması.....	22
Şekil 4. Saptanan Varyantların Değerlendirilmesinde İzlenen Strateji.....	26
Şekil 5. Test Endikasyonlarının Pasta Grafiği.....	28
Şekil 6. Olgu 102'nin Aile Ağacı.....	48
Şekil 7. Olgu 102'de Saptanan Varyantların IGV Görüntüsü.....	49
Şekil 8. Olgu 113'te Saptanan Varyantın IGV Görüntüsü.....	50
Şekil 9. Olgu 113'ün <i>MLH1-MSH2</i> MLPA Görüntüsü.....	50
Şekil 10. Olgu 121'in Aile Ağacı.....	51
Şekil 11. Olgu 121'de <i>BARD1</i> Geninde Saptanan Varyantın IGV Görüntüsü.....	51
Şekil 12. Olgu 121'de <i>TP53</i> Geninde Saptanan Varyantın IGV Görüntüsü.....	52
Şekil 13. Olgu 133'ün Aile Ağacı.....	53
Şekil 14. Olgu 133'te <i>MLH1</i> Geninde Saptanan Varyantın IGV Görüntüsü.....	53

KISALTMALAR

ACMG	Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Birliği - ('American College of Medical Genetics and Genomics')
BAM	'Binary Alignment Map'
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
FastQ	'Fast Adaptive Shrinkage Thresholding Algorithm and Quality'
IGV	'Integrative Genomics Viewer'
İHK	İmmünohistokimya
KRK	Kolorektal Kanser
LP	Muhtemel Patojenik - ('Likely Pathogenic')
MİNAS	Multi-Lokus Kalıtsal Neoplazi Allel Sendromu - ('Multi-locus Inherited Neoplasia Allele Syndrome')
MLPA	'Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification'
MMR	Yanlış Eşleşme Tamiri - ('Mismatch Repair')
MSİ	Mikrosatellit İnstabilite
MSİ-H	Mikrosatellit İnstabilite-Yüksek - ('Microsatellite Instability-High')
MSİ-L	Mikrosatellit İnstabilite-Düşük - ('Microsatellite Instability-Low')
NCCN	'National Comprehensive Cancer Network'
NGS	Yeni Nesil Dizileme - ('Next Generation Sequencing')
NPV	Negatif Prediktif Değer
P	Patojenik
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu - ('Polymerase Chain Reaction')
PPV	Pozitif Prediktif Değer
PREMM	'Prediction Model for gene Mutation'
VCF	'Variant Calling File'
VUS	Klinik Önemi Bilinmeyen - ('Variant of Unknown Significance')

ÖZET

PREMM₅ RİSK MODELLEMESİNİN LYNCH SENDROMU ÖN TANILI HASTALARDA MUTASYON SAPTANMASINI ÖNGÖRMEDEKİ BAŞARISININ RETROSPEKTİF OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Ali GÜLEN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İZMİR

Kolorektal kanser (KRK), dünya genelinde üçüncü sıklıkta teşhis edilen kanser türüdür ve özellikle gelişmiş ülkelerde yaygındır. KRK'nın insidansı, farklı risk faktörlerinin etkisi altında değişiklik gösterir ve bu faktörler arasında yaş, genetik öykü, sigara içme, alkol tüketimi ve diyet yer alır. Lynch sendromu, KRK dahil bazı kanser türlerinin gelişimine ailevi bir yatkınlık sendromu olup *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* ve *PMS2* genlerindeki mutasyonlarla ilişkilidir. Lynch sendromlu bireylerde gelişebilecek kanserlerin erken teşhisi için düzenli izlemler önerilir. Bu nedenle, Lynch sendromlu bireylerin kesin tanı alması büyük önem taşır. Hastaların Lynch sendromu açısından değerlendirilmesinde, tanı yaşları, aile öyküleri, tümör dokusundaki immünohistokimya veya genetik yöntemlerle yanlış eşleşme tamir defektinin saptanması gibi faktörler göz önünde bulundurulur. Kişiye özel risk belirlenmesi, genetik danışmanlık ve erken kanser teşhisi sürecinin iyileştirilmesi amacıyla, veri kullanımına dayanan kantitatif değerlendirme yapabilen modeller de geliştirilmiştir. NCCN (National Comprehensive Cancer Network) tarafından önerilen MMRPro, MMRPredict, ve PREMM₅ gibi risk tahmin modelleri, genetik/ailesel yüksek risk değerlendirmesi için kullanılmaktadır. Bu modellerin başarıları, uygulandıkları popülasyona bağlı olarak değişmekle birlikte, Lynch sendromlu bireylerde genetik test çalışmalarını yönlendirmek için etkili araçlar olarak kabul edilmektedir.

Bu çalışmada, 1 Ocak 2018-31 Aralık 2022 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğinde kalıtsal kolorektal kanser sendromları açısından değerlendirilen 134 hastanın dosyaları geriye dönük olarak incelendi. Hastaların 121'ine periferik kandan mutasyon analizi yapılmıştı ve 114'ünde kolorektal ve/veya endometrium kanseri tanısı vardı. Kanser tanısı olan hastaların PREMM₅ skorları dosyadaki bilgileri kullanılarak hesaplandı. Toplamda 13 hastada (%10,74) kalıtsal kolorektal kanserle uyumlu patojenik veya muhtemel patojenik genetik varyantlar yeni nesil dizileme yöntemiyle tespit edildi. Altı hastada monoallel *MUTYH* mutasyonu saptandı ve üç hasta çoklu gen paneli sonucunda Lynch sendromundan başka kalıtsal kansere yatkınlık sendromu tanısı aldı. Bethesda, Amsterdam, immünohistokimya, mikrosatellit instabilitesi ve PREMM₅ modelleri için sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer (PPV) ve negatif prediktif değer (NPV) hesaplandı. PREMM₅ modeli, %2,5 eşik değerinde en yüksek duyarlılığı (%100) ve NPV'yi (%100) gösterdi. Ancak, çift kanser tanısı alan ve Lynch sendromu genlerinden farklı genlerde patojenik değişikliklere sahip hastaların varlığı, doğru tanı için çeşitli yaklaşımların ve kriterlerin birleştirilmesinin önemini vurgulamaktadır. Çalışma, Lynch sendromunun prevalansı ve çeşitli tanı kriterlerinin performansları açısından değerli bilgiler sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Lynch sendromu, PREMM₅

SUMMARY

RETROSPECTIVE EVALUATION OF PREMM₅ RISK MODELING'S SUCCESS IN PREDICTING MUTATION DETECTION IN PATIENTS WITH LYNCH SYNDROME

Ali GÜLEN, MD

Dokuz Eylul University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Izmir

Colorectal cancer (CRC) is the third most commonly diagnosed cancer worldwide and is particularly prevalent in developed countries. The incidence of CRC varies under the influence of different risk factors, including age, family history, smoking, alcohol consumption, and diet. Lynch syndrome is a hereditary predisposition syndrome for the development of certain cancer types, including CRC, and is associated with mutations in the *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, and *PMS2* genes. Regular surveillance is recommended for early detection of cancers that may develop in individuals with Lynch syndrome. Therefore, obtaining a definitive diagnosis in individuals with Lynch syndrome is of great importance. Factors considered in the evaluation of patients for Lynch syndrome include age at diagnosis, family history, detection of mismatch repair deficiency in tumor tissue using immunohistochemistry or genetic methods, among others. Models capable of quantitatively assessing individualized risk using data have also been developed to improve genetic counseling and early cancer diagnosis processes. Risk prediction models such as MMRPro, MMRPredict, and PREMM₅, recommended by the National Comprehensive Cancer Network (NCCN), are used for genetic/hereditary high-risk assessment. While the success of these models varies depending on the population they are applied to, they are considered effective tools for guiding genetic testing studies in individuals with Lynch syndrome.

In this study, the files of 134 patients evaluated for hereditary colorectal cancer syndromes in the Medical Genetics outpatient clinic of Dokuz Eylül University Hospital between January 1, 2018, and December 31, 2022, were retrospectively reviewed. Mutation analysis from peripheral blood was performed on 121 patients, and 114 of them were diagnosed with colorectal and/or endometrial cancer. PREMM₅ scores of patients with cancer diagnosis were calculated using information from the files. Pathogenic or likely pathogenic genetic variants consistent with hereditary colorectal cancer were detected in 13 patients (10.74%) using next-generation sequencing. MUTYH mutations were detected in six patients, and three patients were diagnosed with susceptibility to hereditary cancer other than Lynch syndrome through multi-gene panel testing. Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) were calculated for Bethesda, Amsterdam, immunohistochemistry, microsatellite instability, and PREMM₅ models. The PREMM₅ model showed the highest sensitivity (100%) and NPV (100%) at a threshold of 2.5%. However, the presence of patients with dual cancer diagnoses and pathogenic changes in genes other than Lynch syndrome genes emphasizes the importance of combining various approaches and criteria for accurate diagnosis. The study provides valuable information on the prevalence of Lynch syndrome and the performance of various diagnostic criteria.

Keywords: Lynch syndrome, PREMM₅

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal kanser (KRK), dünya genelinde yaygın bir kanser türü olup, hem erkeklerde hem de kadınlarda üçüncü en sık teşhis edilen kanser türüdür. Kolorektal kanserin insidansı dünya genelinde farklılık gösterir ve en yüksek oranlar gelişmiş ülkelerde görülür. Gelişmiş ülkelerde farkındalığın artması, tarama programlarının geliştirilmesi, erken teşhis konulması ve tedavideki ilerlemeler nedeniyle kolorektal kanserin insidans ve mortalite oranları azalmaktadır(1).

Kolorektal kanserin etiyolojisi çok faktörlü olup, gelişimine birçok risk faktörü katkıda bulunmaktadır. Yaş, kolorektal kanser için en güçlü risk faktörüdür ve 50 yaşından sonra insidansı önemli ölçüde artar. Diğer risk faktörleri arasında kolorektal kanser veya polipler için aile öyküsü, inflamatuvar bağırsak hastalığı, sigara kullanımı, alkol tüketimi, kırmızı ve işlenmiş et içeren; meyve-sebzeler açısından fakir bir diyet, obezite ve fiziksel aktivite yetersizliği yer almaktadır.

Lynch sendromu, herediter nonpolipozis kolorektal kanser olarak da bilinen, çeşitli kanser türlerinin, özellikle kolorektal kanser ve endometrium kanserinin gelişme riskini arttıran otozomal dominant kalıtım gösteren bir genetik hastalıktır. Bu sendrom, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* ve *PMS2* gibi DNA eşleşme tamirinde yer alan genlerde kalıtsal mutasyonlar nedeniyle oluşur(2–4). Tüm kolorektal kanser vakalarının %3-5'inden Lynch sendromunun sorumlu olduğu düşünülmektedir(5).

Lynch sendromlu bireyler, kolorektal kanser, endometrial kanser, yumurtalık kanseri, mide kanseri, pankreas kanseri, idrar yolu kanseri ve diğer kanser türlerini geliştirme riskinde artış gösterir. Bu kanserlerin gelişme riski literatürde kolorektal kanser için %80, endometrial kanser için ise %60 olarak belirtilmiştir. Kanser gelişme yaşları genel popülasyondan daha erken olma eğilimindedir(6–8).

Lynch sendromu, ilişkili kanserlerden herhangi biriyle ilgili aile öyküsü veya kişisel öyküsü olan bireylere yapılan genetik testlerle teşhis edilir.

Lynch sendromunun yönetimi, kanser gelişme riskini azaltmak ve gelişebilecek kanserleri erken saptamak için sık izlemlerden oluşan bir takip programı ve koruyucu önlemleri içerir. İzlem önlemleri düzenli kolonoskopileri, endometrial biyopsileri ve diğer tarama testlerini içerebilir. Koruyucu önlemler, kolon, uterus veya overlerin çıkarılması gibi koruyucu cerrahi işlemleri içerebilir(9).

Lynch sendromlu bireylerin, kanser risklerini anlamaları ve sağlık hizmetleri konusunda bilinçli kararlar vermeleri için genetik danışmanlık almaları önemlidir. Lynch sendromuyla ilişkili kanserlerin erken teşhisi ve tedavisi, hastalıkla ilişkili morbidite ve mortaliteyi azaltabilir.

Kanser için risk tahmin modelleri, kişisel ve klinik özelliklere dayanarak bireylerin belirli bir kanser türü geliştirme olasılığını tahmin etmek için kullanılan istatistiksel modellerdir. Bu modeller, büyük epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen verileri kullanarak kanserin gelişimine katkıda bulunan risk faktörlerini belirler ve bunları bir algoritma içine dahil ederek bireyin riskini tahmin eder.

Kanser için risk tahmin modellerinin geliştirilmesi kanser önleme ve erken teşhisinin öneminin artmasıyla giderek daha önemli hale gelmiştir. Bu modeller, kanser geliştirme riski yüksek olan bireyleri tanımlamak ve hedeflenmiş tarama, genetik test veya risk azaltma müdahalelerinden faydalanabilecek bireyleri belirlemek için kullanılabilir.

MMRPro, PREMM₅ ve MMRPredict, Lynch sendromu için risk tahmin modelleridir ve MMR(yanlış eşleşme tamir) gen mutasyonlarının varlığına dayalı olarak riski tahmin etmek için kullanılırlar. Bu üç modelin hepsi, kolorektal kanser için risk tahmininde yüksek doğruluk oranlarına sahip olup NCCN kolorektal kanser için genetik/ailesel yüksek risk değerlendirmesi rehberinde kullanılmaları önerilmektedir. Lynch sendromlu bireyleri tespit etmek, Lynch sendromu olasılığı yüksek olan bireyleri takip etmek ve erken teşhis ve önleme stratejilerini belirlemek için kullanılırlar. Ancak, bu modellerin doğruluğu, kullanılan verilerin doğruluğuna ve modellerin sınırlandırmalarına bağlıdır ve her zaman mutlak bir doğruluk sağlamayabilirler(10).

PREMM₅ (The PREdiction Model for gene Mutations), aile öyküsü, yaşı, cinsiyet ve Lynch sendromu spektrumunda görülen kanser varlığına dayalı olarak, bir bireyin Lynch sendromu olasılığını tahmin etmek için kullanılan web tabanlı bir araçtır(11).

Bu çalışmamızda polikliniğimizde Lynch sendromu açısından değerlendirilen bireylerin retrospektif olarak PREMM₅ skorları hesaplanmış, literatürde kullanılması önerilmiş iki farklı eşik değerde (%2,5 ve %5) bu skorun Lynch sendromunu tahmin etmedeki başarısı değerlendirilmiş ve rutin sağlık hizmetinde aynı amaçla kullanılan mikrosatellit instabilite, immünohistokimya bulguları, Amsterdam ve Bethesda kriterleriyle karşılaştırması yapılmıştır.

Literatürde risk prediksiyon modellemeleri açısından önemli çalışmalar olmakla birlikte, PREMM₅ özelinde yapılmış çalışmaların az olduğu görülmektedir. Ayrıca yapılan

Çalışmaların büyük çoğunluğu batı toplumlarında yapılmış olup Türkiye’de yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın Türk popölasyonuna dair küçük bir kesit ortaya koyacağını ve ileride gerçekleştirebilecek çalışmalara veri sağlayabileceğini düşünöyoruz.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Risk Prediksiyon Modellemeleri

Günümüzde rutin poliklinik şartlarında zaman kısıtlılığı ve eğitimli sağlık personeli eksikliği hastaların erken tanı almasının önündeki önemli engellerdir(12,13). Bu sorunlara çözüm olmak için özellikle meme kanseri ve kolorektal kanser için kullanılan risk prediksiyon modellemeleri geliştirilmiştir(14,15). Henüz rehberlerde yer almasa da 2022 yılında yayınlanan PREMMPlus modellemesi spesifik bir kanser sendromu yerine 19 gen açısından hastaların kişisel ve ailesel kanser öykülerini değerlendirerek sağlık personeline yardımcı olmaktadır(16).

Lynch sendromu için geliştirilen modeller, hastaların değerlendirilmesinde tanı yaşları, kendilerinin ve akrabalarının kanser tanıları, tümör dokusunda immünohistokimya (İHK) ile gösterilmiş ekspresyon kaybı ya da polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), yeni nesil dizileme (NGS) tabanlı yöntemlerle saptanmış yanlış eşleşme tamir defekti gibi verileri göz önünde bulundurarak kantitatif değerlendirmeler yaparlar. Kişiyi özel risk belirlenmesi sayesinde genetik danışmanlık, kişiyi özel takip programları ve erken kanser teşhisi sürecinin gelişmesi amaçlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu modellerin başarılı oldukları gösterilmiştir(17).

NCCN kolorektal kanser için genetik/ailesel yüksek risk değerlendirmesi rehberinde yer alan risk prediksiyon modellemeleri Tablo 1’de birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

Tablo 1. Prediksiyon Programlarının Karşılaştırması

Model	Sonuç	Metot	Moleküler Testler	Güçlü Yönleri	Zayıf Yönleri
MMRPredict	<i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> ve <i>MSH6</i> genleri için genel tahmin	2 aşamalı: Çok değişkenli lojistik regresyon analizi MSİ/İHK verisiyle prediksiyonun geliştirilmesi	Dahil	Popülasyon bazlı kohort, gen spesifik tahmin, moleküler testler dahil	Erken başlangıçlı kolorektal kanser popülasyonunda geliştirilmiş, endometrium kanseri dışında Lynch sendromu ilişkili kanserlerde kullanılamaz, kanser tanısı olmayan bireylerde kullanılamaz
MMRPro	<i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> ve <i>MSH6</i> genleri için gen spesifik tahmin	Mendelyen ve Bayesian analiz	Dahil	Genetik test sonuçları dahil, aile büyüklüğü ve kanser tanısı olmayan bireyler hesaplamaya dahil, moleküler testler dahil, sağlıklı bireyler için hesaplama yapar	Uygulaması pratik değil, endometrium kanseri dışında Lynch sendromu ilişkili kanserlerde kullanılamaz
PREMM ₅	<i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , <i>MSH6</i> , <i>PMS2</i> ve <i>EPCAM</i> genleri için genel tahmin	Lojistik regresyon analizi	Dahil değil	Lynch sendromu ilişkili tüm kanserler hesaplamada kullanılır, sağlıklı bireyler için hesaplama yapar, kullanımı kolaydır	Moleküler testler dahil değil, aile büyüklüğü ve kanser olmayan bireyler hesaplamada kullanılmaz

2.1.1 MMRPro

MMRPro modelinin dış doğrulaması, retrospektif olarak 226 farklı aileden 279 birey üzerinde yapılmıştır. Bu doğrulama, germline genetik test sonuçlarını prediksyon modelinin tahminleri ile karşılaştırarak yapılmıştır. Modelde kullanılan parametreler, hatalı eşleşme tamir genlerindeki mutasyonların penetransı ve prevalansı ile tümör özelliklerinin prediktif değerleri hakkındaki meta analizlere dayanmaktadır. Model, kolorektal ve endometrial kanserle ilgili ayrıntılı aile öyküsü bilgileri ve mikrosatellit instabilitesi gibi tümör özelliklerini kullanarak hastaya özgü tahminler yapar.

Model Bayes kuralı ve Mendel kanunlarını kullanarak $Ola_{\text{genotip}|\text{öykü}} = (Ola_{\text{genotip}} \times Ola_{\text{öykü}|\text{genotip}}) / Ola_{\text{öykü}}$ denklemini kullanmaktadır. Bu denklemde “Ola” olasılığı, “genotip” *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* genlerinden birinde patojenik mutasyon bulunmasını, “öykü” kolorektal kanser durumu (kanser tanısı varlığı, tanı anındaki yaş), endometrium kanseri durumu (kanser tanısı varlığı, tanı anındaki yaş, tanı yoksa en son tarama yapılma zamanı ve değerlendirme anındaki yaş), mikrosatellit intabilite veya immünohistokimyasal değerlendirme sonuçları, daha önce yapılmış germline test sonuçları başlıkları altında değerlendirilebilecek aile hikayesini, $Ola_{A|B}$ B’nin gözlenmesi durumunda A’nın bulunması olasılığını ifade etmektedir(18).

NCCN kolorektal kanser için genetik/ailesel yüksek risk değerlendirmesi rehberinde MMRPro’ya göre mutasyon saptanma riski $\geq 5\%$ olan hastalarda germline test çalışılması önerilmektedir(10).

2.1.2 MMRPredict

Aile öykülerine bakılmaksızın, kolorektal kanser tanısı konulmuş 55 yaş altı 870 hastadan oluşan bir grup seçilmiştir. Bu hastalarda *MLH1*, *MSH2* ve *MSH6* DNA hatalı eşleşme tamir genlerindeki mutasyonlar incelenmiş ve bu genlerde mutasyon varlığını tahmin etmek için çok değişkenli lojistik regresyonla iki aşamalı bir model geliştirilmiştir. İlk aşama sadece klinik değişkenleri (tanı yaşı, cinsiyet, tümörün yerleşimi, senkron/metakron tümör varlığı, ailede kolorektal kanser varlığı ve tanı yaşı, ailede endometrial kanser varlığı) içermekteyken; ikinci aşama ise tümörün immünohistokimyasal boyanması ve mikrosatellit instabilite testleriyle analiziyle oluşturulmuştur. Model, bağımsız bir hasta popülasyonunda doğrulanmıştır.

$OLA/(1-OLA) = 1,39 \times 0,89(YAŞ) \times 2,57(CİNSİYET) \times 4,45(YER) \times 9,53(SEN/MET)$
 $\times 46,26(KRKAH < 50) \times 7,04(KRKAH \geq 50) \times 59,36(EKAH)$ denklemi ile hastaların hatalı eşleşme genlerinde patojenik mutasyon taşıma olasılığı tahmin edilebilir. Bu denklemde “OLA” hatalı eşleşme genlerinde patojenik mutasyon saptanma olasılığını, “YAŞ” hastanın kanser tanısı alma yaşını, “YER” kolorektal kanserin proksimal (denklemde “YER”=1 olarak hesaplanır) ya da distal (denklemde “YER”=0 olarak hesaplanır) yerleşimini, “SEN/MET” senkron ya da metakron tümör (varlığı durumunda “SEN/MET”=1 yokluğu durumunda “SEN/MET”=0 olarak hesaplanır) varlığını, “KRKAH” aile hikayesinde kolorektal kanser (en genç yaşta tanı alan akrabanın tanı anındaki yaşı 50’den küçükse “KRKAH<50”=1 “KRKAH≥50”=0 ; en genç yaşta tanı alan akrabanın tanı anındaki yaşı 50 veya 50’nin üstündeyse “KRKAH<50”=0 “KRKAH≥50”=1 ; kolorektal kanser tanısı alan aile bireyi yoksa “KRKAH<50”=0 “KRKAH≥50”=0 olarak hesaplanır) varlığını, “EKAH” birinci derece akrabalarda endometrial kanser (herhangi bir birinci derece akrabada endometrial kanser tanısı varlığı durumunda “EKAH”=1 yokluğu durumunda “EKAH”=0 olarak hesaplanır) varlığını ifade etmektedir.

