

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PEUTZ-JEGHERS SENDROMLU BİREYLERDE  
SAPTANAN MUTASYONLARIN İN-SİLİCO  
ANALİZİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Duygu UZUN ARDA**

**İZMİR**

Haziran 2023

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PEUTZ-JEGHERS SENDROMLU BİREYLERDE  
SAPTANAN MUTASYONLARIN İN-SİLİCO  
ANALİZİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Duygu UZUN ARDA**

**Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Mesut AKARSU**

# İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ.....	iii
KISALTMALAR.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Peutz-Jeghers Sendromu Tanımı.....	3
2.2. Peutz-Jeghers Sendromu Tarihçesi.....	4
2.3. Peutz-Jeghers Sendromu Tanısı.....	4
2.4. Peutz-Jeghers Sendromunun Klinik Özellikleri.....	5
2.4.1. Peutz-Jeghers Sendromu Tipi Gastrointestinal Polipleri.....	5
2.4.2. Mukokütanöz Pigmentasyon.....	6
2.4.3. Malignite.....	6
2.4.4. Kolorektal ve Gastrik Kanserler.....	6
2.4.5. Meme Kanseri.....	7
2.4.6. Gonadal Tümörler.....	7
2.4.7. Rahim Ağzı Kanseri.....	7
2.4.8. Pankreas Kanseri.....	8
2.5. Peutz-Jeghers Sendromu Hastalığının Yönetimi ve Takibi.....	9
2.6. Peutz-Jeghers Sendromu ve Moleküler Genetiği.....	11
2.7. Peutz Jeghers Sendromu ve <i>STK11</i> arasındaki Genotip-Fenotip Bağlantısı.....	14
2.8. Peutz-Jeghers Sendromu ve Moleküler Genetik Testler.....	17
2.8.1. Tek Gen Test.....	17
2.8.2. Multigen Analizi.....	17
2.8.3. Kapsayıcı Genetik Analizler.....	18
2.8.4. Yeni Nesil Dizileme Yöntemi.....	18
2.9. Peutz-Jeghers Sendromu ve Tedavi Yaklaşımları.....	18
2.9.1. Poliplerin Tedavisi.....	18
2.9.2. Intussepsiyon Tedavisi.....	19
2.9.3. Kanserlerin Tedavisi.....	19
2.10. Peutz-Jeghers Sendromlu Hastaların Riskli Akrabalarının Değerlendirilmesi.....	20

<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>20</b>
3.1.Katılımcıların dahil edilme/dışlama kriterleri .....	21
3.1.1 Dahil edilme kriterleri.....	21
3.1.2 Dışlama kriterleri.....	21
3.2.Demografik ve klinik veriler .....	21
3.3.İn-slico Yöntemler.....	21
3.3.1 Homoloji Modellemesinin Yapılması.....	21
3.3.2 Varyantın Protein Üzerindeki Fonksiyonel Değişiminin Belirlenmesi .....	22
3.3.3 nsSNP'lerin FASTA formatlarının belirlenmesi.....	22
3.3.4 Protein Fonksiyon Değişimi.....	22
3.3.5 Çeviri Sonrası Değişiklik (PTM) Bölgelerini Tahmin Etme.....	22
3.3.6 Protein Mutasyon Stabilesini Analiz Etme.....	23
3.3.7 Protein Korunmasını Analiz Etmek.....	23
3.3.8 Moleküler Dinamik Simülasyon.....	23
3.3.9. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analiz.....	23
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>24</b>
4.1. İkincil yapı tahmini .....	24
4.2. Fonksiyonel analizler .....	33
4.3. Moleküler dinamik analizler.....	43
4.4. Peutz-Jeghers Sendromlu Hastalarının Klinik ve Genetik Özellikleri.....	45
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>49</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>55</b>
<b>7. KAYNAKÇA .....</b>	<b>56</b>

## ŞEKİLLER VE TABLOLAR DİZİNİ

**Şekil 1.** LKB1'in metabolik bağlantı noktaları ve sinyalizasyon yolları

**Şekil 2 :** *STK11* geni fonksiyonel alanların ekzonlarla konumları

**Şekil 3:** Hasta 1 (mutasyon c250A>T; chr19,1207162; HGVS c250A>T; HGVS pLys84ter;dbSNP rs137853076, patojen)'e ait ikincil yapı değişimleri A) Yabanıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim

**Şekil-4.** Hasta 2 (mutasyon LRG311 c697C>T; chr10,89717672; HGVS c697C>T; HGVS pArg233Ter;dbSNP rs121909219, patojen)'e ait ikincil yapı değişimleri A) Yabanıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim

**Şekil-5.** Hasta 3 (mutasyon c708\_718del; chr19,1220686; HGVS c705\_715del; HGVS pAsp237GlyfsTer25;novel, likely patojen)'ya ilişkin ikincil yapı değişimleri A) Yabanıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısıharitası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim

**Şekil-6.** Hasta 4 (mutasyon c719C>G; chr19,1220701; HGVS c719C>G; HGVS pSer240Trp;dbSNP rs730881976, likely patojen)'ye ait ikincil yapı değişimleri A)Yabanıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim

**Şekil-7.** Hasta 5 (mutasyon c908T>G; chr19,1221993; HGVS c908T>G; HGVS pIle303Ser;dbSNP rs727504171, likely patojen)'e ilişkin ikincil yapı değişimleriA) Yabanıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim

**Şekil-8.** Hasta 6-9 (mutation c180C>A; chr19,120;7092 HGVS c180C>A; HGVS pTry60Ter;dbSNP rs778376925, patojen)'ye ilişkin ikincil yapı değişimleri A) Yabanıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim

**Şekil-9.** Hasta 10 (mutation c146\_147del; chr19,1207057 HGVS c146\_147del; HGVS pTyr49SerfsTer113;novel, patojen)'ya ilişkin ikincil yapı değişimleri A) Yabanıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim

**Şekil-10.** Hasta 11 (mutasyon c180delC; chr19,1207093, HGVS c180delC; HGVS pTry60fs;dbSNP rs155735008, patogen)'e ait ikincil yapı değişimi A) Yabanıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzde değişim

**Şekil-11.** Hasta 1 (mutasyon c250A>T; chr19,1207162; HGVS c250A>T; HGVS pLys84ter;dbSNP rs137853076, patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücrenel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**Şekil-12.** Hasta 2 (mutasyon LRG311 c697C>T; chr10,89717672; HGVS c697C>T; HGVS pArg233Ter;dbSNP rs121909219, patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücrenel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**Şekil-13.** Hasta 3 (mutasyon c708\_718del; chr19,1220686; HGVS c705\_715del; HGVS pAsp237GlyfsTer25;novel, likely patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik proses, B) moleküler fonksiyon ve C) hücrenel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**Şekil-14.** Hasta 4 (mutasyon c719C>G; chr19,1220701; HGVS c719C>G; HGVS pSer240Trp;dbSNP rs730881976, likely patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücrenel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**Şekil-15.** Hasta 5 (mutation c908T>G; chr19,1221993; HGVS c908T>G; HGVS pIle303Ser;dbSNP rs727504171, likely patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik proses, B) moleküler fonksiyon ve C) hücrenel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**Şekil-16.** Hasta 6-9 (mutasyon c180C>A; chr19,120;7092 HGVS c180C>A; HGVS pTry60Ter;dbSNP rs778376925, patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücrenel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**Şekil-17.** Hasta 10 (mutasyon c146\_147del; chr19,1207057 HGVS c146\_147del; HGVS pTyr49SerfsTer113;novel, patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücrenel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**Şekil-18.** Hasta 11 (mutasyon c180delC; chr19,1207093, HGVS c180delC; HGVS pTry60fs;dbSNP rs155735008, patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücrenel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**Şekil-19.** K84Ter mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü

**Şekil-20.** R233Ter mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü

**Şekil-21.** D237Gfs\*25 mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü

**Şekil-22.** S240W mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü

**Şekil-23.** I303S mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü

**Şekil-24.** Y60\* mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü

**Şekil-25.** Y49Sfs\*113 mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü

**Şekil-26.** Y60fs mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü

**Tablo 1:** Peutz-Jeghers Sendromu için tanısal klinik kriterler

**Tablo 2.:** Peutz-Jeghers Sendromu'nda kümülatif kanser riski

**Tablo 3:** PJS'li bireyde klinik takip için önerilen değerlendirmeler

**Tablo 4:** Çocuk ve genç erişkin PJS'li bireylerin takibi için öneriler

**Tablo 5 :** Erişkin PJS'li bireylerin takibi için öneriler

**Tablo 6 :** Olguların demografik ve klinik özellikleri

**Tablo 7 :** Olguların klinik özellikleri

**Tablo 8 :** Olguların genetik analiz sonuçları

## KISALTMALAR

AMPK:	AMP aktive protein kinaz
BAE:	Balon Yardımlı Enteroskopi
BT:	Bilgisayarlı Tomografi
DNA:	Deoksiribonükleik asit
Gİ:	Gastrointestinal
GİS:	Gastrointestinal Sistem
LKB1:	Karaciğer Kinaz B1
MLPA:	Çoklu ligasyona bağlı prob amplifikasyonu
MM:	Melanositik Maküller
MRI:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRCP:	Manyetik Rezonans Kolanjiyopankreatografi
mRNA:	Haberci ribonükleik asit
mTOR:	Memeli rapamisin hedefi
PJS:	Peutz-Jeghers Sendromu
PTEN:	Fosfataz ve tensin homoloğu
RNA:	Ribonükleik asit
STK11:	Serin/treonin Kinaz 11
SCTAT:	Halka şeklinde tübüller içeren seks kordonu tümörleri
VCE:	Video Kapsül Endoskopi
YND:	Yeni Nesil Dizileme

## TEŞEKKÜR

Beni geliştiren, öğrenmeye, araştırmaya, spesifik bir konuda derinleşmeye ve bilimsel düşünmeye sevk eden bu güzel tez konusunu bana veren, tez sürecim boyunca desteğini ve güvenini esirgemeyen değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Mesut Akarsu'ya teşekkür ederim.

Mezunu olduğum Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakóltesi öğretim üyelerine ve İç hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan İç Hastalıkları Ana Bilim Dalında görev yapan tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca desteklerini esirgemeyen ve tezimin tamamlanmasında büyük katkıları olan, çalışmanın her aşamasında yardımcı olan, bütün sorularıma içtenlikle cevap veren değerli Dr. Nazlı Mert Özüpek'e ve Translasyonel Onkoloji Ana Bilim Dalı hocalarına teşekkür ederim.

Bugüne gelmemi sağlayan, desteklerini her daim hissettiğim, eğitimimde sonsuz katkı ve emekleri olan, her koşulda destek ve sevgilerini sunan sevgili babam Zeki Uzun, annem Hülya Uzun ve kardeşim Ekrem Utku Uzun' a çok teşekkür ederim.

Hayatıma girdiği ilk andan itibaren kendimi çok şanslı hissettiren, varlığıyla mutluluk kaynağım olan, sevgisini, desteğini ve özel olduğumu her fırsatta hissettiren, gelişme, düşünme, hayatın anlamını bulma ve tadını çıkarma yolculuğumda bana her zaman eşlik eden, mesleki hayatımda da kendime örnek aldığım, tez sürecimde bana en büyük desteği sağlayan değerli eşim Uzm. Dr. Hayri Üstün Arda'ya içtenlikle teşekkür ederim.

Hayatıma girdiği günden beri içimdeki mutluluğu artıran, dünyaya gelmesini dört gözle beklediğim değerli oğluma, bana her daim eşlik ettiği için çok teşekkür ederim.

Dr. Duygu UZUN ARDA, Temmuz 2023

# PEUTZ-JEGHERS SENDROMLU BİREYLERDE SAPTANAN MUTASYONLARIN İN-SİLİCO ANALİZİ

Dr. Duygu UZUN ARDA

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İzmir

## ÖZET

**Amaç:** Peutz-Jeghers sendromu (PJS), gastrointestinal (Gİ) hamartamatöz polipler, mukokutanöz pigmentasyon, artmış kanser riski ile karakterize, Serin treonin kinaz 11 (*STK11*) genindeki germline mutasyonlara bağlı oluşan, otozomal dominant kalıtmımlı, nadir bir hastalıktır. Bu çalışma ile PJS'li bireylerde genotip-fenotip ilişkisinin *STK11* proteininin *in-silico* yapısı ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Method:** Çalışmaya PJS tanısı ile takip edilen 11 hasta dahil edilmiştir. Bu 11 hastanın 4'ü aynı aileden ve aynı genetik mutasyonu taşıdığından toplamda 8 adet mutant *STK11* proteini homoloji modellemesi yapılarak, fonksiyonel değişim belirlenerek ve moleküler dinamik simülasyon yapılarak *in-silico* olarak incelenmiştir.

**Bulgular:** 8 hastada yapılan değerlendirmede en çok katalitik bölgede kısmi kayıp ve proteinin c-terminal ucunda kısmi fonksiyon kaybı olduğu görülmüştür. *STK11* proteini 5 hastada sitoplazmada stabil durumda değildir. Hastaların *STK11* proteini genel olarak nötr yüklü olarak kalmıştır. Yapılan fonksiyonel analizlerde, biyolojik süreç olarak RNA splicing ve metabolik süreçte oluşan aksamaların, moleküler fonksiyon olarak katalitik aktivite ve nükleotid-nükleik asid bağlanmasında ki aksamaların, hücresel bileşen olarak da mitokondri, hücre çekirdeği ve hücre membranındaki bozuklukların displastik polip gelişimine yol açtığı görülmüştür. Malignite gelişen hastalarda malignite gelişimine ise sırayla biyolojik olarak metabolik sürecin düzenlenmesinin, moleküler olarak en çok nükleik asid bağlanmasının, hücresel bileşen olarak ise nükleolus ve membran yapısında görev alan proteinde mutasyon gelişmesinin yol açtığı bulunmuştur.

**Sonuç:** Bu çalışma ülkemizde yapılmış PJS Sendromu ile ilişkili *in-silico* analizin yapıldığı ilk olgu serisidir. Hastalığın nadir görülmesi nedeniyle, bugüne kadar bir-iki hastanın analizinin yapıldığı birkaç çalışma mevcuttur. Çalışmamız PJS'de hasta sayısının fazlalığı (sekiz hasta) ve geniş *in-silico* analiz yöntemlerinin kullanıldığı ilk çalışmadır. *In-silico* çalışmalar arttıkça *STK11* varyantlarının genotip-fenotip ilişkisi daha iyi anlaşılacak, risk sınıflandırılması, hedefli kanser taraması yoluyla PJS hastaları ve aileleri için kişiselleştirilmiş tedavi ve takip yaklaşımları mümkün olabilecektir.

**Anahtar kelimeler:** PJS, *in-silico* analiz, genotip-fenotip ilişkisi

# IN SILICO ANALYSIS OF MUTATIONS DETECTED IN INDIVIDUALS WITH PEUTZ-JEGHERS SYNDROME

MD Duygu UZUN ARDA

Dokuz Eylul University, Department of Internal Medicine, İzmir

## ABSTRACT

**Objective:** Peutz-Jeghers syndrome (PJS) is a rare autosomal dominantly inherited disease characterized by gastrointestinal hamartomatous polyps, mucocutaneous pigmentation, and increased cancer risk due to germline mutations in the Serine treonin kinase (*STK11*) gene. The aim of this study was to evaluate the genotype- phenotype relationship in individuals with PJS by in silico structure of *STK11* protein.

**Method:** Eleven patients with PJS were included in the study. Since 4 of these 11 patients were from the same family and carried the same genetic mutation, a total of 8 mutant *STK11* proteins were examined *in-silico* by homology modeling, functional alteration determination and molecular dynamic simulation.

**Results:** Partial loss of the catalytic region and partial loss of function at the c-terminal end of the protein were observed in 8 patients. *STK11* protein was not stable in the cytoplasm in 5 patients. *STK11* protein of the patients generally remained neutral charged. Functional analyses showed that disruptions in RNA splicing and metabolic processes as biological processes, disruptions in catalytic activity and nucleotide-nucleic acid binding as molecular functions, and defects in mitochondria, cell nucleus and cell membrane as cellular components led to the development of dysplastic polyps. In patients who developed malignancy, the development of malignancy was found to be caused biologically by the regulation of metabolic process, molecularly by nucleic acid binding, and cellularly by mutations in the protein involved in the nucleolus and membrane structure..

**Conclusion:** This is the first case series of *in-silico* analysis of PJS syndrome in Turkey. Due to the rarity of the disease, there are only a few studies in which one or two patients have been analyzed so far. Our study is the first study in PJS with a large number of patients (eight patients) and extensive use of *in-silico* analysis methods. As *in-silico* studies increase, the genotype-phenotype relationship of *STK11* variants will be better understood and personalized treatment and follow-up approaches will be possible for PJS patients and their families through risk stratification and targeted cancer screening.

**Keywords:** PJS, *in-silico* analysis, genotype-phenotype association

## 1.Giriş ve Amaç

PJS esas olarak Gİ hamartomatöz polipler, mukokutanöz pigmentasyon ile karakterize otozomal dominant kalıtmı nadir bir hastalıktır [1].

Hastalığın en belirgin ayırt edici özelliği, en sık ince bağırsaklarda olmak üzere, gastrointestinal sistemdeki (GİS) hamartomatöz Peutz-Jeghers polipleri ve mukokutanöz pigmentasyondur. Bukkal mukoza, dudak, el ve ayaklarda da görülen bu pigmentasyonlar genellikle ergenlik çağında solmaktadır [2]. Genellikle erken yaşlarda tanı alan hastaların %50-75'i karın ağrısı ve rektal kanama gibi GİS semptomları yaşamaktadır. İnce bağırsakların invajinasyonu, hastaların %50'sinden fazlasında ergenlikten önce görülmektedir [3]. Hamartomatöz polipler birkaç tane olabileceği gibi yüzlerce tane olabilir. Çoğunlukla ince bağırsak ve kolonda bulunurlar, ancak ekstraintestinal polipler de görülebilir [4]. PJS'de görülen hamartomatöz polipler histopatolojik olarak, düz kas tarafından oluşturulmuş ve lamina propriaya uzanan karakteristik dallanan ağaç görünümü ile ayırt edilebilmektedir [4].

PJS klinik ile konulan bir tanıdır. PJS'nin insidansı hakkında net veriler olmamakla birlikte prevalansı 1/50.000 ila 1/280.000 arasında tahmin edilmektedir [5]. Otozomal dominant kalıtım ile aktarılmasına rağmen hastalığın ekspresyonunda aileler arası ve aile içi önemli varyasyonlar bulunmaktadır [6]. Yaklaşık %50 vakanın de novo mutasyonlara sahip olduğu PJS'ye sebep olan gen olarak sadece *STK11* geni bildirilmiştir. *STK11* geni, kromozom 19p13.3 bölgesine lokalize tümör baskılayıcı bir gendir. İnsan Geni Mutasyon Veri tabanına (HGMD, <http://www.hgmd.cf.ac.uk>) göre PJS'lilerin *STK11* geninde yaklaşık 400 farklı patojenik veya olası patojenik mutasyon kaydedilmiştir. Mutasyonların çoğunluğunu oluşturan ve *STK11* geni tarafından kodlanan Serine/threonine-protein kinase 11 proteininin kinaz bölgesini ( amino asitler 49-309) etkileyen mutasyonlar, *STK11*'in kinaz aktivitesini veya düzenleyici işlevlerini bozabilir [7].

Maligniteye yatkınlık yaratan bir sendrom olan PJS, Gİ ve ekstra-gastrointestinal sistemlerde artmış kanser riski ile ilişkilidir [8]. Hayat boyu %37-%93 kümülatif kanser riski bildirilmiştir [9]. Kanser gelişimi için en sık bölge GIS'tir. Ancak testis, yumurtalık, serviks ve meme dahil olmak üzere çeşitli ekstraintestinal organlarda artmış risk vardır [10].

Kullanılan genetik tarama yöntemine ve PJS tanımlamasına göre *STK11* geninde mutasyon saptanma oranı çeşitlilik göstermektedir. WHO'nun tanı kriterleri kullanıldığında

(hamartomatöz polipler, mukokutanöz pigmentasyon ve PJS ile ilişkili kanserlerden en az ikisini bulunduran hasta) hastaların %70-90'ında germline *STK11* varyantları gösterilmiştir [10][11]. Tüm patojenik varyantların %50'sini trunkat çerçeve kayması oluştururken, %35 anlamsız ve yanlış anlamlı varyantlar da görülmektedir. Tüm kinaz aktivitesinin kaybına neden olan kırılma mutasyonu %15 oranında görülmektedir [12]. Ancak saptanabilir bir genetik nedeni olmayan önemli sayıda hasta vardır. Hastalığın otozomal kalıtımla aktarıldığı göz önünde bulundurulduğunda; mutasyon saptanmayan erkek ve kadın hastalarda, PJS'den henüz bilinmeyen gen mutasyonlarının sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

Bu araştırmada Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji ve/veya Çocuk Gastroenterolojisi kliniklerinden birine başvuran, klinik PJS tanısı alan ve genetik değerlendirilmesi Dokuz Eylül Tıbbi Genetik bölümünde yapılarak patojenik germline *STK11* varyantı saptanan hastalar değerlendirilmiş olup hastaların genetik sonuçlarının in silico biyoinformatik analizinin yapılarak, mutasyonlu proteinlerin yapısındaki üç boyutlu değişimlerin saptanması ve bu değişimlerin fonksiyonel yansımalarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. Genel Bilgiler

### 2.1 Peutz-Jeghers Sendromu Tanımı

PJS, karakteristik mukokutanöz pigmentasyonlar ile birlikte özofagus hariç GİS boyunca hamartomatöz poliplerin varlığı ile karakterize nadir bir hastalıktır. PJS, 1:8000 ila 1:200,000 doğum tahmini prevalansı ile nadir görülen bir hastalıktır (13). Erkekler ve kadınlar eşit derecede etkilenirler. PJS, *STK11* geninin germline patojenik varyantlarından kaynaklanır ve otozomal dominant kalıtılır. *STK11* genindeki mutasyon nedeniyle aynı zamanda hastalarda kansere yatkınlık mevcuttur (14).

PJS'de görülen hamartomatöz polipler en sık ince bağırsakta (sıklık sırasına göre: jejunum, ileum ve duodenum) görülür, ancak mide, kalın bağırsak ve renal pelvis, bronş, safra kesesi, nazal pasajlar, idrar kesesi ve üreterler gibi bölgelerde de polipler görülebilir. Gİ polipler kanama, anemi, tekrarlayan obstrüksiyon ve invajinasyona neden olabilir. Bu nedenle hastalarda laparotomi gereksinimi olabilir. PJS'li bazı hastalarda çocukluk çağında Gİ lezyonlar gelişir ve durum nedeniyle hastalar çocukluk çağından itibaren sürekli takipte kalmak ve tedavi almak durumunda kalabilirler (15).

PJS'li bireylerin yüzde 95'inden fazlasında mukokutanöz pigmentli maküller (melanin lekeleri) bulunur ve bu maküller dermisteki pigment yüklü makrofajlardan kaynaklanır. Tipik olarak 1 ila 5 mm boyutlarında düz, mavi-gri ila kahverengi lekelerdir. Bu pigmentli maküller en sık dudaklarda ve perioral bölgede (yüzde 94), avuç içlerinde (yüzde 74), yanak mukozasında (yüzde 66) ve ayak tabanlarında (yüzde 62) meydana gelebilirler. Mukokutanöz pigmentasyon genellikle yaşamın ilk bir ila iki yılında ortaya çıkar, sonraki yıllarda boyut ve sayı olarak artar ve bukkal mukozadakiler dışında puberteden sonra kaybolur. Maküllerin malign dönüşümü son derece nadirdir. Ayırt edici deri belirtilerinin tanınması PJS'si olan bireylerde önemlidir, çünkü bu deri bulguları sıklıkla Gİ belirti ve semptomlarından önce gelişir. Böylece hastalara Gİ polip oluşmadan tanı konabilir (16).