%5 eşik değerinde birinci aşamanın ardından duyarlılık %68, özgüllük %86, pozitif prediktif değer %19 olarak saptanmış. İkinci aşamada mikrosatellit instabilite kullanıldığında duyarlılık %65, özgüllük %97, pozitif prediktif değer %53 iken; immünohistokimyasal boyanma verileri kullanıldığında duyarlılık %62, özgüllük %99, pozitif prediktif değer %80 olarak saptanmış(19).

NCCN kolorektal kanser için genetik/ailesel yüksek risk değerlendirmesi rehberinde MMRPredict’e göre mutasyon saptanma riski $\geq 5\%$ olan hastalarda germline test çalışılması önerilmektedir(10).

2.1.3 PREMM₅

İlk olarak 2006 yılında *MLH1* ve *MSH2* genlerinde patojenik bir mutasyon bulunma olasılığını tahmin etmekte kullanılabilecek PREMM_{1,2} modeli geliştirilmiştir. 2010 yılında ise *MLH1* ve *MSH2*’ye ek olarak *MSH6* geninde de patojenik mutasyon bulunma ihtimalini öngörmede kullanılabilecek PREMM_{1,2,6} modeli geliştirilmiştir(20,21).

PREMM₅ risk prediksyon modeli yaş, cinsiyet ve Lynch sendromu ilişkili kanserler açısından öz ve soy geçmiş bilgilerini kullanarak *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *EPCAM* ve *PMS2* genlerinde mutasyon bulunması olasılığını kümülatif olarak hesaplayan bir araçtır. Hem kanser tanısı olan, hem de kanser tanısı almamış bireylerin değerlendirilmesinde kullanılabilir. 2017

yılında 18.734 hastanın verileri ve 1.058 kişilik bir doğrulama kohort grubu kullanılarak oluşturulmuştur(11).

PREMM₅, selefi PREMM₁₋₂₋₆'dan farklı olarak hastaları *EPCAM* ve *PMS2* genleri açısından da değerlendirmektedir. Ayrıca başvuru yaşının modele eklenmesi prediksyon başarısını artırmıştır(11).

Karar eğrisi analizi ile maksimum faydanın %5 eşik değer ile sağlandığı görülmüştür. Bu eşik değerinde duyarlılık %72,1, özgüllük %75,1, pozitif prediktif değer %14, negatif prediktif değer %97,9 olarak bulunmuştur(11).

Anlamlı klinik yararın görüldüğü minimum eşik değer %2,5 olarak saptanmış olup, bu eşik değerinde duyarlılık %89,4, özgüllük %49,2, pozitif prediktif değer %9, negatif prediktif değer %98,8 olarak hesaplanmıştır(11).

PREMM₅ çıktı olarak kümülatif bir risk tahmini verse de tahmin başarısı mutasyon bulunan gene göre değişmektedir. Bu nedenle özellikle *PMS2* geninde mutasyonu olan hastaların daha yüksek duyarlılıkla saptanabilmesi için %2,5 eşik değerinin kullanılması önerilmektedir(11,22). NCCN kolorektal kanser için genetik/ailesel yüksek risk değerlendirmesi rehberinde PREMM₅ skoru %5'in üzerinde bulunan bireylere germline test çalışılmasını önerirken, %2,5 eşik değerinin kullanılmasının da bazı çalışmalarda önerildiğini; bu nedenle klinik değerlendirmeye birlikte kimi bireylerde bu eşik değerinin kullanılmasının uygun olabileceğini belirtmektedir. %2,5 eşik değerinin kullanılması durumunda duyarlılığın artacağı ancak özgüllüğün düşeceği vurgulanmaktadır(10).

PREMM₅ modelinin geliştirildiği kohort Avrupa kökenli hastalardan oluştuğu için başka popülasyonlardaki performansının değerlendirilmesine ihtiyaç bulunmaktadır. PREMM_{1,2,6}'nın Kore popülasyonundan 149 hastanın verilerinin değerlendirildiği bir çalışmada prediktif gücünün daha zayıf olduğu bulunmuş ve Asyalı hastalarda uygulanabilirliğinin düşük olduğu belirtilmiştir(23).

PREMM_{1,2,6} skoru %5'in üzerinde çıkan hastalarda DNA tamir genlerinden başka kansere yatkınlık genlerinde patojenik varyantların saptandığı da literatürde bildirilmiştir(24).

2.2 Kolorektal Kanser

Kolorektal kanser dünyada üçüncü en sık görülen kanser türüdür(25). Gelişen tıbbi ve cerrahi tedaviler, takip ve tarama yöntemleri sayesinde geçen yıllar içerisinde kolorektal kanserin insidansı ve mortalitesi azalmaktadır. Nedeni açıklanamamakla birlikte 50 yaşından

genç popülasyonda ise kolorektal kanser insidansı ve mortalitesinde artış görülmektedir(26–29).

Bağırsak hareketlerinde değişiklik, rektal kanama, melena, anemi, açıklanamayan istemsiz kilo kaybı gibi semptomlara neden olabilir. Yaşlanma, hayvansal yağlardan zengin; düşük lifli diyet, obezite, sedanter yaşam tarzı, inflamatuvar bağırsak hastalığı, pelvik bölgeye radyasyon tedavisi uygulanması, akromegali, streptococcus bovis bakteremisi, tütün kullanımı ve genetik etmenler kolorektal kanser gelişimiyle ilişkilendirilmiştir(30–32).

Amerika Önleyici Hizmetler Görev Gücü 2021 yılında yaptığı önerilerde, erken başlangıçlı kolorektal kanserlerin insidansındaki artışı göz önünde bulundurarak, asemptomatik bireylerde kolorektal kanser tarama başlangıç yaşını öne çekmiştir. 45 yaşından büyük bütün bireylerde kolorektal kanser için taramaların başlaması önerilmektedir(33). Tarama için kolonoskopi, bilgisayarlı tomografi kolonoskopi, fleksibl sigmoidoskopi, gaitada gizli kan tespiti, fekal immünokimyasal test, gaita DNA testi kullanılabilir. Taramaların sıklığı ve tarama yönteminin seçimi, hastanın risk faktörlerine ve tercihine göre belirlenmektedir(34,35).

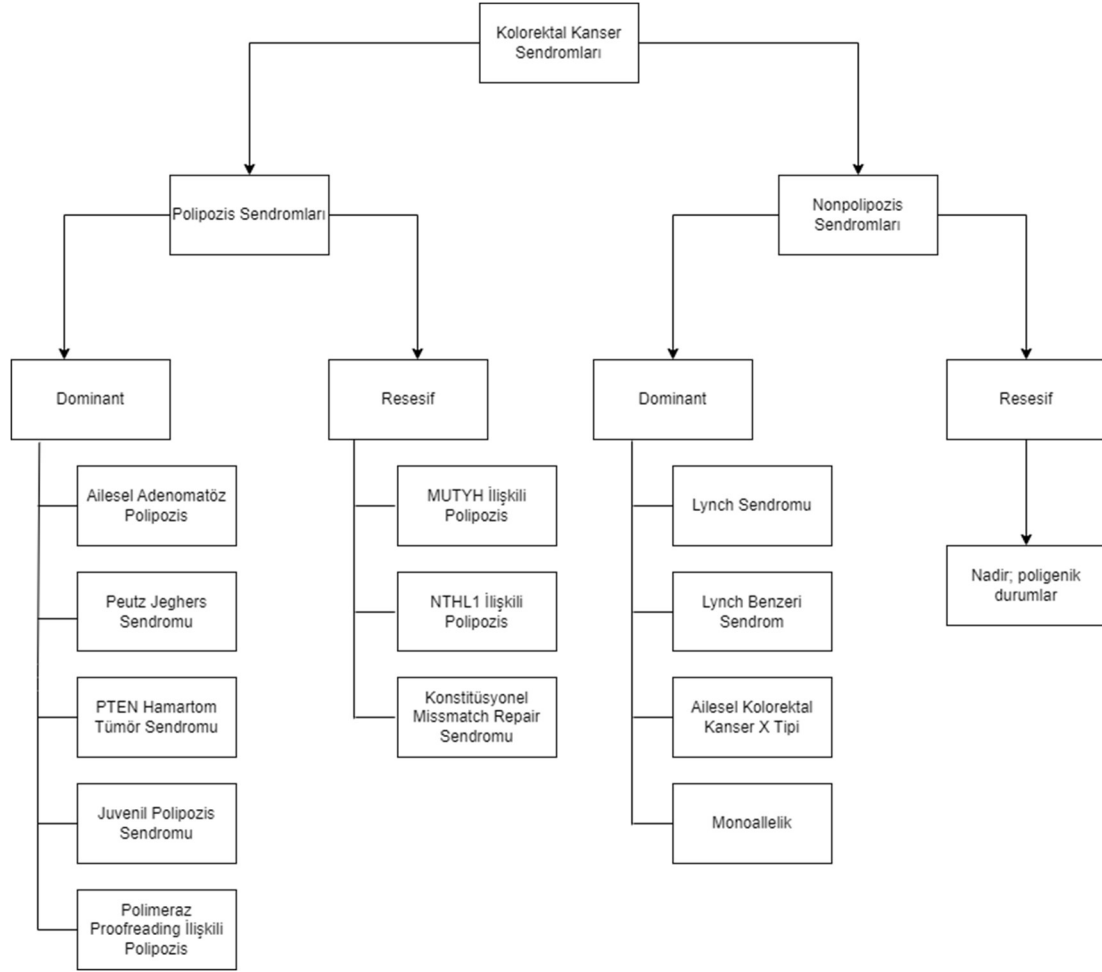
Hastalığın tedavisinde rezeksiyon, kemoterapi, kemoradyasyon, hedefli tedaviler gibi seçeneklerden yararlanılmaktadır(36).

2.2.2 Kalıtsal Kolorektal Kanser Sendromları

Kolorektal kanser hastalarının %10-16'sında kansere yatkınlık genlerinde patojenik bir varyant bulunmaktadır(37). Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Birliği'nin (ACMG) 2021 yılında yayınladığı kolorektal kanser genetik testlerinde teknik standartlarında, 11 gen (*APC*, *BMP1A*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *PMS2*, *PTEN*, *SMAD4*, *STK11*) yüksek risk geni; 9 gen (*ATM*, *AXIN2*, *BLM*, *GREM1*, *MLH3*, *MSH3*, *NTHL1*, *POLD1*, *POLE*) risk geni; 3 gen (*CDH1*, *FLCN*, *TP53*) kolorektal kanserin görülebileceği kanser sendromu geni olarak belirlenmiş olup, kalıtsal kolorektal kanser için yapılacak genetik testlerde bu 23 genin değerlendirilmesi önerilmiştir(38).

Hastalara genetik olarak kalıtsal kolorektal kanser sendromu tanısının konulması sayesinde kolorektal kanserin tekrarlama olasılığı, başka organlarda kanser gelişme olasılığı hakkında bilgi sahibi olunması mümkündür. Hastaların takipleri ve takiplerde kullanılacak yöntemler bu bilgiler ışığında düzenlenmektedir. Hastaların tedavileri sürecince ameliyatın zamanlaması, ameliyatın kapsamı, kullanılacak hedefli tedavilerin seçimi gibi konularda genetik tanı yol gösterici konumdadır(39).

Kalıtsal kolorektal kanser sendromları polipozis sendromları ve nonpolipozis sendromları olarak ikiye ayrılabilir(40):



Şekil 1. Kalıtsal Kolorektal Kanserlerinin Fenotip ve Kalıtım Şekillerine Göre Sınıflaması [Şekil Hampel ve ark.'dan alınmıştır(37)]

2.2.2.1 Polipozis Sendromları

2.2.2.1.1 Ailesel Adenomatöz Polipozis

Ailesel adenomatöz polipozis sendromu, kalın bağırsakta çok sayıda adenom gelişimine neden olan otozomal dominant kalıtmı bir hastalıktır. Bu hastalık, *APC* geninde bir mutasyon olduğunda ortaya çıkan kolorektal kanserin nadir ancak iyi bilinen bir nedenidir(41).

Bu sendromun prevalansının yaklaşık 1/8.000 olduğu düşünülmektedir(42).

5q22.2 lokusunda yer alan *APC* geninin mutasyonları sonucu Wnt yolağının aktivasyonu, hücre döngüsünün kontrolünün bozulması, hücre adezyonunun kaybı gibi nedenlerle kolorektal kanser gelişimi gözlenir(43).

NCCN'nin kolorektal kanser için genetik/ailesel yüksek risk değerlendirme rehberine göre ≥ 20 kümülatif adenoma öyküsü, retinal pigment epitelinin multifokal/bilateral konjenital hipertrofisi veya ailede adenomatöz polipozis sendromları için bilinen patojenik mutasyon bulunması durumunda genetik tetkik önerilir. Kümülatif adenoma sayısı 10-20 arası, desmoid tümör, hepatoblastoma, papiller tiroid kanserin kribriform morular varyantı, unilateral retinal pigment epitelinin konjenital hipertrofisi veya serrated polipozis sendromu tanı kriterlerini karşılayan bireyde adenomlar bulunması durumunda genetik test düşünülebileceği belirtilmektedir(10).

APC geninin dizi analizinin vakaların %90'ına tanı koymada yeterli olacağı bilinmekle birlikte, vakaların yaklaşık %10'luk bir kısmının tanısı için delesyon/duplikasyon analizi gerekmektedir(44).

2.2.2.1.2 Peutz-Jeghers Sendromu

Peutz-Jeghers sendromu, karakteristik melanin pigmentasyonuna sahip mukokutanöz hiperplastik makül ve poliplerin görüldüğü otozomal dominant kalıtmı bir genetik bozukluktur(45).

Peutz-Jeghers sendromunun klinik bulguları çeşitlilik gösterebilir. Mukokutanöz lezyonlar, özellikle ağız, burun ve genital bölgelerdeki hiperpigmente maküllerle karakterizedir. Gastrointestinal sistemde, ince ve kalın bağırsakta yaygın olarak görülen hamartomatöz polipler gelişebilir. Bu polipler, intestinal tıkanıklık veya intususepsiyon gibi komplikasyonlara yol açabilir. Ayrıca, Peutz-Jeghers sendromlu bireylerde meme, pankreas, over, testis, akciğer ve diğer organlarda kanser riski de artmıştır(45).

Peutz-Jeghers sendromu, nispeten nadir görülen bir sendrom olup genel olarak 1/50.000-1/200.000 arasında bir yaygınlığa sahip olduğu tahmin edilmektedir(46,47).

STK11 geni 19p13.3 lokusunda yer almaktadır. Bir serin/treonin protein kinaz kodlayan bu genin mutasyonları sonucunda Peutz-Jeghers sendromu oluşmaktadır. *STK11* geninin hücre enerji metabolizması, hücre polaritesi ve hücre çoğalmasında görevleri vardır(48–50).

Peutz-Jeghers sendromunun tanısı, klinik ve histopatolojik bulgulara dayanır. Klinik olarak, hastalarda en az iki Peutz-Jeghers tipi hamartomatöz polip varlığı, Peutz-Jeghers tipi hamartomatöz polibin yanı sıra aile öyküsünün varlığı, karakteristik mukokutanöz pigmentasyonla birlikte aile öyküsünün varlığı veya mukokutanöz pigmentasyonu olan bir bireyde Peutz-Jeghers tipi hamartomatöz polip varlığı kriterlerinden birinin karşılanması durumunda Peutz-Jeghers sendromu klinik tanısı konulur(51).

Hasta popülasyonunun %80'inde dizi analiziyle tanı konulabilirken, geriye kalan %20'lik hasta grubunda delesyon/duplikasyon analizi düşünülmelidir(52–54).

2.2.2.1.3 PTEN Hamartom/Tümör Sendromu

PTEN hamartom tümör sendromu, fosfataz ve tensin homologu (*PTEN*) genindeki mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkan otozomal dominant kalıtmıli genetik bir bozukluktur. Çoklu hamartomatöz tümörlerin gelişimi ve çeşitli malignitelerin artmış riskiyle karakterizedir. *PTEN* geninin mutasyonları sonucu ortaya çıkan fenotipler Cowden sendromu, Bannayan-Riley-Ruvalcaba sendromu ve *PTEN*-ilişkili Proteus sendromu olarak sınıflandırılabilir(55).

PTEN hamartom tümör sendromu, yaklaşık 200.000 kişide bir olan nispeten nadir bir bozukluktur. Bununla birlikte, teşhis edilmeme ve fenotipik değişkenlik nedeniyle gerçek yaygınlığın daha yüksek olabileceği düşünülmektedir(56).

10q23 lokusunda bulunan *PTEN* geni, önemli tümör baskılayıcı işlevlere sahip bir proteini kodlar. *PTEN*, fosfatidilinositol-3-kinaz /protein kinaz B yolağını inhibe eden ve programlanmış hücre ölümüne dahil olan faktörlerin ekspresyonunu teşvik eden ve sonuçta anormal hücre büyümesini ve hayatta kalmasını önleyen kilit bir düzenleyici görevi görür(57).

Cowden sendromunun klinik tanısı için kriterler belirlenmiştir. Patognomik kriterler serebellar displastik gangliositoma ve mukokutanöz lezyonlardır (mukozal lezyonlar, papillomatöz lezyonlar, akral keratozlar ve fasyal trikolemmomalar). Major kriterler arasında makrosefali, tiroid kanseri, meme kanseri ve endometrium kanseri bulunur. Minor kriterler arasında entelektüel yetersizlik, hamartomatöz intestinal polipler, lipomlar, fibromlar, tiroid lezyonları, memenin fibrokistik hastalığı, genitoüriner malformasyonlar ve tümörler, uterin fibroidler yer alır. Cowden sendromu klinik tanısı, bir bireyin patognomik mukokutanöz lezyonları veya iki veya daha fazla major kriteri veya bir major üç veya daha fazla minor kriteri veya dört veya daha fazla minör kriteri karşılaması durumunda konulabilir. Ailede bahsedilen kriterleri karşılayan bir birey bulunması durumunda diğer aile bireyleri bir patognomik kriter, bir majör kriter, iki minör kriter, Bannayan-Riley-Ruvalcaba öyküsü kriterlerinden herhangi birisini karşılaması durumunda Cowden sendromu klinik tanısını alır(58).

Hastalarda saptanan mutasyonların büyük çoğunluğu dizi analiziyle tespit edilebiliyor olsa da Cowden sendromu ve Bannayan-Riley-Ruvalcaba sendromlu hastalarda büyük delesyonlar da bildirilmiştir(58–60).

2.2.2.1.4 Juvenil Polipozis Sendromu

Juvenil polipozis sendromu, gastrointestinal sistemde yaygın poliplerin görüldüğü otozomal dominant kalıtmı bir genetik bozukluktur.

Juvenil polipozis sendromu, nadir görülen bir sendrom olup, kesin yaygınlığı belirlemek zordur. Ancak literatürdeki verilere göre, juvenil polipozis sendromunun yaygınlığı yaklaşık olarak 1/100.000 ile 1/160.000 arasındadır(61).

18q21.1 lokusunda bulunan *SMAD4* geni, transforming growth faktörü-beta (TGF- β) süper ailesinden gelen sinyallerin iletilmesinde çok önemli bir rol oynayan bir proteinin üretilmesinden sorumludur. Bu protein, transkripsiyonel süreçlerde yer alan spesifik genlerin aktivasyonunu kolaylaştırarak işlev görür. *SMAD4*, dönüştürücü büyüme faktörü-beta'nın varlığıyla tetiklenen transkripsiyonel reaksiyonların çoğu için gerekli olan merkezi SMAD proteini olarak kabul edilir(62).

BMPRIA geni 10q23.2 lokusunda yer alıp, bone morphogenic protein sinyal yolunda yer alan ve tip I olarak bilinen bir hücre yüzeyi reseptörünün kodlanmasından sorumludur. Bone morphogenic proteinin kendisi de dahil olmak üzere ligandlar bu reseptöre bağlanarak bir dizi sinyal kaskadını başlatır. Bu yollar, SMAD4 ile kompleks oluşturan ve çekirdeğe göç eden düzenleyici SMAD proteinlerini içerir. Çekirdeğe girdikten sonra, bu protein kompleksleri doğrudan spesifik DNA dizilerine bağlanarak transkripsiyon sürecini etkili bir şekilde düzenler(63).

Juvenil polipozis sendromu tanısı klinik bulgular ve histopatolojik değerlendirmelere dayanır. Kolonda ≥ 5 adet juvenil polip, gastrointestinal sistem boyunca multipl juvenil polip, aile öyküsünde juvenil polipozis sendromu olan bir bireyde herhangi sayıda juvenil polip kriterlerinden herhangi birisini karşılayan hastalarda juvenil polipozis sendromu tanısı düşünülmeli ve hastalara genetik test yapılmalıdır(64).

SMAD4 ve *BMPRIA* genlerinden birinde patojenik mutasyon saptanma oranı yukarıdaki kriterlere uyulması durumunda yaklaşık %50 olarak bildirilmiştir(65). Her iki gen için de mutasyonların yaklaşık %15'lik bir kısmının atlanmaması için delesyon/duplikasyon analizi yapılmalıdır(66–68).

2.2.2.1.5 Polimeraz Düzeltmeyle İlişkili Sendrom

Polimeraz düzeltmeyle ilişkili sendrom, çoklu gastrointestinal poliplerin varlığı ve kolorektal kanser riskinde artış ile karakterize nadir görülen bir genetik bozukluktur. İlk defa adenomatöz polipozis hastalarında tanımlanan bu rahatsızlık daha sonra polipozisi olmayan

hastalarda da gösterilmiştir. Ayrıca bu sendromda görülen tümör spektrumu beyin, endometrium ve over kanserlerinin eklenmesiyle genişlemiştir(69).

Polimeraz düzeltmeyle ilişkili sendrom ilk defa 2013 yılında tanımlanmış olup kesin prevalansı belirlenmemiştir(70).

POLE ve *POLD1*, sırasıyla polimeraz epsilon ve polimeraz delta enzim komplekslerinin temel bileşenlerini kodlar. Bu kompleksler, önde gelen ve geride kalan iplikçikleri sentezleyerek DNA replikasyonunda önemli roller oynar. Özellikle polimeraz epsilon, öncü ipliğin tek bir primer kullanılarak sürekli bir şekilde sentezlenmesinden sorumludur. Öte yandan polimeraz delta, geciken ipliği birden fazla RNA primeri gerektiren kesintili bir şekilde sentezleyerek Okazaki parçalarının oluşmasına neden olur(71,72).

2.2.2.1.6 *MUTYH* İlişkili Polipozis

MUTYH ile ilişkili polipozis, çoklu kolorektal poliplerin varlığı ve kolorektal kanser riskinde artış ile karakterize otozomal resesif kalıtmımlı bir genetik hastalıktır. *MUTYH* ile ilişkili polipozisli bireyler tipik olarak, genellikle 20'li veya 30'lu yaşlarda ortaya çıkan çoklu kolorektal polipler geliştirir. Bu polipler, ailesel adenomatöz polipoziste görülenlerden ayırt edilemez. Bununla birlikte, *MUTYH* ile ilişkili polipozisli bireylerde genellikle ailesel adenomatöz polipozis hastalarından daha az polip bulunur. Tedavi edilmezse, *MUTYH* ile ilişkili polipozis sendromu ile ilişkili polipler, tipik olarak ailesel adenomatöz polipozise kıyasla daha geç bir yaşta kolorektal kansere ilerleyebilir(73).

Yapılan çalışmalarda *MUTYH* taşıyıcılık sıklığının Avrupa popülasyonlarında %1-2 seviyelerinde olduğu saptanmış olup, biallelik mutasyonlu birey 10.000'de 1 ile 40.000'de 1 arasında değiştiği tahmin edilmektedir(74,75).

MUTYH geni 1p34.1 lokusunda yer alıp DNA baz eksizyonunda görev yapan adenin DNA glikozilaz enzimini kodlar. Bu genin mutasyonları nedeniyle enzim aktivitesinin kaybolması sonucu oksidatif hasarla ortaya çıkan 8-oxo-deoksiganinin adeninle yaptığı yanlış eşleşme düzeltilemez(76,77).

2.2.2.1.7 *NTHL1* İlişkili Polipozis

NTHL1 ile ilişkili polipozis (NAP), çoklu kolorektal poliplerin varlığı ve kolorektal kanser riskinde artış ile karakterize nadir görülen otozomal resesif kalıtmımlı bir genetik hastalıktır. *NTHL1* ile ilişkili polipozisli bireyler tipik olarak, genellikle 30'lu veya 40'lı yaşlarında birden fazla kolorektal polip geliştirir. Bu polipler adenomatöz veya tırtıklı olabilir

ve sayıları ve dağılımları etkilenen bireyler arasında değişebilir. Tedavi edilmezse, *NTHL1* ile ilişkili polipozis ile ilişkili polipler kolorektal kansere ilerleyebilir. Ek olarak, *NTHL1* ile ilişkili polipozis, endometrial ve meme kanserleri gibi diğer malignite riskinde artış ile ilişkili olabilir.

İlk defa 2015 yılında tanımlanan *NTHL1* ile ilişkili polipozisin toplumda görülme sıklığı iyi belirlenmemiştir. Sağlıklı popülasyondaki patojenik varyant sıklığı göz önüne alınarak, *NTHL1* ile ilişkili polipozisin prevalansının *MUTYH* ilişkili polipozisin beşte biri kadar olduğu düşünülmektedir(78).

NTHL1 16p13.3 lokusunda yer alan bir gendir. *NTHL1* geni baz eksizyon tamir yolağında yer alan ve özellikle oksidize pirimidin nükleotitlerini hedef alan bir enzim kodlar(79).

2.2.2.1.8 Yapısal Yanlış Eşleşme Tamir Bozukluğu

MLH1, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* genlerinin biallelik mutasyonları sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. İlk defa 1999 yılında tanımlanmıştır(80,81).

Etkilenen bireylerde cafe-au-lait lekeleri, beyin tümörleri, gastrointestinal sistem kanserleri ve hematolojik maligniteler gelişebilir. Avrupa Konsorsiyumunun önerdiği tanı kriterleri tabloda verilmiştir(82).

Hastalar belirli aralıklarla kan testi, abdominal USG, kolonoskopi ve beyin manyetik rezonans görüntülemesi ile kanser gelişimi açısından takip edilmelidir(83).

Tablo 2. Yapısal Yanlış Eşleşme Tamir Bozukluğu Test Kriterleri

Yapısal Yanlış Eşleşme Tamir Bozukluğu Test Kriterleri	
Yapısal Yanlış Eşleşme Tamir Bozukluğu Testi İçin Endikasyon	≥3 puan
Maligniteler/premaligniteler: Hastalarda en azından biri bulunmalıdır; birden fazla varsa puanları toplayın	
<25 yaşında Lynch sendromu spektrumunda yer alan kanser	3 puan
<25 yaşında multipl bağırsak adenomları ve <i>APC/MUTYH</i> mutasyonlarının olmaması veya <25 yaşında tek bir yüksek derece displazi gösteren adenomu	3 puan
<25 yaşında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) derece III veya IV glioma	2 puan
<18 yaşında T hücreli Non-Hodgkin lenfoma veya primitif nöroendokrin tümör	2 puan
<18 yaşında herhangi bir malignite	1 puan
Ek özellikler: Tanı için bulunması zorunlu değil; birden fazla varsa puanları toplayın	
Hastada Nörofibromatozis tip 1 klinik belirtileri ve/veya çapı 1 cm'den büyük ≥2 adet hiperpigmente ve/veya hipopigmente cilt değişikliği	2 puan
Birinci derece veya ikinci derece akrabada Lynch sendromu tanısı	2 puan
Birinci derece, ikinci derece ve üçüncü derece akrabalarda 60 yaşından önce Lynch sendromu spektrumundan kanser tanısı	1 puan
Kardeşte Lynch sendromu spektrumundan kanser, yüksek dereceli gliom, primitif nöroendokrin tümör veya Non-Hodgkin lenfoma öyküsü	2 puan
Herhangi bir çocukluk çağı kanseri tanılı kardeş	1 puan
Birden fazla pilomatriksoma	2 puan
Bir adet pilomatriksoma	1 puan
Corpus callosum agenezisi veya tedaviyle açıklanamayan kavernoma	1 puan
Ebeveynler arasında akrabalık	1 puan
IgG2/4 veya IgA düzeylerinde düşüklük	1 puan

2.2.2.2 Nonpolipozis Sendromları

2.2.2.2.1 Lynch Sendromu

Lynch sendromu DNA yanlış eşleşme tamirinde görev alan *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* genlerinin germline heterozigot mutasyonları ve *EPCAM* geninin 3' bölümüyle, 3' untranslated bölgesinde meydana gelerek epigenetik mekanizmalarla *MSH2*'nin ekspresyonunu bozan germline heterozigot delesyonlar sonucunda gelişir(84). *MSH2* ve *MSH6*'dan oluşan MutS protein kompleksi DNA'daki tek nükleotit yanlış eşleşmeleri tanır. *MLH1* ve *PMS2*'nin oluşturduğu MutL kompleksi yanlış eşleşen bazlara tutunmuş olan MutS kompleksine bağlanır ve uzun yama onarımını başlatır(85).

Lynch sendromlu bireylerde kolorektal kanser ve endometrium kanseri başta olmak üzere beyin, mide, ince bağırsak, safra yolları, pankreas, üriner sistem, prostat, over ve deri kanserleri için artmış bir risk söz konusudur(84).

Lynch sendromunun sıklığının 1/300 olduğu düşünülmektedir(74). Kolorektal kanserlerin %3'ünün ve endometrial kanserlerin %3'ünün Lynch sendromuna bağlı geliştiği düşünülmektedir(86–89).

NCCN'nin kolorektal kanser için genetik/ailesel yüksek risk değerlendirme rehberinde aşağıdaki kriterleri karşılayan bireylere germline genetik test önermektedir(10):

- Ailede bilinen Lynch sendromu patojenik varyantı
- Özgeçmişinde herhangi bir yaşta PCR, NGS veya İHK ile MMR eksikliği gösterdiği tespit edilmiş tümör öyküsü
- Kolorektal veya endometrial kanser saptanan hastada aşağıdakilerden herhangi biri :
 - Tanı anında <50 yaş
 - Senkron ya da metakron olarak başka bir Lynch sendromu ilişkili tümör tanısı
 - <50 yaşta Lynch sendromu ilişkili tümör tanısı almış 1 tane birinci veya ikinci derece akraba
 - Herhangi bir yaşta Lynch sendromu ilişkili tümör tanısı almış ≥ 2 tane birinci veya ikinci derece akraba
- Aşağıdakilerden herhangi birinden oluşan aile hikayesi:
 - <50 yaşta kolorektal ya da endometrial kanser tanısı almış 1 tane birinci derece akraba

- Kolorektal veya endometrial kanser ve senkron ya da metakron olarak başka bir Lynch sendromu ilişkili tümör tanısı almış en azından 1 tane birinci derece akraba
- En azından bir tanesi <50 yaşta tanı almak üzere Lynch sendromu ilişkili tümör tanısı almış en azından 2 tane birinci veya ikinci derece akraba
- Tanı konulan yaş önemli olmaksızın Lynch sendromu ilişkili tümör tanısı almış en azından 3 tane birinci veya ikinci derece akraba
- Lynch sendromu risk modellemelerinde artmış risk :
 - Prediktif modellerde MMR geninde patojenik varyant saptanma riski >%5 çıkan bireyler (PREMM₅, MMRpro, MMRpredict)

ACMG Lynch sendromlu hastaların saptanabilmesi için bir yol haritası sunmuştur. Bu yol haritasına göre tanı yaşına bakılmaksızın tüm kolorektal ve endometrial tümörler hatalı eşleşme tamir eksikliği açısından taranmalıdır.

Yapılan testler sonucu mikrosatellit instabilitesi saptanmayan ya da MSI-L saptanan ve İHK'de protein ekspresyon kaybı olmayan hastalara muhtemelen Lynch sendromu olmadıkları düşünülerek ileri tetkik önerilmez.

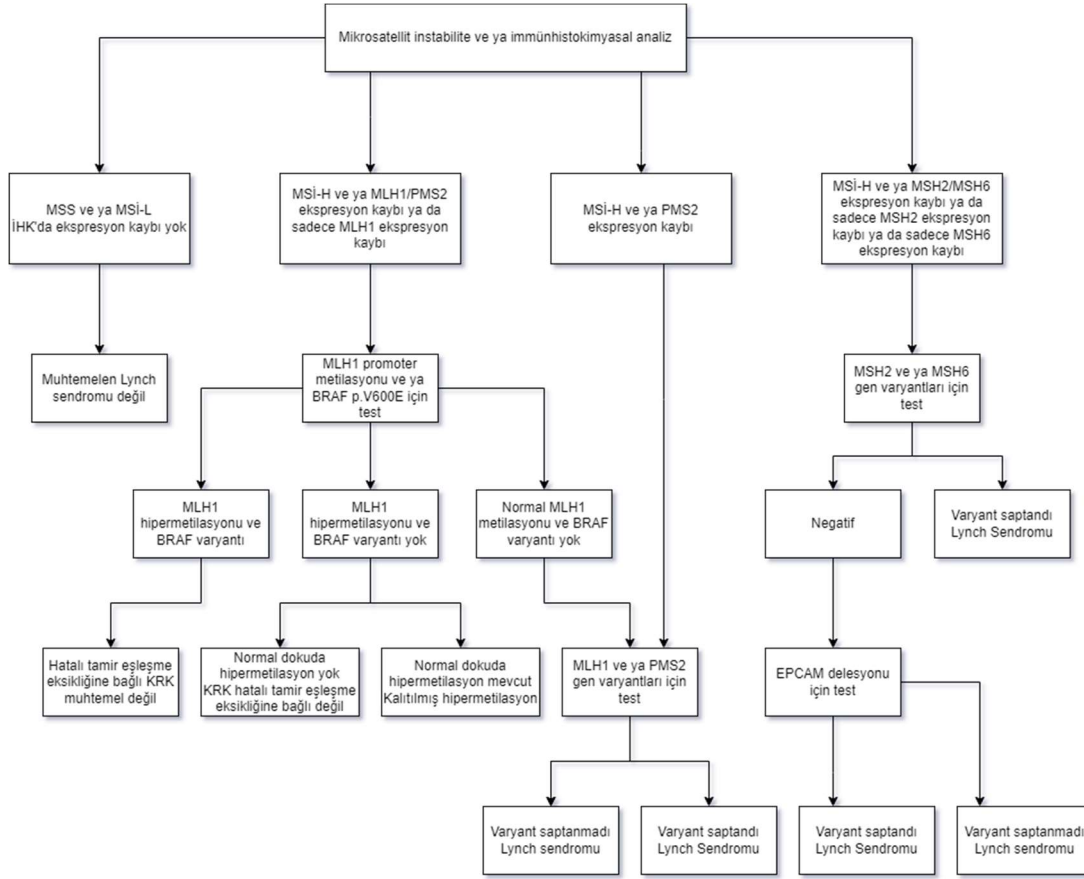
MSI-H saptanan ya da sadece İHK ile MLH1 ya da MLH1 ve PMS2 protein ekspresyon kaybı tespit edilen hastalarda *MLH1* promotor metilasyon analizi ve *BRAF* p.V600E varyantının varlığının araştırılması önerilmiştir.

MLH1 promotor metilasyon paterni normal olup *BRAF* p.V600E varyantını taşımayan hastalarda *MLH1* ve *PMS2* genleri için genetik tetkik önerilir.

MSI-H saptanan ya da sadece İHK ile *PMS2* protein ekspresyon kaybı tespit edilen hastalarda *MLH1* ve *PMS2* genleri için genetik tetkik önerilir.

MSI-H saptanan ya da sadece İHK ile *MSH2* ve *MSH6* protein ekspresyon kaybı tespit edilen hastalarda *MSH2* ve *MSH6* genleri için genetik tetkik önerilir. Bu tetkikler sonucunda patojenik bir varyant saptanamazsa *EPCAM* geni delesyonları için tetkik yapılmalıdır.

ACMG'nin önerileri aşağıdaki şemada özetlenmiştir(38):



Şekil 2. Lynch Sendromu İçin Tanı Algoritması [Şekil Mao ve ark.'dan alınmıştır(38)]

MLH1 3p21.3 lokusunda yer alan, 57.357 baz çifti uzunluğunda, MANE Select transkripti NM_000249.4'e göre 19 kodlayıcı ekzonu bulunan, 756 amino asitlik bir proteine translasyonu olan bir gendir. *MLH1* geninin varyantları Lynch sendromlu hastaların %20-40'ında görülmektedir. Saptanan varyantların %80-90'ı dizi analizi ile tespit edilebilmekte iken geriye kalan %10-20'si için delesyon/duplikasyon analizi yapılmalıdır(84).

MSH2 2p22 lokusunda yer alan, 80.097 baz çifti uzunluğunda, MANE Select transkripti NM_000251.3'e göre 16 kodlayıcı ekzonu bulunan, 934 amino asitlik bir proteine translasyonu olan bir gendir. Lynch sendromlu hastaların %20-40'ında *MSH2* geninin varyantları saptanır. Bu varyantların %60-80'i dizi analiziyle, geriye kalan %20-40'ı ise delesyon/duplikasyon analizi ile tespit edilebilir(84).

MSH6 2p16 lokusunda yer alan, 23.871 baz çifti uzunluğunda, MANE Select transkripti NM_000179.3'e göre 10 kodlayıcı ekzonu bulunan, 1360 amino asitlik bir proteine translasyonu olan bir gendir. Lynch sendromu %12-35 oranında *MSH6* geni varyantlarına bağlı gelişir. Dizi analizi bu gendeki mutasyonları %90-100 oranında saptayabilir. Bu yöntemle

saptanamayacak %0-10 oranındaki mutasyon grubu için delesyon/duplikasyon analizi yapılmalıdır(84).

PMS2 7p22 lokusunda yer alan, 35.867 baz çifti uzunluğunda, MANE Select transkripti NM_000535.7'e göre 15 kodlayıcı ekzonu bulunan, 862 amino asitlik bir proteine translasyonu olan bir gendir. *PMS2* geninin psödogenleriyle arasındaki yüksek sekans homolojisi bu genin moleküler tetkiklerle analizini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle Lynch sendromlu hastalarda varyant saptanma oranı ve görülen varyant tiplerinin oranı konusunda farklı veriler bulunmaktadır. Lynch sendromlu hastaların %5-25'lik bölümünde *PMS2* geni varyantları bulunduğu ve bunların tespitinde %50-80'lik bir bölümü için dizi analizi, %20-50'lik bölümü için delesyon/duplikasyon analizi önerilmektedir(84).

2.2.2.2.2 Lynch Benzeri Sendrom

Lynch benzeri sendrom, Lynch sendromunun klinik özellikleriyle karakterize, ancak DNA yanlış eşleşme tamir genlerinde germline mutasyonlarının bulunmadığı bir durumdur.

Hatalı eşleşme tamir genlerinde germline patojenik varyant saptanmamasına, tümör dokusunda normal *MLH1* metilasyon analizi sonucu ve *BRAF* p.V600E mutasyonu saptanmamasına rağmen tümörlerde mikrosatellit instabilitesi ve immünohistokimya ile hatalı eşleşme tamir proteinlerinin ekspresyon kaybı saptanır(90).

Lynch benzeri sendromun muhtemel sebepleri aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Çift somatik mutasyonlar Lynch benzeri sendromun %80'lik bir bölümünde saptanmıştır(91,92).
- Hatalı eşleşme tamir genlerinde günümüzde kullanılan teknolojilerle saptanamayan atipik patojenik mutasyonlar(93)
- Mozaik de novo patojenik varyantlar(94)

Lynch benzeri sendromun kesin prevalansı, hatalı eşleşme tamir genlerindeki biallelik somatik mutasyonlara bağlı sporadik ve hatalı eşleşme tamir ya da diğer genlerdeki saptanamayan patojenik mutasyonlara bağlı gelişen heterojen bir popülasyonu etkilediği için iyi belirlenmemiştir. Lynch sendromunu düşündüren mikrosatellit instabilite ve hatalı eşleşme tamir protein ekspresyon sonuçları olan hastalarda %70'e varan oranlarda Lynch benzeri sendrom saptanır(95).

2.2.2.2.3. X Tipi Ailesel Kolorektal Kanseri

Ailesel kolorektal kanser tip X, Amsterdam kriterlerini karşılamaına rağmen mikrosatellit instabilite göstermeyen, tipik olarak diğer kalıtsal kolorektal kanser sendromlarıyla ilişkili bilinen genetik mutasyonların varlığı olmaksızın, ailelerde kolorektal kanser riskinin artmasıyla karakterize edilen kalıtsal bir durumdur(96).

Amsterdam kriterlerini karşılayan hastaların yaklaşık yarısında Lynch sendromu tanısı saptanırken, diğer yarısı ailesel kolorektal kanser tip X tanısı almaktadır(97). Hastalığın altında yatan moleküler neden net olarak ortaya konulamamış olmakla birlikte başta *RPS20* geni olmak üzere bir çok genin mutasyonlarının bu fenotiple ilişkisi bildirilmiştir(96,98).



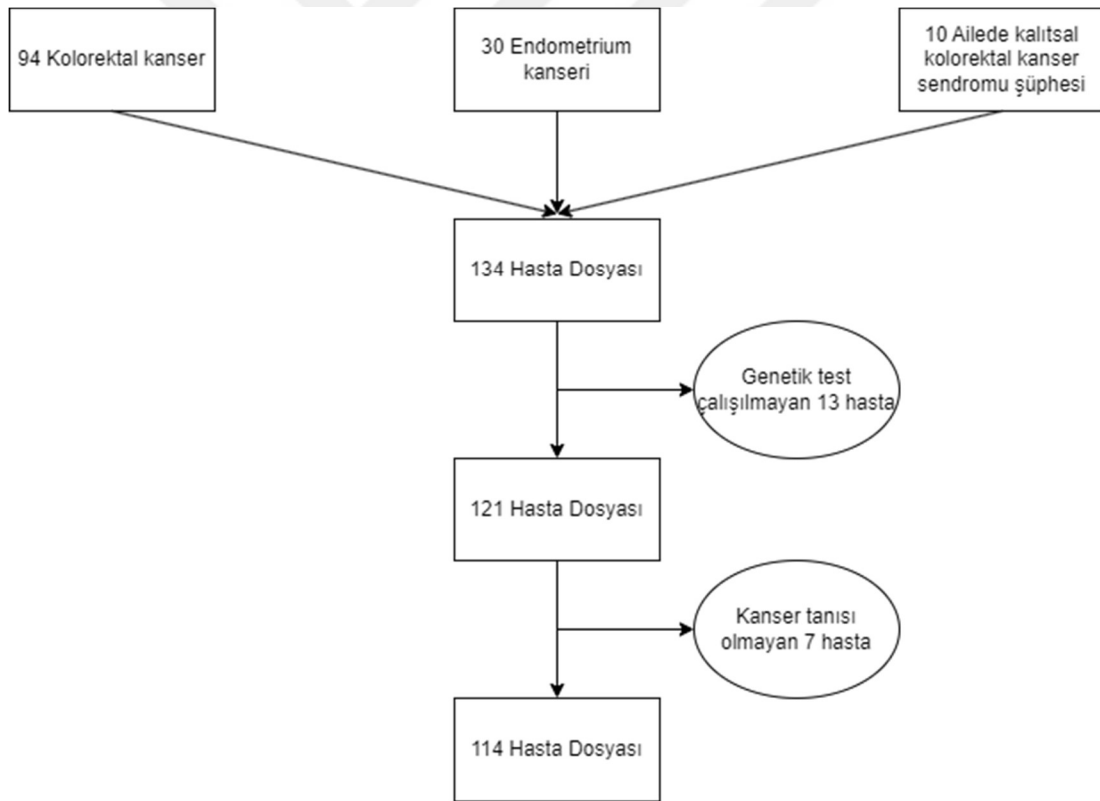
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hasta Seçimi

Çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda yürütüldü.

Ocak 2018 ile Aralık 2021 tarihleri arasında tıbbi genetik polikliniğinde kalıtsal kolorektal kanser sendromu ön tanısı açısından değerlendirilen hastaların dosyaları geriye dönük olarak tarandı. 134 hasta dosyası saptandı.

Dosyadaki verileri ile PREMM₅ skoru hesaplanabilen ve genetik test çalışılmış bireyler çalışmaya dahil edilirken; 18 yaşın altında olan, dosyada kayıtlı verilerinin eksik olması sebebiyle PREMM₅ skoru hesaplanamayan ve genetik test çalışılmamış bireyler dışlama kriterleri gereği çalışmaya dahil edilmedi. 114 hasta çalışmaya dahil edildi. Hasta seçim şeması Şekil 3'te özetlenmiştir.