PJS'li bireylerde Gİ ve Gİ dışı malignite riskinde artış mevcuttur. Bu maligniteler epitelyal kaynaklı kolorektal, mide, pankreas, meme ve yumurtalık kanserleridir. Malignite için en yaygın bölge kolorektal bölgedir, bunu meme, mide, ince bağırsak ve pankreas takip eder. Kadınlarda ayrıca overin iyi huylu bir tümörü olan seks kord tümörü ve nadir görülen, agresif bir kanser olan serviks malign adenomu görülebilir. Erkeklerde zaman zaman testislerde östrojen salgılayan ve tedavi edilmezse jinekomasti, ileri kemik yaşı ve boy kısalığına yol açabilen büyük kalsifiye sertoli hücreli tümörler gelişebilir [15].

## 2.2. Peutz-Jeghers Sendromu Tarihçesi

PJS ilk kez 1895 yılında, Dr. J.T. Connor tarafından, ikiz kız kardeşlerin dudaklarında ve ağız mukozasında koyu pigment lekeler olarak tanımlanmıştır. Aynı bulgular 1921'de Dr. Jan Peutz tarafınca dört kardeşte tespit edilmiştir ve ilk kez bu durumun ailesel bir sendrom olduğu düşünülmüştür. Dr. Harold Jeghers tarafından 1949'da 10 vakanın tanımlanmasıyla bu sendromun ayrı bir klinik antite olduğu düşünülmüştür. Daha sonra 1954'te Dr. Andre Bruwer tarafından PJS olarak adlandırılmıştır. PJS'ye neden olan *STK11* geninin 1998'de bulunmasıyla hastalığın erken teşhis edilmesi mümkün hale gelmiş ve aile üyelerinin taranması gerekliliği ortaya konmuştur [17].

## 2.3. Peutz-Jeghers Sendromu Tanısı

Aşağıdaki Tablo 1'de PJS için tanısal klinik kriterler gösterilmiştir[18-19-20].

**Tablo 1. Peutz-jeghers sendromu** Peutz-Jeghers sendromu (PJS) için tanısal klinik kriterler.

<b>Tomlinson ve Houlston 1997 [3]</b>
1: Gastrointestinal sistemde iki veya daha fazla PJS polipi veya
2: Klasik PJS pigmentasyonu veya ailede PJS öyküsü ile birlikte gastrointestinal sistemde bir PJS polipi
<b>DSÖ Kriterleri 2000 [4]</b>
A: Ailede pozitif PJS öyküsü ve
1: Herhangi bir sayıda histolojik olarak doğrulanmış PJS polipleri veya 2: Karakteristik belirgin mukokutanöz pigmentasyon
B: Ailede negatif PJS öyküsü ve
1: Histolojik olarak doğrulanmış üç PJS polipi veya
2: Herhangi bir sayıda histolojik olarak doğrulanmış PJS polipleri ve karakteristik belirgin mukokutanöz pigmentasyon
<b>Beggs ve ark. 2010 [5]</b>
1: İki veya daha fazla histolojik olarak doğrulanmış PJS polipi veya
2: Yakın akraba(lar)ında PJS aile öyküsü olan bir bireyde herhangi bir sayıda PJS polipi veya
3: Ailesinde yakın akrabalarında PJS öyküsü olan bir bireyde karakteristik mukokutanöz pigmentasyon veya
4: Karakteristik mukokutanöz pigmentasyona da sahip olan bir bireyde herhangi bir sayıda PJS polipi

## 2.4. Peutz-Jeghers Sendromunun Klinik Özellikleri

**2.4.1. PJS tipi Gİ polipleri:** PJS'de bulunan polipler, histopatolojik olarak lamina propria boyunca düz kas demetlerinin iç içe geçmesiyle dallanma gösteren hamartomatöz poliplerdir[21].

PJS tipi hamartomatöz polipler Gİ kanalının herhangi bir yerinde oluşabilir ancak en sık ince bağırsakta görülür. Poliplerin yoğunluğu jejunumda en fazladır, bunu ileum ve ardından duodenum takip eder. Polipler mide ve kalın bağırsakta da görülür. Renal pelvis, idrar kesesi, üreterler, akciğerler, burun delikleri ve safra kesesinde de polipler bildirilmiştir[21].

İnce bağırsak polipleri tipik olarak saplıdır ve lobüler bir mimari gösterir. Poliplerden displazi gelişebilmesine rağmen, üstteki epitel tipik olarak displastik değildir. Midedeki PJS polipleri juvenil veya hiperplastik poliplerden ayırt edilemeyebilir. Kalın bağırsakta, PJS polipleri mukozal prolapsus poliplerine benzer. Bu poliplerdeki lobüler yapılar ve desmin pozitif düz kas lifleri PJS tanısını güçlendiren histolojik bulgulardır[21].

PJS tipi hamartomatöz poliplerin malign potansiyeli bilinmemektedir; ancak polipler bağırsak tıkanıklığı, rektal prolapsus ve/veya çok sayıda acil laparotomi ve bağırsak rezeksiyonu gerektiren ikincil anemi ile birlikte ciddi Gİ kanama gibi önemli komplikasyonlara neden olabilir. Poliplerden kaynaklanan semptomların başlama yaşı değişkendir ve bazı çocuklarda semptomlar yaşamın ilk birkaç yılı içinde gelişir. İntussusepsiyon riskinin on yaşına kadar %44 ve 20 yaşına kadar %50 olduğu tahmin edilmektedir[22].

İntussusepsiyon riski polip boyutu  $\geq 15$ mm olduğunda artmaktadır. Küçük bir tek merkezli retrospektif çalışma, PJS'deki ince bağırsak poliplerinin balon destekli endoskopi (BAE) veya gerektiğinde laparoskopik destekli çift balonlu endoskopi kullanılarak, endoskopik olarak takibinin acil laparotomi oluşumunu azalttığı sonucuna varmıştır[23].

Poliplerin ilk ortaya çıktığı yaşta aileler arası önemli değişkenlikler gözlenmektedir; bu da bir ailedeki poliplerin geçmişinin, aile bireyleri için hastalığın ciddiyetinin bir belirleyicisi olabileceğini düşündürmektedir. Giderek artan vaka serileri, tanısal testler veya pozitif aile öyküsüne dayalı değerlendirme yoluyla Gİ patolojisinin daha genç yaşta ortaya çıktığını göstermektedir. Bu veriler, Gİ polipleri tespit etmek ve çıkarmak, malignite riskini azaltmak ve bağırsak tıkanıklığı komplikasyonlarını azaltmak için daha genç yaşta tarama

yapılmasını desteklemiştir Literatür, PJS'li çocuklarda BAE ve polipektominin önemini giderek daha fazla ortaya koymaktadır[24].

#### **2.4.2 Mukokutanöz Pigmentasyon**

Melanositik maküller (MM) doğumda nadiren mevcuttur; çoğu çocukta beşinci yaştan önce belirginleşir, daha sonra ergenlik ve yetişkinlik döneminde solabilirler. Çocuklar genellikle ağızda, gözde, burun delikleri çevresinde, perianal bölgede ve bukkal mukozada koyu mavi ila koyu kahverengi mukokutanöz MM ile başvururlar. Parmaklarda hiperpigmente MM'de yaygın olarak görülür. Bir seride, PJS'li bireylerin %94'ünde perianal MM, %73'ünde parmakları etkileyen MM, %65'inde bukkal mukozada MM ve %21'inde diğer bölgelerde MM görülmüştür.[25].

PJS'de histolojik olarak, epidermal-dermal kavşakta artmış melanosit hücreleri ve bazal hücrelerde artmış melanin pigmenti görülür. MM ile malignite riski ilişkilendirilmemiştir. Sporadik vakalarda, MM genellikle PJS için ilk tanısıl ipucudur. *STK11* moleküler analizi, ek klinik kriterler olmasa bile karakteristik PJS döküntüleri olan çocuklarda önerilmektedir[26].

#### **2.4.3 Malignite**

PJS Gİ polipozis ve mukokutanöz pigmentasyon birlikteliği ile karakterizedir. Gİ ve ekstraintestinal maligniteler için önemli ölçüde risk artmıştır. Farklı iyi huylu ve kötü huylu gonadal ve jinekolojik tümörler de bu sendromda görülebilir. Hastalıkta değişken ekspresyon yaygın olduğundan, bazı etkilenen bireylerde sadece polip veya perioral pigmentasyon görülebilirken, bazı bireyler intestinal ve ekstraintestinal maligniteler açısından yüksek risk taşırlar. PJS'li 583 birey üzerinde yapılan bir meta analizde 70 yaşına kadar genel kanser riski %83 olarak bulunmuştur [27]. PJS'li 336 birey üzerinde yapılan bir kohort çalışmasında, 60 yaşına kadar genel kanser tanısı oranı %55 olarak bildirilmiştir [28].

#### **2.4.4 Kolorektal ve gastrik kanserler**

PJS'li bireylerde yaygın olarak bulunan adenomlardan kaynaklanabilir. Kanser insidansı 50 yaşından sonra belirgin şekilde artmaktadır. Chen ve arkadaşları [2017] tarafından PJS'li bireylerde bildirilen en yaygın kanser kolorektal kanserdir (60 yaşına kadar %28) [28].

### **2.4.5 Meme kanseri**

PJS'li kadınlarda erken yaşlarda ortaya çıkabilir. PJS'li kadınlarda meme kanseri riski, BRCA1 veya BRCA2'de patojenik bir varyantı olan kadınlarınkine yaklaşabilir. PJS'li birçok ailede erken başlangıçlı meme kanseri bildirilmiştir [28].

### **2.4.6 Gonadal tümörler**

PJS'li kadın hastalar, halka şeklinde tübüller içeren seks kordonu tümörleri (SCTAT'lar), yumurtalıkların ve fallop tüplerinin müsinöz tümörleri açısından risk altındadır. Hastalar düzensiz veya ağrılı adet dönemleri geçirebilirler ve bazen hiperöstrojenizme bağlı erken ergenlik yaşayabilirler. PJS ile ilişkili SCTAT'ler, fokal kalsifikasyonlu ve tipik olarak iyi huylu seyreden iki taraflı multifokal küçük tümörlerdir. Buna karşılık, sporadik SCTAT'lar büyük, tek taraflıdır ve %20 malignite riski ile ilişkilidir [29]. PJS'li 61 kadından oluşan bir İtalyan serisinde, biri malign SCTAT olmak üzere üç kadında yumurtalık kanseri görülmüştür [30]. PJS'li 69 kadından oluşan bir Hollanda serisinde, iki kadında malign Sertoli hücreli yumurtalık tümörü ve bir kadında yumurtalık küçük hücreli kanseri görülmüştür [31].

Erkeklerde zaman zaman sperm kordonu hücrelerinden gelişen, testisin büyük hücreli kalsifiye sertoli tümörleri görülebilir. Bu tümörler östrojen salgılayabilir ve tedavi edilmezse jinekomastiye, ileri iskelet yaşına ve boy kısalığına yol açabilir. Testis ultrasonunda tipik olarak çok odaklı kalsifikasyonlar görülür. Aromataz inhibitörleri, jinekomastinin azaltılması, doğrusal kemik büyümesinin sağlanması ve kemik yaşlanmasının engellenmesi dahil olmak üzere, sertoli hücre tümörlerinin hormonal etkilerini tersine çevirmeye yardımcı olur [32]. Sertoli hücre tümörlerinin malign dönüşümü olağan dışıdır. PJS'li 64 erkeği içeren bir seride bir testiküler seminom bildirilmiştir [31].

### **2.4.7 Rahim Ağzı Kanseri**

Minimal sapma adenokarsinomu (adenoma malignum) rahim ağzının nadir görülen iyi diferansiye adenokarsinomudur. Bu duruma bağlı olarak ortaya çıkan semptomlar arasında kanama veya mukoid, sulu vajinal akıntı yer alır. Histolojik tanı küçük patolojik örneklerle zor olabilir bu nedenle genellikle bir kor biyopsi veya endo-servikal küretaj gereklidir. PJS'li kadınlarda jinekolojik kanser için mevcut riskin 50 yaşına kadar %18 ila %50 arasında değiştiği tahmin edilmektedir [29].

### 2.4.8 Pankreas kanseri

ABD ve Avrupa'da kanserden ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almakta olup tanı konulduktan sonra beş yıllık sağkalım süresi oldukça düşüktür. Endoskopik ultrason ve MRI(Manyetik Rezonans Görüntüleme/MRCP(Manyetik Rezonans Kolanjiyopankreatografi) ile tanımlanmasındaki son gelişmeler ile pankreas adenokarsinomu ve premalign lezyonlar erkenden saptanabilir. Böylece küratif cerrahi rezeksiyon yapılabilir. Bu nedenle PJS'li bireyler de dahil olmak üzere yüksek riskli bireylerde pankreas taraması önemlidir [33]. Tablo 2'de PJS'de kümülatif kanser riski verilmiştir.

**Tablo 2. Peutz-Jeghers Sendromunda Kümülatif Kanser Riski.**

Kanser Bölgesi	Genel Nüfus Riski	Peutz-Jeghers Sendromu	
		Risk	Ortalama Tanı Yaşı
Kolorektal	5%	39%	42-46 yaş
Mide	<1%	29%	30-40 yıl
İnce bağırsak	<1%	13%	37-42 yaş
Meme	12.4%	32%-54%	37-59 yaş
Yumurtalık (çoğunlukla SCTAT)	1.6%	21%	28 yıl
Serviks (adenoma	<1%	10%	34-40 yaş arası
Rahim	2.7%	9%	43 yıl
Pankreas	1.5%	11%-36%	41-52 yaş
Testis (Sertoli hücre	<1%	9%	6-9 yaş
Akciğer	6.9%	7%-17%	47 yıl

SCTAT = halka şeklinde tübüller içeren seks kordonu tümörü

## 2.5 Peutz-Jeghers Sendromu Hastalığının Yönetimi ve Takibi

PJS teşhisi konan bireylerde hastalığın kapsamını ve klinik takibini belirlemek için, Tablo 3’de özetlenen taramalar tavsiye edilir [34].

Tablo 3. PJS’li bireyde klinik takip için önerilen değerlendirmeler

Sistem	Değerlendirme	Açıklama
<b>Gastrointestinal Polip/Kanser</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Kolonoskopi</li><li>• Üst Endoskopi</li><li>• İnce barsağın MR entereskopi ile değerlendirilmesi</li></ul>	8 yaşından itibaren taramaya başlanır.
<b>Meme Kanseri</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Meme Muayenesi</li><li>• Meme MRI ve Mamografisi</li><li>• Puberte Prekoks Açısından Değerlendirilme</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 18 yaşından itibaren</li><li>• 30 yaşından itibaren</li><li>• 8 yaşından itibaren</li></ul>
<b>Jinekolojik Kanser</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Uterus ve over kanseri açısından pelvik muayene</li><li>• Servikal kanser açısından pap smear alınması</li></ul>	18-20 yaşından itibaren
<b>Testis Kanseri</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Testis muayenesi</li><li>• Feminize bulgu açısından değerlendirilme</li><li>• Testis ultrasonu ile değerlendirme</li></ul>	10 yaşından itibaren
<b>Pankreas Kanseri</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Pankreas görüntülemesi/ endoskopik ultrasonografi veya MRI/MRCP</li></ul>	30 yaşından itibaren
<b>Genetik Danışma</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Genetik uzmanları tarafınca danışmanlık verilmesi</li></ul>	Hasta ve hasta yakınlarını bilgilendirme

PJS için takip kılavuzları gelişmiştir. PJS'li genç bireylerde polip ile ilişkili komplikasyonların yüksek insidansını gösteren klinik verilerin artması, endoskopik uzmanlığın ve pediatrik endoskopların daha fazla kullanılabilir olmasıyla, eğilim endoskopik takibe sekiz yaşında başlamak yönündedir. Bazıları takibe beş yaşında başlanmasını önermektedir [34].

Çocuk ve genç erişkin PJS'li hastaların takibi için öneriler Tablo-4'de özetlenmiştir. Erişkin PJS'li hastaların takibi için öneriler Tablo-5'de özetlenmiştir.

Tablo 4. Çocuk ve genç erişkin PJS'li bireylerin takibi için öneriler

Sistem	Değerlendirme	Sıklığı
<b>Gastrointestinal Polip/Kanser</b>	Kolonoskopi ve Üst Endoskopi  MR Entereskopi ile ince barsağın incelenmesi	<ul style="list-style-type: none"> <li>8 yaşında yapılan bazal endoskopi negatifse 18 yaşında tekrarla</li> <li>Bazal endoskopide polip saptanırsa polibin sayısına, boyutuna ve histopatolojisine göre 1-3 yılda bir endoskopiye tekrarla</li> <li>8 yaşından itibaren her 1-3 yılda bir tekrarlanır</li> <li>Ya da bulgulara göre 18 yaşında tekrarlanır.</li> </ul>
<b>Jinekolojik Kanser</b>	Prekoks Puberte Açısından Değerlendirilme	<ul style="list-style-type: none"> <li>8 yaşından itibaren yıllık</li> </ul>
<b>Testis Kanseri</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Testis Muayenesi</li> <li>Feminizan Değişiklikler Açısından Değerlendirilme</li> <li>Testis Ultrasonografisi(Klinik gereklilik halinde)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>10 yaşından itibaren yıllık</li> </ul>

Tablo 5. Erişkin PJS'li bireylerin takibi için öneriler

Sistem	Değerlendirme	Sıklığı
<b>Gastrointestinal Polip/Kanser</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kolonoskopi</li> <li>• Üst Endoskopi</li> <li>• MR Enterografi ile ince barsağın incelenmesi</li> </ul>	18 yaşından itibaren her 2-3 yılda bir
Meme Kanseri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Klinik meme muayenesi</li> <li>• Mamografi ve meme MR'ı</li> </ul>	30 yaşından itibaren yılda 2 kez 30 yaşından itibaren yıllık
Jinekolojik Kanseler	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Uterus ve over kanseri için pelvik muayene</li> <li>• Serviks kanseri için pap smear</li> </ul>	18 yaşından itibaren yıllık
Pankreas Kanseri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pankreas görüntülmesi için endoskopik ultrasonografi veya MRI/MRCP</li> </ul>	30 yaşından itibaren yıllık
Akciğer Kanseri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sigaranın bırakılması ve semptomlar hakkında hastanın bilgilendirilmesi</li> </ul>	
Testis Kanseri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Klinik gereklilik halinde testis ultrasonografisi ile değerlendirilme</li> </ul>	10 yaşından itibaren yıllık

PJS'li bireylerde polip oluşum riskini veya malignite riskini artıran hiçbir ajan tanımlanmamıştır. PJS'li bireylerde servikal, akciğer ve pankreas kanseri riskinin artması nedeniyle sigara içmekten kaçınmalıdır [34].

## 2.6. Peutz-Jeghers Sendromu ve Moleküler Genetiği

PJS kromozom 19p'deki *STK11* genetik mutasyona bağlı oluşan otozomal geçişli bir hastalıktır. *STK11* bir tümör baskılayıcı gendir. Kromozom 19p13.3'te bulunan STK11 daha önce Karaciğer Kinaz B1 (LKB1) olarak biliniyordu[35]. Tüm vücutta her yerde eksprese edilir. Dokuz kodlayıcı ekzon ve bir kodlayıcı olmayan ekzon ile 1302 bp'lik bir kodlama bölgesine sahiptir ve 433 aminoasitten oluşur. 23 kb uzunluğundadır[35].

PJS vakalarının yaklaşık dörtte üçü ailelerde görülür, geri kalanı ise yeni mutasyonlar veya düşük penetranslı varyantlardan kaynaklanır. LKB1 veya *STK11* kromozom 19p13.3'de bulunur. Önceki çalışmalar, birincil tarama olarak genomik DNA veya cDNA dizilimi kullanarak Peutz-Jeghers hastalarının %50-75'inde (bazı çalışmalarda %30-%70 olmakla

birlikte %90'a kadar çıkabilmektedir) germline LKB1 mutasyonları bulmuştur. Bu mutasyonların çoğu çerçeve kaymaları veya anlamsız değişikliklerdir ve bu nedenle kesilmiş (truncating) bir proteinle sonuçlanır. Çerçeve içi delesyonlar veya yanlış anlamlı mutasyonlar daha az sıklıkla, genellikle kinaz çekirdeğindeki korunmuş aminoasitlerde (kodon 50-337) meydana gelir. Veriler şu anda resmi bir analiz için yetersiz olsa da, germ line Peutz-Jeghers hastalarının mutasyonlarının gen boyunca meydana geldiği, ancak ekzon 1 ve 6'ya doğru olası bir eğilim olduğu görülmektedir[35].

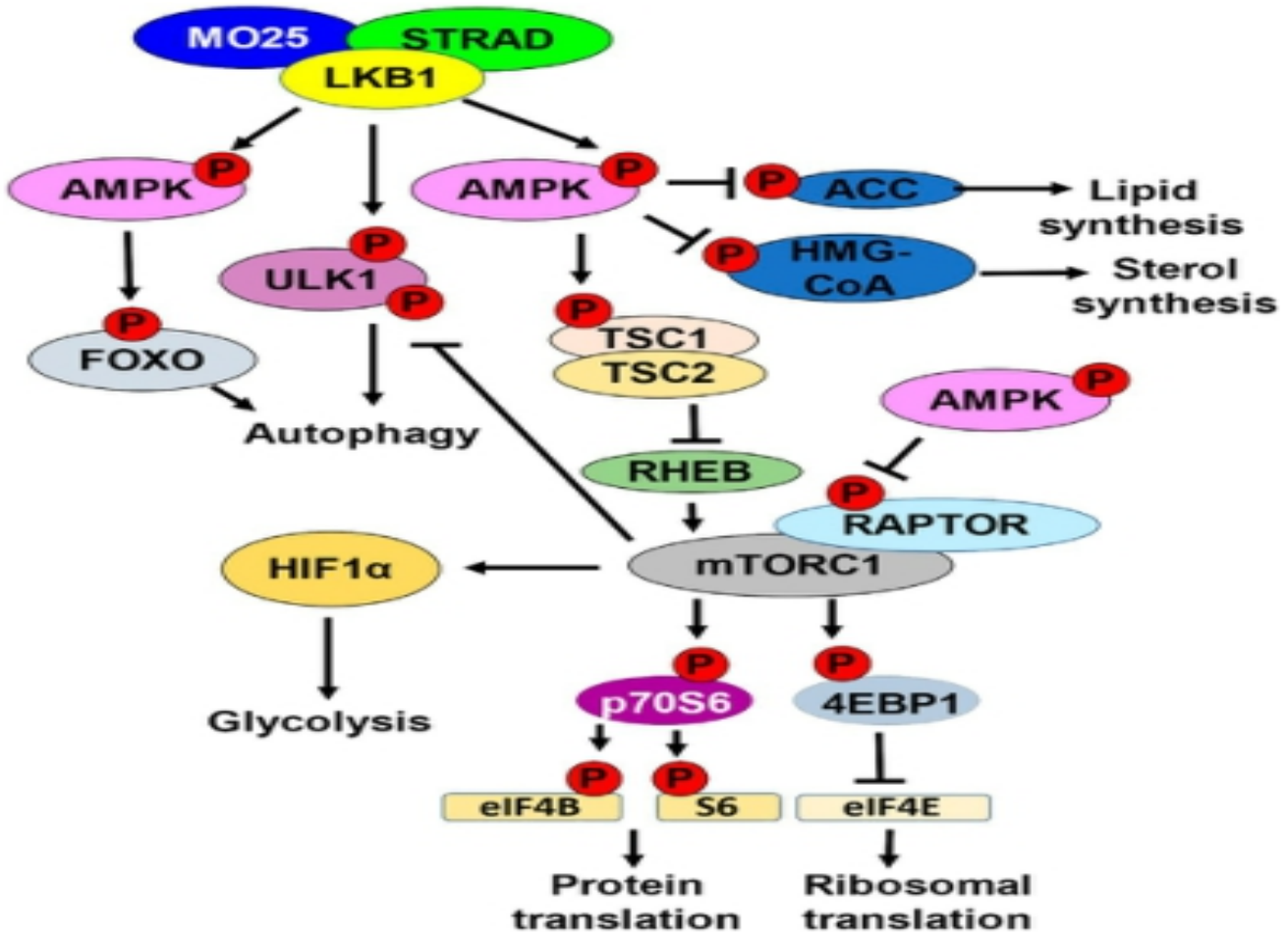
PJS hastalarında kanserlerin fazla olduğu bölgelerin çoğundan (kolon, meme, testis, yumurtalık ve pankreas) tümör taranması yapılmasına rağmen, çoğu çalışma sporadik kanserlerde, az sayıda somatik LKB1 mutasyonu bildirmiştir. Ancak bir çalışmada, sol taraflı sporadik kolon kanserlerinde yüksek sıklıkta missense LKB1 mutasyonları bulunmuştur. Ancak mukokutanöz melanozda spontan mutasyon oranı araştırılmaktadır. Mukokutanöz melanozda *STK11/LKB1* geninin tanımlanmasındaki en büyük aksaklık melanozis hastalarında genetik mozaiklik, etkili moleküler tekniklerin eksikliği, PJS lokusları vb. daha sonra PJS üzerine yapılan bazı çalışmalar, 16q ve 19q kromozomları üzerindeki lokusların mukokutanöz melanozis ekspresyonu ile bağlantısını ortaya koymuştur. PJS üzerindeki bu mutasyonlar nonsense insersiyonu, delesyonu ve yeniden düzenlenmesi ile null allellere yol açmaktadır. Ayrıca Hemminki ve ekibi, DNA ve mRNA doğrudan dizileme yöntemiyle PJS hastalarının neredeyse %90'ında *STK11* gen mutasyonunun rol oynadığını ortaya koymuştur. Öte yandan, germ hattı mutasyonları multipleks ligasyon bağımlı prob ile eş zamanlı olarak araştırılmıştır. Amplifikasyon ve doğrudan sekanslama yöntemi ile germ hattının %80 ila 94'ü tespit edilmiştir. Kanser ve PJS polipleri durumunda da fark edilen COX-2 fazlalığı, PJS'nin modülasyonu için hedef olabilir. Ek olarak, PJS fenotipine sahip *STK11* mutasyonu negatif 25 hastada MYH11 gen mutasyonunun rolü incelenmiştir. Bir hastada MYH11 gen mutasyonu saptanmıştır; ancak bu mutasyonun önemi düşüktür. Şimdiye kadar, tespit edilebilir *STK11* mutasyonu olmayan mukokutanöz melanozis vakaları için doğrulanmış bir gen bulunamamıştır [36].