Şekil 3. Hasta Seçim Şeması

3.2 Verilerin Toplanması

Bu tez araştırması için Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'nun 03/05/2023 tarihli 2023/14-14 numaralı kararıyla etik kurul onayı alınmıştır (Ek-1).

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaş, cinsiyet, tanı, histopatolojik bulgu, immünohistokimya sonucu, mikrosatellit instabilite durumu, öz geçmiş ve soy geçmiş bilgileri ile yapılan genetik tetkiklerin sonuçları Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nın arşiv dosyalarından elde edildi. Toplanan veriler veri kayıt formuna kaydedildi (Ek-2).

Toplanan veriler genotip ve fenotip bilgilerini içeren muhtelif tablo ve grafiklerin oluşturulmasında kullanıldı.

3.3 DNA İzolasyonu

Poliklinikte yapılan değerlendirme ve test öncesi genetik danışmanlık sonrası genetik test yaptırmayı kabul ederek aydınlatılmış onam formunu imzalayan hastalardan 2 adet Etilendiamin Tetraasetik Asit'li (EDTA) tüpte 2'şer mililitre periferik kan örneği alındı. Saflaştırılmış total genomik DNA elde edilmesi amacıyla her hastanın 200 mikrolitre kanından Qiacube® otomatize DNA izolasyon cihazı (Qiagen, Almanya) ve QIAamp® DNA Blood Mini kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak spin kolon DNA izolasyon tekniği ile DNA elde edildi. Üretici protokolleri takip edilerek kan ve diğer solüsyonların eklenmesi sonrasında cihaz otomatize olarak çalışır.

DNA izolasyonunun basamakları aşağıdaki gibidir;

1. 200 mikrolitre periferik kan, 200 mikrolitre ligasyon buffer çözeltisi ve 20 mikrolitre proteinaz K 1,5 mililitrelik mikrosantrifüj tüpüne eklendikten sonra 72°C'de 10 dakika boyunca inkübasyona bırakılır.
2. İnkübasyon sonrası karışıma 200 mikrolitre etanol (%96-100) eklenir ve 15 saniye boyunca vortekslenir.
3. Karışım spin kolona aktarılır, spin kolon 2 ml'lik toplama tüpüne konulur.
4. 6000g'de 1 dakika santrifüjden sonra filtrat atılır.
5. 500 mikrolitre "Wash Buffer 1" eklenir. Spin kolon yeni bir 2 mililitrelik toplama tübüne yerleştirilir.
6. 6000g'de 1 dakika santrifüjden sonra filtrat atılır.
7. 500 mikrolitre "Wash Buffer 2" eklenir. Spin kolon yeni bir 2 mililitrelik toplama tübüne yerleştirilir.
8. 2000g'de 3 dakika santrifüjden sonra filtrat atılır.
9. 1,5 mililitrelik temiz mikrosantrifüj tüpüne alındıktan sonra 100-200 mikrolitre "Elution Buffer" veya distile su eklenerek 1-5 dakika oda sıcaklığında beklemeye bırakılır.

10. 6000g'de 1 dakika santrifüjden sonra spin kolon atılır.
11. DNA saflık ve konsantrasyonu ölçülür.
12. Parafilmle ağzı kapatıldıktan sonra -20°C'de saklanmak üzere DNA kutularına yerleştirilir.

3.4 DNA Konsantrasyon ve Saflığının Spektrofotometreyle Ölçülmesi

Spektrofotometrik ölçüm, DNA, RNA ve protein gibi maddelerin kimyasal yapılarına ve konsantrasyonlarına paralel olarak bulundukları sıvı çözeltiden geçirilen belirli spektrumlarda ışığı soğurması fikrine dayanır. Nükleik asitlerin ışığı maksimum soğurduğu dalga boyu 260 nanometre, proteinlerin ise 280 nanometredir. Bu nedenle A260/A280 oranı DNA saflığının hesaplanmasında kullanılmaktadır.

Amacımız, 1,8 ile 2,0 arasında A260/A280 oranına ve en az 40 ng/L'lik konsantrasyona sahip DNA materyali elde etmektir. >2.0 saflık seviyeleri fazla RNA'yı gösterirken, <1.8 değerleri numunede protein kontaminasyonunu gösterir. Saflığı ve konsantrasyonu istenenin altında kalan numuneler için izolasyon tekrarlanır. Gereksinimleri karşılayan DNA numuneleri bölünür ve -20°C'de saklanır.

Laboratuvarımızda elde edilen DNA'nın ölçümleri NanoDrop ND1000® Spektrofotometre cihazı (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile yapılmaktadır.

3.5 Hedefli Yeni Nesil Dizileme

Polikliniğimizde kalıtsal kanser sendromu nedeniyle değerlendirilen hastalarda Kalıtsal Kanser Yeni Nesil Dizileme Paneli çalışılmaktadır. Panelimiz 30 adet genden oluşmakta olup panelin gen içeriği ve her bir gen için değerlendirilen ana transkript Tablo 3'te belirtilmiştir.

Tablo 3. Kalıtsal Kanser NGS Panelinde Bulunan Genler

<i>APC</i>	<i>ATM</i>	<i>BARD1</i>	<i>BLM</i>	<i>BMPR1A</i>
<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>BRIP1</i>	<i>CDH1</i>	<i>CDK4</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>CHEK2</i>	<i>EPCAM</i>	<i>MLH1</i>	<i>MRE11</i>
<i>MSH2</i>	<i>MSH6</i>	<i>MUTYH</i>	<i>NBN</i>	<i>PALB2</i>
<i>PMS2</i>	<i>PTEN</i>	<i>RAD50</i>	<i>RAD51C</i>	<i>RAD51D</i>
<i>SLX4</i>	<i>SMAD4</i>	<i>STK11</i>	<i>TP53</i>	<i>VHL</i>

3.5.1 Yeni Nesil Dizileme Islak Laboratuvar Aşamaları

Hastalardan elde edilen DNA'lardan "Celemics OncoRisk Panel" NGS kiti kullanılarak kütüphane hazırlandı. Hazırlanan kütüphane aşağıdaki işlemlerden geçti:

- DNA fragmantasyonu,

- Saflaştırma,
- DNA uç onarımı,
- Saflaştırma,
- A ucu takılması,
- Saflaştırma,
- Adaptör ligasyonu,
- Saflaştırma,
- İndeks ile işaretleme,
- Saflaştırma,
- Prob hibridizasyonu,
- Streptavidin boncuk ile hedef kütüphanenin seçilmesi,
- Hedef kütüphanenin amplifikasyonu
- Saflaştırma

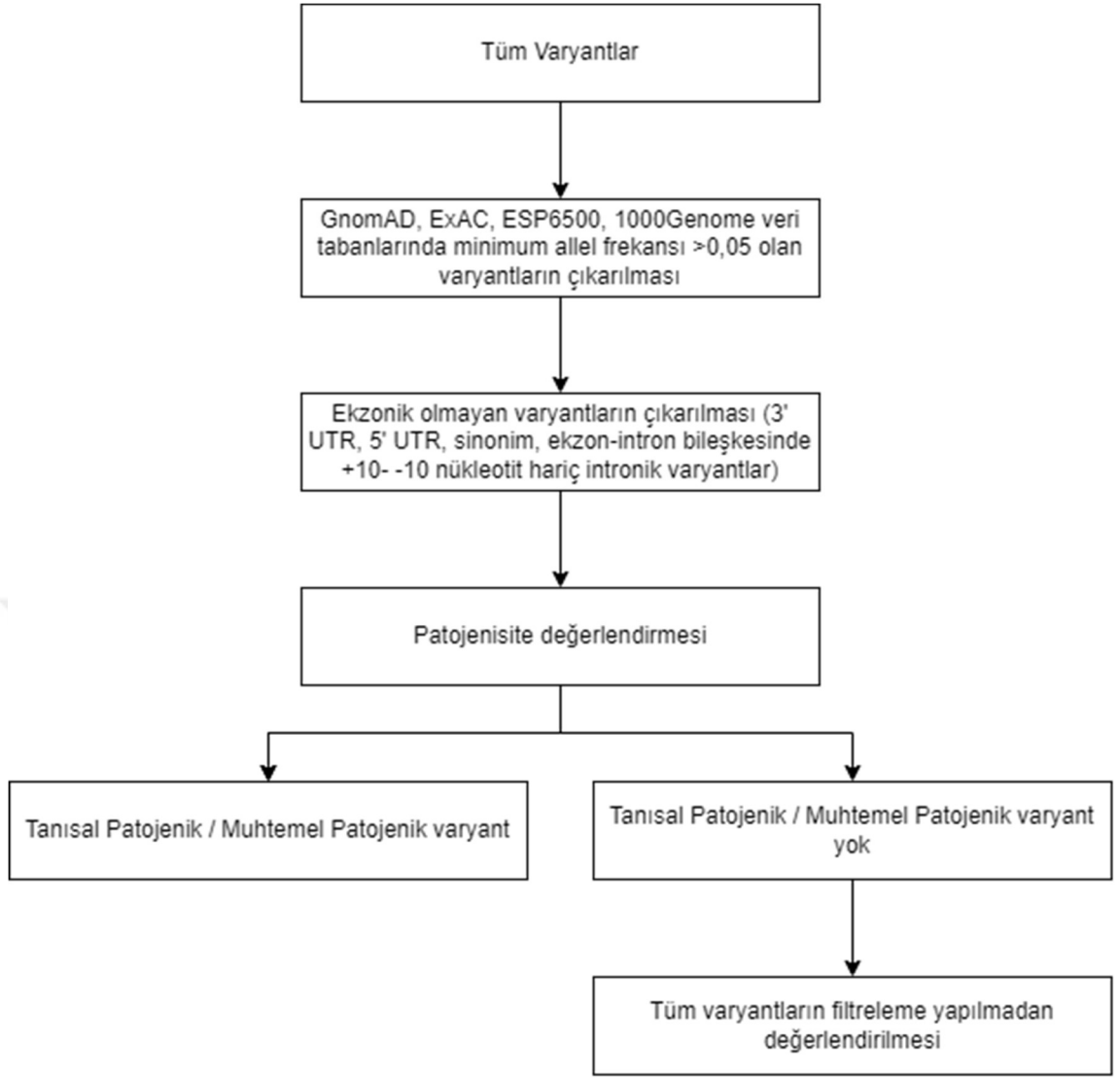
Hazırlanan kütüphane Nextseq500® (Illumina, ABD) NGS platformunda yürütülerek dizileme ham verisi elde edildi.

3.5.2 Yeni Nesil Dizileme Verilerinin Biyoinformatik Analizi

Elde edilen optik veriler, FastQ (Fast Adaptive Shrinkage Thresholding Algorithm and Quality) formatında SEQ analiz platformuna (Genomize, Türkiye) yüklendi. GRCh37/hg19 referans genomuna hizalanarak BAM (Binary Alignment Map) dosyası elde edildi. Referans dizi ile karşılaştırarak saptanan farklılıklar VCF (Variant Calling File) dosyasına dönüştürüldü ve varyant anotasyonu aşamalarından geçirildi. Hedeflenen tüm ekzonlar ve ekzon-intron bileşikleri için minimum 20x derinlikte veri elde edilmesi amaçlandı ve her aşamada üretici protokollerine uyuldu.

3.5.3 Yeni Nesil Dizilemeyle Saptanan Varyantların Yorumlanması

Anot edilen varyantlar Genomize Seq platformu kullanılarak analiz edildi. İlk aşamada herhangi bir popülasyon veri tabanında büyük allel sıklığı %5'ten büyük olan varyantlar, ekzon-intron bileşikindeki 10 nükleotit hariç kodlayıcı olmayan varyantlar ve amino asit değişimine neden olmayan sessiz varyantlar dışlandı. İlk değerlendirme sonucunda hastanın fenotipini açıkladığı düşünülen patojenik/muhtemel patojenik (P/LP) varyant saptanmaması durumunda varyantlar herhangi bir filtreleme yapılmaksızın değerlendirildi.



Şekil 4. Saptanan Varyantların Değerlendirilmesinde İzlenen Strateji

Saptanan varyantların patojenite sınıflandırılmasında, 2015 yılında yayınlanan ACMG kılavuzu esas alındı. Buna göre varyantlar sırasıyla benign, muhtemel benign, klinik önemi bilinmeyen (VUS), muhtemel patojenik ve patojenik olarak sınıflandırıldı. Bu kılavuza göre varyantların sınıflandırılmasında kullanılacak veriler şu şekildedir:

- Toplum frekansı ve merkez içi frekansı,
- Varsa eski vaka-kontrol çalışmalarındaki frekansları,
- Varyantın tipi (anlamsız, yanlış anlamlı, dur kodonu oluşturan, çerçeve kayması vb.)
- Protein uzunluğu üzerindeki etkisi,
- Varsa daha önce bildirilmiş aynı amino asit değişiminin patojenitesi,
- Varsa daha önce bildirilmiş aynı kodon değişikliğinin patojenitesi,
- Protein üzerinde mutasyonel “hotspot” (sıcak nokta)’da yer alıp almaması,

- Biallelik olup olmaması,
- “de novo” olup olmaması,
- Ailede hastalık ve varyantın segregasyonu,
- Bilinen fonksiyonel çalışmasının olup olmaması,
- “in silico” analiz verileri (REVEL, MetaLR, SIFT, PolyPhen, MutationTaster, ADA ve RF skoru)

- Uluslararası veri tabanlarında bulunan veriler

Patojenite sınıflandırması sırasında SEQ platformunun yanısıra; Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Enstitüsü’ne ait ClinVar veri tabanı, Varsome (Saphetor, İsviçre), Franklin (Genoox, ABD), VarSeak (JSI, Almanya), NGS Cloud (Pairend, Türkiye) analiz platformlarından da faydalanıldı. Ayrıca raporlanacak tüm varyantlar Integrative Genomics Viewer (IGV) yazılımı kullanılarak değerlendirildi.

3.6 PREMM₅ Skorlarının Hesaplanması

PREMM₅ risk prediksyon modeline <https://premm.dfci.harvard.edu/> internet adresi üzerinden ulaşıldı.

Hesaplama yapılabilmesi için gereken; hasta cinsiyeti, yaş, Lynch sendromu ilişkili kanser öyküsü, kanser öyküsü varsa tanı yaşı, hastanın birinci ve ikinci derece akrabalarının Lynch sendromu ilişkili kanser öyküleri, kanser öyküleri mevcutsa tanı yaşları bilgileri hasta dosyasından elde edilerek form dolduruldu.

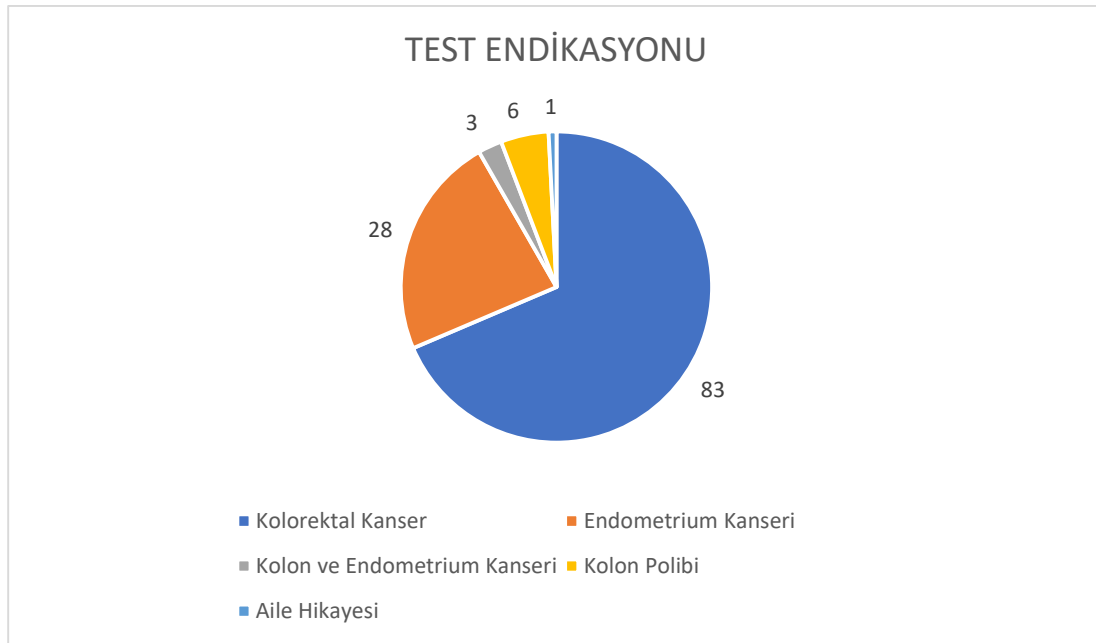
Elde edilen kümülatif olasılık veri kayıt formuna işlendi.

3.7 Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Amsterdam ve Bethesda kriterleri, MSI ve İHK sonuçları, PREMM₅’in %2,5 ve %5 eşik değerleri için doğruluk, sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer R paketi ile hata matrisi oluşturularak hesaplandı. Kullanılan R paketi <https://www.rdocumentation.org/packages/caret/versions/6.0-94/topics/confusionMatrix> internet adresinde mevcuttur.

4. BULGULAR

Çalışma kapsamında 1 Ocak 2018-31 Aralık 2022 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğinde kalıtsal kolorektal kanser sendromları açısından değerlendirilen 134 hastanın dosyası incelendi. Hastaların 121'ine germline mutasyon analizi yapılmıştı. Bu hastaların 83'ünde kolorektal 28'inde endometrium ve üçünde hem endometrium hem kolorektal kanser olmak üzere 114'ünde kolorektal veya endometrium kanseri tanısı mevcuttu. Kanser tanısı olmayan altı hastada kolonda polipler mevcutken, bir hasta aile öyküsü nedeniyle tetkik edilmişti. Test çalışılan hastaların endikasyonları Şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 5. Test Endikasyonlarının Pasta Grafiği

Yapılan tetkikler sonucu 13 (%10,74) hastada kalıtsal kolorektal kanser tanısıyla uyumlu germline varyasyon saptanmıştır. Bu değişimlerin hepsi NGS yöntemiyle tespit edilmiştir. Bu hastalar Tablo 4'te özetlenmiştir.

İki (%1,65) hastada herediter nonpolipozis koli ilişkili genlerde klinik önemi bilinmeyen değişim tespit edilmiştir. Altı (%4,96) hastada monoallelilik *MUTYH* mutasyonu saptanmıştır. Bu hastaların üçünde Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) yöntemiyle delesyon/duplikasyon analizi yapılmıştır. Üç (%2,47) hasta ise çoklu gen panelinin sonucunda kalıtsal kansere yatkınlık sendromu tanısı almıştır. Bu hastalar Tablo 5'te özetlenmiştir.

80 (%70,18) hastanın immünohistokimyasal olarak yanlış eşleşme tamir genlerindeki ifade kaybı açısından değerlendirildiği saptanırken, mikrosatellit instabilitesi 54(%47,37)

hastada araştırılmış. 48 (%42,11) kanser hastası için ne immünohistokimyasal olarak ne de mikrosatellit instabilitesi açısından bir veri bulunamadı.

Herhangi bir kanser tanısı almamış olan yedi hasta haricindeki tüm bireylerin Amsterdam ve Bethesda kriterlerini karşılayıp karşılamadığı değerlendirildi ve PREMM₅ skorları hesaplandı.

Dokuz (%7,89) hasta hem Amsterdam hem de Bethesda kriterlerini karşılamış. 46 (%40,35) hasta yalnızca Bethesda kriterlerini karşılamış. Her iki kriteri de karşılamayan 59 (%51,75) hasta mevcuttu.



Tablo 4. Kalıtsal Kolorektal Kanseri İlişkili Patojenik/Muhtemel Patojenik Varyant Saptanan Hastalar

Olgu No	Kanser Yerleşimi	Ek Kanser	Amsterdam Kriteri	Bethesda Kriteri	PREMM ₅	İHK	MSİ	NGS	MLPA
2	Kolon	Yok	0	0	%8,7	MLH1 ifade kaybı	Stabil	P NM_001048174.2 (<i>MUTYH</i>) c.650G>A homozigot	Çalışılmamış
4	Kolon	Yok	1	1	%36,9	MSH6 ve PMS2 ifade kaybı	İnstabil	P NM_000249.4 (<i>MLH1</i>) c.676C>T heterozigot	Çalışılmamış
7	Kolon	Yok	0	1	%13,1	Kayıp yok	Çalışılmamış	LP NM_001048174.2 (<i>MUTYH</i>) c.800C>T homozigot	Çalışılmamış
11	Kolon	Yok	0	1	≥%50	Sonucu yok	Sonucu yok	LP NM_000251.3 (<i>MSH2</i>) c.1076+1G>A heterozigot	Çalışılmamış
21	Kolon	Yok	1	1	%16,9	MLH1 ve PMS2 ifade kaybı	Sonucu yok	P NM_000249.4 (<i>MLH1</i>) c.1921delC heterozigot P NM_000051.4 (<i>ATM</i>) c.3894dup heterozigot LP NM_000546.6 (<i>TP53</i>) c.542G>A heterozigot	Çalışılmamış
28	Kolon	Yok	0	1	%7	MSH6 ifade kaybı	Stabil	LP NM_000251.3 (<i>MSH2</i>) c.2197G>C heterozigot	Çalışılmamış

Tablo 4 (Devam). Kalıtsal Kolorektal Kanseri İlişkili Patojenik/Muhtemel Patojenik Varyant Saptanan Hastalar

78	Kolon ve Endometrium	Yok	1	1	≥%50	MSH2 ve MSH6 ifade kaybı	İnstabil	P NM_000251.3 (<i>MSH2</i>) c.1993C>T heterozigot	Çalışılmamış
102	Kolon	Yok	0	0	%7,7	İfade kaybı yok	Stabil	P NM_001048174.2 (<i>MUTYH</i>) c.650G>A heterozigot LP NM_001048174.2 (<i>MUTYH</i>) c.800C>T heterozigot	Çalışılmamış
112	Kolon	Yok	0	1	%10,9	İfade kaybı yok	Çalışılmamış	LP NM_000249.4 (<i>MLH1</i>) c.109G>A heterozigot	Çalışılmamış
121	Endometrium	Meme	0	1	%4,4	İfade kaybı yok	Çalışılmamış	LP NM_000546.6 (<i>TP53</i>) c.754_762del heterozigot VUS NM_000465.4 (<i>BARD1</i>) c.1395+1G>C heterozigot	Çalışılmamış
123	Kolon	Yok	0	0	%11,1	MSH6 ifade kaybı	Çalışılmamış	LP NM_000179.3 (<i>MSH6</i>) c.3439-2A>T heterozigot	<i>MSH2</i> <i>MSH6</i> <i>MUTYH</i> <i>EPCAM</i> MLPA Normal
125	Kolon	Yok	1	1	≥%50%	Sonucu yok	Sonucu yok	P NM_000251.3 (<i>MSH2</i>) c.989T>C heterozigot	<i>MLH1</i> <i>MSH2</i> <i>MSH6</i> <i>PMS2</i> <i>EPCAM</i> <i>MUTYH</i> MLPA Normal
133	Endometrium	Meme	1	1	%4,8	PMS2 ifade kaybı	Çalışılmamış	P NM_000249.4 (<i>MLH1</i>) c.1011dup heterozigot	Çalışılmamış

Tablo 5. Kolorektal Kanseri Sendromu İçin Tanısal Olmayan Varyant Saptanan Hastalar

Olgu No	Kanser Yerleşimi	Ek Kanser	Amsterdam Kriteri	Bethesda Kriteri	PREMM ₅	İHK	MSİ	NGS	MLPA
29	Endometrium ve Kolon	Meme Tiroid	0	1	%4,9	Kayıp yok	Çalışılmamış	P NM_001048174.2 (<i>MUTYH</i>) c.1353_1355del heterozigot	Çalışılmamış
33	Kolon	Yok	0	0	%2,7	Kayıp yok	Stabil	P NM_001048174.2 (<i>MUTYH</i>) c.1353_1355del heterozigot	<i>MSH2 MSH6</i> <i>MUTYH</i> <i>EPCAM</i> MLPA Normal
72	Endometrium	Meme	0	0	%1,8	Kayıp yok	Stabil	LP NM_001048174.2 (<i>MUTYH</i>) c.800C>T heterozigot	<i>MUTYH MSH2</i> <i>MSH6 EPCAM</i> MLPA: Normal
73	Endometrium	Endometrium Over	0	1	%9,5	Çalışılmamış	Çalışılmamış	LP NM_001048174.2 (<i>MUTYH</i>) c.369_374dup heterozigot	Çalışılmamış
82	Kolon	Meme	0	0	%1,4	Kayıp yok	Stabil	LP NM_000059.4 (<i>BRCA2</i>) c.8513T>A heterozigot	Çalışılmamış
99	Endometrium	Yok	0	0	%2,2	Çalışılmamış	Çalışılmamış	P NM_001048174.2 (<i>MUTYH</i>) c.849+3A>C heterozigot	Çalışılmamış

Tablo 5 (Devamı). Kolorektal Kanser Sendromu İçin Tanısal Olmayan Varyant Saptanan Hastalar

103	Kolon	Yok	0	0	%3,1	İfade kaybı yok	Stabil	P NM_001048174.2 (<i>MUTYH</i>) c.1353_1355del heterozigot VUS NM_000251.3 (<i>MSH2</i>) c.1453A>C heterozigot	<i>MUTYH</i> <i>MSH2 MSH6</i> <i>EPCAM</i> MLPA: Normal
104	Kolon	Yok	0	0	%1,8	Sonucu yok	Sonucu yok	P NM_000051.4 (<i>ATM</i>) c.8786+1G>T heterozigot	Çalışılmamış
113	Kolon	Yok	0	0	%3	İfade kaybı yok	Stabil	VUS NM_000249.4 (<i>MLH1</i>) c.1693A>T heterozigot	MLH1 MSH2 <i>EPCAM</i> MLPA Normal
129	Kolon	Akciğer Meme	0	0	%1,1	Çalışılmamış	Çalışılmamış	LP NM_000059.4 (<i>BRCA2</i>) c.367A>T heterozigot	Çalışılmamış

Bethesda kriterinin sensitivitesi 8/9, spesifitesi 58/105, pozitif prediktif değeri 8/55 negatif prediktif değeri 58/59 olarak tespit edildi.

Tablo 6. Bethesda Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
Bethesda (+)	8	47	55
Bethesda (-)	1	58	59
Toplam	9	105	114

Amsterdam kriterinin sensitivitesi 5/9 spesifitesi 100/105 pozitif prediktif değeri 5/10 negatif prediktif değeri 100/104 olarak tespit edildi.

Tablo 7. Amsterdam Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
Amsterdam (+)	5	5	10
Amsterdam (-)	4	100	104
Toplam	9	105	114

İmmünohistokimyanın sensitivitesi 6/7, spesifitesi 52/73, pozitif prediktif değeri 6/27, negatif prediktif değeri 52/53 olarak tespit edildi.

Tablo 8. İHK Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
İHK	6	21	27
İHK	1	52	53
Toplam	7	73	80

Mikrosatellit instabilitenin sensitivitesi 2/3, spesifitesi 40/51, pozitif prediktif değeri 2/13, negatif prediktif değeri 40/41 olarak tespit edildi.

Tablo 9. MSI Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
MSI (+)	2	11	13
MSI (-)	1	40	41
Toplam	3	51	54

PREMM₅ modelinin, %2,5 skoru eşik değeri olarak alındığında, sensitivitesi 9/9, spesifitesi 29/105, pozitif prediktif değeri 9/85, negatif prediktif değeri 29/29 olarak tespit edildi.

Tablo 10. %2,5 Eşik Değerinde PREMM₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
PREMM₅ ≥ %2,5	9	76	85
PREMM₅ < %2,5	0	29	29
Toplam	9	105	114

PREMM₅ modelinin %5 skoru eşik değeri olarak alındığında sensitivitesi 8/9, spesifitesi 69/105, pozitif prediktif değeri 8/44, negatif prediktif değeri 69/70 olarak tespit edildi.

Tablo 11. %5 Eşik Değerinde PREMM₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
PREMM₅ ≥ %5	8	36	44
PREMM₅ < %5	1	69	70
Toplam	9	105	114

Kullanılan kriterler karşılaştırıldığında en duyarlısı (9/9) %2,5 eşik değeri kullanılarak PREMM₅ modellemesi olmuştur. En spesifik (100/105) Amsterdam kriterleri olarak saptanmıştır. Pozitif prediktif değeri en yüksek (5/10) olan Amsterdam kriterleri olarak görülmüştür. Negatif prediktif değeri en yüksek (29/29) %2,5 eşik değeri kullanılarak PREMM₅ modellemesidir. Bu veriler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Tablo 12. Çalışmada Değerlendirilen Kriterlerin Sensitivite, Spesifite, PPV ve NPV Değerleri

	Sensitivite	Spesifite	PPV	NPV
Bethesda	88,88%	55,23%	14,54%	98,30%
Amsterdam	55,55%	95,23%	50,00%	96,15%
İHK	85,71%	71,23%	22,22%	98,11%
MSİ	66,66%	78,43%	15,38%	97,56%
PREMM₅ (%2,5)	100,00%	27,61%	10,58%	100,00%
PREMM₅ (%5)	88,88%	65,71%	18,18%	98,57%

Çalışmamızda İHK, MSİ, Bethesda ve Amsterdam kriterlerinin hiçbirini karşılamayan 28 hasta mevcuttu. %2,5 eşiği ile bu hastaların 19'u, %5 eşiği ile ise 4'ü PREMM₅ kriterini karşılıyordu. Bu hastalardan bir tanesi (Olgu 102) *MUTYH* ilişkili polipozis tanısı aldı.

Germline test için %2,5 PREMM₅ eşiği kullanıldığında saptanamayan kalıtsal kolorektal kanser sendromu hastası olmazken, %5 PREMM₅ eşiği kullanıldığında 2 kalıtsal kolorektal hastasına (Olgu 121 ve Olgu 133) tanı konulamamaktadır.

Kriterler primer kanser yerleşimine göre karşılaştırıldığında ise endometrium kanseri hastalarında Bethesda kriterinin sensitivitesi 1/1, spesifitesi 20/27, pozitif prediktif değeri 1/8 negatif prediktif değeri 20/20 olarak tespit edildi.

Tablo 13. Endometrium Kanserli Hastalarda Bethesda Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
Bethesda (+)	1	7	8
Bethesda (-)	0	20	20
Toplam	1	27	28

Amsterdam kriterinin sensitivitesi 1/1 spesifitesi 27/27 pozitif prediktif değeri 1/1 negatif prediktif değeri 27/27 olarak tespit edildi.

Tablo 14. Endometrium Kanserli Hastalarda Amsterdam Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
Amsterdam (+)	1	0	1
Amsterdam (-)	0	27	27
Toplam	1	27	28

İmmünohistokimyanın sensitivitesi 1/1, spesifitesi 10/16, pozitif prediktif değeri 1/7, negatif prediktif değeri 10/10 olarak tespit edildi.

Tablo 15. Endometrium Kanserli Hastalarda İHK Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
İHK	1	6	7
İHK	0	10	10
Toplam	1	16	17

Mikrosatellit instabilitenin sensitivitesi hesaplanamadı. Spesifitesi 6/7, pozitif prediktif değeri 0/1, negatif prediktif değeri 6/6 olarak tespit edildi.

Tablo 16. Endometrium Kanserli Hastalarda MSİ Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
MSİ (+)	0	1	1
MSİ (-)	0	6	6
Toplam	0	7	7

PREMM₅ modelinin %2,5 skoru eşik değer olarak alındığında sensitivitesi 1/1, spesifitesi 9/27, pozitif prediktif değeri 1/19, negatif prediktif değeri 9/9 olarak tespit edildi.

Tablo 17. Endometrium Kanserli Hastalarda %2,5 Eşik Değerinde PREMM₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
PREMM₅ ≥ %2,5	1	18	19
PREMM₅ < %2,5	0	9	9
Toplam	1	27	28

PREMM₅ modelinin %5 skoru eşik değeri olarak alındığında sensitivitesi 0/1, spesifitesi 23/27, pozitif prediktif değeri 0/4, negatif prediktif değeri 23/24 olarak tespit edildi.

Tablo 18. Endometrium Kanseri Hastalarda %5 Eşik Değerinde PREMM₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
PREMM₅ ≥ %5	0	4	4
PREMM₅ < %5	1	23	24
Toplam	1	27	28

Kullanılan kriterler karşılaştırıldığında %5 eşik değeri kullanılan PREMM₅ dışında tüm kriterlerin sensitivitesi %100 bulunmuştur. En spesifik (27/27) Amsterdam kriterleri olarak saptanmıştır. Pozitif prediktif değeri en yüksek (1/1) olan Amsterdam kriterleri olarak görülmüştür. Negatif prediktif değer %5 eşik değeri kullanılan PREMM₅ dışında tüm kriterler için %100'dür. Bu veriler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Tablo 19. Endometrium Kanseri Hastalarda Çalışmada Değerlendirilen Kriterlerin Sensitivite, Spesifite, PPV ve NPV Değerleri

	Sensitivite	Spesifite	PPV	NPV
Bethesda	100,00%	74,07%	12,50%	100,00%
Amsterdam	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
İHK	100,00%	62,50%	14,29%	100,00%
MSİ	X	85,71%	0,00%	100,00%
PREMM₅ (%2,5)	100,00%	33,33%	5,26%	100,00%
PREMM₅ (%5)	0,00%	85,19%	0,00%	95,83%

Kriterler kolorektal kanser hastalarında değerlendirildiğinde Bethesda kriterinin sensitivitesi 6/7, spesifitesi 38/76, pozitif prediktif değeri 6/44 negatif prediktif değeri 38/39 olarak tespit edildi.

Tablo 20. Kolorektal Kanser Hastalarında Bethesda Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
Bethesda (+)	6	38	44
Bethesda (-)	1	38	39
Toplam	7	76	83

Amsterdam kriterinin sensitivitesi 3/7 spesifitesi 71/76 pozitif prediktif değeri 3/8 negatif prediktif değeri 71/75 olarak tespit edildi.

Tablo 21. Kolorektal Kanser Hastalarında Amsterdam Kriterlerinin Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
Amsterdam (+)	3	5	8
Amsterdam (-)	4	71	75
Toplam	7	76	83

İmmünohistokimyanın sensitivitesi 4/5, spesifitesi 40/55, pozitif prediktif değeri 4/19, negatif prediktif değeri 40/41 olarak tespit edildi.

Tablo 22. Kolorektal Kanser Hastalarında İHK Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
İHK	4	15	19
İHK	1	40	41
Toplam	5	55	60

Mikrosatellit instabilitenin sensitivitesi 1/2, spesifitesi 34/44, pozitif prediktif değeri 1/11, negatif prediktif değeri 34/35 olarak tespit edildi.

Tablo 23. Kolorektal Kanser Hastalarında MSI Sonuçlarının Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
MSI (+)	1	10	11
MSI (-)	1	34	35
Toplam	2	44	46

PREMM₅ modelinin %2,5 skoru eşik değeri olarak alındığında sensitivitesi 7/7, spesifitesi 20/76, pozitif prediktif değeri 7/63, negatif prediktif değeri 20/20 olarak tespit edildi.

Tablo 24. Kolorektal Kanseri Hastalarında %2,5 Eşik Değerinde PREMM₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
PREMM₅ ≥ %2,5	1	18	19
PREMM₅ < %2,5	0	9	9
Toplam	1	27	28

PREMM₅ modelinin %5 skoru eşik değeri olarak alındığında sensitivitesi 7/7, spesifitesi 45/76, pozitif prediktif değeri 7/38, negatif prediktif değeri 45/45 olarak tespit edildi.

Tablo 25. Kolorektal Kanseri Hastalarında %5 Eşik Değerinde PREMM₅ Skorunun Germline Test Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

	Test (+)	Test (-)	Toplam
PREMM₅ ≥ %5	7	31	38
PREMM₅ < %5	0	45	45
Toplam	7	76	83

Kullanılan kriterler karşılaştırıldığında en duyarlısı (7/7) kullanılan eşik değeri fark etmeksizin PREMM₅ modellemesi olmuştur. En spesifik (71/76) Amsterdam kriterleri olarak saptanmıştır. Pozitif prediktif değeri en yüksek (3/8) olan Amsterdam kriterleri olarak görülmüştür. Negatif prediktif değeri en yüksek (% 2,5 eşik değeri için 9/9 ve %5 eşik değeri için 45/45) kullanılan eşik değeri fark etmeksizin PREMM₅ modellemesidir. Bu veriler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Tablo 26. Kolorektal Kanser Hastalarında Çalışmada Değerlendirilen Kriterlerin Sensitivite, Spesifite, PPV ve NPV Değerleri

	Sensitivite	Spesifite	PPV	NPV
Bethesda	85,71%	50,00%	13,64%	97,44%
Amsterdam	42,86%	93,42%	37,50%	94,67%
İHK	80,00%	72,72%	21,05%	97,56%
MSİ	50,00%	77,27%	9,09%	97,14%
PREMM ₅ (%2,5)	100,00%	26,32%	11,11%	100,00%
PREMM ₅ (%5)	100,00%	59,21%	18,42%	100,00%

Hem endometrium hem de kolorektal kanser geliştiren üç hasta mevcuttu. İki hasta Bethesda kriterlerini karşılarken Amsterdam kriterlerini karşılamıyordu. İmmünohistokimyasal değerlendirmede ekspresyon kaybı saptanmazken MSİ bakılmamıştı. PREMM₅ skorları %4,9 ve %6,7 olan bu hastalarda Lynch sendromu ile ilişkili genlerde herhangi bir varyant saptanmazken, patojenik NM_001048174.2:c.1353_1355del değişimi Olgu 29’da heterozigot olarak saptanmıştır. Hastanın MLPA tetkiğinde *MUTYH* geninde herhangi bir değişim saptanmamıştır. Olgu 78 hem Bethesda hem Amsterdam kriterlerini karşılamış ve yapılan immünohistokimyasal çalışmasında MSH2 ve MSH6 ekspresyon kaybı saptanmış. PREMM₅ skoru $\geq 50\%$ olan hastanın NGS paneli sonucunda patojenik NM_000251.3:c.1933C>T değişimi heterozigot olarak saptanmış.

Üç hastada kalıtsal kolorektal kanser sendromlarıyla ilişkili olmayan patojenik değişimler saptanmıştır. Bu hastaların hiçbiri Bethesda ve Amsterdam kriterlerini karşılamamaktaydı ve immünohistokimyasal ya da mikrosatellit instabilite testi sonuçları yoktu. PREMM₅ skorları %2,5 eşik değerinin altındaydı. Olgu129’da kolon kanseri tanısının dışında meme ve akciğer kanseri öyküsü de mevcuttu. PREMM₅ skoru %1,1 olarak hesaplanan hastanın NGS paneli sonucunda NM_000059.4: c.367A>T heterozigot değişimi saptanmıştır. Olgu82’de kolon kanseri ve meme kanseri öyküsü mevcuttu. PREMM₅ skoru %1,4 olan hastanın NGS paneli sonucunda NM_000059.4:c.8513T>A varyantı saptanmıştır. Böylece iki vakamız kalıtsal meme-over kanseri sendromu açısından takip programına girmiştir. PREMM₅ skoru %1,8 olan Olgu104’te NM_000051.4: c.8786+1G>T değişimi tespit edilmiş olup olgunun kolon kanseri dışında başka bir tümör öyküsü bulunmamaktaydı.

5. TARTIŞMA

Germline test yapılan 114 endometrium kanseri veya kolorektal kanser tanılı bireyin, sekizinde Lynch sendromu; birinde Li-Fraumeni sendromu; birinde Lynch sendromu ve Li-Fraumeni sendromu birlikteliği; üçünde MUTYH ilişkili polipozis olmak üzere toplam 13 bireyde kalıtsal kolorektal kanser sendromu tanısı konulmuştur. Literatür değerlendirildiğinde; herhangi bir seçim yapılmaksızın genetik test yapılan kolorektal kanser hastalarında Lynch sendromu saptanma oranı literatürde %3,1 olarak bildirilmektedir(99,100). Klinik değerlendirme ile Lynch sendromu için yüksek riskli değerlendirilen klinik bazlı kohortta Lynch sendromu sıklığı %11 olarak saptanmıştır(101). Klinik değerlendirme sonucu yüksek riskli olarak değerlendirilen kolorektal ve endometrium kanserli hastalardan oluşan kohortta Lynch sendromu saptanma olasılığı %4,7 bulunmuştur(100). İmmünohistokimya sonuçlarıyla genetik tetkike yönlendirilen kolorektal ve endometrium kanseri hastalarında Lynch sendromu saptanma oranı %14,2 olarak bildirilmiştir(12). Bizim çalışmamızda Lynch sendromu saptanma oranı %7,89 ile herhangi bir seçim yapılmaksızın test edilen kohortlara göre yüksek ancak seçim yapılan kohortlara göre düşük kalmıştır. Bunun nedeni kohortumuzun heterojen yapısı olarak düşünülmüştür. Test yaptığımız ancak immünohistokimyasal olarak ekspresyon kaybı göstermeyen, mikrosatellit instabilite testi normal, Amsterdam ve Bethesda kriterlerini karşılamayan 24 hasta bulunmaktadır. Bu hastalar dışlanırsa yüksek riskli grupta Lynch sendromu görme oranımız %10 olarak literatürle uyumlu olacaktır.

Yeni nesil dizileme tekniğinin kullanımının yaygınlaşmasıyla birlikte birden fazla kansere yatkınlık geninde mutasyon taşıyan hastalar saptanmaya başlamıştır. İki ya da daha fazla germline patojenik varyant taşıyan hastalar Multi-Lokus Kalıtsal Neoplazi Allel Sendromu (MİNAS: 'Multi-locus Inherited Neoplasia Allele Syndrome') olarak adlandırılmaktadır(102). Çalışmamızda bir hasta MİNAS tanısı almıştır. Hastada *MLH1*, *ATM* ve *TP53* genlerinde patojenik varyantlar mevcuttu. Sanger dizileme tekniği ile Lynch sendromu tanısı almış 84 hastanın yeni nesil dizileme kullanılarak kalıtsal kanser paneli ile tekrar değerlendirildiği bir çalışmada beş ailede (%6) MİNAS tanısı olduğu görülmüş. Bu ailelerin çoğunda kalıtılan diğer kansere yatkınlık geniyle ilişkili kanser fenotipinin ortaya çıkmadığı bildirilmiş(103). Bizim çalışmamızda da Lynch sendromu tanısı alan dokuz aileden birinde (%11) MİNAS saptanmıştır. Bu veriler eşliğinde Lynch sendromu tanılı ailelerde başka bir kanser sendromunu düşündürecek kanser öyküsü olmasa bile MİNAS olasılığı göz önüne alınarak multigen panellerle değerlendirme yapılmasının daha uygun olacağını düşünüyoruz.

Literatürde PREMM₅ modelinin Lynch sendromu dışındaki kalıtsal kanser sendromlarını tespit edebildiği bildirilmiştir. Mannucci et. Al. tarafından yapılan çalışmada yüksek riskli kohortta %4,11'i yüksek penetranslı olmak üzere %8,92 oranında Lynch sendromu genleri dışında patojenik varyant saptanmıştır. Aynı çalışmada herhangi bir seçim kriteri uygulanmadan test uygulanan kolorektal kanser hastaları kohortunda %2,08'i yüksek penetranslı olmak üzere %6,81 oranında Lynch sendromu genleri dışında patojenik varyant saptanmıştır. Mikrosatellit instabilite/immünohistokimya testleri normal olan hastalarda PREMM₅ skorunun %2,5 eşik değeri kullanılarak >%80 sensitivite ve >%95 negatif prediktif değer ile yüksek penetranslı patojenik varyantlı hastaları seçebileceği belirtilmiştir(100). Bizim çalışmamızda altı (%5,26) hastada yüksek penetranslı olmak üzere toplam 13 (%11,4) hastada Lynch sendromu dışında kalıtsal kanser sendromu saptanmıştır. İmmünohistokimya sonucu ekspresyon kaybı saptanmayan 53 hastada yüksek penetranslı patojenik varyant saptamada PREMM₅'in sensitivitesi %75 olurken, negatif prediktif değeri %90,91'di. Çalışmamızda saptadığımız oranlar PREMM₅'in her ne kadar Lynch sendromu hastalarını saptamak için geliştirilmiş olsa da diğer kalıtsal kanser sendromlarını saptamada da kabul edilebilir bir sensitivite ve negatif prediktif değer gösterdiğini doğrulamaktadır. PREMM₅ skoru >%2,5 olan hastalarda özellikle yanlış eşleşme tamir defektiyle ilgili bir kanıt yoksa başka kalıtsal kanser sendromları açısından tetkik düşünülmelidir.