Yoo ve arkadaşları *STK11*'in tümör baskılayıcı rolünü gözden geçirmiş ve ince bağırsağın epitel hücrelerinde neden düşük malignite oranları bulunduğunu, hücrelerin sürekli replikasyona uğramasının neden olduğunu varsaymıştır [35]. Bunu desteklemek için, en yüksek apoptosis oranlarının bulunduğu barsak kriptlerini ve villusların tepelerini araştırmışlar ve buralarda LKB1 ekspresyonunun en yüksek olduğunu bulmuşlardır. LKB1'in aşırı ekspresyonunun p53'e bağımlı bir şekilde apoptozu indüklediğini keşfetmişlerdir[35].

Ayrıca LKB1, WAF1 (p21) üzerindeki etkisiyle hücre döngüsünü G1'de apoptozisi

indükleyerek durdurmuştur [35]. Kromatin immüno presipitasyon analizleri, *STK11*'in P53 tarafından doğrudan p21 gen promotörüne alındığını ve p21 ekspresyonunu aktive ettiğini göstermiştir. Geniş *STK11*'in aşırı ekspresyonu P53'ün transkripsiyonel aktivitesini yükseltebilirken, tükenmesi P53 fonksiyonlarını inhibe etmiştir. Ayrıca, PJS ile ilişkili G1 karsinomlu hastalarda sıklıkla genetik olarak değiştirilmiş ve anormal P53 ekspresyonu gözlenmiştir *STK11*, aktive protein kinaz (AMPK), on numaralı kromozomda silinmiş fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN), Wnt sinyal yolu ve P53 gibi çeşitli aşağı akış araçları aracılığıyla hücre polaritesi, enerji metabolizması ve hücre büyümesiyle ilgili önemli hücresel süreçleri düzenler [35].

*STK11* sitoplazmada STRAD ve MO25 ile heterotrimerik bir kompleks oluşturur ve otofosforilasyonu sağlamak için yapısal değişikliklere uğrar. STRAD ve MO25 ile kompleks halindeki LKB1, AMPK'yı fosforiller ve aktive eder. *STK11*'in etkilerinin çoğunu AMPK üzerinden ortaya çıkardığı varsayılmaktadır. Hawley ve arkadaşları LKB1'in Thr172 fosforilasyonu yoluyla AMPK'yı aktive ettiğini keşfetmiştir[36]. Hücresel enerji değişiminin bir denetleyicisi olan AMPK, metabolik stres sırasında aktive olur ve p53'e bağlı G1'de hücre döngüsünün durmasına neden olur. Forcet ve arkadaşları AMPK'nın mTOR kinaz ile protein sentezini ve hücre büyümesini durdurduğunu göstermiştir. AMPK, sterol sentezini inhibe ederek HMG-CoA'yı fosforiller ve inhibe eder. Aktif AMPK ayrıca FOXO'yu fosforile ederek ve aktive ederek otofajiyi düzenler[37,38]. LKB1,ULK1'i fosforile ederek otofajiyi doğrudan teşvik edebilir. AMPK'nın LKB1 aktivasyonu TORC1 kinaz aktivasyonunu da inhibe eder. TORC1 kinaz p70S6'yı fosforiller ve aktive eder. p70S6eIF4B ve S6 kinazı fosforiller ve aktive ederek protein translasyonunu teşvik eder. mTORC1 ayrıca eIF4E inhibitörü olan 4EBP1'i fosforiller ve inhibe eder. eIF4e aktivasyonu ribozomal translasyonun artmasına yol açar. mTORC1 ULK1'i fosforile ederek otofajiyi de inhibe eder. mTORC1, HIF1 $\alpha$ 'yı upregüle ederek glikolizi destekler. AMPK, RAPTOR'u fosforile ederek mTORC1'i doğrudan inhibe eder. AMPK ayrıca mTORC1'i şu yollarla dolaylı olarak inhibe edebilir. LKB1 geninin C-terminal katalitik olmayan bölgesindeki tekrarlayan yanlış anlamlı mutasyonların kinaz aktivitesi veya LKB1 kaynaklı büyümeyi durduramadığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte AMPK aktivasyonunu azaltmışlar ve hücre kutupluluğunun oluşmasına katkıda bulunmuşlardır[38]. Şekil 1'de LKB1 bağlantı noktaları belirtilmiştir.



Şekil 1:LKB1'in metabolik bağlantı noktaları ve sinyalizasyon yolları

Kıscası G1 hücre döngüsü durması, p53 apoptoz ve WAF1 sinyalizasyonuna *STK11* aracılık eder ve Wnt sinyalizasyon yolunun ve hücre polaritesinin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Ayrıca, hücre kutuplaşmasında da rol alır. Homeostaz ve metabolizmanın yanı sıra adenozin monofosfat ile aktive olan protein kinazın yukarı yönlü düzenleyicisi olarak hareket eder ve rapamisin yolunun memeli hedefinin negatif regülasyonu ile birlikte tüberoz skleroz kompleks yolunu kontrol eder[39-40-41].

## 2.7.Peutz Jeghers Sendromu ve *STK 11* arasındaki Genotip-Fenotip Bağlantısı

LKB1 düzenlemesini etkileyen varyantları değerlendiren, Baas ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yapılan bir çalışmada LKB1'in psödokinaz kısmının STRAD tarafından aktive edildiği keşfedilmiştir [42]. Boudeau ise MO25'in STRAD'ı bir iskele proteini olarak bağlayarak, LKB1 ile bir heterotrimer yapı oluşturduğunda, LKB1 aktivitesinin sinerjistik olarak arttığını göstermiştir[43]. Yazarlar, STRAD ve MO25'in LKB1'in hücre bölünmesini G1 safhasında durdurması üzerindeki etkisini LKB 1'i sitoplazmaya sabitleyerek yaptığı hipotezini ortaya atmışlardır[44]. Boudeau ve arkadaşları,

LKB1 varyantlarının bu heterotrimerik kompleks üzerindeki etkisini araştırmıştır. Varyantların çoğunda C-terminal kısım stabilitesi bozulmuş böylece proteinin doğrudan ya da dolaylı olarak heterotrimerik kompleks oluşturması bozulmuştur. Bunun sonucunda LKB1'in normal katalitik aktivitesi önemli ölçüde baskılanmıştır. [45].

Zequiraj ve arkadaşlar ise STRAD ve MO25'in LKB1'e bağlanmasının LKB1'de aktive edici bir yapısal değişikliğe neden olduğunu göstermiştir [46]. PJS'ye neden olduğu bilinen 51 varyantı analiz etmişler ve çoğunda LKB1'in bu komplekse bağlanma yeteneğinin etkilendiğini bulmuşlardır. Bu çalışma, 49-309. aminoasit rezidülerin kapsayan LKB1 kinaz alanının N-terminal ve C-terminal kısımlarında STRAD aktivasyonu ile ilgili etkileşim bölgeleri olduğunu göstermiştir. Özellikle bu bölgedeki C terminal peptid kuyruk kısmındaki varyantların katalitik aktiviteyi azalttığını ve PJS'ye yatkınlık yarattığını göstermiştir. Bu çalışmalar, LKB1/*STK11*'in dahil olduğu hücrel sinyal yolunun karmaşıklığını vurgulamakta ve net bir genotip-fenotip korelasyonu kurmanın zorluğunu göstermektedir. Bununla birlikte, araştırmacılar farklı değişken tipleri ve lokasyonlara atıfta bulunarak korelasyonu açıklamaya çalışmışlardır [46].

Amos ve arkadaşları, truncat varyantların, yanlış anlamlı varyantlara göre semptomların daha erken başlamasıyla ilişkili olduğunu iddia etmektedir. 22/32 (%69) probanda (bir ailede genetik bir hastalığın varlığı konusunda doktorun dikkatini çekerek hastalığın incelenmesine neden olan kişi) patolojik varyantlar tespit etmişlerdir[47]. PJS tanı kriterlerini karşılamayan 9 bireyde ise hiçbir varyant bulunmamıştır. Bu hastalarda bir varyantın tanımlanamaması dört olasılıktan biri ile açıklanabilir. İlk olarak, dizilenemeyen bir bölgede varyantlar olabilir. İkinci olarak, sıralanmamış alternatif bir gende varyant olabilir. Üçüncü olarak, dört PJS hastasında tanımlanmış olan, kanda germline varyantların bulunmadığı somatik mozaiklik mevcut olabilir. Dördüncü olarak, bu bireylerde PJS olmayabilir [48].

Salloch ve arkadaşları da truncat ve truncat olmayan varyantlar arasındaki genotip-fenotip ilişkilerini analiz etmişlerdir. Küçük bir örneklem boyutunda truncat varyantları olan hastaların daha fazla cerrahi gastrointestinal girişim geçirdiği ve truncat varyantları olan kadın hastaların jinekolojik cerrahi geçirme riskinin arttığını bulmuşlardır. İlginç bir şekilde, aynı kadın hastalarda jinekolojik kanser riski belirgin bir şekilde artmamıştır. Küçük örneklem boyutu nedeniyle bu çalışmaya çok fazla ağırlık vermek zordur. Bununla birlikte, truncat varyant grubunda daha yüksek polip sayısına, daha erken polipektomi yaşına ve daha fazla kanser gelişimine yönelik eğilimler de bulmuşlardır [49]. Resta ve arkadaşları mutasyonların

malignite üzerindeki etkisini incelemiştir. Truncat varyantlar, truncat olmayanlara kıyasla daha erken başlangıçlı kansere eğilim göstermiştir. Ayrıca ekzon 4-6'da fenotipik korelasyondan yoksun bir varyant kümelenmesi bulmuşlardır [50].

Büyük delesyonlu PJS hastaları ile truncat veya yanlış anlamlı gibi diğer varyant türleri arasında fenotip açısından önemli bir istatistiksel fark tespit edilmemiştir [51, 52, 53]. Bununla birlikte, bir makale, daha erken bir kanser başlangıcı ile ilişkili olan komşu genler SBNO2 ve GPX4'ün 5' bölgesini etkileyen büyük bir delesyon tanımlamıştır. [54].

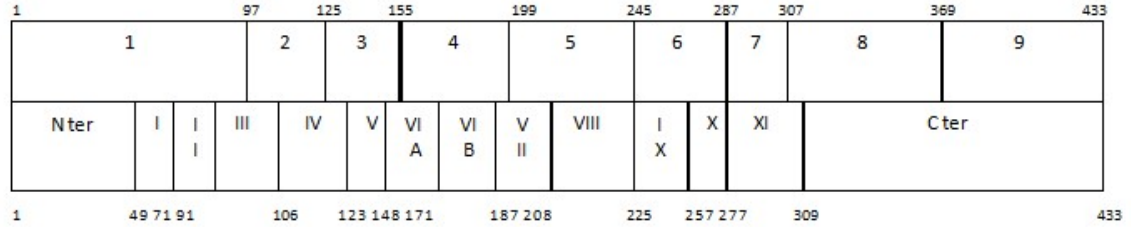
*STK11* geninde mutasyonun meydana geldiği konumunun fenotipi etkilediği öne sürülmüştür. Kohort çalışmaları ve *STK11*'in sinyal yolunun anlaşılması bu teorinin temelini oluşturmaktadır. Lim ve arkadaşları, *STK11* varyantları doğrulanmış 240 PJS hastasını içeren böyle bir çalışma gerçekleştirmiş ve bu hastaların 47'sinde 54 kanser gelişmiştir[55]. Varyantların gelişigüzel bir dağılım göstermediğini bulmuşlardır. Ekzon 9'da hiçbir varyant bulunmazken, truncat varyantlar ekzon 1 ve 6'da aşırı eksprese edilmiş ve missense varyantlar ekzon 4 ve 7' de aşırı eksprese edilmiştir. Ekzon 3 varyantlarında, özellikle gastrointestinal kanser olmak üzere, kanser riskinin artmasına yönelik bir eğilim, varyant konumuna dayalı bir genotip-fenotip bağlantısı için bazı kanıtlar sağlamaktadır[55].

Schumacher ve arkadaşları ise alternatif varyantlar öne sürmüşlerdir. Sırasıyla ekzon 4 ila 5 ve ekzon 8 ila 9'da bulunan VIB-VIII fonksiyonel alanlarını ve C- terminalini içeren yanlış anlamlı varyantların 6/8 vakada malignite gelişimi ile ilişkili olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu, malignite ile ilişkili fonksiyonel alan olan I-VIA bölgelerindeki yanlış anlamlı varyantlardan farklı olarak saptanmış bölgelerdir[56]. Şekil 2 fonksiyonel alanların ekzonlarla göreceli konumlarını göstermektedir. Ayrıca meme karsinomu olan PJS hastalarının ağırlıklı olarak truncat varyantlara sahip olduğunu bulmuşlardır. Daha önceki tartışmalarla ilgili olarak, truncat ve yanlış anlamlı varyantlar arasında genel malignite gelişimi açısından bir fark bulamamışlardır[56].

Mehenni ve arkadaşları ise IX-X fonksiyonel alanlarını kapsayan 6. ekzonda varyantı olan hastalarda kanserde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulmuşlardır [57]. Lim ve arkadaşları da benzer şekilde, *STK11* varyantlarının gelişigüzel olmayan bir dağılım bulmuşlardır. Ekzon 9 varyantı bulamamışlardır, truncant varyantlar ekzon 4 ve 6'da, yanlış anlamlı varyantlar da ekzon 4 ve 8'de aşırı eksprese edildiğini saptamışlardır [58].

Wang ve arkadaşları, kinaz domain XI'deki varyantların PJS gastrointestinal poliplerinde %90 oranında displaziye yol açtığını bulmuştur [59]. Domain XI dışı varyantlarda ise displazi oranı %11,8 bulunmuştur. Kinaz alanı XI kısmen ekzon 7 tarafından

kodlanır. PJS hastalarının bu kohortundaki 27 hastanın 8'inde *STK11* varyantı bu ekzonda yer almaktadır. HGMD veri tabanı araştırıldığında ise 13 hastanın 10'unda domain XI varyantı kanserle ilişkilendirilmiştir. Bu, kinaz alanı XI varyantları ile displastik PJS polipleri arasında potansiyel bir genotip neoplastik/fenotip korelasyonuna işaret etmektedir [59].



Fonksiyonel Etki Alanı I-III = ATP bağlama bölgesi; Fonksiyonel Etki Alanı V = Kataliz bölgesi; Fonksiyonel Alanlar VIB-VIII = Substrat tanıma ve fosfat transferini başlatma bölgesi.

Şekil 2: STK11 geni fonksiyonel alanların ekzonlarla konumları

## 2.8. Peutz-Jeghers Sendromu ve Moleküler Genetik Testler

Moleküler genetik test yaklaşımları, fenotipe bağlı olarak tek gen testi, çoklu gen paneli ve kapsamlı genomik testleri içermektedir.

### 2.8.1. Tek Gen Test

*STK11*'in dizi analizi, ilk olarak küçük intragenik delesyonları/insersiyonları, missense, nonsense ve splice mutasyon varyantlarını saptamak için gerçekleştirilir. Kullanılan dizileme yöntemine bağlı olarak tek ekzon, çok ekzon veya tüm gen silinmeleri/duplikasyonları tespit edilemeyebilir. Kullanılan dizileme yöntemi ile herhangi bir varyant tespit edilmezse gen hedefli delesyon/duplikasyon analizi yapılmaktadır. Analiz süresini azaltmak için dizi analizi ve gen hedefli silinme/duplikasyon analizi aynı anda yapılabilir [60].

### 2.8.2. Multigen Analizi

*STK11* ve diğer genleri içeren bir multigen paneli olarak düşünülebilir. Dahil edilen genler ve çoklu gen panellerinin duyarlılığı laboratuvara göre değişir ve zamanla değişmesi muhtemeldir. Bazı multigen panelleri klinik ile ilişkili olmayan genleri içerebilir; bu nedenle, klinisyenlerin, altta yatan fenotipi açıklamayan genlerdeki belirsiz öneme sahip varyantların ve patojenik varyantların tanımlanmasını sınırlarken, durumun genetik nedenini belirleme olasılığı en yüksek olan multigen panelini belirlemesi gerekir. Bazı laboratuvarlarda panel seçenekleri, özel laboratuvar tasarımı panel ve/veya klinisyen tarafından belirtilen genleri

içeren özel fenotip odaklı ekzom analizini içerebilir. Panelde kullanılan yöntemler, dizi analizini, delesyon/duplikasyon analizini ve diğer dizilemeye dayalı olmayan testleri içerebilir [61].

### **2.8.3. Kapsayıcı Genetik Analizler**

Tek gen testinin ve/veya *STK11*'i içeren bir multigen panelinin kullanılıp PJS özelliklerine sahip bir bireyde tanıyı doğrulamaması durumunda, tüm ekzon dizilimi ve tüm genom dizilimi dahil daha kapsamlı genomik testler düşünülebilir. Bu tür testler, daha önce düşünülmemiş bir tanı ya da benzer bir klinik sunumla sonuçlanan farklı bir genin veya genlerin mutasyonunu gösterebilir [61].

### **2.8.4. Yeni Nesil Dizileme Yöntemi**

2000'lerin başında İnsan Genom Projesi ile genetik kodun dizilenerek ortaya konması klasik zincir sonlandırma yöntemi olan Sanger dizi analizi ile olmuştur. Sanger dizileme az sayıda genden oldukça iyi derinlikte güvenilir veri alınabilen ve altın standart sayılan bir yöntemdir. Yeni Nesil Dizileme (YND) yöntemleri ise çok sayıda hastada birçok genin yüksek verimlilik ve düşük maliyetle dizilenmesine olanak veren paralel dizileme metodudur. Sanger dizileme metoduna göre kısa sürede, çok daha yüksek veri elde edilebilmesi ve maliyetinin son yıllarda oldukça düşmesi nedeniyle rutin klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. İkinci ve üçüncü nesil birçok yöntem olsa da tıbbi genetik pratiğinde en sık kullanılan yöntem köprü amplifikasyon ve sentez yoluyla dizileme yöntemidir[62].

Peutz-Jeghers'de olduğu gibi üst üste gelen fenotipler nedeniyle birçok genin paralel dizilenmesine olanak sağlayan ve günümüzde giderek ucuzlayan YND teknolojileri rutin pratikte sanger dizilemenin yerini almıştır. Sanger dizileme halen bir yada birkaç genin araştırıldığı durumlarda, patojenik varyant saptanan olguların aile taramalarında, segregasyon analizinde veya genetik sonuçların doğrulanmasında kullanılmaktadır[62].

## **2.9. Peutz-Jeghers Sendromu ve Tedavi Yaklaşımları**

### **2.9.1. Poliplerin Tedavisi**

Gİ poliplerin yükü endoskopi ve görüntüleme çalışmaları ile belirlendikten sonra, bir santimetreden büyük poliplere profilaktik polipektomi yapılır. Polipektomi endoskopik olarak yapılabilir. Endoskopik olarak polipektomi yapılamazsa cerrahi tedavi yapılır.

Polipektomi yapmanın iki amacı vardır:

- Kanama, anemi, obstrüksiyon ve invajinasyon dahil olmak üzere büyük poliplerin yol açacağı komplikasyonlardan kaçınmak

- PJS tipi poliplerin malign değişimi ile kanser riskini azaltmak

Luminal polip ile ilgili komplikasyonlar çocuklukta ortaya çıkarken, PJS'de kanser tipik olarak yetişkinlik çağında görülür. Bazı kanıtlar rutin endoskopi ve polipektomili intraoperatif enteroskopinin acil laparotomi ve bağırsak kaybı sıklığını azalttığını göstermektedir. Çalışmalar, PJS'de endoskopik sürveyans ve polipektominin güvenli ve etkili olduğunu göstermektedir. Yakın zamana kadar, geleneksel endoskopinin erişemeyeceği distal ince bağırsak poliplerini yönetmek zordu. Geçmişte, ince bağırsak poliplerini takipte baryum kontrastlı üst GI tomografik görüntüleme tavsiye edilmekteydi. Ancak endoskopik gelişmeler sayesinde poliplerin tanısı ve eradikasyonun artması laparotomi yapılmaksızın ve bilgisayarlı tomografi (BT) görüntü ile tarama bağımlılığında azalmaya bağlı radyasyon yükünde azalma ile sonuçlandı [63].

Video kapsül endoskopisi (VCE), ince bağırsak poliplerinin baryum röntgenlerinden daha iyi görüntülenmesini sağlar ve birinci basamak takip olarak önerilir. Çocuklarda kapsül üst endoskopiden sonra duodenuma yerleştirilebilir. İnce bağırsak görüntüleme çalışmalarının sonuçları, poliplerin endoskopik olarak çıkarılmasını yönlendirir [63].

Manyetik rezonans enterografisi, VCE'ye benzer duyarlılığa sahip daha büyük ince bağırsak poliplerinin saptanması için güvenilir bir yöntemdir ve hastaların BT enterografisine bağlı radyasyona maruz kalmasını önler [64].

Balon yardımcı enteroskopi (BAE), laparotomili veya laparotomisiz distal ince bağırsak poliplerini çıkarabilir [65]. PJS'de ince bağırsak polip yönetimi için BAE'nin etkinliği ve güvenliği, PJS'li çocuklarda belirlenmiştir [64]. BAE ve polipektomi, BAE'nin erişemeyeceği büyük ve distal ince bağırsak polipleri olan etkilenen bireyler için ayrılması gereken intraoperatif enteroskopi ve enterotomi ihtiyacını azaltır [64].

### **2.9.2. İntussepsiyon Tedavisi**

İntussepsiyon, PJS dışı intussepsiyonla aynı şekilde yönetilir.

### **2.9.3. Kanserlerin Tedavisi**

PJS'na bağlı kanserler, kanserin kendi standart tedavisine uygun olarak tedavi edilir.