1058 kolorektal kanser hastasını içeren bir çalışma PCR ile MSI-H veya İHK ile ifade kaybı saptanan hastalar analize alınmış. PREMM₅'in MSI-H veya İHK ile ifade kaybı saptanan kolorektal kanserli hastalarda Lynch sendromu ile sporadik vakaları ayırt etmedeki başarısı sensitivite ve negatif prediktif değer ile değerlendirilmiş. PREMM₅ eşik değeri %2,5 olarak kullanılmış. MSI-H veya İHK ile ifade kaybı saptanan 74 kolorektal kanser olgusunda PREMM₅'in sensitivitesi ve negatif prediktif değeri %100 olarak saptanmış. Spesifite %43,5(28.9-58.9) ve pozitif prediktif değer %51,9(37.8-65.7) olarak bulunmuş(99). Bizim çalışmamızda MSI-H veya İHK ile ifade kaybı saptanan 20 kolorektal kanser hastası mevcuttu. %2,5 eşik değerinde sensitivite ve negatif prediktif değer %100, spesifite %31,25 5/16, pozitif prediktif değer %26,66 4/15 olarak bulundu. % 5 eşik değerinde %100 sensitivite ve negatif prediktif değerleri korunurken, spesifite %50'ye 8/16 pozitif prediktif değer %33,33'e 4/12 yükseldi. Sensitivite ve negatif prediktif değerlerin %100 olarak bulunması MMR-D tümörlerde şu anki rehberlerde metilasyon analizi ve somatik mutasyon analizi ile yapılan sporadik/Lynch sendromu ayırımında PREMM₅'in bir alternatif olabileceğini ortaya koymaktadır.

Almanya’da 213 endometrium kanseri hastasında yapılan bir çalışmada hastaların %0,9’u Amsterdam, %14,6’sı Bethesda, %70’i PREMM₅ kriterlerini karşılamış. Hastaların %21,1’inde İHK ya da PCR ile yanlış eşleşme tamir defekti saptanmış. 20 hastaya germline test önerilmiş ve 3 hastada Lynch sendromu saptanmış. Bu üç hasta Amsterdam ve Bethesda kriterlerini karşılamamış ve bir hastada yanlış eşleşme tamir defekti saptanmamış. Üç hastada da PREMM₅ >%2,5 bulunmuş(104). Bizim çalışmamızda endometrium kanseri nedeniyle genetik tetkik yapılan 31 hasta mevcuttu. Bu hastaların %6,45’i (2/31) Amsterdam, %35,48’i (11/31) Bethesda kriterlerini karşılıyordu. İHK ile ifade kaybı %40 (8/20) hastada MSI %25 (2/8) hastada saptanmıştı. 22/31 %70,96 hasta %2,5 eşik değerinde PREMM₅’i karşılamış 6/31 %19,35 hasta %5 eşik değerinde PREMM₅’i karşıladı. %2,5 eşik değerinde PREMM₅ iki Lynch sendromlu hastayı da saptayabildi. Bizim çalışmamızda kriterleri karşılama oranlarının daha yüksek olması seçilmiş hasta popülasyonu ile açıklanabilir. Tüm hastalarımızda İHK ve MSI bakılmamış olması karşılaştırma yapmayı zorlaştırmaktadır.

2020 yılında yapılan bir çalışmada kalıtsal kanser sendromu açısından genetik danışma veya tetkik önerilen 706 kişilik bir yüksek riskli kohort ile herhangi bir kriterle seçim yapılmaksızın 1058 kolorektal kanser hastasından oluşan bir onkoloji kohortu değerlendirilmiş. Yüksek riskli kohortta 117 (%22,7) hastanın İHK veya MSI sonucu yanlış eşleşme tamir defekti ile uyumlu bulunmuş. PREMM₅ eşik değeri %2,5 alındığında 547 (%77,5) %5 alındığında 299 (%42,4) hasta kriterleri karşılamış. 33 Lynch sendromlu hasta saptanırken 29 hastada diğer yüksek penetranslı genlerde patojenik varyant saptanmış. Onkoloji kohortunda 70 (%12,2) hastanın İHK veya MSI sonucunda yanlış eşleşme tamir defekti fenotipi saptanmış. 699 (%66,1) hastanın skoru %2,5 eşiğini geçerken 323(%30,5) hastanın skoru %5 eşiğini geçmiş. 33 (%3,1) hastada Lynch sendromu 55 (%5,2) hastada ise diğer genlerde yüksek penetranslı patojenik varyantlar saptanmış. Yüksek riskli kohortta PREMM₅’in %2,5 eşiği kullanıldığında sensitivitesi %87,9(76,7-99,0) spesifitesi %23 (19,9-26,2) pozitif prediktif değeri %5,3 (3,4-7,2) negatif prediktif değeri %97,5 (95,1-99,9) olarak saptanmış. %5 eşik değerinde sensitivite %60,6 (43,9-77,3) spesifite %58,5 (54,8-62,3) pozitif prediktif değer %6,7 (3,9-9,5) negatif prediktif değer %96,8 (95,1-98,5) olarak bulunmuş. %2,5 eşik değeri, %5 eşik değerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha duyarlı; %5 eşik değeri, %2,5 eşik değerine göre istatistiksel anlamlı olarak daha spesifik bulunurken pozitif ve negatif prediktif değer için aradaki fark istatistiksel anlamlı bulunmamış. Onkoloji kohortunda PREMM₅ %2,5 eşik değerinde değerlendirildiğinde sensitivite %93,9 (85,8-100) spesifite %34,8 (31,9-37,7) pozitif prediktif değer %4,4 (2,9-6) negatif prediktif değer %99,4 (98,7-100) %5 eşik değerinde hesaplandığında

sensitivite %72,7(57,5-87,9) spesifite %70,8(68-73,6) pozitif prediktif değer %7,4(4,6-10,3) negatif prediktif değer %98,8(98-99,6) saptanmış. %2,5 eşik değeri %5 eşik değerine göre daha sensitif iken %5 eşik değeri, %2,5 eşik değerine kıyasla daha spesifik ve pozitif prediktif değeri daha yüksek çıkmış. Negatif prediktif değerler arasındaki fark anlamlı bulunmamış. MSİ veya İHK ile yanlış eşleşme tamir defektiyle uyumlu bulgu saptanmasının yüksek riskli kohorttaki sensitivitesi %89,3 (77,8-100) spesifitesi %81,3 (77,9-84,8) pozitif prediktif değeri %21,6 (14,1-29) negatif prediktif değeri %99,2 (98,4-100) olarak hesaplanmış. MSİ/İHK çalışılması %2,5 eşik değerli PREMM₅ modeline göre spesifite ve pozitif prediktif değer açısından ystn bulunmuş. Onkoloji kohortunda MSİ/İHK'nın sensitivitesi %96,6 (89,9-100) spesifitesi %92,3 (90-94,5) pozitif prediktif değeri %40 (28,5-51,5) negatif prediktif değeri %99,8 (99,4-100) olarak hesaplanmış ve bu kohortta da MSİ/İHK daha spesifik ve pozitif prediktif değeri daha yüksek bulunmuş. %5 eşik değeriyle karşılaştırıldığındaysa PREMM₅'in sensitivitesi %57,1 (38,8-75,5) spesifitesi %57,9 (53,5-62,3) pozitif prediktif değeri %7,2 (3,8-10,7) negatif prediktif değeri %95,9 (93,7-98,2) olarak bulunmuş ve tüm bu parametrelerde MSİ/İHK istatistiksel anlamlı olarak daha iyi performans göstermiştir. Bu alışmada PREMM₅'in Lynch sendromu dışındaki kalıtsal kanser sendromlarını saptamada da yol gösterici olabileceği belirtilmiştir. Özellikle MSİ/İHK sonuçları yanlış eşleşme tamir defektiyle uyumsuz saptanan hastalarda yüksek penetranslı patojenik varyant varlığını PREMM₅ modeli %2,5 eşiğiyle %84,2 (67,8-100) sensitivite ve %95,5 (90,4-100) negatif prediktif değer ile ngrebilmiştir(100). Bizim alışmamızda PREMM₅ skoru %2,5 eşiğini geçen 84 (%73,69), %5 eşiğini geçen 44 (%38,6) hasta mevcuttu ve bu durum kohortumuzun kanser öyküleri açısından bu çalışmadaki yüksek riskli grupla benzer özellikler gösterdiğini düşündürtmektedir. Çalışmamızda PREMM₅ için hesaplanan sensitivite, spesifite, PPV ve NPV değerleri bu çalışmaya benzer bulunmuştur.

Evrensel tarama programının 1290 kolorektal kanser ve 484 endometrium kanseri hastasında değerlendirildiği bir çalışmada İHK sonuçları göz önüne alınarak 169 hastaya genetik değerlendirme önerilmiş, test yaptıran 58 kolorektal kanser hastasının 16'sında, 16 endometrium kanseri hastasının 8'inde Lynch sendromu ilişkili mutasyon saptanmış. Amsterdam, Bethesda kriterleri ya da PREMM₅ modelinden hiçbiri tüm Lynch sendromu hastalarını saptayamamış. Lynch sendromu tanısı alan hastaların %62,5'u Amsterdam kriterlerini, %50'si Bethesda kriterlerini karşılamamış. %5 eşik değeri kullanıldığında %45,83', %2,5 eşik değeri kullanıldığında %12,5'u PREMM₅ modeli tarafından yüksek riskli bulunmamış. %2,5 eşik değerinin altında kalan 3 hastada da *PMS2*

geninde mutasyon saptanmış(12). Bizim çalışmamızda Amsterdam kriterinin hastaların %44,45'ini, Bethesda kriterinin %11,12'sini atladığını gördük. PREMM₅ kriteri %5 eşik değeri kullanıldığı durumda hastaların %11,12'si atlanırken, %2,5 eşik değeri kullanılması durumunda tüm hastalar saptanabiliyordu. Çalışmamızda *PMS2* geninde patojenik varyant saptanan bir hasta olmadığı için bu açıdan bir değerlendirme yapılamamıştır.

PREMM₅ modelinin geliştirildiği kohort 18.734 hastadan oluşmakta olup, 1.000 hastada patojenik mutasyon saptanmış. Mutasyon taşıyıcılarını ayırt etmedeki başarısı değerlendirilirken eğri altında kalan alan 0,81 (0,79-0,82) olarak hesaplanmış. Validasyon kohortunda da eğri altında kalan alan 0,83 (0,75-0,92) olarak bulunmuş. %5 eşik değerinde sensitivitesi %72,1, spesifitesi %75,1, pozitif prediktif değeri %14, negatif prediktif değeri %97,9 olarak bulunmuş. %2,5 eşik değerinde sensitivite %89,4, spesifite %49,2, pozitif prediktif değer %9, negatif prediktif değer %98,8 olarak hesaplanmış(11). Bizim çalışmamızda PREMM₅'in daha sensitif ve daha az spesifik çıkmasının nedeninin daha az hastanın değerlendirilmesi olduğu düşünüldü.

PREMM₅ modelinin performansını 734 hasta üzerinden değerlendiren bir çalışmada 83 Lynch sendromlu hasta saptanmış. %5 eşik değeri kullanıldığında PREMM₅'in sensitivitesi %78, spesifitesi %46 olarak hesaplanmış. Bethesda kriterlerinin sensitivitesi %90, spesifitesi %24 olarak bulunmuş. Kolorektal kanser hastalarında tümör lokasyonunun hesaplamada kullanılması modelin performansını artırmıştır. ROC analizinde eğri altında kalan alan modifiye PREMM₅ kullanıldığında 0,81, orijinal PREMM₅ kullanıldığında 0,72 olarak bulunmuştur. Çalışmada PREMM₅ modelinin *PMS2* mutasyonu olan hastaları saptamada eksik kaldığı vurgulanmıştır(101). Çalışmamızda PREMM₅ modelinin daha sensitif ve daha spesifik olarak bulunmasının kohortumuzun büyüklüğü ve kohortumuzda *PMS2* mutasyonu taşıyan herhangi bir hasta bulunmaması nedeniyle olduğunu düşünmekteyiz.

Kore'de 2016 yılında PREMM_{1,2,6} modeli kullanılarak 188 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada PREMM_{1,2,6} modelinin eğri altında kalan alanı 0,709 olarak hesaplanmış ve modelin geliştirildiği batı toplumlarında saptanan pozitif prediktif değerlere göre daha zayıf bir performans gösterdiği gösterilmiş(23). Çalışmamızda ROC analizi yapılmamış olmakla beraber klinikte sıklıkla kullanılan %2,5 ve %5 eşik değerlerinde hesaplanan sensitivite ve spesifite değerleri batı toplumlarında yapılan çalışmalarda saptanan değerler ile benzerlik göstermektedir. Bahsedilen çalışmada gösterilen zayıf performans bu çalışmada gösterilmediği için PREMM₅'in kullanımında daha kötü bir performans göstereceğine dair bir veri bulunmamakla birlikte daha çok hasta ile yapılacak çalışmalar önemli olacaktır.

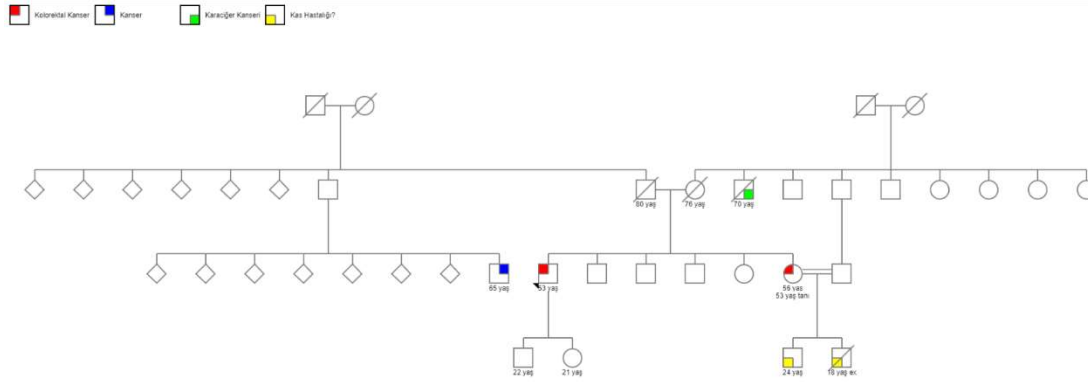
PREMM₅'in performansını değerlendiren çalışmalar aşağıdaki tabloda özetlenmiştir:

Tablo 27. PREMM₅'in Sensitivite, Spesifite, PPV ve NPV Değerlerini Belirten Seçilmiş alışmalar

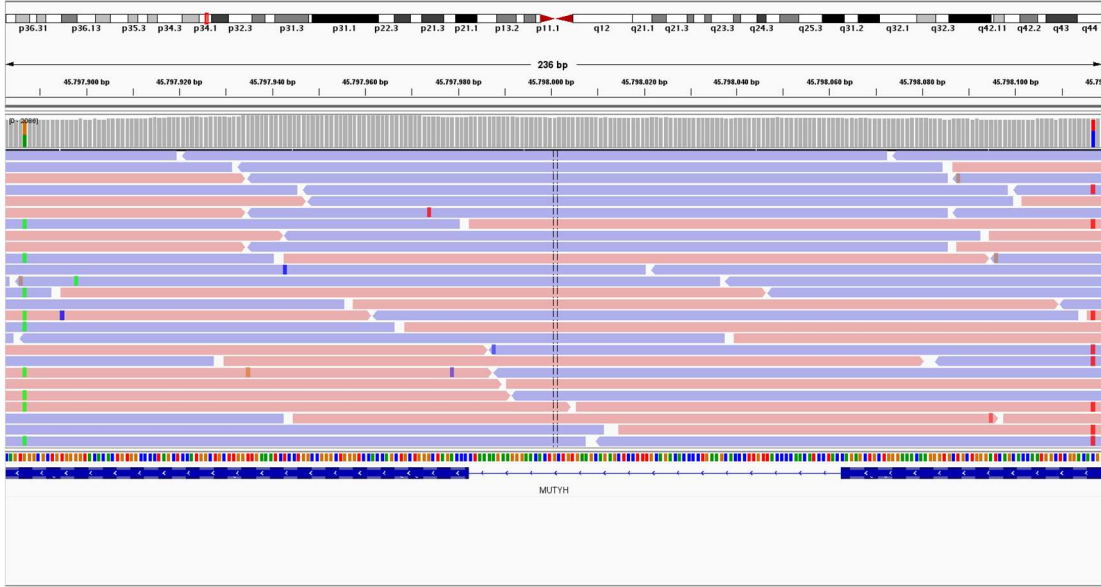
Yazar	Yıl	Kohort	PREMM ₅ Eşik Değeri	Sensitivite	Spesifite	PPV	NPV
Sandoval RL	2023	Yanlış eşleşme tamir defektli KRK hastaları	%2,5	%100	%43,5	%51,9	%100
Mannucci A	2020	Yüksek riskli KRK ve endometrium kanseri hastaları	%2,5	%87,9	%23	%5,3	%97,5
Mannucci A	2020	Yüksek riskli KRK ve endometrium kanseri hastaları	%5	%60,6	%58,5	%6,7	%96,8
Mannucci A	2020	Seçilmemiş KRK hastaları	%2,5	%93,9	%34,8	%4,4	%99,4
Mannucci A	2020	Seçilmemiş KRK hastaları	%5	%72,7	%70,8	%7,4	%98,8
Kastrinos F	2017	Lynch sendromu spektrumundaki kanseri hastaları	%2,5	%89,4	%49,2	%9	%98,8
Kastrinos F	2017	Lynch sendromu spektrumundaki kanseri hastaları	%5	%72,1	%75,1	%14	%97,9

Çalışmamızda İHK, MSI, Bethesda ve Amsterdam kriterlerinin hiçbirini karşılamayan 24 hasta mevcuttu. %2,5 eşiği ile bu hastaların 16'sı, %5 eşiği ile ise 4'ü PREMM₅ kriterini karşılıyordu. Bu hastalardan bir tanesi *MUTYH* ilişkili polipozis tanısı aldı. Bu durum PREMM₅ modellemesinde yüksek riskli çıkan hastaların Lynch sendromu için rutin pratikte kullanılan kriterleri karşılamasa da diğer kalıtsal kolorektal kanser sendromları açısından değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Olgu 102'de 53 yaşında transvers kolon yerleşimli adenokarsinom saptanmış. Ayrıca ana tümörün distalinde müsinöz adenokarsinom tanısı konulan polipleri mevcutmuş. Hastanın 56 yaşındaki kız kardeşi 53 yaşındayken kolon kanseri teşhisi almış. Kendisinin ve kardeşinin tanı yaşlarının 50'den büyük olması nedeniyle Bethesda kriterlerini karşılamayan bu hastanın PREMM₅ skoru %7,7 olarak hesaplandı. Hastanın NGS paneli sonucunda NM_001048174.2:c.800C>T ve NM_001048174.2:c.650G>A değişimleri saptandı. NM_001048174.2:c.800C>T (PM2_Supporting+PP3+PM3+PS3) değişimi muhtemel patojenik ve NM_001048174.2:c.650G>A (PM2_Supporting+PM5+PM1+PP3+PS3+PM3) değişimi patojenik olarak raporlandı. Saptanan değişimlerin faz bilgisinin saptanabilmesi açısından aile taraması önerildi ancak aile başvurusunda bulunmadığı için genetik tanı kesinleştirilemedi.



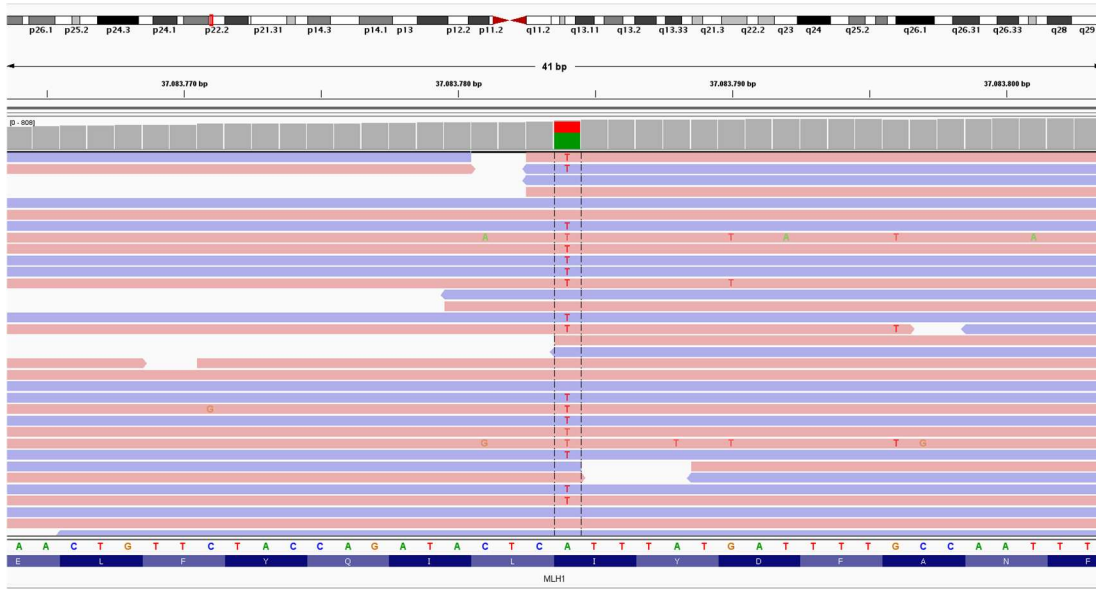
Şekil 6. Olgu 102'nin Aile Ağacı



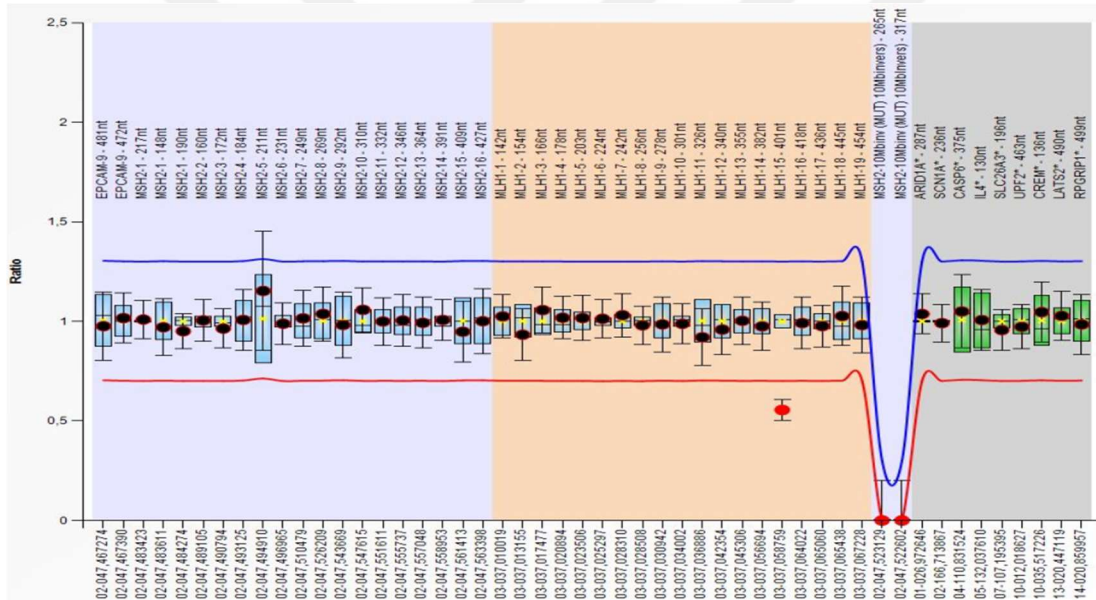
Şekil 7. Olgu 102’de Saptanan Varyantların IGV Görüntüsü

Germline test için %2,5 PREMM₅ eşiği kullanıldığında saptanamayan kalıtsal kolorektal kanser sendromu hastası olmazken, %5 PREMM₅ eşiği kullanıldığında 2 kalıtsal kolorektal hastasına tanı konulamamaktadır. Bu durum, genetik testin uygulanmasıyla ilgili olarak, hastaların %5 risk seviyesi altında kalan hastaların atlanmaması amacıyla %2,5 risk eşiğinin daha uygun bir tercih olduğunu göstermektedir.

Olgu 113, 67 yaşında erkek hastaydı. Başvurusundan 4 yıl önce karın ağrısı şikayetiyle tetkik edilerek kolon kanseri tanısı almış ve opere edilmiş. Patoloji sonucunda İHK ile ekspresyon kaybı saptanmamış ve MSI ile uyumlu bulunmamış. Ailesinde 61 yaşında kolon kanseri tanısı almış bir erkek kardeşi bulunmaktaymış. Hastanın NGS paneli analizinde NM_000249.4:c.1693A>T varyantı saptanmış olup bu değişim ClinVar ve InSiGHT veritabanlarında VUS olarak bildirilmiş. Takahashi’nin yaptığı çalışmada bu değişimin wild-type’a benzer oranda MLH1 ekspresyonu gösterdiği ve bu nedenle İHK ile tespitinin zor olabileceği bildirilmiştir(105). Bu değişim PM2_Supporting+PP3+PM1 kriterleri verilerek VUS olarak raporlandı. Ayrıca MRC-Holland SALSA MLPA Probemix P003-D1 MLH1/MSH2 kiti ile yapılan MLPA analizinde 15. ekzonu değerlendiren probda heterozigot delesyonla uyumlu sinyal azalması tespit edilmiş. MLH1 geninin 15. ekzonunun delesyonu out-of-frame bir değişime neden olduğu için bu değişimin patojenik olabileceği düşünülmekle birlikte MLPA yöntemiyle saptanan tüm tek prob delesyonlarının ek bir yöntemle doğrulanması gerekmektedir. Hastanın NGS panelinde saptanan nokta mutasyonu MLPA probunun ligasyon bölgesine denk gelmektedir. Literatürde bu değişimin MLPA sonucunu etkileyebileceği bildirilmiştir(106). Bu nedenle MLPA’da saptanan sinyal azalması artefakt olarak kabul edildi.



Şekil 8. Olgu 113'te Saptanan Varyantın IGV Görüntüsü



Şekil 9. Olgu 113'ün *MLH1-MSH2* MLPA Görüntüsü

Olgu 121, 31 yaşında aldığı endometrium kanseri tanısını takiben tarafımıza yönlendirilmiş. Hastanın 17 yaşında meme kanseri tanısı öyküsü de mevcut. Aile öyküsünde başka kanser tanılı birey bulunmamaktaydı. Hastanın NGS paneli sonucunda NM_000465.4:c.1395+1G>C ve NM_000546.5:c.754_762del değişimleri saptandı. NM_000465.4:c.1395+1G>C değişiminin splice'ı etkileyeceği öngörülmeyle birlikte (SpliceAI:0,98 / Ada:1 / RF:0,91) ekzon skipping durumunda çerçeve kayması oluşmayacağı için PVS1 kriteri gücü düşürülerek PVS1_Strong olarak verilmiştir(107). PVS1_Strong+PM2_Supporting kriterleri verilerek bu değişim VUS olarak değerlendirilmiştir.

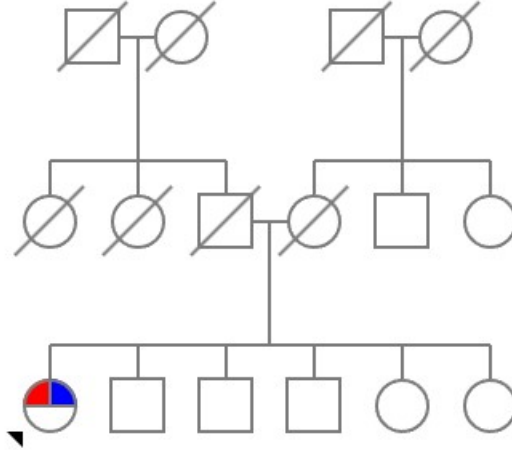
NM_000546.5:c.754_762del değişimi PM4+PM1+PM2_Supporting+PS4_Supporting kriterlerini karşıladığı için muhtemel patojenik olarak raporlanmıştır.



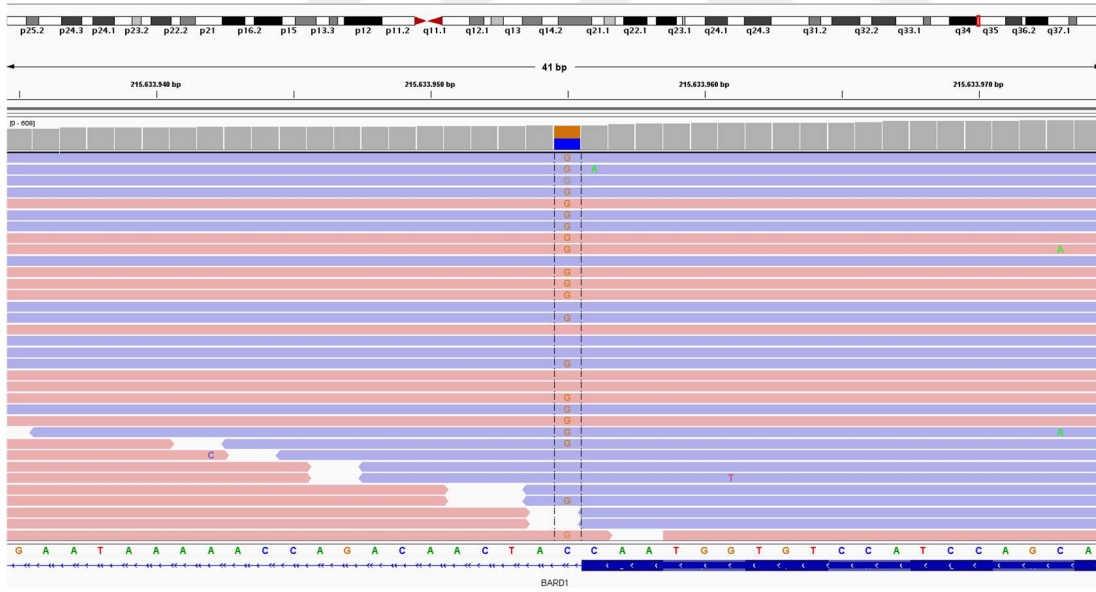
Meme Kanseri



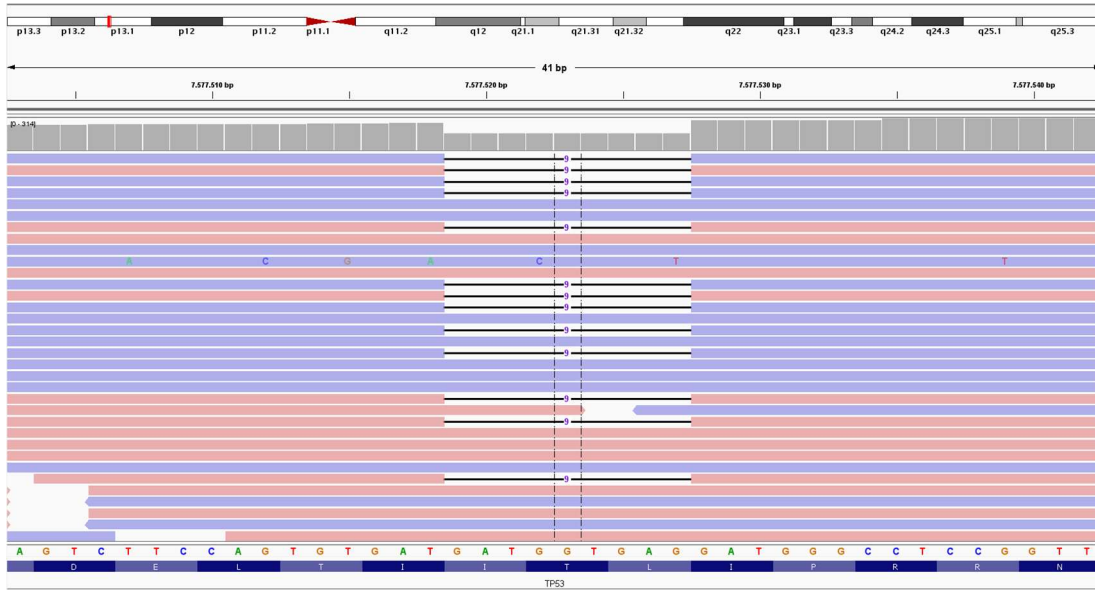
Endometrium Kanseri



Şekil 10. Olgu 121'in Aile Ağacı

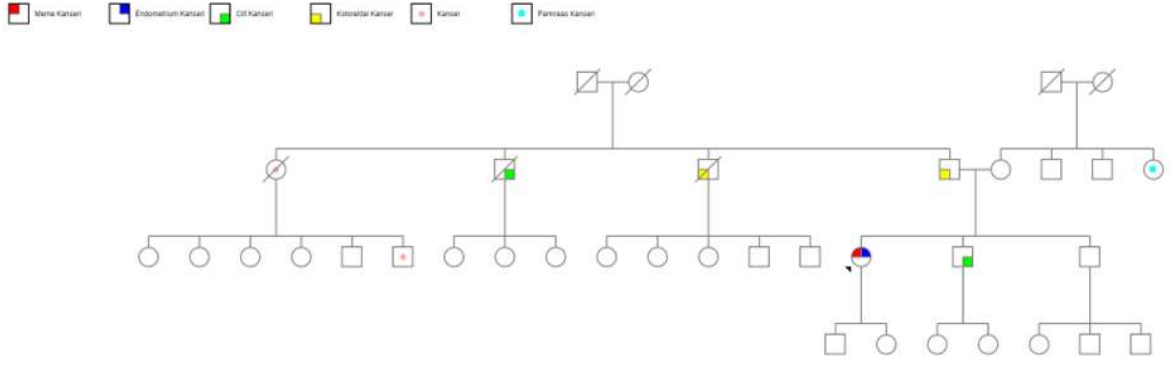


Şekil 11. Olgu 121'de *BARD1* Geninde Saptanan Varyantın IGV Görüntüsü

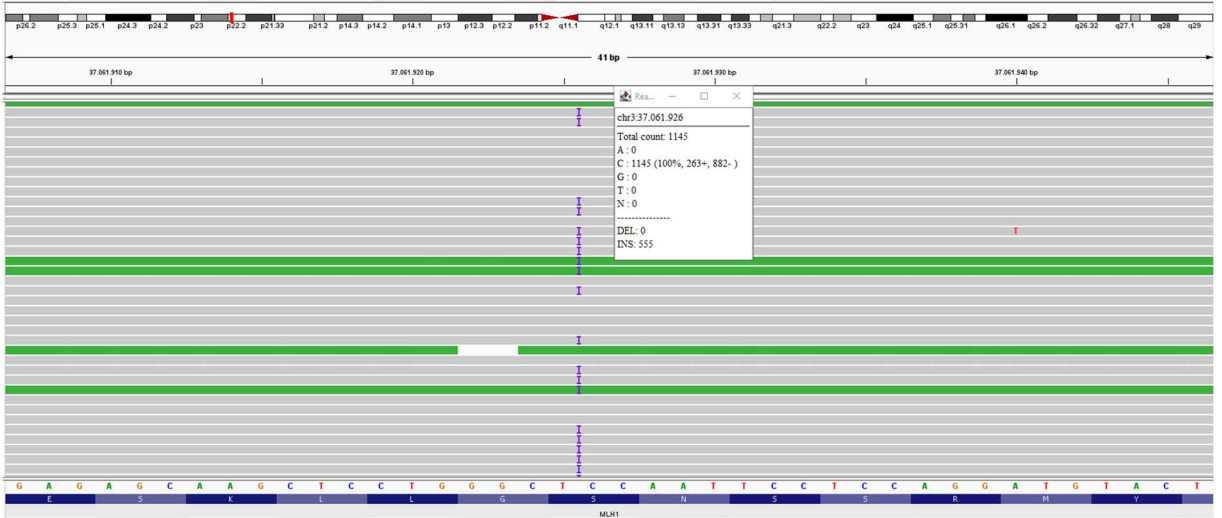


Şekil 12. Olgu 121’de *TP53* Geninde Saptanan Varyantın IGV Görüntüsü

Çalışmamızda PREMM₅ prediksyon modelinde eşik değer olarak rehberlerde önerildiği gibi %5 eşik değerinin kullanılması durumunda Lynch sendromu saptanan bir hastaya test önerilmeyeceği görülmüştür. Olgu 133, 44 yaşında endometrium kanseri ve 46 yaşında meme kanseri tanıları nedeniyle genetik polikliniğine yönlendirilmiş. Endometrium kanserinden İHK ile yapılan incelemede PMS2 ekspresyonunda kayıp saptanmış. MSİ için ek tetkik yapılmamış. Hastanın aile hikayesi incelendiğinde babası ve amcasında ise kolorektal kanser tanısı mevcuttur. Hastanın aile hikayesi Bethesda ve Amsterdam kriterlerini karşılamaktaydı. PREMM₅ modeli sonucu %4,8 olarak hesaplandı. NGS paneli sonucu NM_000249.4:c.1011dup değişimi saptandı. PVS1+PS4+PM2_Supporting kriterleri verilerek patojenik olarak değerlendirildi. PREMM₅’in performansı tümöre ait yerleşim, İHK, MSİ, *BRAF* p.V600E değişiminin varlığı gibi modelin değerlendirmedeği ek verilerin de göz önünde tutulmasıyla iyileştirilebilir.



Şekil 13. Olgu 133'ün Aile Ağacı



Şekil 14. Olgu 133'te *MLH1* Geninde Saptanan Varyantın IGV Görüntüsü

Çalışmamız retrospektif bir çalışma olup bu nedenle tasarımıyla ilgili doğal kısıtlılıkları vardır. Çalışmamızda altın standart test olarak kalıtsal kanser gen paneli sonuçları kullanılmış olup bu testle intronik mutasyonlar, delesyon/duplikasyonlar tespit edilemeyeceği için çalışma grubumuzda tanı alamayan hastalar olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Yapılan çalışmada kalıtsal kolorektal kanser sendromları açısından değerlendirilen bireylerin %7,4'ünde (9/121) Lynch sendromu, %3,30'unda (4/121) diğer kolorektal kanser sendromlarından birinin saptandığı görülmüştür.

2. Test önerisi için PREMM₅ skoru eşik değer olarak %5 kullanılması 121 yerine 51 bireye periferik kandan mutasyon analizi yapılacak olup bir Lynch sendromlu hastanın tanısı konulamayacaktır.

3. Test önerisi için PREMM₅ skoru eşik değer olarak %2,5 kullanılması durumunda 121 yerine 92 bireye periferik kandan mutasyon analizi yapılacak olup, tüm Lynch sendromlu bireylere tanı konulabilecektir.

4. PREMM₅ skoru %5 eşik değerinde Bethesda kriterlerine benzer duyarlılık gösterirken daha spesifik olduğu görülmüştür.

5. PREMM₅ skoru değerlendirildiği her iki eşik değer için de Amsterdam kriterlerinden daha duyarlı ancak daha az spesifik bulunmuştur.

6. PREMM₅ skoru immünohistokimya sonuçlarına kıyasla daha sensitif ancak daha az spesifik bulundu.

7. PREMM₅ skoru mikrosatellit instabiliteyle kıyaslandığında daha sensitif ancak daha az spesifik bulundu.

8. Çalışmamızın kısıtlılıklarından birisi yeni nesil dizileme sonuçlarında hastalık yapıcı olduğu düşünülen bir varyant saptanmamış hastaların, delesyon/duplikasyon analizlerinin yapılmamış olmasıdır. Ayrıca *PMS2* geninin nokta mutasyonları yüksek sekans homolojisi gösteren dizilerin varlığı nedeniyle değerlendirilememiştir.

9. Uluslararası rehberlere uygun olarak kalıtsal kolorektal kanser sendromu açısından değerlendirilen bireylerde tetkik planlamaya karar verirken PREMM₅ ya da diğer risk prediksyon modellerinden faydalanılmalıdır.

10. PREMM₅ modellemesinin daha büyük kohortlarda değerlendirildiği ve diğer risk prediksyon modellerleriyle kıyaslandığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Cronin KA, Scott S, Firth AU, Sung H, Henley SJ, Sherman RL, vd. Annual report to the nation on the status of cancer, part 1: National cancer statistics. *Cancer*. 15 Aralık 2022;128(24):4251-84.
2. Warthin AS. HEREDITY WITH REFERENCE TO CARCINOMA: AS SHOWN BY THE STUDY OF THE CASES EXAMINED IN THE PATHOLOGICAL LABORATORY OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN, 1895-1913. *Arch Intern Med (Chic)*. 01 Kasım 1913;XII(5):546.
3. Boland CR. Evolution of the Nomenclature for the Hereditary Colorectal Cancer Syndromes. *Familial Cancer*. Eylül 2005;4(3):211-8.
4. Lynch HT, Schuelke GS, Kimberling WJ, Albano WA, Lynch JF, Biscione KA, vd. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndromes I and II). II. Biomarker studies. *Cancer*. 15 Ağustos 1985;56(4):939-51.
5. Hampel H. Population Screening for Hereditary Colorectal Cancer. *Surgical Oncology Clinics of North America*. Nisan 2018;27(2):319-25.
6. Dominguez-Valentin M, Sampson JR, Seppälä TT, ten Broeke SW, Plazzer JP, Nakken S, vd. Cancer risks by gene, age, and gender in 6350 carriers of pathogenic mismatch repair variants: findings from the Prospective Lynch Syndrome Database. *Genet Med*. 2020;22(1):15-25.
7. Firth HV, Hurst JA. Oxford desk reference. Clinical genetics and genomics. Second edition. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press; 2017. 877 s. (Oxford desk reference).
8. Tafe LJ, Riggs ER, Tsongalis GJ. Lynch syndrome presenting as endometrial cancer. *Clin Chem*. Ocak 2014;60(1):111-21.
9. Stjepanovic N, Moreira L, Carneiro F, Balaguer F, Cervantes A, Balmaña J, vd. Hereditary gastrointestinal cancers: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Annals of Oncology*. Ekim 2019;30(10):1558-71.
10. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal [Internet]. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®); [a.yer 20 Ocak 2024]. Erişim adresi: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_colon.pdf
11. Kastrinos F, Uno H, Ukaegbu C, Alvero C, McFarland A, Yurgelun MB, vd. Development and Validation of the PREMM5 Model for Comprehensive Risk Assessment of Lynch Syndrome. *J Clin Oncol*. 01 Temmuz 2017;35(19):2165-72.
12. Adar T, Rodgers LH, Shannon KM, Yoshida M, Ma T, Mattia A, vd. Universal screening of both endometrial and colon cancers increases the detection of Lynch syndrome. *Cancer*. 2018;124(15):3145-53.
13. Shi J, Morgan KL, Bradshaw RL, Jung SH, Kohlmann W, Kaphingst KA, vd. Identifying Patients Who Meet Criteria for Genetic Testing of Hereditary Cancers Based on Structured and Unstructured Family Health History Data in the Electronic Health Record: Natural Language Processing Approach. *JMIR Med Inform*. 11 Ağustos 2022;10(8):e37842.
14. Parmigiani G, Berry D, Aguilar O. Determining carrier probabilities for breast cancer-susceptibility genes BRCA1 and BRCA2. *Am J Hum Genet*. Ocak 1998;62(1):145-58.

15. Antoniou AC, Pharoah PPD, Smith P, Easton DF. The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancer. *Br J Cancer*. 18 Ekim 2004;91(8):1580-90.
16. Yurgelun MB, Uno H, Furniss CS, Ukaegbu C, Horiguchi M, Yussuf A, vd. Development and Validation of the PREMMplus Model for Multigene Hereditary Cancer Risk Assessment. *J Clin Oncol*. 10 Aralık 2022;40(35):4083-94.
17. Shyr C, Blackford AL, Huang T, Ke J, Ouardaoui N, Trippa L, vd. A validation of models for prediction of pathogenic variants in mismatch repair genes. *Genetics in Medicine [Internet]*. 23 Ağustos 2022 [a.yer 29 Ağustos 2022];0(0). Erişim adresi: [https://www.gimjournal.org/article/S1098-3600\(22\)00841-3/fulltext](https://www.gimjournal.org/article/S1098-3600(22)00841-3/fulltext)
18. Chen S, Wang W, Lee S, Nafa K, Lee J, Romans K, vd. Prediction of Germline Mutations and Cancer Risk in the Lynch Syndrome. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 09 Eylül 2006;296(12):1479.
19. Barnetson RA, Tenesa A, Farrington SM, Nicholl ID, Cetnarskyj R, Porteous ME, vd. Identification and Survival of Carriers of Mutations in DNA Mismatch-Repair Genes in Colon Cancer. *New England Journal of Medicine*. 29 Haziran 2006;354(26):2751-63.
20. Balmaña J, Stockwell DH, Steyerberg EW, Stoffel EM, Deffenbaugh AM, Reid JE, vd. Prediction of MLH1 and MSH2 Mutations in Lynch Syndrome. *JAMA*. 27 Eylül 2006;296(12):1469-78.
21. Kastrinos F, Steyerberg EW, Mercado R, Balmaña J, Holter S, Gallinger S, vd. The PREMM1,2,6 Model Predicts Risk of MLH1, MSH2, and MSH6 Germline Mutations Based on Cancer History. *Gastroenterology*. 01 Ocak 2011;140(1):73-81.e5.
22. Kastrinos F, Uno H, Syngal S. Commentary: PREMM5 threshold of 2.5% is recommended to improve identification of PMS2 carriers. *Familial Cancer*. 01 Ekim 2018;17(4):567-567.
23. Lee SY, Kim DW, Shin YK, Ihn MH, Lee SM, Oh HK, vd. Validation of Prediction Models for Mismatch Repair Gene Mutations in Koreans. *Cancer Res Treat*. Nisan 2016;48(2):668-75.
24. Yurgelun MB, Allen B, Kaldete RR, Bowles KR, Judkins T, Kaushik P, vd. Identification of a Variety of Mutations in Cancer Predisposition Genes in Patients With Suspected Lynch Syndrome. *Gastroenterology*. Eylül 2015;149(3):604-613.e20.
25. Morgan E, Arnold M, Gini A, Lorenzoni V, Cabasag CJ, Laversanne M, vd. Global burden of colorectal cancer in 2020 and 2040: incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. *Gut*. 01 Şubat 2023;72(2):338-44.
26. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(4):212-36.
27. Siegel RL, Medhanie GA, Fedewa SA, Jemal A. State Variation in Early-Onset Colorectal Cancer in the United States, 1995-2015. *J Natl Cancer Inst*. 01 Ekim 2019;111(10):1104-6.
28. Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RGS, Barzi A, vd. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 06 Mayıs 2017;67(3):177-93.