## 2.10. Peutz-Jeghers Sendromlu Hastaların Riskli Akrabalarının Değerlendirilmesi

Ailedeki patojenik varyant biliniyorsa, ailesel *STK11* patojenik varyantı için risk altındaki akrabalara moleküler genetik test yapılması önerilir. Bu durumda, ebeveynlerin aynı varyanta sahip olup olmadığını doğrulamak faydalıdır. Probandın kardeşlerinin ise proband ile aynı patojenik varyanta sahip olma olasılığı her iki cinsiyette de yaklaşık %50'dir. Eğer probandın ebeveynleri PJS'ye sahip değilse, sadece probandın PJS'ye sahip olma olasılığı daha yüksektir. De novo varyanta sahip olunması kardeşlerinin aynı varyanta sahip olma olasılığını düşürür. Bununla birlikte, gonadal mozaiklik (germ hattında somatik mutasyonlar) olasılığı nedeniyle, ebeveynleri PJS'li olmasa da probandın kardeşlerinde PJS ortaya çıkabilir. Probandın çocuklarının proband ile aynı patojenik varyanta sahip olma olasılığı da her iki cinsiyet için de %50'dir. Çocukluk çağında invajinasyon gelişme ve cerrahi tedavinin gerekmesi nedeniyle çocuk *STK11* mutasyonuna sahipse 8 yaşına kadar en az bir kez endoskopik gözetim yapılması şiddetle tavsiye edilir. *STK11*'de mutasyon doğrulanmamış olsa bile çocuğun karakteristik özellikler varsa 8 yaşına kadar en az bir kez endoskopik gözetim yapılması önerilmektedir[66].

Sonuç olarak aileye özgü patojenik varyanta sahip olduğu belirlenen bireylerin PJS kriterleri açısından takip edilmesi erken tanı konmasına böylelikle morbidite ve mortalitenin azaltılmasına neden olabilir[66].

Eğer ailede mutasyon tanımlanmamışsa, PJS tanı kriterlerinin karşılanıp karşılanmaması açısından yakın akrabaların takibi önerilmektedir[66]. Ailesel patojenik varyantın tanımlanmadığı ve PJS için klinik tanı kriterlerini karşılamayan akrabalarda ise PJS açısından genetik test yapılmasına gerek yoktur [66].

## 3. Gereç ve Yöntem

Bu çalışmaya Ocak 2011 ve Nisan 2021 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji ve Çocuk Gastroenterolojisi Kliniklerinde takip edilen ve Tıbbi Genetik Kliniğinde genetik analizi yapıp novel germline *STK11* mutasyonu saptanmış Peutz-Jeghers Sendromlu hastalar dahil edilmiştir.

### **3.1. Katılımcıların dahil edilme/dışlama kriterleri:**

#### **3.1.1 Dahil edilme kriterleri:**

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji, Çocuk Gastroenterolojisi Kliniklerinde PJS tanısı ile takip edilen ve Tıbbi Genetik Kliniğinde genetik analizi yapıp novel germline *STK11* mutasyonu saptanan hastalar dahil edilmiştir.

#### **3.1.2 Dışlama kriterleri:**

*STK11* mutasyonu saptanan hastalar dahil edildiğinden dışlama kriteri yoktur. Ancak çalışmaya 21 hastadan *STK11* geni ekzon bölgesinde mutasyonu olan 11 hasta alınmıştır. Splice bölgesi ( ekzon-intron bileşim yerinde) mutasyonu olan 10 hasta, genetik olarak ifadesi olmasına rağmen, protein yapısına teknik aktarım yapılırken yeterli anlamlılığa ulaşamadığından çalışma dışı bırakılmıştır.

### **3.2. Demografik ve klinik veriler**

Çalışmadaki hastaların demografik (yaş, cinsiyet, tanı alma yaşı) ve klinik özellikleri (ilk semptomu, mukokütanöz cilt lezyonu varlığı, gastrik, ince bağırsak ve kolonda polip sayısı ve boyutu)daha önce kliniğimizde hastaların mutasyonları saptamaya yönelik yapılmış olan ‘Peutz-Jeghers Sendromlu Hastalarda Saptanan Genetik Mutasyonlar’ tezinden kaydedilmiştir.

### **3.3. *In-silico* Yöntemler**

*In-silico* yöntemler kullanılarak olguların genetik sonuçlarının protein düzeyindeki hem yapısal hem de fonksiyonel farklılığının, bireye özgü olarak klinik verilerle (malignite gelişen, malignite saptanmayan, displastik polip saptanan hasta gruplarında) ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.

#### **3.3.1 Homoloji Modellemesinin Yapılması**

Sekanslanmış varyantların FASTA formatları Mutalyzer server kullanılarak elde edilmiştir. Fasta formatları belirlenmiş varyantların her birinin homoloji modellemesi için SWISS-model kullanılmıştır. SWISS-model serverında proteine uygun kalıp seçerek modelleme yapılmıştır. Bu işlem için Moleküler dinamik çalışmalarında gereken PDB dosyalarını oluşturmak için Phyre2 ve PSIPRED serverları kullanılmıştır. *STK11* için uygun kalıp protein seçilerek modelleme yapılmıştır. Her bir varyant için ayrı ayrı PDB dosyaları oluşturulmuştur.

3B boyutlu Protein Homoloji Modellemesi için normal *STK 11* proteini ve mutantları için üç boyutlu homoloji model oluşturma çalışmalarında Phyre2 [<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>](03.05.2023 erişildi) ve SWISS-model (<https://swissmodel.expasy.org/>; erişim 03.05.2023) kullanıldı. Normal *STK11* ve mutantları için PDB formatları, her nsSNP'nin *STK11* protein dizisine ikame edilmesiyle SWISS-model aracılığıyla elde edildi. Üretilen tüm modeller YASARA kullanılarak görüntüldü. Her bir mutasyonun proteinin üç boyutlu yapısına etkisinin fonksiyonel olarak değerlendirilmesi için SNAP2 server'ı (<https://roslab.org/services/snap2web/>; erişim tarihi 03.05.2023) kullanılmıştır.

### **3.3.2 Varyantın Protein Üzerindeki Fonksiyonel Değişiminin Belirlenmesi**

Varyanta uğrayan sekansın fonksiyon değişimini sayısal olarak belirleyebilmek için Predictprotein server kullanılmıştır. Fonksiyon değişimini belirleyebilmek için FFPred ve DeepFRI toolları kullanılmıştır. FFPred aracı ile yapı temelli fonksiyon değişimi tespit edilirken, DeepFRI aracı yapı tabanlı bir protein fonksiyon tahmini (ve fonksiyonel kalıntı tanımlama) yöntemidir. Post-translasyonel modifikasyonları belirleyebilmek için GPS Biocuckoo web toolları kullanılmıştır. Mutasyona uğramış proteinlerin stabilitesini araştırmak için mCMS, Imutant ve muPro araçları kullanılmıştır. Mutasyonda korunan ve korunmayan bölgeleri değerlendirebilmek için de ConSurf aracı kullanılmıştır.

### **3.3.3 nsSNP'lerin FASTA formatlarının belirlenmesi**

Klinik verilerden elde edilen genetik bilgilerle aminoasit dizileri fasta formatı oluşturuldu (uniprot *STK11* kullanılarak) ve *STK11*'in proteinine ilişkin bilgiler RCSB PDB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Veri Bankası) adresinden protein kodu (PDBID: 2WTK) ile erişildi.

### **3.3.4 Protein Fonksiyon Değişimi**

Varyanta uğrayan sekansın fonksiyon değişimini sayısal olarak belirleyebilmek için Predictprotein (<https://predictprotein.org/>; erişim 03.05.2023) server kullanılmıştır. Fonksiyon değişimini belirleyebilmek için FFPred ve Deep FRI toolları kullanılmıştır (erişim 03.05.2023)

### **3.3.5 Çeviri Sonrası Değişiklik (PTM) Bölgelerini Tahmin Etme**

*STK11* protein sekansındaki Post-translasyonel modifikasyonları belirleyebilmek için MusiteDeep [<https://www.musite.net/> (erişim tarihi: 03.05.2023)] kullanılarak tahmin edilmiştir. Bilinen PTM siteleri, güven eşliğine göre sekansta gösterildi. GPS5.0, fosforilasyon

bölgelerinin potansiyelini tahmin etmek için kullanıldı ve sadece kesme noktasından daha yüksek olan bölgeleri gösterdi.

### **3.3.6 Protein Mutasyon Stabilitesini Analiz Etme**

Nokta mutasyonu olan hasta 7 ve hasta 8'e protein stabilitesini belirlemek için MuPro kullanıldı. Tahminleri iki destek vektör makinesine (SVM) dayanmaktadır ve şu anda mutasyona uğradığında protein stabilitesine ilişkin termodinamik deneysel verilerin en kapsamlı veritabanı olan i-Mutant kullanılmaktadır (serbest enerji değişim değeri DDG olarak hesaplanmıştır). Protein dizisini ve mutasyon bölgelerini girmek dışında, sıcaklık ve pH ayarı aynı kaldı (25 °C, pH 7).

### **3.3.7 Protein Korunmasını Analiz Etmek**

Homolog diziler arasındaki filogenetik ilişkilere dayanan bir proteindeki aminoasit kalıntılarının korunumunu tahmin etmek için Con Surf(<https://consurf.tau.ac.il/>) (erişim 03.05.2023) kullanıldı.

### **3.3.8 Moleküler Dinamik Simülasyon**

Moleküler doklama simülasyonları, web tabanlı bir MD simülasyon paketi WebGRO kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ligand topoloji dosyalarının oluşturulması için PRODRG sunucusu (Schüttelkopf ve Van Aalten, 2004) kullanılmıştır. GROMOS96 43a1 kuvvet alanı, protein ligand etkileşimlerinin yaklaştırılması için kullanılmıştır. Her protein-ligand kompleksi 100 ns için simüle edilmiştir. H bağları, Dönme Yarıçapı (Rg), Ortalama Kare Sapma ve Çözücü Erişilebilir Yüzey Alanı, karmaşık kararlılığı tahmin etmek için test edilmiştir.

### **3.3.9. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analiz**

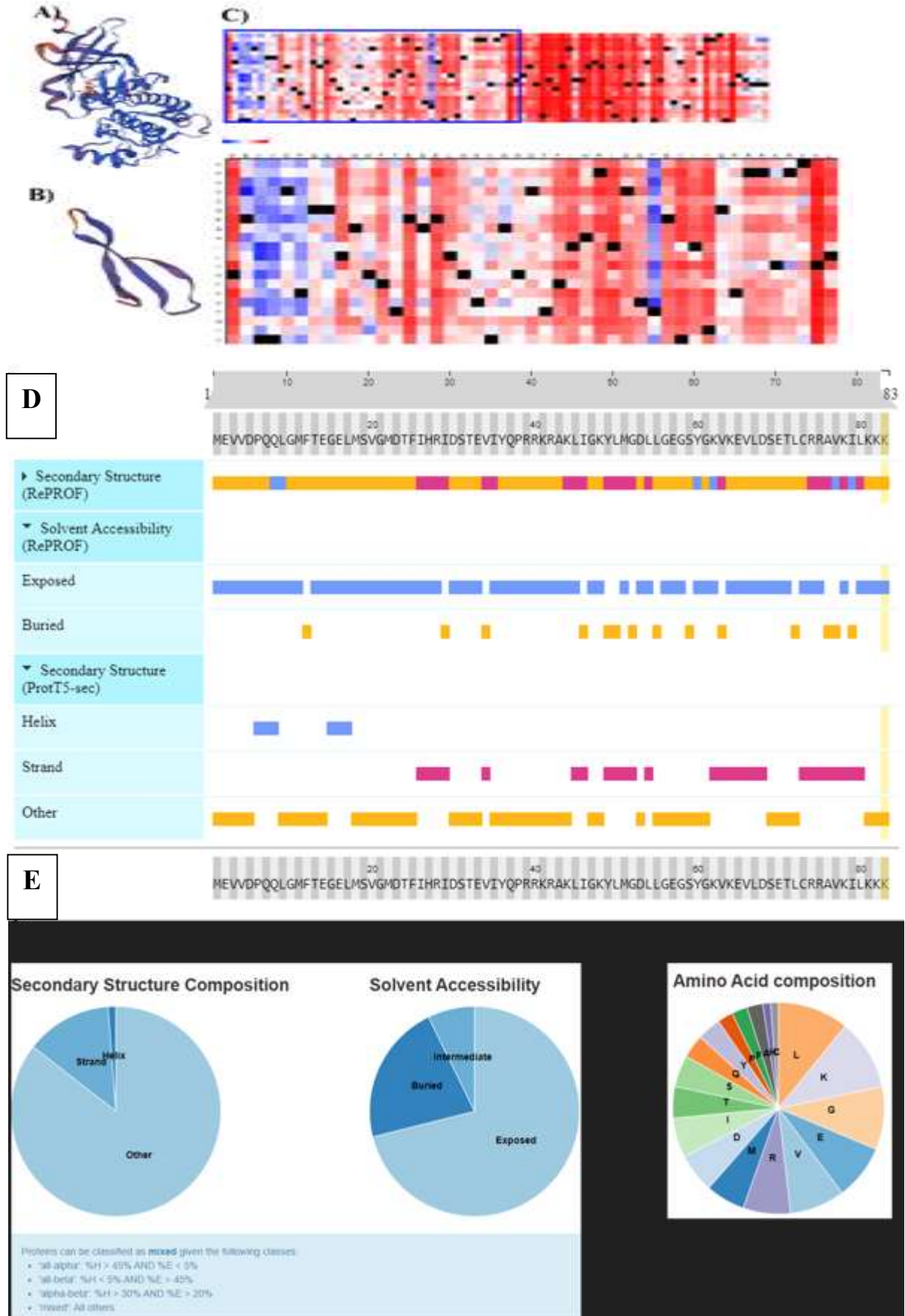
Bu çalışmada elde edilen hastaların genotip-fenotip verileri SPSS-24 (SPSS INC., Chicago, IL, USA) istatistik programı ile analiz edildi.

Olgularda saptanan PJS ilişkili klinik bulgular ve hasta genotipi arasındaki ilişkiler tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, sıklık ve oran) ve uygun parametrik ve non-parametrik testler ile incelendi.

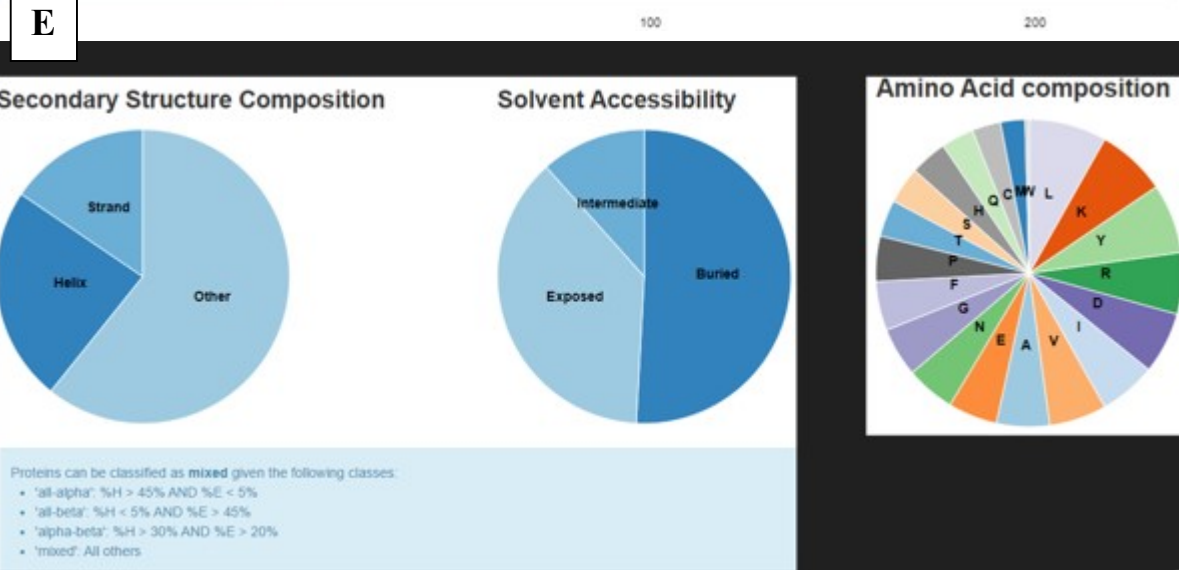
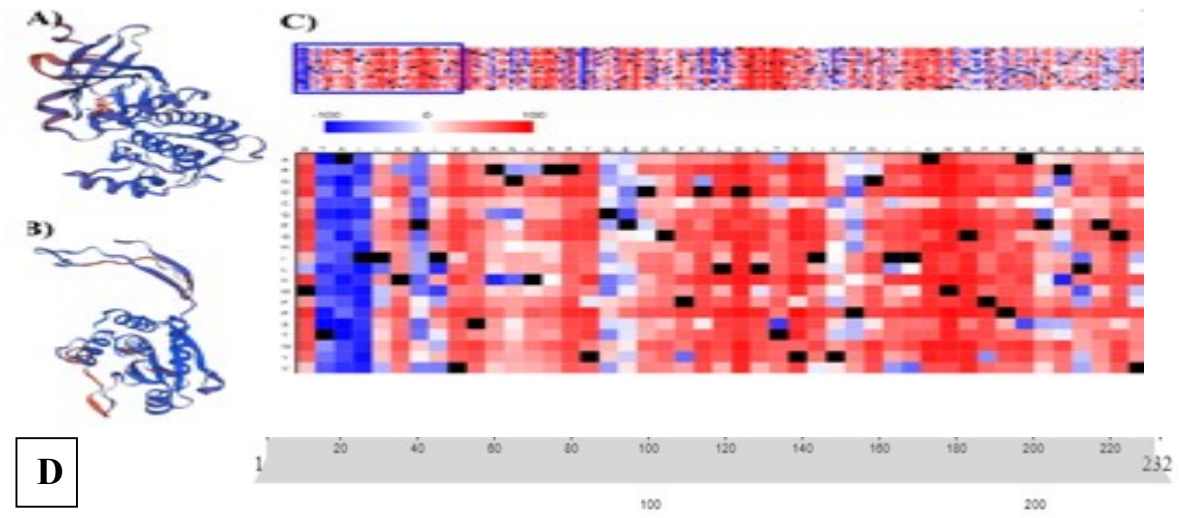
## 4. Bulgular

### 4.1. İkincil yapı tahmini

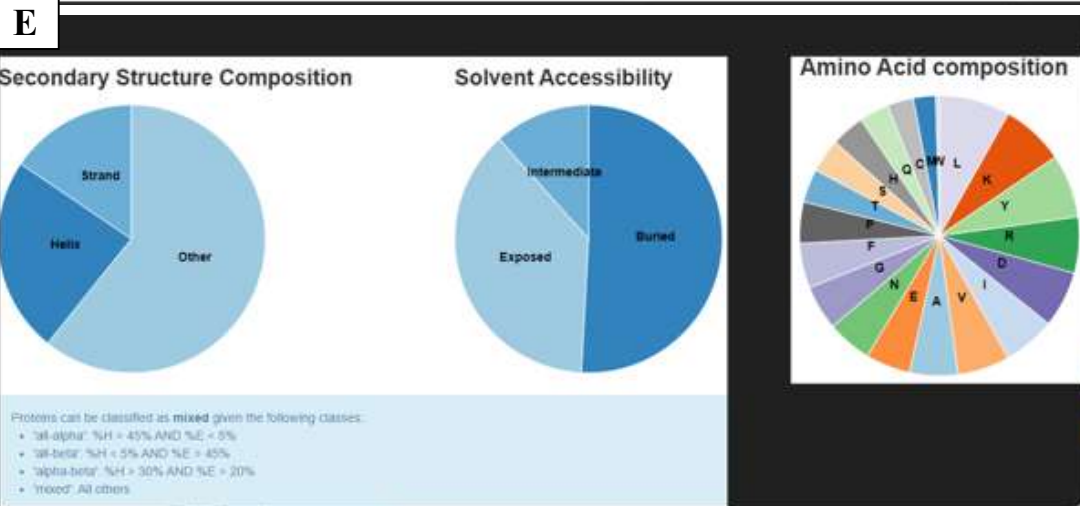
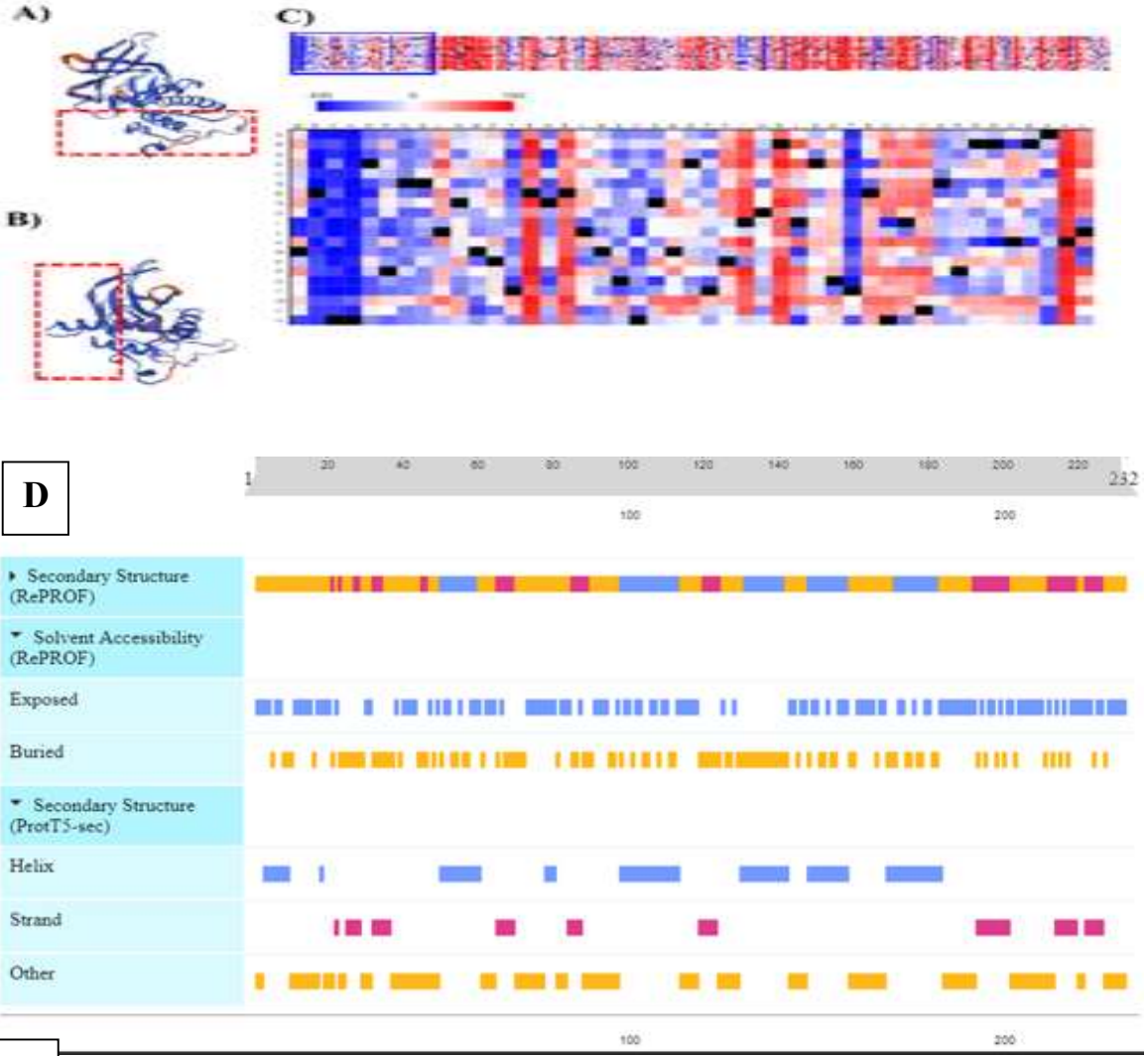
Protein prediction web serveri kullanılarak elde edilen ikincil yapı değişim tahminleri gerçekleştirilmiştir. Buna göre hasta 3 için dizi uzunluğunun 83, hizalanmış proteinlerin sayısının 62 ve eşleşen PDB (protein data bank) yapılarının Sayısı 31; hasta 5 için dizi uzunluğunun 232, hizalanmış proteinlerin sayısının 65, eşleşen PDB yapılarının sayısının 31; hasta 6 için dizi uzunluğunun 260, hizalanmış proteinlerin sayısının 69, eşleşen PDB yapılarının sayısının 31; Hasta 7 için dizi uzunluğunun 433, hizalanmış proteinlerin sayısının 69, eşleşen PDB yapılarının sayısının 31; hasta 8 için dizi uzunluğunun 433, hizalanmış proteinlerin sayısının 69, eşleşen PDB yapılarının sayısının 31; hasta 9-12 için dizi Uzunluğunun 59, hizalanmış proteinlerin sayısının 30; hasta 16 için dizi uzunluğunun 160, hizalanmış proteinlerin sayısının 9 ve hasta 18 için dizi uzunluğunun 59 ve hizalanmış proteinlerin sayısının 30 olduğu hesaplanmıştır. İlgili sonuçlar ve değişimler şekil 3-11 arasında verilmiştir.



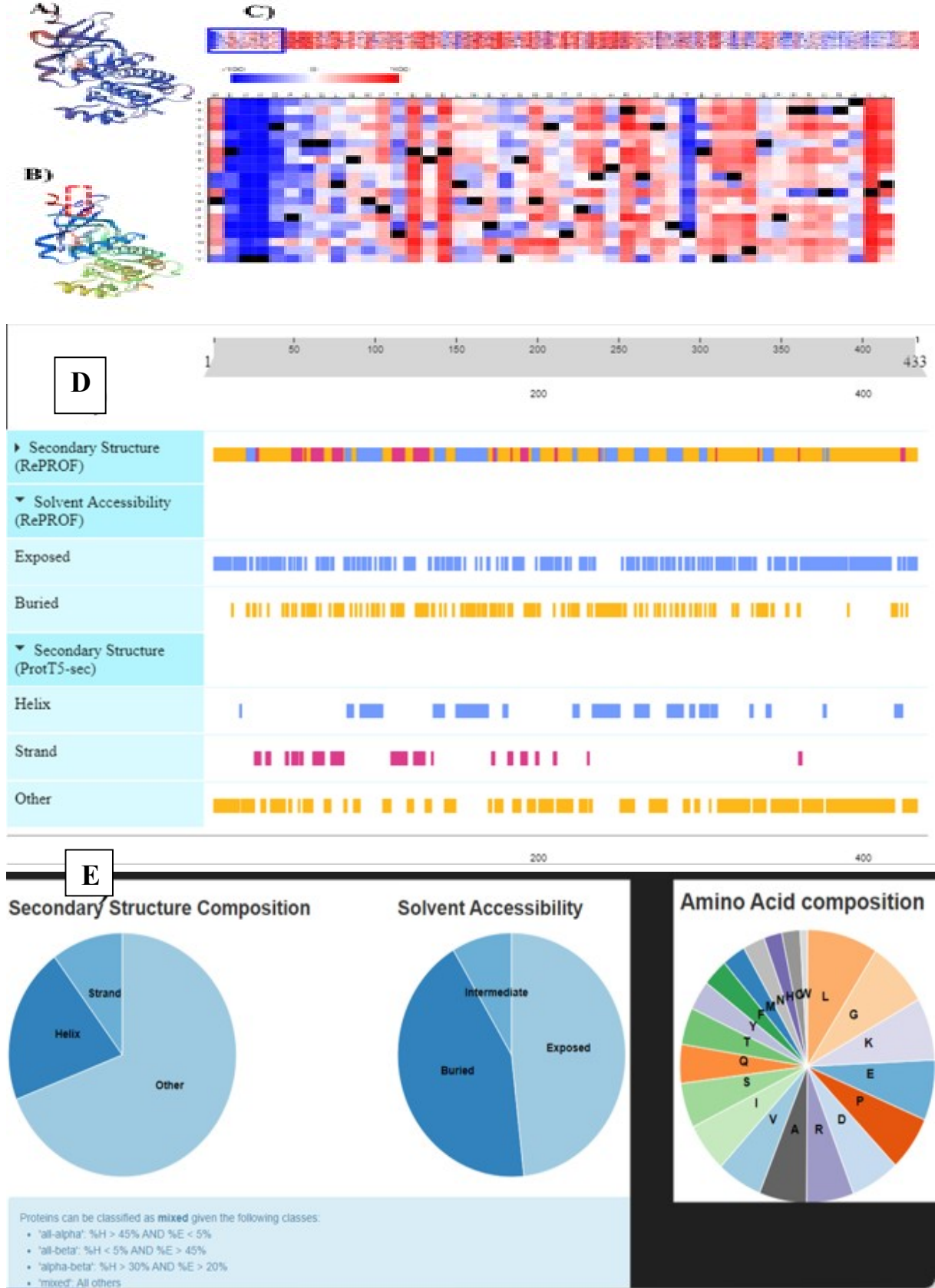
**Şekil-3.** Hasta 1 (mutasyon c250A>T; chr19,1207162; HGVS c250A>T; HGVS pLys84ter; dbSNP rs137853076, patojen)'e ait ikincil yapı değişimleri A) Yabancıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzde değişim



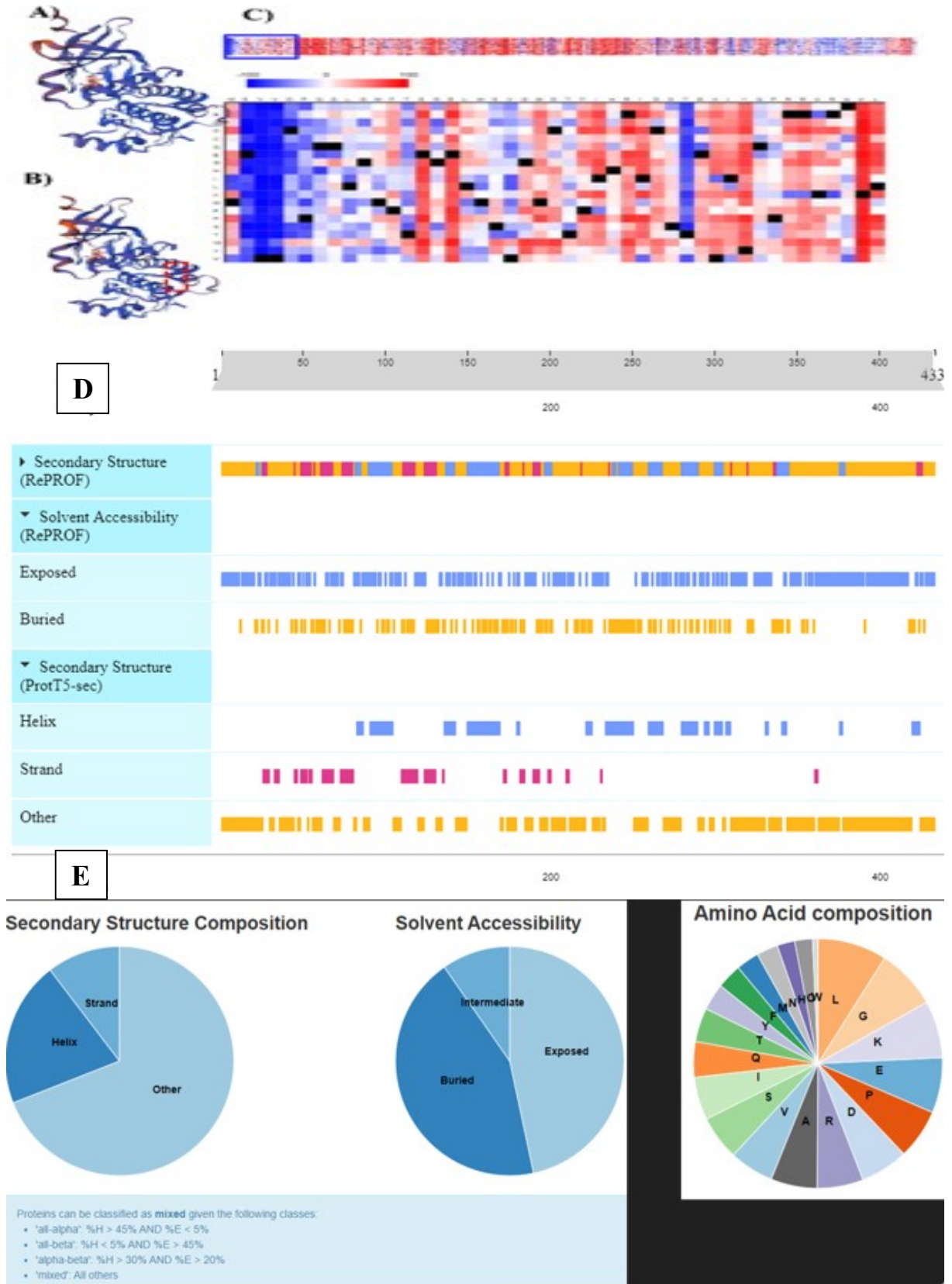
**Şekil-4.** Hasta 2 (mutasyon LRG311 c697C>T; chr10,89717672; HGVS c697C>T; HGVS pArg233Ter; dbSNP rs121909219, patogen)'e ait ikincil yapı değişimleri A) Yabanıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim



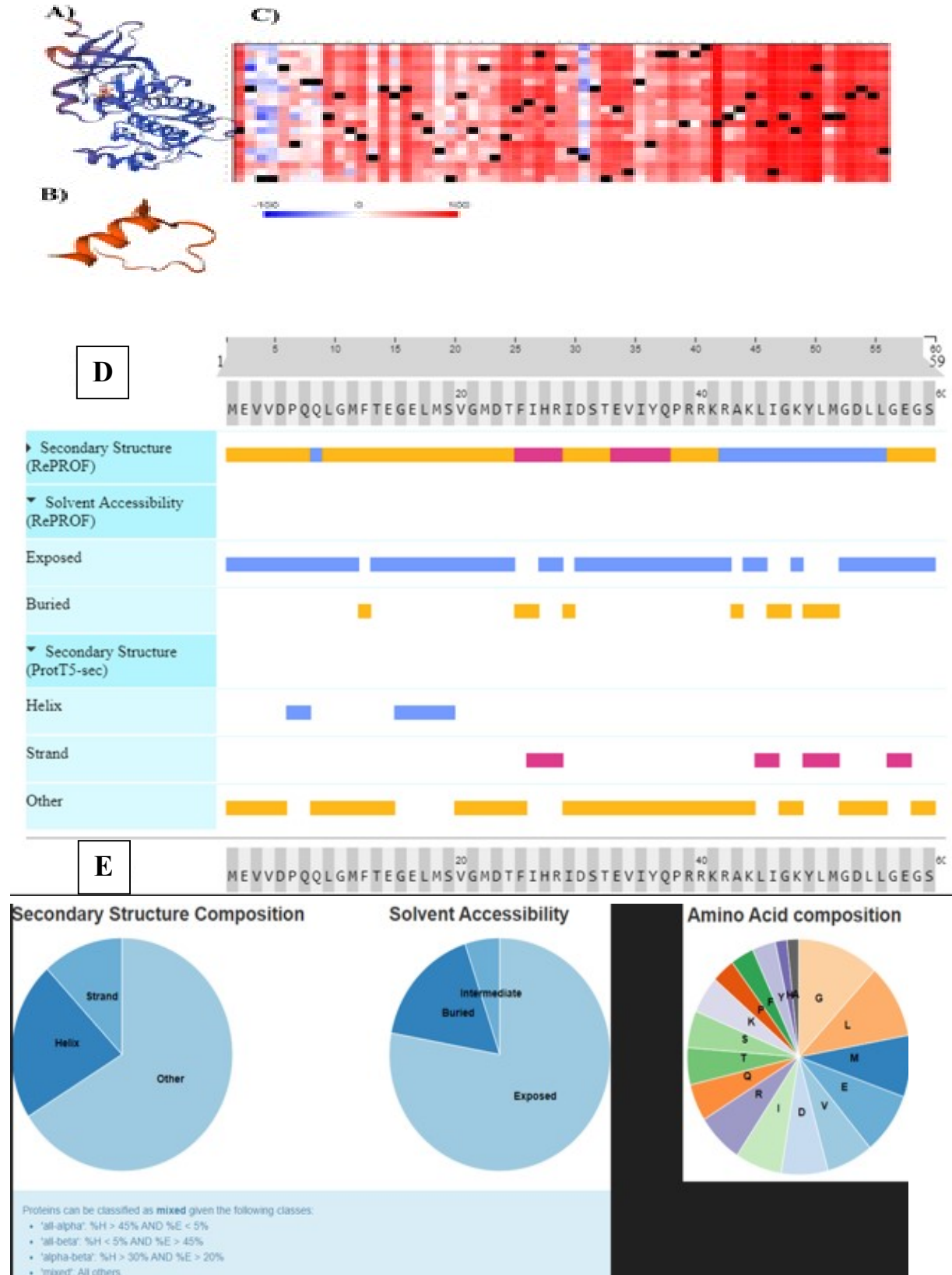
**Şekil-5.** Hasta 3 (mutasyon c708\_718del; chr19,1220686; HGVS c705\_715del; HGVS pAsp237GlyfsTer25; **novel**, likely patogen)'ya ilişkin ikincil yapı değişimleri A) Yabani tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötr ya da etkilendiğinin ısıharitası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim



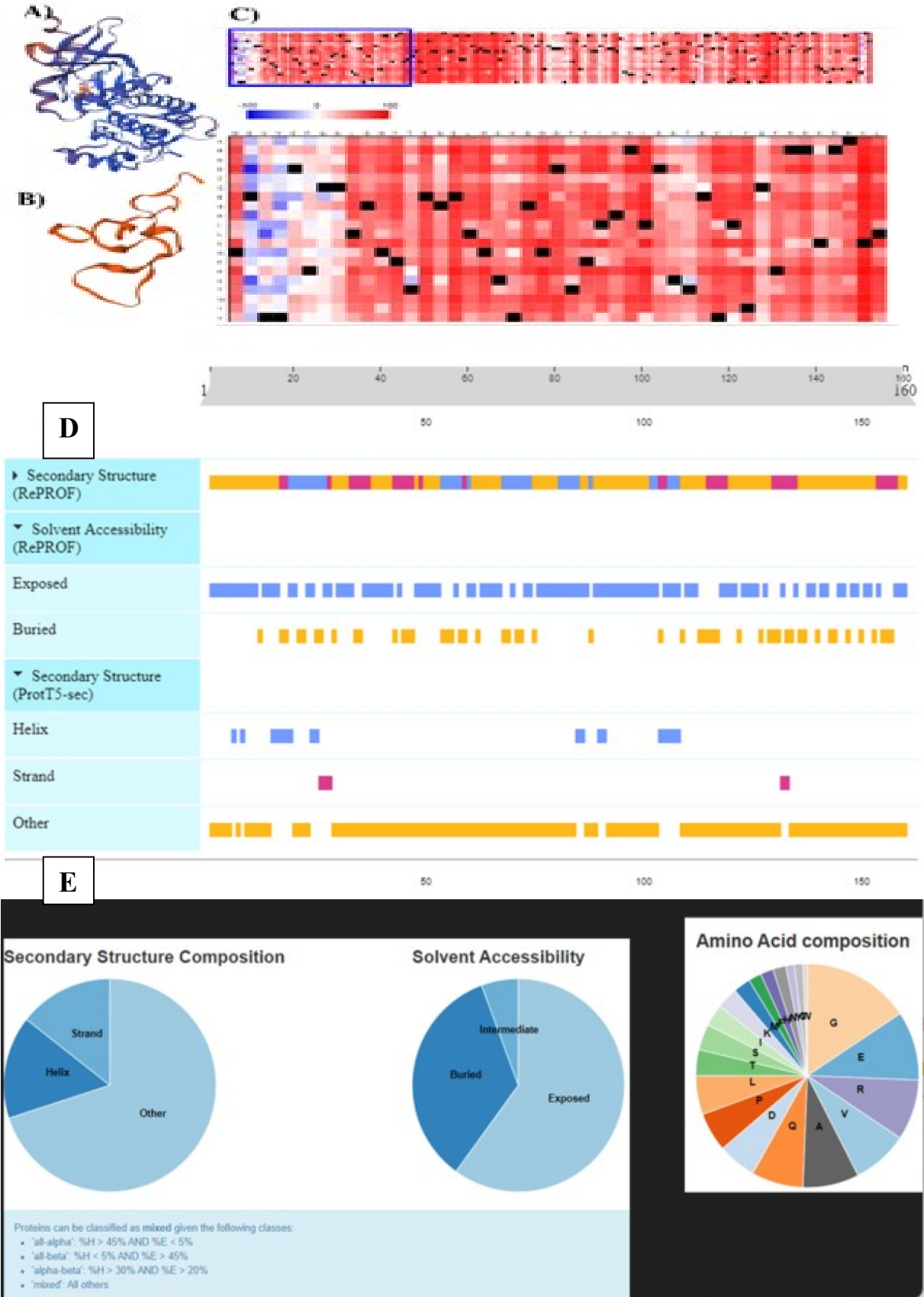
**Şekil-6.** Hasta 4 (mutasyon c719C>G; chr19,1220701; HGVS c719C>G; HGVS pSer240Trp; dbSNP rs730881976, likely pathogen)'ye ait ikincil yapı değişimleri A) Yabancıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzde değişim



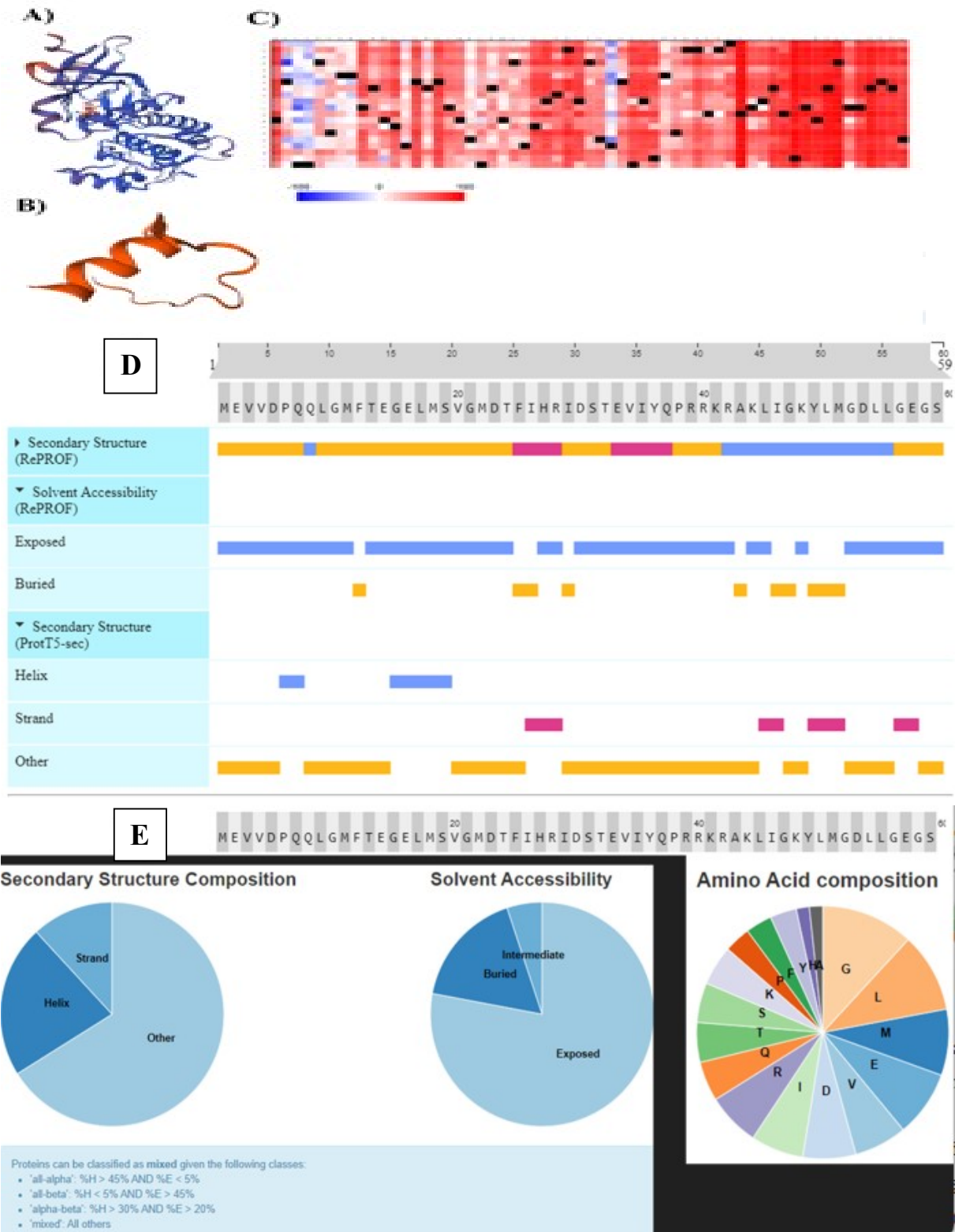
**Şekil-7.** Hasta 5 (mutasyon c908T>G; chr19,1221993; HGVS c908T>G; HGVS pIle303Ser; dbSNP rs727504171, likely patogen)'e ilişkin ikincil yapı değişimleri A) Yabani tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim



**Şekil-8.** Hasta 6-9 (mutation c180C>A; chr19,120;7092 HGVS c180C>A; HGVS pTry60Ter; dbSNP rs778376925, patojen)'ye ilişkin ikincil yapı değişimleri A) Yabanıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzde değişim



**Şekil-9.** Hasta 10 (mutation c146\_147del; chr19,1207057 HGVS c146\_147del; HGVS pTyr49SerfsTer113;novel, patogen)'ya ilişkin ikincil yapı değişimleri A) Yabani tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzde değişim



**Şekil-10.** Hasta 11 (mutasyon c180delC; chr19,1207093, HGVS c180delC; HGVS pTry60fs; dbSNP rs155735008, patojen)'e ait ikincil yapı değişimi A) Yabancıl tip, B) mutant protein, C) mutasyona uğramış proteinin nötral ya da etkilendiğinin ısı haritası, D) ikincil yapıdaki yapısal değişim, E) aminoasitlerde yüzdece değişim

Hastalarda gösterilen yapısal değişimler çerçevesinde *STK11*'de meydana gelen pLys84ter mutasyonu sonucunda Lösin, Lizin aminoasitlerinde yüzdece artış olmuştur (Şekil-3). pArg233Ter mutasyonu sonucunda yüzdece en fazla bulunan aminoasit Lösin'dir (Şekil-4). pAsp237GlyfsTer25 mutasyonu, proteinin ikincil yapısını yüzdece en fazla Lösin aminoasiti olması, ardından yüzdece en fazla Glisin, Valin, Lizin aminoasitlerinde bolluğa sebep olmasıyla etkilemiştir (Şekil-5). Nokta mutasyonu olan pSer240Trp mutasyonu olması durumunda proteinin ikincil yapısında en çok bulunan aminoasit Lösindir (Şekil-6). Yine bir nokta mutasyonu olan pIle303Ser mutasyonunda, proteinin sekonder yapısında en çok bulunan aminoasit yine Lösin'dir (Şekil-7). Bununla birlikte pTry60Ter mutasyonu sonucunda proteinin yapısında yüzdece en fazla bulunan aminoasit Glisin'dir (Şekil-8). Yeni bir mutasyon olan pTyr49SerfsTer113 mutasyonu sonucunda yüzdece en çok bulunan aminoasit Glisin olmuştur (Şekil-9). Çerçeve kayması mutasyonu olan pTry60fs mutasyonu sonucunda en çok bulunan aminoasit yine Glisin'dir (Şekil-10).

#### 4.2. Fonksiyonel analizler

Mutasyona bağlı olarak fonksiyonel değişimleri göstermek için FFPredtool kullanılmıştır. Buna göre hasta 1'de gözlenen mutasyonun protein biyolojik sürece en çok metabolik sürecin düzenlenmesinde (olasılık:0.940), metabolik fonksiyona en çok nükleik asitin bağlanması (olasılık:0.946) ve hücrenel komponent olarak da en çok membranda (olasılık 0.776) görev aldığı görülmektedir (Şekil-11). Hasta 2'de gözlenen mutasyon protein biyolojik sürece en çok fosfat-içeren bileşik metabolik sürecinde (olasılık:0.894), metabolik fonksiyon olarak en çok katalitik aktivitede (olasılık:0.889) ve hücrenel bileşen olarak da en çok mitokondrionda (olasılık 0.922) görev aldığı bulunmuştur (Şekil-12). Hasta 3'te gözlenen mutasyon protein biyolojik sürece en çok RNA splicing sürecinde (olasılık:0.817), metabolik fonksiyon olarak en çok nükleik asit bağlanması (olasılık:0.939) ve hücrenel bileşen olarak da en çok mitokondrionda (olasılık 0.819) görev aldığı bulunmuştur (Şekil-13).Hasta 4'te gözlenen mutasyon protein biyolojik sürece en çok fosfat-içeren bileşik metabolik süreçte (olasılık:0.769), metabolik fonksiyon olarak en çok adenil nükleotid bağlanması (olasılık:0.962) ve hücrenel bileşen olarak da en çok çekirdekte (olasılık 0.753) görev aldığı bulunmuştur (Şekil-14).Hasta 5'te gözlenen mutasyon protein biyolojik sürece en çok splayozom aracılı mRNA splicingde (olasılık:0.691), metabolik fonksiyon olarak en çok katalitik aktivitede (olasılık:0.954) ve hücrenel bileşen olarak da en çok mitokondrionda (olasılık 0.770) görev aldığı bulunmuştur (Şekil-15).Hasta 6-9'da gözlenen mutasyon protein biyolojik sürece en çok metabolik sürecin düzenlenmesinde (olasılık:0.975), metabolik

fonksiyon olarak en çok nükleik asid bağlanmasında (olasılık:0.988) ve hücrenel bileşen olarak da en çok ekstraselüler vasküler eksozomda (olasılık 0.765) görev aldığı bulunmuştur (Şekil-16). Hasta 10'da gözlenen mutasyon protein biyolojik sürece en çok RNA splicing sürecinde (olasılık:0.945), metabolik fonksiyon olarak en çok nükleik asidin bağlanmasında (olasılık:0.951) ve hücrenel bileşen olarak da en çok nüklearbodide (olasılık 0.666) görev aldığı bulunmuştur (Şekil-17). Son olarak hasta 11'de gözlenen mutasyon protein biyolojik sürece en çok metabolik sürecin düzenlenmesinde (olasılık:0.971), metabolik fonksiyon olarak en çok nükleik asidin bağlanmasında (olasılık:0.981) ve hücrenel bileşen olarak da en çok hücre dışı veziküler eksozomda (olasılık 0.830) görev aldığı bulunmuştur (Şekil-18). Her bir mutasyonun hücrede işlevsel, yapısal ve bileşen olarak farklılanmalara sebep olduğu böylelikle belirlenmiştir. Mutasyonel durumlarda meydana gelen fonksiyon değişimine ilişkin bilgiler Şekil 11-18 arasında verilmiştir.

**A**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0019222	regulation of metabolic process	0.940	H
GO:0008380	RNA splicing	0.896	H
GO:0006810	transport	0.895	H
GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	0.872	H
GO:0006397	mRNA processing	0.841	H
GO:0007166	cell surface receptor signaling pathway	0.824	H
GO:0006413	translational initiation	0.816	H
GO:0051649	establishment of localization in cell	0.815	H
GO:0009059	macromolecule biosynthetic process	0.786	H
GO:2001141	regulation of RNA biosynthetic process	0.764	H

**B**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0003676	nucleic acid binding	0.946	H
GO:0005126	cytokine receptor binding	0.945	H
GO:0003735	structural constituent of ribosome	0.899	H
GO:0005125	cytokine activity	0.850	H
GO:0008092	cytoskeletal protein binding	0.840	H
GO:0000166	nucleotide binding	0.824	H
GO:0016301	kinase activity	0.798	H
GO:0044822	poly(A) RNA binding	0.793	H
GO:0003677	DNA binding	0.778	H
GO:0003723	RNA binding	0.768	H

**C**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0016020	membrane	0.776	H
GO:0005730	nucleolus	0.747	H
GO:0005576	extracellular region	0.739	H
GO:0030529	ribonucleoprotein complex	0.724	H
GO:0031982	vesicle	0.647	H
GO:0071944	cell periphery	0.635	H
GO:0005886	plasma membrane	0.629	H
GO:0005615	extracellular space	0.572	H
GO:0031988	membrane-bounded vesicle	0.535	H
GO:0031966	mitochondrial membrane	0.529	H

**Şekil-11.** Hasta 1 (mutasyon c250A>T; chr19,1207162; HGVS c250A>T; HGVSp pLys84ter; dbSNP rs137853076, patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücrenel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**A**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0006796	phosphate-containing compound metabolic process	0.894	H
GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	0.879	H
GO:0006810	transport	0.824	H
GO:0045184	establishment of protein localization	0.812	H
GO:0006412	translation	0.809	H
GO:0019222	regulation of metabolic process	0.790	H
GO:0009059	macromolecule biosynthetic process	0.777	H
GO:0051171	regulation of nitrogen compound metabolic process	0.751	H
GO:0055086	nucleobase-containing small molecule metabolic process	0.731	H
GO:0008380	RNA splicing	0.720	H

**B**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0003824	catalytic activity	0.889	H
GO:0000166	nucleotide binding	0.795	H
GO:0005198	structural molecule activity	0.790	H
GO:0003676	nucleic acid binding	0.786	H
GO:0030554	adenyl nucleotide binding	0.784	H
GO:0008092	cytoskeletal protein binding	0.763	H
GO:0003723	RNA binding	0.751	H
GO:0001883	purine nucleoside binding	0.728	H
GO:0035639	purine ribonucleoside triphosphate binding	0.676	H
GO:0017076	purine nucleotide binding	0.654	H

**C**

GO term	Name	Prob	Reliability
GO:0005739	mitochondrion	0.922	H
GO:0005576	extracellular region	0.831	H
GO:0031966	mitochondrial membrane	0.828	H
GO:0005840	ribosome	0.802	H
GO:0031982	vesicle	0.767	H
GO:0005740	mitochondrial envelope	0.750	H
GO:0016020	membrane	0.661	H
GO:0031988	membrane-bounded vesicle	0.648	H
GO:0030529	ribonucleoprotein complex	0.586	H
GO:0005730	nucleolus	0.579	H

**Şekil-12.** Hasta 2 (mutasyon LRG311 c697C>T; chr10,89717672; HGVS c697C>T; HGVS pArg233Ter; dbSNP rs121909219, patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücresel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**A**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0008380	RNA splicing	0.817	H
GO:0009059	macromolecule biosynthetic process	0.797	H
GO:0006796	phosphate-containing compound metabolic process	0.776	H
GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	0.731	H
GO:0000398	mRNA splicing, via spliceosome	0.723	H
GO:0000375	RNA splicing, via transesterification reactions	0.669	H
GO:0006468	protein phosphorylation	0.647	H
GO:0006396	RNA processing	0.645	H
GO:0019222	regulation of metabolic process	0.640	H
GO:0051171	regulation of nitrogen compound metabolic process	0.635	H

**B**

GO term	Name	Prob	Reliability
GO:0003676	nucleic acid binding	0.939	H
GO:0000166	nucleotide binding	0.913	H
GO:0003824	catalytic activity	0.854	H
GO:0017076	purine nucleotide binding	0.847	H
GO:0001883	purine nucleoside binding	0.837	H
GO:0035639	purine ribonucleoside triphosphate binding	0.830	H
GO:0030554	adenyl nucleotide binding	0.830	H
GO:0001882	nucleoside binding	0.795	H
GO:0032549	ribonucleoside binding	0.771	H
GO:0004672	protein kinase activity	0.760	H

**C**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0005739	mitochondrion	0.819	H
GO:0005730	nucleolus	0.798	H
GO:0031966	mitochondrial membrane	0.709	H
GO:0016020	membrane	0.699	H
GO:0043229	intracellular organelle	0.959	L
GO:0043231	intracellular membrane-bounded organelle	0.906	L
GO:0005737	cytoplasm	0.902	L
GO:0031981	nuclear lumen	0.803	L
GO:0005634	nucleus	0.795	L
GO:0005829	cytosol	0.748	L

**Şekil-13.** Hasta 3 (mutasyon c708\_718del; chr19,1220686; HGVSc c705\_715del; HGVSp pAsp237GlyfsTer25; **novel**, likely patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik proses, B) moleküler fonksiyon ve C) hücresel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**A**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0006796	phosphate-containing compound metabolic process	0.769	H
GO:0019222	regulation of metabolic process	0.754	H
GO:0000398	mRNA splicing, via spliceosome	0.753	H
GO:0006468	protein phosphorylation	0.714	H
GO:0051171	regulation of nitrogen compound metabolic process	0.670	H
GO:0006810	transport	0.653	H
GO:2001141	regulation of RNA biosynthetic process	0.632	H
GO:0008380	RNA splicing	0.619	H
GO:0051641	cellular localization	0.608	H
GO:0046777	protein autophosphorylation	0.577	H

**B**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0030554	adenyl nucleotide binding	0.962	H
GO:0000166	nucleotide binding	0.957	H
GO:0003824	catalytic activity	0.952	H
GO:0016773	phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor	0.931	H
GO:0032549	ribonucleoside binding	0.897	H
GO:0001883	purine nucleoside binding	0.897	H
GO:0003676	nucleic acid binding	0.892	H
GO:0017076	purine nucleotide binding	0.889	H
GO:0035639	purine ribonucleoside triphosphate binding	0.871	H
GO:0001882	nucleoside binding	0.869	H

**C**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0005730	nucleolus	0.753	H
GO:0005739	mitochondrion	0.738	H
GO:0016020	membrane	0.507	H
GO:0043229	intracellular organelle	0.942	L
GO:0043231	intracellular membrane-bounded organelle	0.901	L
GO:0005737	cytoplasm	0.883	L
GO:0005634	nucleus	0.813	L
GO:0031981	nuclear lumen	0.800	L
GO:0005829	cytosol	0.743	L
GO:0005654	nucleoplasm	0.724	L

**Şekil-14.** Hasta 4 (mutasyon c719C>G; chr19,1220701; HGVS c719C>G; HGVSp pSer240Trp; dbSNP rs730881976, likely patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hüresel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**A**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:000398	mRNA splicing, via spliceosome	0.691	H
GO:0019222	regulation of metabolic process	0.675	H
GO:0006796	phosphate-containing compound metabolic process	0.604	H
GO:0006810	transport	0.572	H
GO:0051641	cellular localization	0.565	H
GO:0051171	regulation of nitrogen compound metabolic process	0.564	H
GO:2001141	regulation of RNA biosynthetic process	0.539	H
GO:0006468	protein phosphorylation	0.527	H
GO:0044237	cellular metabolic process	0.936	L
GO:0008152	metabolic process	0.891	L

**B**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0003824	catalytic activity	0.954	H
GO:0030554	adenyl nucleotide binding	0.948	H
GO:0000166	nucleotide binding	0.887	H
GO:0032549	ribonucleoside binding	0.841	H
GO:0016773	phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor	0.820	H
GO:0003676	nucleic acid binding	0.818	H
GO:0001883	purine nucleoside binding	0.812	H
GO:0017076	purine nucleotide binding	0.810	H
GO:0035639	purine ribonucleoside triphosphate binding	0.801	H
GO:0001882	nucleoside binding	0.775	H

**C**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0005739	mitochondrion	0.770	H
GO:0005730	nucleolus	0.732	H
GO:0031966	mitochondrial membrane	0.558	H
GO:0016020	membrane	0.524	H
GO:0043229	intracellular organelle	0.940	L
GO:0005737	cytoplasm	0.906	L
GO:0043231	intracellular membrane-bounded organelle	0.900	L
GO:0005634	nucleus	0.807	L
GO:0031981	nuclear lumen	0.783	L
GO:0005829	cytosol	0.750	L

**Şekil-15.** Hasta 5 (mutation c908T>G; chr19,1221993; HGVS c908T>G; HGVS p1le303Ser; dbSNP rs727504171, likely pathogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik proses, B) moleküler fonksiyon ve C) hücresel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**A**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0019222	regulation of metabolic process	0.975	H
GO:0010468	regulation of gene expression	0.919	H
GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	0.917	H
GO:0006810	transport	0.909	H
GO:1903506	regulation of nucleic acid-templated transcription	0.885	H
GO:2001141	regulation of RNA biosynthetic process	0.884	H
GO:0009059	macromolecule biosynthetic process	0.874	H
GO:0051171	regulation of nitrogen compound metabolic process	0.872	H
GO:0006396	RNA processing	0.865	H
GO:0008380	RNA splicing	0.838	H

**B**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0003676	nucleic acid binding	0.988	H
GO:0005198	structural molecule activity	0.978	H
GO:0032549	ribonucleoside binding	0.966	H
GO:0003824	catalytic activity	0.958	H
GO:0001882	nucleoside binding	0.938	H
GO:0005524	ATP binding	0.932	H
GO:0001883	purine nucleoside binding	0.921	H
GO:0000166	nucleotide binding	0.908	H
GO:0003677	DNA binding	0.892	H
GO:0017076	purine nucleotide binding	0.888	H

**C**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0070062	extracellular vesicular exosome	0.765	H
GO:0005576	extracellular region	0.732	H
GO:0016020	membrane	0.721	H
GO:0030529	ribonucleoprotein complex	0.609	H
GO:0031982	vesicle	0.549	H
GO:0071944	cell periphery	0.508	H
GO:0043229	intracellular organelle	0.973	L
GO:0005737	cytoplasm	0.919	L
GO:0043231	intracellular membrane-bounded organelle	0.906	L
GO:0031981	nuclear lumen	0.833	L

**Şekil-16.** Hasta 6-9 (mutasyon c180C>A; chr19,120;7092 HGVS c180C>A; HGVS pTry60Ter; dbSNP rs778376925, patojen için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücresel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**A**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0008380	RNA splicing	0.945	H
GO:0019222	regulation of metabolic process	0.933	H
GO:2001141	regulation of RNA biosynthetic process	0.926	H
GO:1903506	regulation of nucleic acid-templated transcription	0.911	H
GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	0.908	H
GO:0051171	regulation of nitrogen compound metabolic process	0.900	H
GO:0006355	regulation of transcription, DNA-templated	0.895	H
GO:0051252	regulation of RNA metabolic process	0.891	H
GO:0010468	regulation of gene expression	0.889	H
GO:0000398	mRNA splicing, via spliceosome	0.878	H

**B**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0003676	nucleic acid binding	0.951	H
GO:0000166	nucleotide binding	0.925	H
GO:0003824	catalytic activity	0.845	H
GO:0008092	cytoskeletal protein binding	0.833	H
GO:0003677	DNA binding	0.779	H
GO:0016817	hydrolase activity, acting on acid anhydrides	0.732	H
GO:0003723	RNA binding	0.719	H
GO:0044822	poly(A) RNA binding	0.718	H
GO:0003779	actin binding	0.710	H
GO:0016740	transferase activity	0.656	H

**C**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0016604	nuclear body	0.666	H
GO:0005739	mitochondrion	0.666	H
GO:0030529	ribonucleoprotein complex	0.666	H
GO:0005730	nucleolus	0.628	H
GO:0070062	extracellular vesicular exosome	0.616	H
GO:0016020	membrane	0.574	H
GO:0031090	organelle membrane	0.500	H
GO:0043229	intracellular organelle	0.958	L
GO:0043231	intracellular membrane-bounded organelle	0.915	L
GO:0005737	cytoplasm	0.900	L

**Şekil-17.** Hasta 10 (mutasyon c146\_147del; chr19,1207057 HGVS c146\_147del; HGVSp pTyr49SerfsTer113; novel, patogen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücresel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

**A**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0019222	regulation of metabolic process	0.971	H
GO:0034645	cellular macromolecule biosynthetic process	0.962	H
GO:0043624	cellular protein complex disassembly	0.942	H
GO:0006810	transport	0.901	H
GO:0010468	regulation of gene expression	0.858	H
GO:2001141	regulation of RNA biosynthetic process	0.851	H
GO:0009059	macromolecule biosynthetic process	0.832	H
GO:0051171	regulation of nitrogen compound metabolic process	0.832	H
GO:1903506	regulation of nucleic acid-templated transcription	0.832	H
GO:0006413	translational initiation	0.829	H

**B**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0003676	nucleic acid binding	0.981	H
GO:0001882	nucleoside binding	0.956	H
GO:0032549	ribonucleoside binding	0.955	H
GO:0003677	DNA binding	0.933	H
GO:0001883	purine nucleoside binding	0.926	H
GO:0005524	ATP binding	0.924	H
GO:0003824	catalytic activity	0.923	H
GO:0017076	purine nucleotide binding	0.923	H
GO:0000166	nucleotide binding	0.896	H
GO:0005198	structural molecule activity	0.890	H

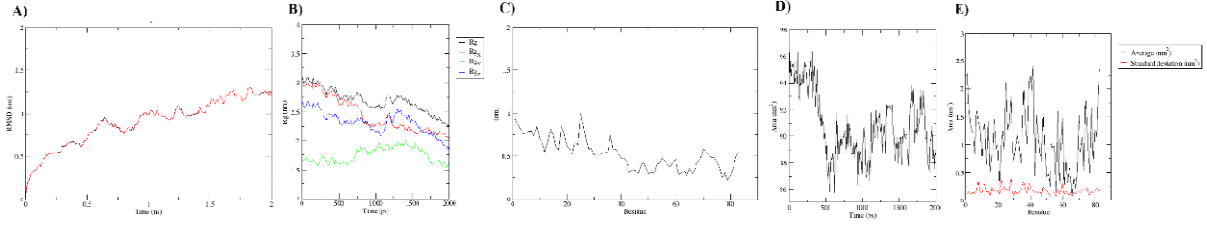
**C**

GO term	Name	Prob	SVM Reliability
GO:0070062	extracellular vesicular exosome	0.830	H
GO:0016020	membrane	0.771	H
GO:0031090	organelle membrane	0.711	H
GO:0031982	vesicle	0.640	H
GO:0005576	extracellular region	0.633	H
GO:0005840	ribosome	0.616	H
GO:0005886	plasma membrane	0.568	H
GO:0071944	cell periphery	0.518	H
GO:0043229	intracellular organelle	0.959	L
GO:0005737	cytoplasm	0.921	L

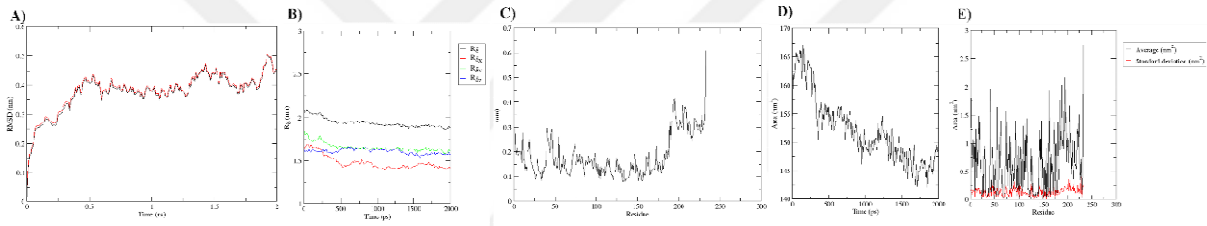
**Şekil-18.** Hasta 11 (mutasyon c180delC; chr19,1207093, HGVSc c180delC; HGVSp pTry60fs;dbSNP rs155735008, patojen) için fonksiyon değişimi A) biyolojik süreç, B) moleküler fonksiyon ve C) hücrenel bileşen (en iyi ilk 10 bilgi verilmiştir).

### 4.3. Moleküler dinamik analizler

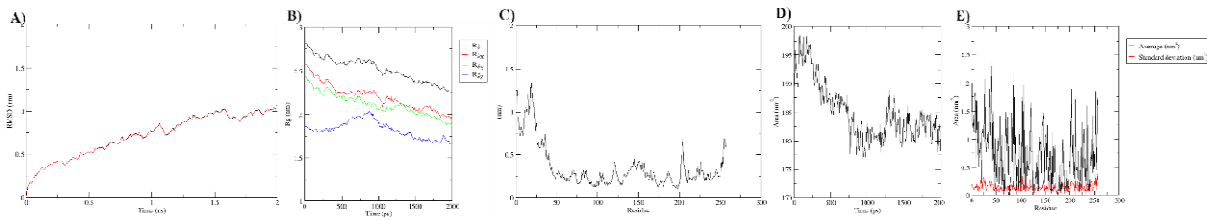
Bir mutasyonun proteinin stabilitesi ve rezidüler üzerine etkisini değerlendirmek için moleküler dinamik çalışmalar yapılmıştır. *STK11* geninde farklı mutasyonlara sahip hastaların moleküler dinamik çalışmalarına ait bilgiler Şekil 19-26 arasında verilmiştir.



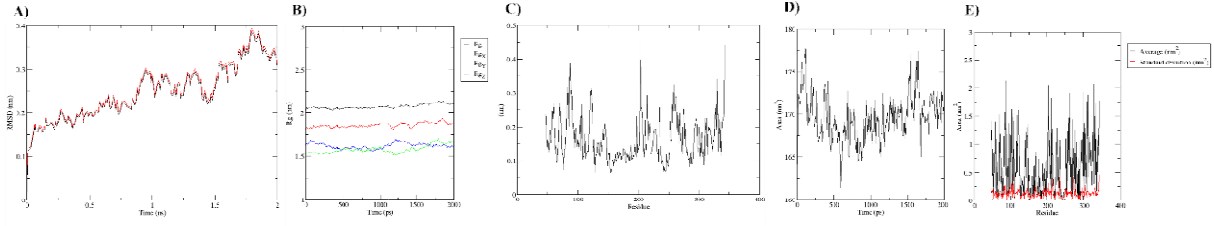
**Şekil-19.** K84Ter mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü



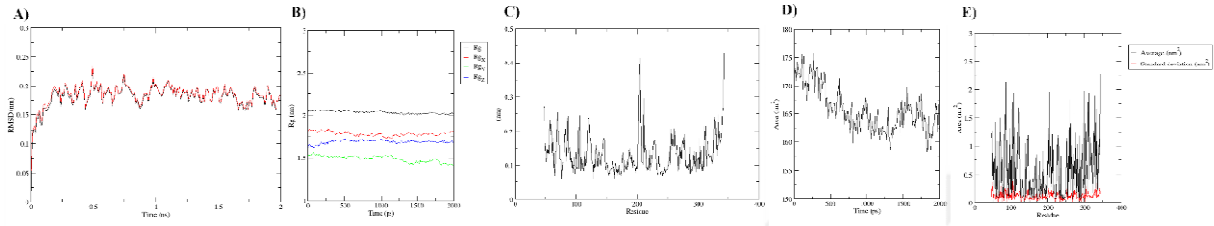
**Şekil-20.** R233Ter mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü



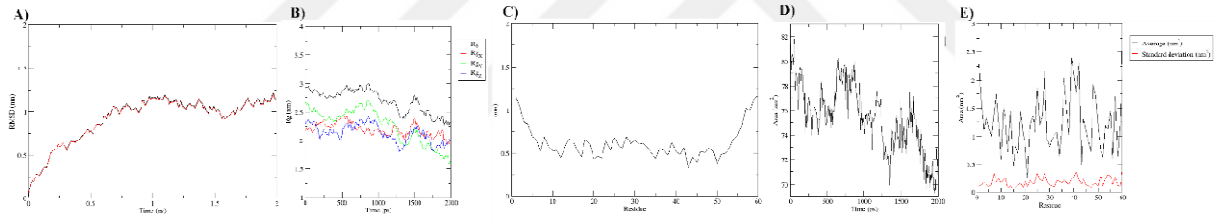
**Şekil-21.** D237Gfs\*25 mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü



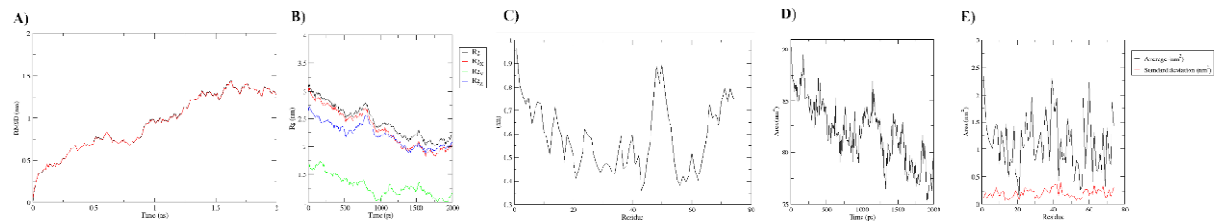
**Şekil-22.** S240W mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü



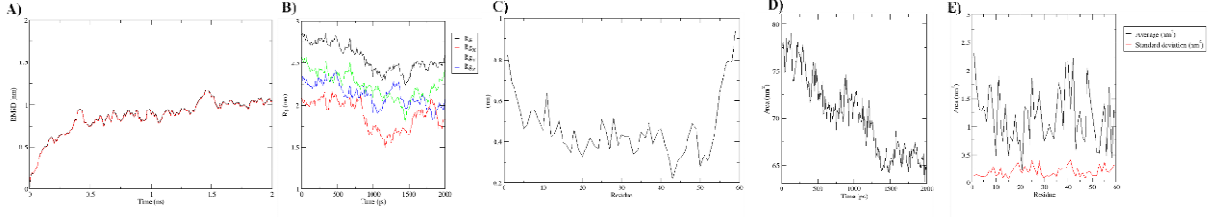
**Şekil-23.** I303S mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü



**Şekil-24.** Y60\* mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü



**Şekil-25.** Y49Sfs\*113 mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü



**Şekil-26.** Y60fs mutasyonunun moleküler dinamik analizi A) RMSD, B)Rg, C) RMSF rezidü, D) SASA ve E) SAS rezidü

#### 4.4. Peutz-Jeghers Sendromlu Hastalarının Klinik ve Genetik Özellikleri

Bu çalışmaya Ocak 2011 ve Nisan 2021 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji ve Çocuk Gastroenterolojisi Kliniklerinde takip edilen PJS tanısı için WHO tanı kriterlerinden en az birini karşılayan ve moleküler genetik tetkikleri tamamlanmış *STK11* geni ekzon bölgesinde mutasyonu olan 11 hasta alınmıştır. Bu 11 hastanın dördü aynı aileden ve aynı mutasyona sahiptir. Bu nedenle toplamda 8 adet *in-silico* analiz yapılmıştır. Hastaların klinik özellikleri ve demografik özellikleri tablo 6-7’de genetik özellikleri ise tablo 8’de verilmiştir.

**Tablo 6 .Olguların demografik ve klinik özellikleri ( 6-7-8-9) numaralı hastalar aynı aileden olup, aynı genetik mutasyonu taşımaktadırlar.)**

Olgu No	Yaş	Cinsiyet	İlk Semptom	Semptom Başlangıç Yaşı	Mukokütanöz Pigmente Lezyon	Aile Öyküsü	Karşıladığı Kriter Sayısı
1	37	Kadın	Anemi	33	Dudak içi mukozada hiperpigmentasyon, sol elde maküler lezyon, sağ burun kanadında papüler lezyon	Kardeş	3
2	25	Kadın	Karın Ağrısı	20	Yok	Yok	1
3	29	Erkek	Rektal Kanama	25	Yok	Yok	1
4	41	Kadın	Karın Ağrısı	40	Dudakta	Oğlu,baba,amca,kuzen	3
5	36	Erkek	İnvajinasyon	9	Alt dudakta	Kardeş,kuzen	3
6	21	Erkek	İnvajinasyon	14	Dudak ve bukkal mukozada	Anne, kardeşlerde	3
7	19	Kadın	Karın Ağrısı	7	Dudak ve bukkal mukozada	Anne ve kardeşlerinde	3
8	43	Kadın	İnvajinasyon	20	Dudak ve bukkal mukozada	Çocuklarında	3
9	8	Erkek	Rektal Prolapsus	2	Dudak ve bukkal mukozada	Anne ve kardeşlerinde	3
10	13	Erkek	Rektal Prolapsus	1	Dudak Kenarında (vermillon)	Anneannesinde	3
11	53	Erkek	Karın Ağrısı	38	Dudakta	Yok	2

**Tablo 7.**Olguların klinik özellikleri ( 6-7-8-9 numaralı hastalar aynı aileden olup, aynı genetik mutasyonu taşımaktadırlar.)

<b>Olgu No</b>	<b>Gastrik Polip Yüğü</b>	<b>Maksimum Gastrik Polip Çapı(mm)</b>	<b>Duodenum ve İnce Bağırsak Polip Yüğü</b>	<b>Maksimum Duodenum ve İnce Bağırsak Çapı(mm)</b>	<b>Kolorektal Polip Yüğü</b>	<b>Maksimum Kolorektal Polip Çapı(mm)</b>	<b>Malignite</b>	<b>Survival Durumu</b>
1	0	0	1-10	25	1-10	50	Meme invaziv duktal karsinom	Yaşıyor
2	10-20	2	90-100	5	90-100	4	Yok	Yaşıyor
3	1-10	3	20-30	70	1-10	5	Yok	Yaşıyor
4	0	0	10-20	30	40-50	40	Metastatik Müsinöz over ca	Ex,2019
5	0	0	20-30	4	1-10	25	Displastik Polip	Yaşıyor
6	1-10	2	10-20	25	0	0	Polip Zeminde Gelişmiş Adenokarsinom	Yaşıyor
7	40-50	2	1-10	5	1-10	6	Yok	Yaşıyor
8	1-10	2	1-10	30	1-10	4	Displastik Polip	Yaşıyor
9	1-10	10	0	0	10-20	20	Yok	Yaşıyor
10	1-10	3	1-10	5	0	0	Displastik Polip	Yaşıyor
11	0	0	30-40	30	0	0	Yok	Yaşıyor

**Tablo 8.** Olguların genetik analiz sonuçları

Olgu No	Mutasyon	Gen Sembol	Kromozom ve Pozisyonu	HGVSc	HGVSp	dbSNP	ACMG Sınıflama	Zigosite	Ek Bulgular	Mutasyon Tipi	Domain
1	LRG_31 9:c.250A >T	<i>STK11</i>	chr19:1207 162 (Exon 1)	ENST00000326 873.7 c.250A>T	ENSP0000 0324856.6 p.Lys84Ter	rs137853 076	Patojenik	HET		Stop(K84*)	Domain II
2	LRG_31 1:c.697C >T	<i>PTEN</i>	chr10:8971 7672 (Exon 7)	ENST00000371 953.3 c.697C>T	ENSP0000 0361021.3 p.Arg233Ter	rs121909 219	Patojenik	HET		Stop(R233*)	
3	LRG_31 9:c.708_718del	<i>STK11</i>	chr19:1220 686 (Exon 5)	ENST00000326 873.7 c.705_715delG GTGGACATCT	ENSP0000 0324856.6 p.Asp237GlyfsTer25	NOVEL	Olası Patojenik	Het		Çerçeve Kayması (KVDIW235-239KX)	Domain IX
4	LRG_31 9:c.719C >G	<i>STK11</i>	chr19:1220 701 (Exon 5)	ENST00000326 873.7 c.719C>G	ENSP0000 0324856.6 p.Ser240Trp	rs730881 976	Olası Patojenik	Het		Missense Variant (S240W)	Domain IX
5	LRG_31 9:c.908T >G	<i>STK11</i>	chr19:1221 993 (Exon 7)	ENST00000326 873.7 c.908T>G	ENSP0000 0324856.6 p.Ile303Ser	rs727504 171	Olası Patojenik	Het		Missense Variant (I303S)	Domain XI
6	LRG_31 9:c.180C >A	<i>STK11</i>	chr19:1207 092 (Exon 1)	ENST00000326 873.7 c.180C>A	ENSP0000 0324856.6 p.Tyr60Ter	rs778376 925	Patojenik	HET		Stop Gained (Y60*)	Domain I
7	LRG_31 9:c.180C >A	<i>STK11</i>	chr19:1207 092 (Exon 1)	ENST00000326 873.7 c.180C>A	ENSP0000 0324856.6 p.Tyr60Ter	rs778376 925	Patojenik	HET	Ek CHEK2 Mutasyonu	Stop Gained (Y60*)	Domain I
8	LRG_31 9:c.180C >A	<i>STK11</i>	chr19:1207 092 (Exon 1)	ENST00000326 873.7 c.180C>A	ENSP0000 0324856.6 p.Tyr60Ter	rs778376 925	Patojenik	HET		Stop Gained (Y60*)	Domain I
9	LRG_31 9:c.180C >A	<i>STK11</i>	chr19:1207 092 (Exon 1)	ENST00000326 873.7 c.180C>A	ENSP0000 0324856.6 p.Tyr60Ter	rs778376 925	Patojenik	HET	Ek CHEK2 Mutasyonu	Stop Gained (Y60*)	Domain I
10	LRG_31 9:c.146_147del	<i>STK11</i>	chr19:1207 057 (Exon 1)	ENST00000326 873.7 c.146_147del	ENSP0000 0324856.6 p.Tyr49SerfsTer113	NOVEL	Patojenik	HET	Ek MUTYH mutasyonu BRIP1 ve CHEK2 şüpheli varyantlar	Çerçeve Kayması (Y49Sfs*113)	Domain I
11	LRG_31 9:c.180delC	<i>STK11</i>	chr19:1207 093 (Exon 1)	ENST00000326 873.7 c.180delC	ENSP0000 0324856.6 p.Thy60Ter	rs155573 5008	Patojenik	HET		Stop Gained (Y60*)	Domain I

## 5.Tartışma

Günümüzde, *STK11* gen varyantlarının türü ve bölgesi ile kanser riski arasındaki ilişki net değildir. *STK11* mutasyonları olan 240 PJS hastasının geniş bir analizinde, missense ve truncating mutasyonları olan bireyler arasında veya ailesel ve sporadik vakalar arasında bir fark gözlenmemiştir [67]. Hollandalı PJS hastalarından oluşan başka bir kohortta, ortanca 49 yaşında Gİ kanalında %17 oranında primer malignite gelişmiştir, ancak bu çalışma *STK11'in* haplo insufficient fonksiyonu ile mutant P53'ün PJS ile ilişkili Gİ karsinogenezinde rol oynadığını göstermiştir [68]. PJS ile ilişkili kanser, oluşumunda ve gelişiminde gen-gen ve gen-çevre etkileşimlerinin rol oynadığı karmaşık bir hastalık olarak düşünülmelidir. P53, Cdc37, Hsp90 ve PTEN dahil olmak üzere çeşitli proteinler, mutasyona uğradığında veya kanser yolaklarında yer aldığı kanser sendromlarından sorumludur. Takip stratejileri, PJS hastalarında tümörlerin erken teşhisi için daha iyi bir seçenek olmaya devam etmektedir [69]. Bu nedenle hangi mutasyon tipinin nasıl bir fenotipe ve klinik gidişe neden olacağı halen tartışma konusudur. Günümüz tıbbında ise teknolojinin gelişmesi ile bireyselleştirilmiş hasta takibi ve tedavisi kavramları ön plana çıkmaktadır. Nadir bir hastalık olan PJS'de *in-silico* analiz yaparak hastaların bireysel takibi (hastanın hangi fenotipte seyredeceği) ve bireye özgü ilaç tedavisi geliştirilmesi mümkün olabilir. Bu amaçla tezimizde PJS tanılı 11 hastanın 8 adet mutasyonunun *in-silico* olarak protein yapının üç boyutlu değişimini ortaya koyarak, fonksiyonel ve moleküler dinamik analizini yaparak, mevcut analizleri hastaların klinik fenotipleri ile ilişkilendirildi.

Hastaların fonksiyonel analizi yapılmadan protein yapının üç boyutlu değişimine ve mutasyonun bulunduğu yere göre fonksiyon kaybı tahmini yapıldığında hasta 1'de katalitik bölgede kısmi kayıp ve proteinin c-terminal ucunda fonksiyon kaybı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca moleküler dinamik analizde sitoplazmada stabil olmayan bir *STK11* proteini olduğu görülmüştür. Bu nedenle bu hastada STK 11 proteinin işlevinde tamamen bir kayıp gelişmiş olabilir. Aynı zamanda bu hastanın *STK11'de* meydana gelen pLys84ter mutasyonu sonucunda lizin ve lösin aminoasitlerinde yüzdece artış olmuştur (**Şekil-3**). Lizin aminoasidi negatif yüklü olup lösin amino asidi de nötr yüklüdür. Bu nedenle mutant *STK11* proteinin net yükü negatifleşmiştir. Bu hastanın klinik incelemesinde hastanın 37 yaşında olduğu, 33 yaşında semptomlarının başladığı ve hastada meme invazif duktal karsinomu geliştiği görülmüştür. Buradan yola çıkarak protein stabilitesinin kaybolması malignite açısından ek bir risk faktörü doğurabilir.

Hasta 2'nin protein yapının üç boyutlu değişimine ve mutasyonun bulunduğu yere göre fonksiyon kaybı tahmini yapıldığında hastanın katalitik bölgede kısmi kayıp ve proteinin c-terminal ucunda tam fonksiyon kaybı olduğu düşünölmektedir. Hasta 2'de on numaralı kromozomda PTEN gen mutasyonu mevcuttur. On numaralı kromozomda silinmiş PTEN mutasyonu Wnt sinyal yolu ve P53 aracılığıyla hücre polaritesi, enerji metabolizması ve hücre büyümesiyle ilgili önemli hücresel süreçlerde bozukluk olduğu düşünölmüştür . Ayrıca moleküler dinamik analizde sitoplazmada proteinin stabil bir *STK11* proteini olduğu görölmüştür. Aynı zamanda bu hastanın *STK11*'de meydana gelen pArg233Ter mutasyonu sonucunda yüzdece en fazla bulunan aminoasit lösin'dir (**Şekil-4**). Lösin aminoasidi nötr yüklüdür. Bu nedenle mutant *STK11* proteinin net yükü nötr kalmıştır. Bu hastanın klinik incelemesinde hastanın 25 yaşında olduğu, 20 yaşında karın ağrısı ile semptomlarının başladığı ve hastada herhangi bir malignite gelişmeden takip edildiği görölmüştür. Aynı zamanda bu hasta hem duodenumda (90-100 polip) hem de kolonda (90-100 polip) en çok polip gelişen hastadır.

Hasta 3'ün protein yapının üç boyutlu değişimine ve mutasyonun bulunduğu yere göre fonksiyon kaybı tahmini yapıldığında hastanın kısmi katalitik bölge kaybı ve proteinin c-terminal ucunda kısmi fonksiyon kaybı olduğu düşünölmektedir. Ayrıca moleküler dinamik analizde sitoplazmada proteinin stabil olmayan bir *STK11* proteini olduğu görölmüştür. Aynı zamanda bu hastanın *STK11*'de meydana gelen pAsp237GlyfsTer25 mutasyonu, proteinin ikincil yapısını yüzdece en fazla glisin, valin, lisin aminoasitlerinde bolluğa sebep olmasıyla etkilemiştir (**Şekil-5**). Glisin ve valin aminoasidi nötr yüklüdür. Lisin aminoasidi negatif yüklüdür. Bu nedenle mutant *STK11* proteinin net yükü negatif kalmıştır. Bu hastanın klinik incelemesinde hastanın 29 yaşında olduğu, 25 yaşında rektal kanama ile semptomlarının başladığı ve hastada herhangi bir malignite gelişmeden takip edildiği görölmüştür.

Hasta 4'ün protein yapının üç boyutlu değişimine ve mutasyonun bulunduğu yere göre fonksiyon kaybı tahmini yapıldığında hastanın katalitik bölgede kısmi kayıp ve proteinin c-terminal ucunda kısmi fonksiyon kaybı olduğu düşünölmektedir. Ayrıca moleküler dinamik analizde sitoplazmada proteinin stabil bir *STK11* proteini olduğu görölmüştür. Aynı zamanda bu hastanın nokta mutasyonu olan pSer240Trp mutasyonu olması durumunda proteinin ikincil yapısında en çok bulunan aminoasit lösin'dir. (**Şekil-6**) Lösin aminoasidi nötr yüklüdür. Bu nedenle mutant *STK11* proteinin net yükü nötr kalmıştır. Bu hastanın klinik incelemesinde hastanın 41 yaşında metastatik müsinöz over kanserinden ex olduğu, 40 yaşında karın ağrısı ile semptomlarının başladığı ve 40 yaşına kadar herhangi bir malignite gelişmeden takip edildiği görölmüştür. Bu hastada semptomların geç başlamasının ve geç malignite tespitinin

nedeni katalitik bölge, c terminal uçta kısmi fonksiyon kaybı ve *STK11* proteinin stabil kalması olabilir.

Hasta 5'in protein yapının üç boyutlu değişimine ve mutasyonun bulunduğu yere göre fonksiyon kaybı tahmini yapıldığında hastanın katalitik bölgede kısmi kayıp ve proteinin c-terminal ucunda kısmi fonksiyon kaybı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca moleküler dinamik analizde sitoplazmada proteinin stabil bir *STK11* proteini olduğu görülmüştür. Yine bir nokta mutasyonu olan pIle303Ser mutasyonunda, proteinin sekonder yapısında en çok bulunan aminoasit yine lösin'dir (Şekil-7). Lösin aminoasidi nötr yüklüdür. Bu nedenle mutant *STK 11* proteinin net yükü nötr kalmıştır. Bu hastanın klinik incelemesinde hastanın 36 yaşında olduğu, 9 yaşında invajinasyon ile semptomlarının başladığı ve hastada herhangi bir malignite gelişmeden takip edildiği görülmüştür.

Hasta 6-9'un protein yapının üç boyutlu değişimine ve mutasyonun bulunduğu yere göre fonksiyon kaybı tahmini yapıldığında hastanın katalitik bölge de kısmi kaybı ve proteinin c-terminal ucunda tam fonksiyon kaybı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca moleküler dinamik analizde sitoplazmada proteinin stabil olmayan bir *STK11* proteini olduğu görülmüştür. Bununla birlikte pTry60Ter mutasyonu sonucunda proteinin yapısında yüzdece en fazla bulunan aminoasit glisin'dir (Şekil-8). Glisin aminoasidi nötr yüklüdür. Bu nedenle mutant *STK11* proteinin net yükü nötr kalmıştır. Bu dört hasta (hasta 6-7-8-9) aynı aileye mensuptur. Hastaların hiçbirinde malignite gelişmemekle birlikte hasta 6-7-8-9 sırasıyla invajinasyon - karın ağrısı - invajinasyon ve rektal prolapsus gibi gastrointestinal bulgularla tanı almışlardır. Aynı zamanda hasta 8 hariç çocukluk çağında tanı almışlardır. Hasta 8 ise 20 yaşında (genç yaşta) tanı almıştır. Bu nedenle stabil olmayan *STK11* proteini nedeni ile semptomlar erken yaşta oluşmuş ve aynı zamanda gastrointestinal semptomlar gelişmiş olabilir.

Hasta 10'nun protein yapının üç boyutlu değişimine ve mutasyonun bulunduğu yere göre fonksiyon kaybı tahmini yapıldığında hastanın katalitik bölge de kısmi kaybı ve proteinin c-terminal ucunda tam fonksiyon kaybı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca moleküler dinamik analizde sitoplazmada proteinin stabil bir *STK11* proteini olduğu görülmüştür. Aynı zamanda hastada yeni bir mutasyon olan pTyr49SerfsTer113 mutasyonu sonucunda yüzdece en çok bulunan aminoasit glisin olmuştur (Şekil-9). Glisin aminoasidi nötr yüklüdür. Bu nedenle mutant *STK11* proteinin net yükü nötr kalmıştır. Bu hastanın klinik incelemesinde hastanın 13 yaşında olduğu, 1 yaşında rektal prolapsus ile semptomlarının başladığı ve hastada herhangi bir malignite gelişmeden takip edildiği görülmüştür.

Hasta 11'in protein yapının üç boyutlu değişimine ve mutasyonun bulunduğu yere göre fonksiyon kaybı tahmini yapıldığında katalitik bölge de kısmi kaybı ve proteinin c-terminal ucunda tam fonksiyon kaybı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca moleküler dinamik analizde sitoplazmada proteinin stabil olmayan bir *STK11* proteini olduğu görülmüştür. Aynı zamanda bu Çerçeve kayması mutasyonu olan pTry60fs mutasyonu sonucunda en çok bulunan aminoasit yine glisin'dir (**Şekil-10**). Glisin aminoasidi nötr yüklüdür. Bu nedenle mutant *STK11* proteinin net yükü nötr kalmıştır. Bu hastanın klinik incelemesinde hastanın 53 yaşında olduğu, 38 yaşında karın ağrısı ile semptomlarının başladığı ve hastada herhangi bir malignite gelişmeden takip edildiği görülmüştür.

Hastaların mutasyonlarının fonksiyonel analizi ile klinik bulguları arasında ilişkilendirme yapıldığında GİS dışında malignite olarak meme kanseri gelişen hasta 1 ile over kanseri gelişen hasta 4 irdelenmiştir. Buna göre hasta 1'de gözlenen mutant protein biyolojik sürece en çok metabolik sürecin düzenlenmesinde (olasılık:0.940), hasta 4'te gözlenen mutant protein ise biyolojik sürece en çok fosfat-içeren bileşik metabolik süreçte (olasılık:0.769) ikinci sıklıkta metabolik sürecin düzenlenmesinde (olasılık:0.754) görev almaktadır. (**Şekil-11**). Malignite gelişen iki hastada da biyolojik süreçte en çok metabolik sürecin etkilenmesi nedeni ile, metabolik sürecin sekteye uğramasının, malignite riskinin artmasına neden olabileceğini düşündürmüştür. Nitekim Mohammed Bourouh ve arkadaşlarının LKB 1 proteinin metabolik süreçlerini irdelediği 2022 yılındaki çalışmasında malignite gelişen hastalarda özellikle kinaz bölgesinde ve metabolik sürecin diğer kısımlarında oluşan bozukluğun maligniteye yol açtığı belirtilmiştir(70). LKB 1'in fosforilleme bölgesi ve metabolik süreç ile ilişkili mutasyonun hücre bölünmesinin G1-S fazında p53 proteini sayesinde durmasını, glikoliz-sterol sentezi-lipid sentezi,protein ve ribozomal translasyon inhibisyonunu, otofajinin tetiklenmesini bozduğu belirtilmiştir. Bu nedenle PJS hastalarında *in-silico* analiz yaparak mutant proteinin fonksiyonel analizini yapmak, hangi PJS hastasında daha yüksek olasılıkla malignite gelişebileceğini öngördürebilir.

Bu iki hastada görünen mutant proteinler de metabolik fonksiyona en çok hasta 1'de nükleik asit bağlanmasında (olasılık:0.946) hasta 4'te en çok adenil nükleotid bağlanmasında (olasılık:0.962) ikinci sıklıkla nükleik asit bağlanmasında görev aldığı görülmektedir (**Şekil-11 ve Şekil 14**). Buradan yola çıkarak her iki hastada da nükleik asit bağlanmasında sorun olduğu görülmektedir. Bu nedenle nükleik asit bağlanmasında herhangi bir sorun olması malignite riskini arttırabilir. Bu iki hastada görünen mutant proteinler hücresel bileşen olarak en sık nerede görev aldığına bakıldığında hasta 1'de membran proteinin (olasılık

0.776) etkilenmiş nükleolus (çekirdek) ikinci sıklıkla (olasılık 0.747) etkilenmiştir (**Şekil-11**). Hasta 4'te ise en sık nükleolus (olasılık 0.753) kısmı ikinci sıklıkla mitokondri (olasılık 0.738) üçüncü sıklıkta hücre membranı (olasılık 0.507) etkilenmiştir (**Şekil-14**). Bu nedenle nükleolus ve membran yapısında görev alan proteinde mutasyon olması malignite gelişimine katkıda bulunabilir.

Hasta 1 ve hasta 4'ün en sık bozukluk olan tüm biyolojik süreçleri ortak olarak değerlendirildiğinde RNA splicing (hasta 4'te spliceosome aracılı m RNA splicing'te olmak üzere), RNA'nın biosentetik olarak düzenlenmesinde ve transport sürecinin ortak olarak etkilenmesi bu süreçlerin malignite gelişimini kolaylaştırdığını düşündürmektedir.

Hasta 1 ve hasta 4'ün en sık bozukluk olan metabolik fonksiyon süreçleri ortak olarak değerlendirildiğinde nükleik asit bağlama, nükleotid bağlama sürecinin ortak olarak etkilenmesi bu süreçlerin malignite gelişimini kolaylaştırdığını düşündürmektedir.

Displastik polip zemininde adenokanser gelişen hasta 6'nın fonksiyonel analizine bakıldığında (6-7-8-9 numaralı hastalar aynı aileden olup, aynı genetik mutasyonu taşımaktadırlar.) yine biyolojik sürece en çok metabolik sürecin düzenlenmesinde (olasılık:0.975), metabolik fonksiyon olarak en çok nükleik asid bağlanmasında (olasılık:0.988) ve hücrenel bileşen olarak da en çok ekstraselüler vasküler eksozomda (olasılık 0.765) görev aldığı bulunmuştur (**Şekil-16**). GİS dışı malignite gelişiminde olduğu gibi adenokanser gelişen hastada da biyolojik süreçte yine en sık metabolik sürecin düzenlenmesi, metabolik fonksiyon olarak da yine en çok nükleik asid bağlanması etkilenmiştir.

Displastik polip gelişen hastalar olan hasta 5-6-8-10'den hasta 6 ve 8 aynı aileye ait aynı genetik mutasyonu taşıyan kişilerdir. Bu hastalardan 5-6-8.hastalar aynı zamanda barsak invajinasyonu gelişen hastalardır. Bu hastalar fonksiyonel analize göre irdelendiğinde, hasta 5'te gözlenen mutasyon protein biyolojik sürece en çok splayozom aracılı mRNA splicingde (olasılık:0.691), ikinci sıklıkla metabolik sürecin düzenlenmesinde (olasılık:0.675), metabolik fonksiyon olarak en çok katalitik aktivitede (olasılık:0.954) ikinci sıklıkta nükleotidlerin adenillenmesinde (olasılık:0.948) ve hücrenel bileşen olarak da en çok mitokondrionda (olasılık 0.770) ikinci sıklıkla nükleolus'da (olasılık:0.675), görev aldığı bulunmuştur (**Şekil-15**). Hasta 6'nın ve hasta 8'in fonksiyonel analizine bakıldığında (6-7-8-9 numaralı hastalar aynı aileden olup, aynı genetik mutasyonu taşımaktadırlar.) yine biyolojik sürece en çok metabolik sürecin düzenlenmesinde (olasılık:0.975) metabolik fonksiyon olarak en çok nükleik asid bağlanmasında (olasılık:0.988) ve hücrenel bileşen olarak da en çok ekstraselüler vasküler eksozomda (olasılık 0.765) görev aldığı bulunmuştur (**Şekil-16**). Hasta 10'da

gözlenen mutasyon protein biyolojik sürece en çok RNA splicing sürecinde (olasılık:0.945), ikinci sıklıkla metabolik sürecin düzenlenmesinde (olasılık:0.933), metabolik fonksiyon olarak en çok nükleik asidin bağlanması (olasılık:0.951) ve hücresel bileşen olarak da en çok nükleik asit bağlanması (olasılık 0.666) görev aldığı bulunmuştur (**Şekil-17**). En sık bozukluk olan tüm fonksiyonlar ortak olarak değerlendirildiğinde displastik polip gelişimine biyolojik süreç olarak RNA splicing ve metabolik süreçte oluşan aksamalar yol açmış olabilir. Moleküler fonksiyon olarak değerlendirme yapıldığında katalitik aktivite ve nükleotid-nükleik asit bağlanması displastik polip gelişimine yol açmış olabilir Hücresel bileşen olarak yapılan değerlendirmede ise mitokondri, hücre çekirdeği ve hücre membranında ki bozukluklar displastik polip gelişimine yol açmış olabilir.

Metabolik sürecin en çok etkilendiği ancak şu ana kadar malignite gelişmemiş olan hasta 11 de gözlenen mutant protein biyolojik sürece en çok metabolik sürecin düzenlenmesinde (olasılık:0.971), metabolik fonksiyon olarak en çok nükleik asidin bağlanması (olasılık:0.981) ve hücresel bileşen olarak da en çok hücre dışı veziküler eksozomda (olasılık 0.830) görev aldığı bulunmuştur (**Şekil-18**). Bu nedenle bu hastada GİS dışı malignite gelişimi açısından dikkatli takip yapmak gerekebilir.

## 6. Sonuç Ve Öneriler

Günümüzde, *STK11* gen varyantlarının türü ve bölgesi ile kanser riski arasındaki ilişki net değildir. *STK11* proteinin moleküler yapısını tahmin ederek, hastaların ilk semptomları, klinik takipte gelişen yeni bulguları ile *in-silico* analiz yaparak genotip-fenotip ilişkisini kurmak hastalıklı bireylerde hangi organda daha ayrıntılı tarama yapılacağını öngördürebilir. Aynı zamanda *STK11* proteini stabilitesini ve proteinin yük değişimini ortaya koymak kişisel bazlı ilaç geliştirme çalışmalarına ışık tutabilir.

Bu çalışma ülkemizde yapılmış PJS ile ilişkili *in-silico* analizin yapıldığı ilk olgu serisidir. Hastalığın nadir görülmesi nedeniyle, bugüne kadar bir-iki hastanın analizinin yapıldığı birkaç çalışma literatürde mevcuttur. Çalışmamız PJS’de hasta sayısının fazlalığı (sekiz hasta) ve geniş *in-silico* analiz yöntemlerinin kullanıldığı ilk çalışmadır. *In-silico* çalışmalar arttıkça *STK11* varyantlarının genotip-fenotip ilişkisi daha iyi anlaşılacak, risk sınıflandırılması, hedefli kanser taraması yoluyla PJS hastaları ve aileleri için kişiselleştirilmiş tedavi ve takip yaklaşımları mümkün olabilecektir. Çalışmamızın sonuçları, genotip-fenotip ilişkilerini incelemeye ve dünyada ve ülkemizdeki mutant proteini değerlendirmede literatüre katkı sağlayacaktır.

## 7. Kaynakça

1. Z. Wang, Y. Chen, B. Wu, H. Zheng, J. He, and B. Jiang, “A novel mutation in STK11 gene is associated with Peutz-Jeghers Syndrome in Chinese patients,” *BMC medical genetics*, vol. 12, no. 1, pp. 1–5, 2011.
2. A. M. Jelsig *et al.*, “Disease pattern in Danish patients with Peutz-Jeghers syndrome,” *International Journal of Colorectal Disease*, vol. 31, no. 5, pp. 997–1004, 2016, doi: 10.1007/s00384-016-2560-3.
3. J. Utsunomiya, H. Gocho, T. Miyanaga, E. Hamaguchi, and A. Kashimure, “Peutz-Jeghers syndrome: its natural course and management.,” *The Johns Hopkins medical journal*, vol. 136, no. 2, pp. 71–82, Feb. 1975.
4. W. Lim *et al.*, “Further observations on LKB1/STK11 status and cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome.,” *British journal of cancer*, vol. 89, no. 2, pp. 308–313, Jul. 2003, doi: 10.1038/sj.bjc.6601030.
5. D. K. Rex *et al.*, “Quality in the technical performance of colonoscopy and the continuous quality improvement process for colonoscopy: recommendations of the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer,” *The American journal of gastroenterology*, vol. 97, no. 6, p. 1296, 2002.
6. F. H. Menko, “LKB1/ STK11, Peutz-Jeghers syndrome and cancer. Introduction.,” *Familial cancer*, vol. 10, no. 3. pp. 413–414, Sep. 2011, doi: 10.1007/s10689-011-9474-6.
7. V. Schumacher *et al.*, “STK11 genotyping and cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome.,” *Journal of medical genetics*, vol. 42, no. 5. pp. 428–435, May 2005, doi: 10.1136/jmg.2004.026294.

8. A. D. Beggs *et al.*, “Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and recommendations for management.,” *Gut*, vol. 59, no. 7, pp. 975–986, Jul. 2010, doi: 10.1136/gut.2009.198499.
9. F. Fostira *et al.*, “Genetic analysis and clinical description of Greek patients with Peutz-Jeghers syndrome: Creation of a National Registry.,” *Cancer genetics*, vol. 220, pp. 19–23, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.cancergen.2017.11.004.
10. J. Daniell, J.-P. Plazzer, A. Perera, and F. Macrae, “An exploration of genotype-phenotype link between Peutz-Jeghers syndrome and STK11: a review.,” *Familial cancer*, vol. 17, no. 3, pp. 421–427, Jul. 2018, doi: 10.1007/s10689-017-0037-3.
11. J. Papp, M. E. Kovacs, S. Solyom, M. Kasler, A.-L. Børresen-Dale, and E. Olah, “High prevalence of germline STK11 mutations in Hungarian Peutz-Jeghers Syndrome patients.,” *BMC medical genetics*, vol. 11, p. 169, Nov. 2010, doi: 10.1186/1471-2350-11-169.
12. N. C. M. Hearle *et al.*, “Eksonic STK11 deletions are not a rare cause of Peutz-Jeghers syndrome.,” *Journal of medical genetics*, vol. 43, no. 4. p. e15, Apr. 2006, doi: 10.1136/jmg.2005.036830.
13. Roentgenol 1995; 164:565. Lindor NM, Greene MH. The concise handbook of family cancer syndromes. Mayo Familial Cancer Program. J Natl Cancer Inst 1998; 90:1039.
14. Clinical Guidelines for Diagnosis and Management of Peutz-Jeghers Syndrome in Children and Adults. Yamamoto et al. Review article, Journal Abbreviation: Digestion DOI: 10.1159/000529799
15. S. Klimkowski *et al.*, “Peutz-Jeghers Syndrome and the Role of Imaging: Pathophysiology, Diagnosis, and Associated Cancers.,” *Cancers*, vol. 13, no. 20, Oct. 2021, doi: 10.3390/cancers13205121.

16. Utsunomiya J, Gocho H, Miyanaga T, et al. Peutz-Jeghers syndrome: its natural course and management. *Johns Hopkins Med J* 1975; 136:71.
17. G. I. Butel-Simoës, A. D. Spigelman, R. J. Scott, and R. E. Vilain, “Low-level parental mosaicism in an apparent de novo case of Peutz-Jeghers syndrome.,” *Familial cancer*, vol. 18, no. 1, pp. 109–112, Jan. 2019.
18. Tomlinson, I.P.; Houlston, R.S. Peutz-Jeghers sendromu. *J. Med. Genet.* 1997, 34, 1007-1011. [CrossRef]
19. Aaltonen, L.A.; Jarvinen, H.; Gruber, S.B.; Billaud, M.; Jass, J.R. İnce bağırsak tümörleri: Peutz-Jeghers sendromu. *Dünya Sağlık Örgütü Tümör Sınıflandırması içinde: Patoloji ve Genetik. Sindirim Sistemi Tümörleri*; IARC Press: Lyon, Fransa, 2000.
20. Beggs AD, Latchford AR, Vasen HF, et al. Peutz-Jeghers syndrome: a systematic review and recommendations for management. *Gut* 2010; 59:975.
21. C. Rosty, “The Role of the Surgical Pathologist in the Diagnosis of Gastrointestinal Polyposis Syndromes.,” *Advances in anatomic pathology*, vol. 25, no. 1, pp. 1–13, Jan. 2018, doi: 10.1097
22. Van Lier MG, Mathus-Vliegen EM, Wagner A, van Leerdam ME, Kuipers EJ. High cumulative risk of intussusception in patients with Peutz-Jeghers syndrome: time to update surveillance guidelines? Time to update surveillance guideline. *Am J Gastroenterol.* 2011a;106:940–5. PubMed PMID: 21157440.
23. Belsha D, Urs A, Attard T, Thomson M. Effectiveness of double-balloon enteroscopy-facilitated polypectomy in pediatric patients with Peutz-Jeghers syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;65:500–2. PubMed PMID: 28319601.
24. Wagner A, Aretz S, Auranen A, Bruno MJ, Cavestro GM, Crosbie EJ, Goverde A, Jelsig AM, Latchford AR, Leerdam MEV, Lepisto AH, Puzzono M, Winship I, Zuber

- V, Möslein G. The management of Peutz-Jeghers Syndrome: European Hereditary Tumour Group (EHTG) guideline. *J Clin Med.* 2021;10:473. PubMed PMID: 33513864
25. Utsunomiya J, Gocho H, Miyanaga T, Hamaguchi E, Kashimure A. Peutz-Jeghers sendromu: doğal seyri ve tedavisi. *Johns Hopkins Med J.* 1975;136:71-82. PubMed PMID: 1117595.
26. Latchford A, Cohen S, Auth M, Scaillon M, Viala J, Daniels R, Talbotec C, Attard T, Durno C, Hyer W. Çocuklarda ve ergenlerde Peutz-Jeghers sendromunun yönetimi: ESPGHAN Polipozis Çalışma Grubu'ndan bir pozisyon belgesi. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2019;68:442-52. PubMed PMID: 30585892
27. Ishida H, Tajina Y, Gorsta T, Kumamoto K, Ishibashi K, Iwon T. Japonya'da Peutz-Jeghers Sendromu ile ilişkili malign tümörler üzerine yaptığımız araştırmada güncelleme. *Surg Today.* 2016;46:1231-42. PubMed PMID: 26746637.
28. Chen HY, Jin XW, Li BR, Zhu M, Li J, Mao GP, Zhang YF, Ning SB. Peutz-Jeghers sendromlu hastalarda kanser riski: Retrospektif 336 vakalık bir kohort çalışması. *Tümör Biyol.* 2017;39:1010428317705131. PubMed PMID: 28653895.
29. Wagner A, Aretz S, Auranen A, Bruno MJ, Cavestro GM, Crosbie EJ, Goverde A, Jelsig AM, Latchford AR, Leerdam MEV, Lepisto AH, Puzzone M, Winship I, Zuber V, Möslein G. The management of Peutz-Jeghers Syndrome: European Hereditary Tumour Group (EHTG) guideline. *J Clin Med.* 2021;10:473. PubMed PMID: 33513864
30. Resta N, Pierannunzio D, Lenato GM, Stella A, Capocaccia R, Bagnulo R, Lastella P, Susca FC, Bozzao C, Loconte DC, Sabbà C, Urso E, Sala P, Fornasarig M, Grammatico P, Piepoli A, Host C, Turchetti D, Viel A, Memo L, Giunti L, Stigliano V, Varesco L, Bertario L, Genuardi M, Lucci Cordisco E, Tibiletti MG, Di Gregorio C, Andriulli A, Ponz de Leon M. AIFEG. Cancer risk associated with STK11/LKB1 germline mutations in Peutz-Jeghers syndrome patients: results of an Italian multicenter study. *Dig Liver Dis.* 2013;45:606–11. PubMed PMID: 23415580.

31. van Lier MG, Westerman AM, Wagner A, Looman CW, Wilson JH, de Rooij FW, Lemmens VE, Kuipers EJ, Mathus-Vliegen EM, van Leerdam ME. High cancer risk and increased mortality in patients with Peutz Jeghers syndrome. *Gut*. 2011b;60:141–7. PubMed PMID: 21205875.
32. Crocker MK, Gourgari E, Lodish M, Stratakis CA. Use of aromatase inhibitors in large cell calcifying Sertoli cell tumors: effects on gynecomastia, growth velocity and bone age. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:E2673–80. PubMed PMID: 25226294.
33. Korsse SE, Harinck F, van Lier MG, Biermann K, Offerhaud GJ, Krak N, Looman CW, van Veelen W, Kuipers EJ, Wagner A, Deffer E, Mathus-Vliegen EM, Fockens P, van Leerdam ME, Bruno MJ. Pancreatic cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome patients: a large cohort study and implications for surveillance. *J Med Genet*. 2013;50:59–64. PubMed PMID: 23240097.
34. Peutz-Jeghers Syndrome Synonym: PJS Thomas J McGarrity, MD,<sup>1</sup> Christopher I Amos, PhD,<sup>2</sup> and Maria J Baker, PhD<sup>3</sup> Created: February 23, 2001; Updated: September 2, 2021
35. Yoo LI, Chung DC, Yuan J (2002) LKB1 [mdash] İnce bağırsak ve ötesinde bir ana tümör baskılayıcı. *Nat Rev Kanser* 2(7):529-535
36. Role of the Serine/Threonine Kinase 11 (STK11) or Liver Kinase B1 (LKB1) Mohammad Altamish, a Rajiv Dahiya, b Avinash Kumar Singh, a Anurag Mishra, C. Alaa A.A. Gene in Peutz-Jeghers Syndrom Review *Crit Rev Eukaryot. Gene.Expr.* 2020 ; 30 (3) : 245252. Doi :10.1615/Crit Rev Eukaryot Gene Expr.2020033451.
37. Hawley SA, Boudeau J, Reid JL et al (2003) Complexes between the LKB1 tumor suppressor, STRAD alpha/beta and MO25 alpha/ beta are upstream kinases in the AMP-activated protein kinase cascade. *J Biol* 2(4):28. doi:10.1186/1475-4924-2-28 46. Forcet C,
38. Etienne-Manneville S, Gaude H et al (2005) Functional analysis of Peutz-Jeghers variants reveals that the LKB1 C-terminal region exerts a crucial role in regulating both the AMPK pathway and the cell polarity. *Hum Mol Genet* 14(10):1283–1292. doi:10.1093/hmg/ddi139

39. Khanna K, Khanna V, Bhatnagar V. Peutz-Jeghers syndrome: need for early screening. *BMJ case reports*. 2018;11(1).
40. Kidambi TD, Kohli DR, Samadder NJ, Singh A. Hereditary Polyposis Syndromes. Current treatment options in gastroenterology. 2019;17(4):650-65.
41. Kim Y, Kim EY, Kim TJ, Lim KT, Lee KH, Chun Y, So KA. A rare case of gastric-type mucinous adenocarcinoma in a woman with Peutz-Jeghers syndrome. *Obstetrics & gynecology science*. 2019;62(6):474-7
42. Baas AF, Boudeau J, Sapkota GP et al (2003) Activation of the tumour suppressor kinase LKB1 by the STE20-like pseudokinase STRAD. *EMBO J* 22(12):3062–3072
43. Mehenni H, Resta N, Park JG, Miyaki M, Guanti G, Costanza MC (2006) Cancer risks in LKB1 germline variant carriers. *Gut*. doi:10.1136/gut.2005.082990
44. Tiainen M, Vaahtomeri K, Ylikorkala A, Mäkelä TP (2002) Growth arrest by the LKB1 tumor suppressor: induction of p21WAF1/CIP1. *Hum Mol Genet* 11(13):1497–1504
45. Boudeau J, Scott JW, Resta N et al (2004) Analysis of the LKB1- STRAD-MO25 complex. *J Cell Sci* 117(Pt 26):6365–6375. doi:10.1242/jcs.01571
46. Zeqiraj E, Filippi BM, Deak M, Alessi DR, van Aalten DM (2009) Structure of the LKB1-STRAD-MO25 complex reveals an allosteric mechanism of kinase activation. *Science* 326(5960):1707– 1711. doi:10.1126/science.1178377
47. Amos C, Keitheri-Cheteri M, Sabripour M et al (2004) Genotype– phenotype correlations in Peutz-Jeghers syndrome. *J Med Genet* 41(5):327–333. doi:10.1136/jmg.2003.010900
48. McKay V, Cairns D, Gokhale D et al (2016) First report of somatic mosaicism for mutations in STK11 in four patients with PeutzJeghers syndrome. *Fam Cancer* 15(1):57–6
49. Salloch H, Reinacher-Schick A, Schulmann K et al (2010) Truncating variants in Peutz-Jeghers syndrome are associated with more polyps, surgical interventions and cancers. *Int J Colorectal Dis* 25(1):97–107. doi:10.1007/s00384-009-0793-0

50. Resta N, Pierannunzio D, Lenato GM et al. (2013) Cancer risk associated with STK11/LKB1 germline variants in Peutz-Jeghers syndrome patients: results of an Italian multicenter study. *Dig Liver Dis* 45(7):606–611. doi:10.1016/j.dld.2012.12.018
51. Chow E, Meldrum CJ, Crooks R, Macrae F, Spigelman AD, Scott RJ (2006) An updated variant spectrum in an Australian series of PJS patients provides further evidence for only one gene locus. *Clin Genet* 70(5):409–414. doi:10.1111/j.1399-0004.2006.00704.x
52. Aretz S, Stienen D, Uhlhaas S et al (2005) High proportion of large genomic STK11 deletions in Peutz-Jeghers syndrome. *Hum Mutat* 26(6):513–519. doi:10.1002/humu.20253
53. Volikos E, Robinson J, Aittomaki K et al (2006) LKB1 exonic and whole gene deletions are a common cause of Peutz-Jeghers syndrome. *J Med Genet* 43(5):e18. doi:10.1136/jmg.2005.039875
54. Papp J, Kovacs ME, Solyom S, Kasler M, Børresen-Dale A-L, Olah E (2010) High prevalence of germline STK11 variants in Hungarian Peutz-Jeghers syndrome patients. *BMC Med Genet* 11(1):1–9. doi:10.1186/1471-2350-11-169
55. Lim W, Hearle N, Shah B et al (2003) Further observations on LKB1/STK11 status and cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome. *Br J Cancer* 89(2):308–313
56. Schumacher V, Vogel T, Leube B et al (2005) STK11 genotyping and cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome. *J Med Genet*. doi:10.1136/jmg.2004.026294
57. Mehenni H, Resta N, Park JG, Miyaki M, Guanti G, Costanza MC (2006) Cancer risks in LKB1 germline variant carriers. *Gut*. doi:10.1136/gut.2005.082990
58. Lim W, Hearle N, Shah B et al (2003) Further observations on LKB1/STK11 status and cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome. *Br J Cancer* 89(2):308–313
59. Wang Z, Wu B, Mosig RA et al (2014) STK11 Domain XI variants: candidate genetic drivers leading to the development of dysplastic polyps in Peutz-Jeghers syndrome. *Human Variant* 35(7):851–858. doi:10.1002/humu.22549
60. R. S. Zimmerman, J. Eccles, C. Jalas, N. R. Treff, and R. T. J. Scott, “Molecular

Testing for Preimplantation Genetic Diagnosis of Single Gene Disorders.,” *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, vol. 1885, pp. 61–71, 2019, doi: 10.1007/978-1-4939-8889-1\_4.

61. S. Reid and T. Pal, “Update on multi-gene panel testing and communication of genetic test results.,” *The breast journal*, vol. 26, no. 8, pp. 1513–1519, Aug. 2020, doi: 10.1111/tbj.13971.
62. S. Goodwin, J. D. McPherson, and W. R. McCombie, “Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies,” *Nature Reviews Genetics*, vol. 17, no. 6, pp. 333–351, 2016.
63. D. Belsha, A. Urs, T. Attard, and M. Thomson, “Effectiveness of Double-balloon Enteroscopy-facilitated Polypectomy in Pediatric Patients With Peutz-Jeghers Syndrome.,” *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, vol. 65, no. 5, pp. 500–502, Nov. 2017, doi: 10.1097/MPG.0000000000001576.
64. S. E. Korsse *et al.*, “Pancreatic cancer risk in Peutz-Jeghers syndrome patients: a large cohort study and implications for surveillance.,” *Journal of medical genetics*, vol. 50, no. 1, pp. 59–64, Jan. 2013, doi: 10.1136/jmedgenet-2012-101277.
65. H. Gao, M. G. van Lier, J. W. Poley, E. J. Kuipers, M. E. van Leerdam, and P. B. Mensink, “Endoscopic therapy of small-bowel polyps by double-balloon enteroscopy in patients with Peutz-Jeghers syndrome.,” *Gastrointestinal endoscopy*, vol. 71, no. 4, pp. 768–773, Apr. 2010, doi: 10.1016/j.gie.2009.11.005.
66. A. Wagner *et al.*, “The Management of Peutz-Jeghers Syndrome: European Hereditary Tumour Group (EHTG) Guideline,” *Journal of clinical medicine*, vol. 10, no. 3, p. 473, Jan. 2021, doi: 10.3390/jcm10030473.
67. Hearle N, Schumacher V, Menko FH, et al. Frequency and spectrum of cancers in the Peutz–Jeghers syndrome. *Clin Cancer Res.* 2006;12:3209–3215.
68. Korsse SE, Biermann K, Offerhaus GJ, et al. Identification of molecular alterations in gastrointestinal carcinomas and dysplastic hamartomas in Peutz–Jeghers syndrome. *Carcinogenesis.* 2013;34:1611–1619.

69. Novel and Recurrent Mutations of STK11 Gene in Six Chinese Cases with Peutz–Jeghers Syndrome Limeng Dai • Liyuan Fu • Dan Liu • Kun Zhang • Yuanyuan Wu  
Dig Dis Sci DOI 10.1007/s10620-014

70. The Tumor Suppressor Kinase LKB1: Metabolic Nexus /Mohammed Bourouh<sup>1</sup>, Paola A Marignani<sup>1</sup> Front Cell Dev Biol 2022 Apr 28;10:881297. doi:10.3389