29. Bailey CE, Hu CY, You YN, Bednarski BK, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, vd. Increasing disparities in the age-related incidences of colon and rectal cancers in the United States, 1975-2010. *JAMA Surg.* Ocak 2015;150(1):17-22.
30. Loscalzo J, Fauci AS, Kasper DL, Hauser S, Longo D, Jameson JL. *Harrison's Principles of Internal Medicine, Twenty-First Edition (Vol1 & Vol2).* 2022;
31. Baxter NN, Tepper JE, Durham SB, Rothenberger DA, Virnig BA. Increased risk of rectal cancer after prostate radiation: a population-based study. *Gastroenterology.* Nisan 2005;128(4):819-24.
32. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med.* 24 Nisan 2003;348(17):1625-38.
33. US Preventive Services Task Force, Davidson KW, Barry MJ, Mangione CM, Cabana M, Caughey AB, vd. Screening for Colorectal Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA.* 18 Mayıs 2021;325(19):1965.
34. Knudsen AB, Rutter CM, Peterse EFP, Lietz AP, Seguin CL, Meester RGS, vd. Colorectal Cancer Screening: An Updated Modeling Study for the US Preventive Services Task Force. *JAMA.* 18 Mayıs 2021;325(19):1998-2011.
35. Lin JS, Perdue LA, Henrikson NB, Bean SI, Blasi PR. Screening for Colorectal Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. *JAMA.* 18 Mayıs 2021;325(19):1978-98.
36. Colon Cancer [Internet]. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®); [a.yer 20 Ocak 2024]. Erişim adresi: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf
37. Hampel H, Kalady MF, Pearlman R, Stanich PP. Hereditary Colorectal Cancer. *Hematology/Oncology Clinics of North America.* 01 Haziran 2022;36(3):429-47.
38. Mao R, Krautscheid P, Graham RP, Ganguly A, Shankar S, Ferber M, vd. Genetic testing for inherited colorectal cancer and polyposis, 2021 revision: a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine.* Ekim 2021;23(10):1807-17.
39. Aoun RJN, Kalady MF. The importance of genetics for timing and extent of surgery in inherited colorectal cancer syndromes. *Surgical Oncology.* 13 Nisan 2022;101765.
40. Olkinuora AP, Peltomäki PT, Aaltonen LA, Rajamäki K. From APC to the genetics of hereditary and familial colon cancer syndromes. *Hum Mol Genet.* 30 Temmuz 2021;30(R2):R206-24.
41. Kanth P, Grimmer J, Champine M, Burt R, Samadder NJ. Hereditary Colorectal Polyposis and Cancer Syndromes: A Primer on Diagnosis and Management. *Am J Gastroenterol.* Ekim 2017;112(10):1509-25.
42. Half E, Bercovich D, Rozen P. Familial adenomatous polyposis. *Orphanet J Rare Dis.* 12 Ekim 2009;4:22.
43. Zhang L, Shay JW. Multiple Roles of APC and its Therapeutic Implications in Colorectal Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 07 Nisan 2017;109(8):djw332.

44. Yen T, Stanich PP, Axell L, Patel SG. APC-Associated Polyposis Conditions. İçinde: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, vd., editörler. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [a.yer 19 Aralık 2023]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1345/>
45. Tacheci I, Kopacova M, Bures J. Peutz-Jeghers syndrome. *Curr Opin Gastroenterol*. 01 Mayıs 2021;37(3):245-54.
46. Giardiello FM, Trimbath JD. Peutz-Jeghers syndrome and management recommendations. *Clin Gastroenterol Hepatol*. Nisan 2006;4(4):408-15.
47. Phen C, Rojas I. Paediatric polyposis syndromes: burden of disease and current concepts. *Current Opinion in Pediatrics*. Ekim 2021;33(5):509.
48. Faubert B, Vincent EE, Griss T, Samborska B, Izreig S, Svensson RU, vd. Loss of the tumor suppressor LKB1 promotes metabolic reprogramming of cancer cells via HIF-1 α . *Proc Natl Acad Sci U S A*. 18 Şubat 2014;111(7):2554-9.
49. Tanwar PS, Kaneko-Tarui T, Zhang L, Teixeira JM. Altered LKB1/AMPK/TSC1/TSC2/mTOR signaling causes disruption of Sertoli cell polarity and spermatogenesis. *Hum Mol Genet*. 15 Ekim 2012;21(20):4394-405.
50. Udd L, Mäkelä TP. LKB1 signaling in advancing cell differentiation. *Fam Cancer*. Eylül 2011;10(3):425-35.
51. Beggs AD, Latchford AR, Vasen HFA, Moslein G, Alonso A, Aretz S, vd. Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and recommendations for management. *Gut*. Temmuz 2010;59(7):975-86.
52. Wu BD, Wang YJ, Fan LL, Huang H, Zhou P, Yang M, vd. Clinical and Genetic Analyses of 38 Chinese Patients with Peutz-Jeghers Syndrome. *Biomed Res Int*. 11 Mayıs 2020;2020:9159315.
53. Borun P, De Rosa M, Nedoszytko B, Walkowiak J, Plawski A. Specific Alu elements involved in a significant percentage of copy number variations of the STK11 gene in patients with Peutz-Jeghers syndrome. *Fam Cancer*. 2015;14(3):455-61.
54. De Rosa M, Galatola M, Quaglietta L, Miele E, De Palma G, Rossi GB, vd. Alu-mediated genomic deletion of the serine/threonine protein kinase 11 (STK11) gene in Peutz-Jeghers syndrome. *Gastroenterology*. Haziran 2010;138(7):2558-60.
55. Pilarski R. PTEN Hamartoma Tumor Syndrome: A Clinical Overview. *Cancers (Basel)*. 18 Haziran 2019;11(6):844.
56. Yehia L, Keel E, Eng C. The Clinical Spectrum of PTEN Mutations. *Annual Review of Medicine*. 2020;71(1):103-16.
57. Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. *J Biol Chem*. 29 Mayıs 1998;273(22):13375-8.
58. Tan MH, Mester J, Peterson C, Yang Y, Chen JL, Rybicki LA, vd. A Clinical Scoring System for Selection of Patients for PTEN Mutation Testing Is Proposed on the Basis of a Prospective Study of 3042 Probands. *Am J Hum Genet*. 07 Ocak 2011;88(1):42-56.

59. Zhou XP, Waite KA, Pilarski R, Hampel H, Fernandez MJ, Bos C, vd. Germline PTEN Promoter Mutations and Deletions in Cowden/Bannayan-Riley-Ruvalcaba Syndrome Result in Aberrant PTEN Protein and Dysregulation of the Phosphoinositol-3-Kinase/Akt Pathway. *Am J Hum Genet.* Ağustos 2003;73(2):404-11.
60. Yehia L, Ngeow J, Eng C. PTEN-opathies: from biological insights to evidence-based precision medicine. *J Clin Invest.* 129(2):452-64.
61. Singh AD, Gupta A, Mehta N, Heald B, Macaron C, Liska D, vd. Occurrence of gastric cancer in patients with juvenile polyposis syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointestinal Endoscopy.* 01 Mart 2023;97(3):407-414.e1.
62. Davis BN, Hilyard AC, Lagna G, Hata A. SMAD proteins control DROSHA-mediated microRNA maturation. *Nature.* Temmuz 2008;454(7200):56-61.
63. Gómez Pinto LI, Rodríguez D, Adamo AM, Mathieu PA. TGF- β pro-oligodendrogenic effects on adult SVZ progenitor cultures and its interaction with the Notch signaling pathway. *Glia.* Şubat 2018;66(2):396-412.
64. Syngal S, Brand RE, Church JM, Giardiello FM, Hampel HL, Burt RW. ACG Clinical Guideline: Genetic Testing and Management of Hereditary Gastrointestinal Cancer Syndromes. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG.* Şubat 2015;110(2):223.
65. Faughnan ME, Mager JJ, Hetts SW, Palda VA, Lang-Robertson K, Buscarini E, vd. Second International Guidelines for the Diagnosis and Management of Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia. *Ann Intern Med.* 15 Aralık 2020;173(12):989-1001.
66. Aretz S, Stienen D, Uhlhaas S, Stolte M, Entius MM, Loff S, vd. High proportion of large genomic deletions and a genotype–phenotype update in 80 unrelated families with juvenile polyposis syndrome. *J Med Genet.* Kasım 2007;44(11):702-9.
67. van Hattem WA, Brosens L a. A, de Leng WWJ, Morsink FH, Lens S, Carvalho R, vd. Large genomic deletions of SMAD4, BMPR1A and PTEN in juvenile polyposis. *Gut.* Mayıs 2008;57(5):623-7.
68. Calva-Cerqueira D, Chinnathambi S, Pechman B, Bair J, Larsen-Haidle J, Howe JR. The rate of germline mutations and large deletions of SMAD4 and BMPR1A in juvenile polyposis. *Clin Genet.* Ocak 2009;75(1):79-85.
69. Schubert SA, Morreau H, de Miranda NFCC, van Wezel T. The missing heritability of familial colorectal cancer. *Mutagenesis.* 11 Temmuz 2020;35(3):221-31.
70. Briggs S, Tomlinson I. Germline and somatic polymerase ϵ and δ mutations define a new class of hypermutated colorectal and endometrial cancers. *The Journal of Pathology.* 2013;230(2):148-53.
71. Pursell ZF, Isoz I, Lundström EB, Johansson E, Kunkel TA. Yeast DNA polymerase epsilon participates in leading-strand DNA replication. *Science.* 06 Temmuz 2007;317(5834):127-30.
72. Mertz TM, Baranovskiy AG, Wang J, Tahirov TH, Shcherbakova PV. Nucleotide selectivity defect and mutator phenotype conferred by a colon cancer-associated DNA polymerase δ mutation in human cells. *Oncogene.* Ağustos 2017;36(31):4427-33.

73. Aelvoet AS, Buttitta F, Ricciardiello L, Dekker E. Management of familial adenomatous polyposis and MUTYH-associated polyposis; new insights. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2022;58-59:101793.
74. Win AK, Jenkins MA, Dowty JG, Antoniou AC, Lee A, Giles GG, vd. Prevalence and Penetrance of Major Genes and Polygenes for Colorectal Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* Mart 2017;26(3):404-12.
75. Colas C, Bonadona V, Baert-Desurmont S, Bonnet D, Coulet F, Dhooge M, vd. MUTYH-associated polyposis: Review and update of the French recommendations established in 2012 under the auspices of the National Cancer institute (INCa). *European Journal of Medical Genetics.* 01 Aralık 2020;63(12):104078.
76. Isidro G, Laranjeira F, Pires A, Leite J, Regateiro F, Castro e Sousa F, vd. Germline MUTYH (MYH) mutations in Portuguese individuals with multiple colorectal adenomas. *Hum Mutat.* Ekim 2004;24(4):353-4.
77. Lipton L, Tomlinson I. The multiple colorectal adenoma phenotype and MYH, a base excision repair gene. *Clin Gastroenterol Hepatol.* Ağustos 2004;2(8):633-8.
78. Weren RD, Ligtenberg MJ, Geurts van Kessel A, De Voer RM, Hoogerbrugge N, Kuiper RP. NTHL1 and MUTYH polyposis syndromes: two sides of the same coin? *The Journal of Pathology.* 2018;244(2):135-42.
79. Wallace SS, Murphy DL, Sweasy JB. Base Excision Repair and Cancer. *Cancer letters.* 12 Aralık 2012;327(1-2):73.
80. Wang Q, Lasset C, Desseigne F, Frappaz D, Bergeron C, Navarro C, vd. Neurofibromatosis and early onset of cancers in hMLH1-deficient children. *Cancer Res.* 15 Ocak 1999;59(2):294-7.
81. Ricciardone MD, Özçelik T, Cevher B, Özdağ H, Tuncer M, Gürgey A, vd. Human MLH1 deficiency predisposes to hematological malignancy and neurofibromatosis type 1. *Cancer Res.* 15 Ocak 1999;59(2):290-3.
82. Wimmer K, Kratz CP, Vasen HFA, Caron O, Colas C, Entz-Werle N, vd. Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency syndrome: suggestions of the European consortium 'Care for CMMRD' (C4CMMRD). *Journal of Medical Genetics.* 01 Haziran 2014;51(6):355-65.
83. Achatz MI, Porter CC, Brugières L, Druker H, Frebourg T, Foulkes WD, vd. Cancer Screening Recommendations and Clinical Management of Inherited Gastrointestinal Cancer Syndromes in Childhood. *Clinical Cancer Research.* 02 Temmuz 2017;23(13):e107-14.
84. Idos G, Valle L. Lynch Syndrome. İçinde: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Gripp KW, vd., editörler. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [a.yer 06 Haziran 2022]. Erişim adresi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1211/>
85. Stoffel EM, Boland CR. Genetics and Genetic Testing in Hereditary Colorectal Cancer. *Gastroenterology.* 01 Ekim 2015;149(5):1191-1203.e2.
86. Jiang W, Cai MY, Li SY, Bei JX, Wang F, Hampel H, vd. Universal screening for Lynch syndrome in a large consecutive cohort of Chinese colorectal cancer patients: High prevalence and unique molecular features. *Int J Cancer.* 01 Mayıs 2019;144(9):2161-8.

87. Moreira L, Balaguer F, Lindor N, de la Chapelle A, Hampel H, Aaltonen LA, vd. Identification of Lynch Syndrome Among Patients With Colorectal Cancer. *JAMA*. 17 Ekim 2012;308(15):10.1001/jama.2012.13088.
88. Kahn RM, Gordhandas S, Maddy BP, Baltich Nelson B, Askin G, Christos PJ, vd. Universal endometrial cancer tumor typing: How much has immunohistochemistry, microsatellite instability, and MLH1 methylation improved the diagnosis of Lynch syndrome across the population? *Cancer*. 15 Eylül 2019;125(18):3172-83.
89. Dong L, Jin X, Wang W, Ye Q, Li W, Shi S, vd. Distinct clinical phenotype and genetic testing strategy for Lynch syndrome in China based on a large colorectal cancer cohort. *International Journal of Cancer*. 2020;146(11):3077-86.
90. Martínez-Roca A, Giner-Calabuig M, Murcia O, Castillejo A, Soto JL, García-Heredia A, vd. Lynch-like Syndrome: Potential Mechanisms and Management. *Cancers (Basel)*. 22 Şubat 2022;14(5):1115.
91. Haraldsdottir S, Hampel H, Tomsic J, Frankel WL, Pearlman R, De La Chapelle A, vd. Colon and Endometrial Cancers With Mismatch Repair Deficiency Can Arise From Somatic, Rather Than Germline, Mutations. *Gastroenterology*. Aralık 2014;147(6):1308-1316.e1.
92. Mensenkamp AR, Vogelaar IP, Van Zelst-Stams WAG, Goossens M, Ouchene H, Hendriks-Cornelissen SJB, vd. Somatic Mutations in MLH1 and MSH2 Are a Frequent Cause of Mismatch-Repair Deficiency in Lynch Syndrome-Like Tumors. *Gastroenterology*. Mart 2014;146(3):643-646.e8.
93. Picó MD, Castillejo A, Murcia Ó, Giner-Calabuig M, Alustiza M, Sánchez A, vd. Clinical and Pathological Characterization of Lynch-Like Syndrome. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. Şubat 2020;18(2):368-374.e1.
94. Guillerme E, Svrcek M, Bardier-Dupas A, Basset N, Coulet F, Colas C. Molecular tumor testing in patients with Lynch-like syndrome reveals a de novo mosaic variant of a mismatch repair gene transmitted to offspring. *Eur J Hum Genet*. Kasım 2020;28(11):1624-8.
95. Carethers JM. Lynch syndrome and Lynch syndrome mimics: The growing complex landscape of hereditary colon cancer. *WJG*. 2015;21(31):9253.
96. Peltomäki P, Olkinuora A, Nieminen TT. Updates in the field of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. 02 Ağustos 2020;14(8):707-20.
97. Lindor NM, Rabe K, Petersen GM, Haile R, Casey G, Baron J, vd. Lower cancer incidence in Amsterdam-I criteria families without mismatch repair deficiency: familial colorectal cancer type X. *JAMA*. 27 Nisan 2005;293(16):1979-85.
98. Nieminen TT, O'Donohue MF, Wu Y, Lohi H, Scherer SW, Paterson AD, vd. Germline Mutation of RPS20, Encoding a Ribosomal Protein, Causes Predisposition to Hereditary Nonpolyposis Colorectal Carcinoma Without DNA Mismatch Repair Deficiency. *Gastroenterology*. Eylül 2014;147(3):595-598.e5.
99. Sandoval RL, Horiguchi M, Ukaegbu C, Furniss CS, Uno H, Syngal S, vd. PREMM5 distinguishes sporadic from Lynch syndrome-associated MMR-deficient/MSI-high colorectal cancer. *Fam Cancer*. Ekim 2023;22(4):459-65.

100. Mannucci A, Furniss CS, Ukaegbu C, Horiguchi M, Fehlmann T, Uno H, vd. Comparison of Colorectal and Endometrial Microsatellite Instability Tumor Analysis and Premm5 Risk Assessment for Predicting Pathogenic Germline Variants on Multigene Panel Testing. *J Clin Oncol*. 01 Aralık 2020;38(34):4086-94.
101. Goverde A, Spaander MCW, Nieboer D, van den Ouweland AMW, Dinjens WNM, Dubbink HJ, vd. Evaluation of current prediction models for Lynch syndrome: updating the PREMM5 model to identify PMS2 mutation carriers. *Fam Cancer*. 2018;17(3):361-70.
102. McGuigan A, Whitworth J, Andreou A, Hearn T, Tischkowitz M, Maher ER. Multilocus Inherited Neoplasia Allele Syndrome (MINAS): an update. *Eur J Hum Genet*. Mart 2022;30(3):265-70.
103. Ferrer-Avargues R, Castillejo MI, Dámaso E, Díez-Obrero V, Garrigos N, Molina T, vd. Co-occurrence of germline pathogenic variants for different hereditary cancer syndromes in patients with Lynch syndrome. *Cancer Communications*. Mart 2021;41(3):218.
104. Pauly N, Baert T, Schmutzler R, du Bois A, Schneider S, Rhiem K, vd. Modern day screening for Lynch syndrome in endometrial cancer: the KEM experience. *Arch Gynecol Obstet*. 01 Ekim 2021;304(4):975-84.
105. Takahashi M, Shimodaira H, Andreutti-Zaugg C, Iggo R, Kolodner RD, Ishioka C. Functional Analysis of Human MLH1 Variants Using Yeast and In vitro Mismatch Repair Assays. *Cancer Research*. 17 Mayıs 2007;67(10):4595-604.
106. Grabowski M, Mueller-Koch Y, Grasbon-Frodl E, Koehler U, Keller G, Vogelsang H, vd. Deletions Account for 17% of Pathogenic Germline Alterations in MLH1 and MSH2 in Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (HNPCC) Families. *Genetic Testing*. Haziran 2005;9(2):138-46.
107. Abou Tayoun AN, Pesaran T, DiStefano MT, Oza A, Rehm HL, Biesecker LG, vd. Recommendations for interpreting the loss of function PVS1 ACMG/AMP variant criterion. *Human Mutation*. 2018;39(11):1517-24.

8 EKLER

Ek 1 Etik Kurul Onayı

KARAR BİLGİLERİ		Karar No:2023/14-14	Tarih:03.05.2023
Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan'ın sorumlusu olduğu "Hereditör Kolorektal Kansere Ön Tanısıyla Germline Test Uygulanan Hastaların PREMM5 Risk Modelleme Programıyla Değerlendirilmesi" isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın mevcut haliyle etik yönden uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.			
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu		
ETİK KURUL ÜYELERİ			
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet
Prof.Dr.Mehmet Birhan Yılmaz (Başkan)	Kardiyoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Erkek
Prof.Dr. Şükran Köse (Başkan Yardımcısı)	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın
Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan	Moleküler Tıp	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Erkek
Prof.Dr. Suna Asilsoy	Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın
Prof.Dr. Aylin Özgen Alpaydın	Göğüs Hastalıkları	DEÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın
Prof.Dr. Özgür Er	Endodonti A.D.	Diş Hekimliği Fakültesi	Erkek
Prof.Dr. Hatice Şimşek Keskin	Halk Sağlığı	DEÜ Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı	Kadın
Doç.Dr.Seher Özyürek	Muskuloskeletal Fizyoterapi	DEÜ Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Fakültesi	Kadın
Doç.Dr.Nil Hocaoglu Aksay	Tıbbi Farmakoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın
Doç.Dr. Meryem Öztürk Haney	Halk Sağlığı Hemşireliği	Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği	Kadın
Doç.Dr. Şule Özbilgin	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	DEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü	Kadın
Doç.Dr.Tolga Şahin	Spor Yönetim Bilimleri	Necat Hepkon Spor Bilimleri Fakültesi	Erkek
Dr Öğr.Üyesi Gamze Tuna	Tıbbi Biyokimya	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Kadın

Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan çalışmada sorumlu araştırmacı olduğu için çalışma görüşülürken toplantıda bulunmamıştır.

LYNCH SENDROMU VERİ KAYIT FORMU

Hasta Ad-Soyad:

Yaş:

Protokol No/ Hasta No:

Anamnez:

Kanserin türü:

Kanserin Yerleşimi:

Tanı yaşı:

Uygulanan/Planlanan Tedavi:

Özgeçmiş:

Patoloji sonucu:

Histopatoloji:

İmmünohistokimya:

Mikrosatellit instabilite:

Diğer testler:

Pedigree:

Amsterdam Kriterleri:

Bethesda Kriterleri:

PREMM5 skoru: