

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Jinekolojik Kanserlerde Yeni Nesil DNA Dizi Analizi ile Saptanan Mutasyon Profilleri: Tek Merkez Vaka Serisi Sonuçlarımız

Hacı Öztürk ŞAHİN¹, Kübra ÖZKAN KARACAER¹, Burcu ALBUZ², Fatma SILAN²

¹ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Çanakkale.

² Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Çanakkale.

ÖZET

Amacımız, yaş ve aile hikayesinden bağımsız olarak merkezimizde over (OC) ve endometriyum kanseri (EC) tanısı ile cerrahisi ve ardından genetik mutasyon analizi uygulanan hastalarımızın mutasyon sıklığını ve sekanslarını araştırmaktır. Son yıllarda önleyici stratejilerin gelişimi dışında tedavi seçeneklerindeki fırsatlar ve genetik çalışmaların artışı herediter kanserlere ilgiyi arttırmıştır. En sık görülen herediter jinekolojik kanserler; herediter meme over kanseri (HBOC) ve Lynch Sendromu (LS) dur. Hastalığın düşük prevalansı, test pahalılığı ve etik sebepler popülasyon bazlı taramayı kullanışsız hale getirmektedir. Birimimizde 01.04.2018-01.10.2019 tarihleri arasında genetik araştırması yapılan 37 EC ve 15 OC tanısı almış hastamız çalışmaya dahil edilmiştir. BRCA1/2 ve LS genlerini de içeren (MLH1, MSH2, MSH6, PMS 2) 25 genden oluşan geniş ailevi panel testi uygulanmıştır. Ailevi gen paneli testi yapılan 27 EC hastamızda, 1 MLH1 ve 1 ATM geninde patolojik mutasyon saptandı (%3.7 LS,%3.7 non LS). 11 hastada önemi belirsiz varyant mutasyon (VUS) görüldü (%40.7). BRCA mutasyon araştırması yapılan 20 EC'li hastamızda patolojik mutasyon saptanmadı. BRCA mutasyonu araştırılan 14 OC'lu hastamızda 3 patolojik varyant tanıya edildi ve hepsi BRCA1 genindeydi (HBOC %21,4). Ailevi kanser paneli değerlendirilen 4 OC'lu hastada 1 MSH6 ve 1 ATM geninde patolojik mutasyonlar izlendi. Over ve endometriyum kanserlerinde ailevi geniş mutasyon verilerinin çoğalması ve literatürde paylaşımı VUS oranlarını azaltacak, BRCA ve LS dışındaki genlerin jinekolojik kanserlerdeki rolünü ortaya çıkartacak ve yeni tarama algoritmalarını oluşturacaktır.

Anahtar Kelimeler: Jinekolojik kanserler. Heredite. Genetik analiz.

Mutation Profiles Detected by New Generation DNA Sequence Analysis in Gynecological Cancers, Single Centre Case Series Results

ABSTRACT

Our objective is to investigate the mutation frequency and sequences of our patients, who underwent surgery with a diagnosis of ovarian (OC) and endometrial cancer (EC) and subsequently underwent genetic mutation analysis, regardless of age and family history. In recent years, apart from the development of preventive strategies, opportunities in treatment options and increase in genetic studies have increased the interest in hereditary cancers. The most common hereditary gynecological cancers are hereditary breast ovarian cancer (HBOC) and Lynch Syndrome (LS). The low prevalence of the disease, cost of testing, and ethical reasons make population-based screening impractical. 37 patients diagnosed with endometrial cancer and 15 patients diagnosed with ovarian cancer were included in the study, and their genetic research was conducted in our department between 01.04.2018 and 01.10.2019. A large familial panel test consisting of 25 genes including BRCA1/2 and LS genes (MLH1, MSH2, MSH6, PMS 2) was performed. Pathological mutation was found in 1 MLH1 and 1 ATM genes in 27 patients with endometrial cancer who underwent familial gene panel test (3.7% LS, 3.7% non LS). Eleven patients had a variant mutation of uncertain significance (VUS) (40.7%). No pathological mutation was found in our 20 patients with endometrial cancer who were investigated for BRCA mutation. In our 14 patients with ovarian cancer whose BRCA mutation was investigated, 3 pathological variants were identified, and all of them were in BRCA1 gene (HBOC 21.4%). Pathological mutations in 1 MSH6 and 1 ATM genes were observed in 4 patients with ovarian cancer whose familial cancer panel was evaluated. The proliferation of comprehensive familial mutation data in ovarian and endometrial cancers and their sharing in the literature will reduce VUS rates, reveal the role of genes other than BRCA and LS in gynecological cancers, and create new screening algorithms.

Key Words: Gynecologic cancers, Hereditary, Genetic counseling

Geliş Tarihi: 04.Mayıs.2020

Kabul Tarihi: 11.Kasım.2020

Dr. Hacı Öztürk ŞAHİN
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı,
Çanakkale.
Tel: 0505 520 25 55
E-posta: ozturksahin@comu.edu.tr

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Hacı Öztürk ŞAHİN: 0000-0002-7915-8235
Kübra ÖZKAN KARACAER: 0000-0003-3714-8749
Burcu ALBUZ: 0000-0002-9874-0781
Fatma SILAN: 0000-0001-7191-2240

Hereditör kanserler tüm kanserlerin yaklaşık %5-10'unu oluşturur¹. En sık görülen hereditör jinekolojik kanserler; Hereditör Meme ve Over Kanseri (HBOC) ve Lynch Sendromu (LS)'dur.

Endometriyum kanseri en sık görülen jinekolojik kanserdir ve her yıl %6 yeni tanı almaktadır². LS hereditör uterin kanserlerin büyük kısmını oluştururken hereditör over kanserlerinin de 2.en sık nedenidir³.

LS; MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 ve EPCAM genlerinde mismatch repair(MMR) genlerinde germline mutasyon ile karakterizedir. MMR protein kaybına bağlı DNA onarım kapasitesi defekti mevcuttur ve bu fenomen mikrosatellit instabilitesi olarak ifade olur^{4,5}. Tümör süpresör genlerindeki mutasyonlar güvenilir genomik replikasyona sebep olarak karsinogenez riskini artırır. LS, otozomal dominant geçişli olup bu kişilerde kolorektal, gastrik, ince barsak, genitoüriner trakt, pankreas kanserleri ayrıca sebaceöz adenom ve glioblastom multiforme riski de artmıştır^{6,7}.

Endometriyum kanseri tanısı alan hastalarda LS sıklığı %2-3'dür ve bu kolon kanseri ile benzerdir^{8,9}. 50 yaş altındaki endometriyum kanserlerinin ise %5-9'u LS'a bağlıdır¹⁰⁻¹². Bu sendroma bağlı EC' un ortalama görülme yaşı 46-54 dür⁸. Sendromdaki her bir gen mutasyonu farklı kanser risk profili ve insidansına sahiptir.

LS 'da hayat boyu kümülatif endometriyum kanseri gelişme riski %50'nin üzerinde iken over kanseri riski %4-24 dür¹³. Retrospektif veriler endometriyal kanserin hastaların %50'sinden fazlasında birincil kanser olduğu ve kolon kanserinden ortalama 11 yıl önce tanı aldığını ortaya koymuştur¹⁴.

LS testi, direkt germline DNA testi yada tümöral dokudan immüno histokimyasal (IHC) olarak mismatch repair protein kaybının gösterilmesi ile yapılabilir. IHC analiz ile 4 MMR protein kaybı değerlendirilmesi daha ucuz ve kolay bir tarama yöntemidir. Bu proteinlerin mevcudiyeti LS'nu dışlar ancak klinik şüphe veya aile anamnezi olması halinde hasta germline genetik testine ifade edilebilir.

BRCA 1/2 genleri kodladıkları proteinlerle DNA kırıklarının tamirinde rol alırlar ve genomik stabilite-den sorumlu tümör süpresör genlerdir¹⁵. BRCA1 ve 2 mutasyonları hereditör over kanserlerinin %75'inden fazlasını oluşturur ve yine otozomal dominant geçiş gösterir¹⁶. Meme ve over kanseri için riski çok arttırmakla birlikte melanoma, pankreas ve uterin kanser riskini de arttırmaktadır¹⁷⁻¹⁹. BRCA mutasyon taşıyıcılığı ülkelere ve etnik gruplara göre ciddi farklılıklar gösterir ve tüm over kanserlerinin %10'undan sorumludur²⁰⁻²³. BRCA 1 mutasyon taşıyıcılığında hayat boyu over kanser gelişme riski %39-46 iken bu oran BRCA 2 de %11-27'dir²⁴⁻²⁶. Ayrıca BRCA mutasyon taşıyıcı bireylerde özellikle seröz histolojik tipte olmak üzere endometriyum kanseri riskinin arttığını gösteren bir çok veri ortaya konmuştur²⁷⁻²⁹.

Peki hangi over ve endometriyum kanserli hastalara ailevi genetik mutasyon araştırması yapılmalı? Lynch sendromu öngörüsü için oluşturulan Amsterdam 2 kriterlerinin yüksek spesifiteye sahip olmasına rağmen düşük sensitivitede kalması üzerine sırasıyla %82 ve %77 sensitivite ve spesifite oranlarına sahip revize Bethesda kriterleri geliştirilmiştir ve parametrelerden birini bile içermesi genetik test endikasyonu için yeterli kabul edilmiştir³⁰. NCCN (National Cancer Comprehensive Network) rehberleri ise 50 yaş altı endometriyum kanseri tanısı almış tüm hastaların LS açısından değerlendirilmelerini önermiştir³¹. Ancak biliyoruz ki 50 yaş altında tanı alan endometriyum kanserlerinin sadece %11'inde LS saptanmaktadır³².

Over karsinomu için 2010 yılında Trainer yayınladığı sistemik review de erken başlangıçlı, yüksek gradeli seröz tümör histolojisinin ve etnik kökenin BRCA mutasyon taşıyıcılık testi için klinik prediktör olduğunu belirtmiş de³³, 2014 de NCCN(National Cancer Comprehensive Network) ve SGO(Society of Gynecology Oncology) gibi profesyonel dernekler tüm non müsinöz epitelyal over, tuba ve periton kanserlerinde genetik test önermiştir^{30,31,34,35}. Önerilen BRCA1 ve 2 yanında panel test(RAD51C, RAD51D, BRİP1, PALB2, BARD1 ve MMR) dir³⁶.

Ülkelere ve etnik gruplara göre mutasyon sıklığı farklılıklar gösterebilir. Her ülke mutasyon sıklığı, genetik sekans farklılıklarının tespiti ve taşıyıcıların klinik ve epidemiyolojik özelliklerine göre kendi tarama algoritmalarını oluşturabilir.

Hereditör jinekolojik kanser testleri, kişiye özgü prognoz içermeleri, potansiyel senkron kanserlerin risk değerlendirmesi, önleyici cerrahilerin gündeme gelmesi ve potansiyel immünoterapi seçenekleri gibi hedefe yönelik tedavilerdeki güncel gelişmeler nedeniyle önem kazanmaktadır^{37,38}. Hereditör kanser panellerinin gelişimi ve test maliyetlerinin düşürülmesi bu konuda hızlı ilerlemelere neden olacaktır. Ülkemizde bu konuda yapılmış çalışmalar maalesef çok kısıtlıdır. Biz de merkezimizdeki sonuçları paylaşmak istedik.

Gereç ve Yöntem

Retrospektif çalışmamız için Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi klinik araştırmalar etik kurulundan 11.12.2019 karar tarihi ve 2019-20-07 karar no'lu etik kurul onayı alınmıştır. Fakültemiz jinekolojik onkoloji birimimizde 01.04.2018 - 01.10 2019 tarihleri arasında opere ettiğimiz ve kalıcı patoloji sonucu endometriyum veya over kanseri tanısı almış olup Tıbbi Genetik Anabilim dalımızda hereditör mutasyon genetik analizi yapılan hastalar çalışmaya alınmıştır. Non epitelyal tümörler ve neoadjuvan kemoterapi almış hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Postoperatif erken dönemde BRCA1, 2 ve Lynch sendromu gen analizini

Jinekolojik Kanserlerde Mutasyon Profilleri

de içeren 25 genden oluşan ailesel kanser paneli testi uygulanmıştır.

Aile hikayesi, tümöral dokunun patolojik inceleme-sindeki IHC analizler yada mikrosatellit instabilitesi (MSI) testi değerlendirilmeye alınmamıştır.

Genetik Analiz

Invitrogen Pure Link® Genomik DNA Mini Kiti kullanılarak, EDTA tüplerine her hasta için en az 2 ml alınan periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu gerçekleştirildi.

Çalışmamız IonTorrent S5 platformunda (Thermo Fischer Scientific, ABD) gerçekleştirilmiş ve ticari olarak tasarlanmış iki NGS (Next Generation Sequencing) paneli kullanıldı.

İlk NGS paneli 2 gen (BRCA1 ve BRCA2) içerirken, ikinci NGS paneli 25 gen içermektedir (APC, BMP1A, CDK4, CDKN2A, EPCAM, MLH1, MSH2, MUTYH, PMS2, RAD50, RAD51D, SMAD4, NBN, BARD1, CDH1, MRE11A, ATM, PTEN, STK11, RAD51C, PALB2, BRIP1, MSH6, CHEK2, TP53). Tüm ekson ve intron sekanslarının sonuçları NGR veri çıkışı için Ion Reporter 5.6 ve Parseq-VariFindTM yazılımı şeklinde iki farklı iş akışı ile analiz edildi. Tüm varyantlar IGV yazılımı ile kontrol edildi.

Tespit edilen varyantların patojenisitesi, mevcut literatürdeki veriler ve uluslararası veri tabanlarındaki bilgiler (ClinVar, Varsome, The Human Gene Mutation Database (HGMD®), ARUP-BRCA Mutation Database, LOVD - Leiden Open Variation Database, etc) ayrıca in-silico tahmin algoritmaları (DANN, FATHMM-MKL, Human SplicingFinder, MutationAssessor, MutationTaster, Provean, SIFT, etc.) kullanılarak değerlendirildi.

Varyantları Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Koleji (ACMG) Kılavuzlarına göre 5 kategoride; patojenik, olası patojenik, belirsiz anlamlı, iyi huylu ve muhtemel iyi huylu incelendi³⁹.

Bulgular

Toplam 37 endometriyum ve 15 over kanseri hastamıza genetik analiz yapıldı. Endometriyum malign neoplazi tanısı alan hastalarımızın yaş ortalaması 60.5'di. Ailesel gen paneli yapılan 27 endometriyum kanserli hastamızın 2'sinde patolojik varyant mutasyon saptanmışken (%7.4), 11'inde önemi belirsiz varyant (VUS) (%40.7) tespit edildi. Patolojik mutasyon varyantı bulunan 2 hastanın yaşı 57 ve 68'di ve mutasyonlar MLH1 ve ATM genindeydi (%3.7 LS, %3.7 non-lynch gen mutasyonu). BRCA mutasyon testi uygulanan 20 endometriyum kanserli olgumuzda ise patojenik mutasyon saptanmadı, 1 vakada VUS görüldü.

Over kanseri tanısı ile genetik analizi değerlendirilen 15 hastamızın yaş ortalaması 61.3'dü. BRCA mutasyon araştırması yapılan 14 hastamızın 3'ünde patolojik varyant mutasyon saptanırken (%21.4), 1 hastada VUS belirlendi. 3 patolojik varyant da BRCA1 genindeydi ve hastalarımızın yaş ortalaması 60.8'di. Ailevi kanser paneli sadece 4 OC'li hastamızda çalışıldı ve 2'si patojenik mutasyon, 2'si VUS olarak saptandı. Patolojik mutasyonlar MSH6 ve ATM genindeydi.

Endometriyum ve over karsinomlarında saptadığımız patolojik ve VUS varyantların hepsi heterozigottu (Tablo I-II).

Tartışma ve Sonuç

Kanser genetiğindeki gelişmeler, jinekolojik onkoloji hastalarının genetik danışma gereksinimini arttırmış, takip ve tedavi seçeneklerine önem ve farklılık kazandırmıştır.

Genetik mutasyonların düşük insidansda görülmesi, test maliyetlerinin yüksekliği, önerilen genetik testlerinin kompleks olması ve bilimsel veriler ışığında hızla değişmesi hangi testi? kime? kararını etkileyebilmektedir.

Tablo I. Patolojik Mutasyonlar

Yaş	Tümör Lokasyonu	Histoloji	Gen	Varyasyon	Amino asit değişikliği	Zigosite	Rs numarası	Varyant etki
68	Endometriyum	Endometroid	MLH 1	c.299G>A	p.Arg100Gln	heterozigot	rs63750266	missense
57	Endometriyum	Endometroid	ATM NM	c.8873_8874 delTT	p.Phe2958Ter	heterozigot	rs864622669	nonsense
43	Over	Transizyonel hücreli tm.	MSH6	c.1531A>G	p.Arg511Gly	heterozigot	rs773303940	missense
76	Over	Endometroid	ATM	c.4909+1G>A	Splice site	heterozigot	rs756987454	unknown
59	Over	Seröz	BRCA1 NM	c.181T>G	p.Cys61Gly	heterozigot	rs28897672	missense
77	Over	Seröz	BRCA1 NM	c.2959A>T	p.Lys987Ter	heterozigot	rs878854941	nonsense
49	Over	Seröz	BRCA1 NM	c.181T>G	p.Cys61Gly	heterozigot	rs28897672	missense

Tablo II. VUS (Önemi belirsiz varyant) Mutasyon Sonuçlarımız

Yaş	Tümör Lokasyonu	Identifiye edilen Varyant	Değerlendirme
68	Endometriyum	NBN c.1912_1913delTCinsGT p.Ser638Val rs199657566 missense heterozigot	VUS
64	Endometriyum	ATM c.6860G>C p.Gly2287Ala rs1800061 missense heterozigot	VUS
53	Endometriyum	ATM c.2119T>C p.Ser707Pro rs4986761 missense heterozigot	VUS
55	Endometriyum	ATM NM_000051.3 c.4473C>T p.Phe1491 rs4988008 synonymous heterozigot	VUS
62	Endometriyum	PALB2 NM_024675.39 c.2993G>A p.Gly998Glu rs45551636 missense heterozig. STK11 NM_000455.4 c.1062C>G p.Phe354Leu rs59912467 missense heterozig.	VUS
46	Endometriyum	STK11 c.1225C>T p.Arg409Trp rs368466538 missense heterozigot	VUS
79	Endometriyum	MRE11 c.529G>A p.Ala177Thr rs142996063 missense heterozigot	VUS
54	Endometriyum	ATM c.5558A>T p.Asp1853Val rs1801673 missense heterozigot	VUS
62	Endometriyum	MSH2 NM_000251.2 c.1787A>G p.Asn596Ser rs4125288 missense heterozigot	VUS
39	Endometriyum	ATM c.1810C>T p.Pro604Ser rs2227922 missense heterozigot	VUS
42	Endometriyum	BRIP1 NM_032043.2 c.1141-9A>G intronik heterozigot	VUS
44	Endometriyum	BRCA1:exonic:NM_007300.3 c.5056G>A p.Val1686Met rs80357169 missense heterozigot	VUS
77	Over	ATM c.1010G>A p.Arg337His rs202160435 missense heterozigot	VUS
89	Over	BRCA2 c.5590G>A p.Asp1864Asn rs397507791 missense heterozigot	VUS
76	Over	APC c.4395T>A p.Ser1465Arg rs1057519845 missense heterozigot ATM c.5558A>T p.Asp1853Val rs1801673 missense heterozigot PMS2 c.2174+3G>C intronik unknown heterozigot	VUS

BRCA1, 2 ve LS genetik testleri 1990'lı yıllarda aile hikayesi mevcut vakalarda ilk uygulamaya geçilen testlerdir. Ancak maalesef sadece aile hikayesi varlığı, tespit edilen mutasyon taşıyıcılarının az bir kısmını yakalamamızı sağlamaktadır. Eccles DM, sistemik derlemesinde OC tanısı almış BRCA mutasyon taşıyan bireylerde aile hikayesi, 60 yaşın altında ve seröz histolojide bulunma oranlarını sırasıyla %56.3, %71.4 ve %73.2 olarak vermiştir⁴⁰. NCCN, ASGO (American society of clinical oncology) ve SGO tüm non müsinöz ve non borderline over, tuba ve periton karsinomlarında yaş ve aile hikayesinden bağımsız olarak BRCA1/2 ve ailesel panel testinin (RAD51C, RAD51D, BRIP1, PALB2, BARD1 ve MMR proteinleri) yapılmasını önermektedir^{30,31,34-36}. Ancak çoğu ileri merkezlerde bile over kanserinde uygulanan genetik test oranı %20-30'larda kalmaktadır⁴¹.

BRCA mutasyon insidansı ülkelere ve etnisiteye göre farklılık gösterir. Aile hikayesinden bağımsız olarak kümülatif BRCA1/2 mutasyon insidansı Brezilya'da %19⁴², İngilterede %16⁴³, Suudi Arabistan'da %29.2⁴⁴ dir ve görüldüğü gibi yüksek oranlardadır. Çin' de ise bu oran BRCA1 için %17.1, BRCA2 için %5.3 olarak verilmiştir⁴⁵. Ülkemizde sadece OC'lu hastaları içeren nadir yapılmış bir çalışmada aile hikayesi dikkate alınmayan 87 hastada 6'sı BRCA1, 7'si BRCA2 mutasyon taşıyıcılığı olmak üzere kümülatif mutasyon oranı %14,9(13/87) olarak verilmiştir⁴⁶. Bizim çalışmamız da ise over kanserinde patolojik BRCA mutasyon oranımız %21.4 idi.

BRCA mutasyon taşıyıcılarında artmış uterin kanser riski halen tartışma konusu olmakla beraber Laitman, özellikle seröz histolojik subtipde uterin kanser riski-

nin 3.9 kat arttığını belirtmiştir⁴⁷. 4456 BRCA1 /2 mutasyon taşıyıcı kişide yapılan kohort çalışmada yıllık endometriyal kanser riskinin genel popülasyondan yüksek olduğu ve bu riskin Tamoksifen kullanımında çok daha fazla arttığı belirtilmiştir⁴⁸. Bu tartışma RRSO (risk azaltıcı salpingoofektomi) önerilen sağlıklı mutasyon taşıyıcılarında operasyona histektominin eklenmesi açısından önem kazanmaktadır. Biz çalışmamızda BRCA1/2 mutasyon testi yapılan 20 endometriyum kanseri hastamızda patolojik mutasyon saptamadık. Mutasyon sonuçları hastaların sadece ailevi risk değerlendirmesini değil prognoz ve olası tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi açısından da önemlidir. Biliyoruz ki BRCA mutasyon hücreleri platin bazlı tedaviye çok daha sensitiftir ve poly (ADP-ribosom) polimeraz (PARP) inhibitörleri ile umut verici sonuçlar elde edilmiştir⁴⁹⁻⁵³.

Tüm endometriyum karsinomlarının %6'sı genetik geçişlidir ve bu vakaların çoğunu LS oluşturur⁵⁴⁻⁵⁶. Her bir gen mutasyonu farklı kanser risk profili ve insidansına sahiptir. Endometriyum kanser riski MLH1 ve MSH2 mutasyonlarında en yüksekken, PMS2'de en düşüktür⁵⁷.

LS sıklığını araştıran çalışmalardan, Lu ve ark. 50 yaş altı 100 endometriyum kanseri vakasında 1 MLH1, 7 MSH2 ve 1 MSH6 olmak üzere 9 germline mutasyon saptamış ve hastaların ortalama yaşını 41,6 olarak belirtmiştir¹¹. Hampel ve ark. yaş ve aile hikayesinden bağımsız olarak 543 endometriyum kanserinde 10 mutasyon saptamış (1 MLH 1, 3 MSH2, 6 MSH6) ve LS sıklığını %1.8 verirken ortalama görülme yaşını 54,6 olarak sunmuştur⁸. Berends ve ark. 50 yaş altı 57 endometriyum kanseri vakasında 5 adet patolojik

Jinekolojik Kanselerde Mutasyon Profilleri

mutasyon (1 MLH1, 3 MSH2, 1 MSH6) saptamış ve oranı %8.8 olarak bulmuştur¹⁰. Ülkemizden Taha ve ark. yine yaş ve aile hikayesinden bağımsız olarak 79 endometriyum kanserinde 4 mutasyon tespit etmiştir (4/79, %5)⁵⁸. Biz de 27 vakamızda 1 MLH1 ve 1 ATM geninde patolojik mutasyon saptadık (7.4%) ve LS sıklığımız %3.7 idi.

Hereditör over kanserlerinin %15'ini Lynch sendromu bağlantılı overyen kanserler oluşturur. Bunların daha çok endometroid veya clear cell histolojisinde olabileceği belirtilmişse de^{59,60} çalışmamızdaki LS taraması yapılan 4 over kanserli hastadan 1 tanesi MSH6 mutasyonuna bağlı idi ve transizyonel hücreli tümör histolojisindeydi.

LS 'da bulunan mikrosatellit instabilitesinin immüno-terapi etkinliği, bu testlerin klinik pratikle entegrasyonunu arttırmış ve tedavi kararındaki etki gücü nedeniyle daha da önemli hale getirmiştir³⁸.

Bizim bu konuda yapılan çalışmalardan üstünlüğümüz over ve endometriyum kanserlerinde non-lynch ailesel gen panelini de değerlendirmiş olmamızdır. Hereditör jinekolojik kanser ailevi panel testleri, önemli aile hikayesi bulunup BRCA1, 2 ve Lynch sendromu gen sonuçları negatif bulunmuş vakalarda kullanışlı olabilir. Aynı zamanda panel testleri over kanseri riskini arttıran ve risk azaltıcı cerrahiden potansiyel fayda görebilecek mutasyonlarda önem kazanabilir. RAD51C, RAD51D ve BRIP1 gen mutasyon taşıyıcılığında %10 'a varan over kanser riski vardır⁶¹⁻⁶³ ve bu hastalarda 45-50 yaş aralığında RRSO öne-

rilmektedir^{6,14,64-66} (Tablo III). Non BRCA hereditör over kanseri genlerinin gerçek mutasyon penetransı az bilirse de, NCCN rehberleri ve Avrupa uzmanlar grubu BRCA ve Lynch gen testlerine RAD51C, RAD51D ve BRIP1 ide dahil etmiştir^{64,67}.

Panel testlerin en önemli dezavantajlarından biri VUS sonuçlarının artmasıdır. Biliyoruz ki çoğu VUS yüksek kanser riski ile birliktelik göstermez. ENİGMA (The evidence based network for the interpretation of germline mutant alleles) konsorsiyumu 6000'den fazla farklı VUS tanımlamıştır⁶⁸. BRCA mutasyon raporlarında %20'ye varan VUS oranları mevcuttur ancak iyi tanımlanmış etnik gruplarda bu oran <%5'dir^{69,70}. VUS klinisyen için tanısal bir muamma olduğu gibi hastalar için de kafa karıştırıcı bir durumdur. Bu hastaların deneyimli bir genetikçi tarafında değerlendirilmesi önem kazanmıştır. Ülkeler arası bilgi paylaşımının artması ile majör oranda VUS'lar reklasifiye edilerek benign kabul edilmiş ve BRCA1/2 için VUS oranı 2002'den 2013'e %12.8 den %2.1'e kadar düşmüştür⁷¹. Frey ve ark. multigen panel testinde VUS oranını %46 olarak vermiş ve en sık saptanan VUS'ları sıklık sırasına göre BRCA2, ATM ve MLH1 genlerinde olarak sıralamıştır⁷². Bizde 2 tanesi çoğul olmak üzere 15 adet VUS vakamızda en sık ATM genini tespit ettik(5/15).

Toplumdaki meme kanserlerinin %2-7'sinden ATM geni sorumludur⁷³. ATM gen mutasyonlarında DNA stabilite bozukluğu mevcut olup Ataksi Telanjiektasia (AT) fenotipi otozomal resesif geçişlidir; homozigot

Tablo III. Hereditör Jinekolojik Malignitelere Güncel Durum ve Risk Azaltıcı Strateji

Genetik sendrom	Gen	Jinekolojik kanser	Kanser riski (%)	Risk stratejisi
HBOC	BRCA1	Over	39-46	RRSO (35-40 y)
HBOC	BRCA2	Over	10-27	RRSO (40-45 y)
Lynch	MLH1	Over Uterus	4-24 25-60	RRSO
Lynch	MSH2/ EPCAM	Over Uterus	4-24 25-60	RRSO
Lynch	MSH6	Over Uterus	1-11 16-26	RRSO
Lynch	PMS2	Over Uterus	6 15	RRSO
HOC	BRIP1	Over	10-15	RRSO düşünülür (45-50 y)
HOC	RAD51C	Over	10-15	RRSO düşünülür (45-50 y)
HOC	RAD51D	Over	10-15	RRSO düşünülür (45-50 y)
Peutz-Jeghers	STK11	Over(SCTAT) Uterus Serviks	18-21 9 10	Öneri yok
Cowden	PTEN	Uterus	19-28	Histerektomi düşünülür(Çocuk istemi tamamlandığında)
Li-Fraumeni	TP53	Over Uterus	Artar Artar	Öneri yok
PPAP	POLD1	Uterus	Artar	Öneri yok

HBOC:Hereditör meme-over karsinomu, HOC: Hereditör over karsinomu, PPAP: Polimeraz düzeltme kusuru ile oluşan polipozis (Polymerase proofreading-associated polyposis), SCTAT: Sex-cord tubuler tümör (sex cord tumor with annular tubules), RRSO: Risk azaltıcı salpingoofektomi

AT bireylerde lösemi, lenfoma, meme kanseri risk artışı gözlenmiştir⁷⁴. ATM gen mutasyonları için heterozigot bireylerde meme kanseri riskinin popülasyondan 4 kat daha fazla olduğu bilinmektedir. Meme kanserinde saptanan ATM varyantlarının çoğu missens olup kanser gelişmeyen AT hastalarında ise missens mutasyonlar %10'un altında saptanmaktadır. Bizim vakalarımızda EC'de saptanan ATM mutasyonu nonsense, OC'de ise splice site mutasyonu şeklindedir.

Over kanserli olgumuzda saptadığımız splice site ATM mutasyonu rs756987454 mutasyonu olup ClinVar veri tabanında⁷⁵ net bir şekilde patojenik olarak bildirilmiştir ve bu olgunun histopatolojik tipi endometrioid olarak değerlendirilmiştir. Southey ve ark. 14542 over kanseri ve 23491 kontrol grubu ile yaptığı çalışmada ATM geni ile over kanseri arasında bir ilişki gösterilmemiş olsa da⁷⁶ bu çalışmada sadece tek bir mutasyonun (ATM c.7271T>G) analiz edilmesi büyük bir kısıtlılık olup, over kanserinde ATM mutasyonlarının rolünün araştırılması gerekmektedir.

EC' li olgularımızda çok sayıda BRIP1, PALB2 gibi BRCA ilişkili genlerde mutasyonlar saptanması dikkat çekici olup, bu durum daha önce endometriyum kanserli olgularda bu genlerin yeterince analiz edilmemesine bağlı olabilir. EC'li 5 olgumuzda da ATM genindeki VUS'lar missens varyant olarak saptanmış olup kanser gelişimindeki rolü hakkında da yine over kanserinde olduğu gibi fonksiyonel çalışmalara ve daha büyük serilere ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmamızdaki en önemli limitasyon vaka sayımızın azlığıdır, üstünlüğü ise seçilmiş mutasyonlar dışında tüm genin dizi analizinin yapıldığı yeni nesil dizilemenin kullanılması ve sonuçlarda sadece patojenik olduğu zaten bilinen mutasyonların değil, VUS'ların da bildirilmesi ve tartışılmasıdır. Bu konuda ülkemizde yapılan çalışma sayısı maalesef çok azdır ve bizde orta ölçekli nüfusa sahip ilimizdeki verileri paylaşmak istedik. Farklı coğrafi bölgelerdeki merkezlerin mutasyon sıklık ve sekanslarının paylaşımı ileride yeni tarama, takip ve tedavi algoritmalarının oluşmasına zemin hazırlayabilir.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Klinik Araştırmalar Etik Kurulu.

Onay Tarihi: 11.17.2019

Karar No: 2019-20-07

Kaynaklar

- Harper P. Practical Genetic Counselling. Sixth Edition. London: Hodder Arnold; 2004.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015;136(5):E359-86.
- M.S. Daniels. Genetic testing by cancer site: uterus. *Cancer J* 2012;18:338-342.
- Lamberti C, Kruse R, Ruelfs C, et al. Microsatellite instability- a useful diagnostic tool to select patients at high risk for hereditary non-polyposis colorectal cancer: a study in different groups of patients with colorectal cancer. *Gut* 1999;44:839-843.
- Resnick KE, Hampel H, Fishel R, Cohn DE. Current and emerging trends in Lynch syndrome identification in women with endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2009;114:128-134.
- Provenzale D, Gupta S, Ahnen DJ, et al. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Colorectal Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2016;14(8):1010-30.
- Tiwari AK, Roy HK, Lynch HT. Lynch syndrome in the 21st century: clinical perspectives. *QJM* 2016 Mar;109(3):151-8.
- Hampel H, Frankel W, Panescu J, et al. Screening for Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) among endometrial cancer patients. *Cancer Res* 2006;66(15):7810-7.
- H.Hampel, W.L. Frankel, E. Martin ,et al. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med.*2005;352:1851-56.
- M.J. Berends, Y. Wu, R.H. Sijmons, et al.Toward new strategies to select young endometrial cancer patients for mismatch repair gene mutation analysis. *J Clin Oncol* 2003;21:4364-70.
- K.H. Lu, J.O. Schorge, K.J. Rodabaugh, et al. Prospective determination of prevalence of lynch syndrome in young women with endometrial cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:5158-64.
- V. Pinol, A. Castells, M. Andreu, et al.Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association. JAMA* 2005;293:1986-94.
- Pål Møller, Toni Seppälä, Inge Bernstein, et al. Cancer incidence and survival in Lynch syndrome patients receiving colonoscopic and gynaecological surveillance: first report from the prospective Lynch syndrome database. *Gut* 2017;66:464-472.
- K.H. Lu, M. Dinh, W. Kohlmann, et al. Gynecologic cancer as a "sentinel cancer" for women with hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. *Obstet Gynecol* 2005;105:569-74.
- Cousineau I, Abaji C, Belmaaza A. BRCA1 regulates RAD51 function in response to DNA damage and suppresses spontaneous sister chromatid replication slippage: implications for sister chromatid cohesion, genome stability, and carcinogenesis. *Cancer Res* 2005;65(24):11384-91.
- T. Walsh, S. Casadei, M.K. Lee, et al., Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci* 2011;108:18032-37.
- Z.K. Stadler, E. Salo-Mullen, S.M. Patil, et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in Ashkenazi Jewish families with breast and pancreatic cancer. *Cancer* 2012;118: 493-99.
- J.Mersch, M.A. Jackson, M. Park, et al.Cancers associated with BRCA1 and BRCA2 mutations other than breast and ovarian. *Cancer* 2015;121:269-75.
- C.A. Shu, M.C. Pike, A.R. Jotwani, et al. Uterine cancer after risk-reducing salpingo-oophorectomy without hysterectomy in women with BRCA mutations. *JAMA Oncol* 2016;2: 1434-40.
- Lakhani SR, Manek S, Penault-Llorca F, et al. Pathology of ovarian cancers in BRCA1 and BRCA2 carriers. *Clin Cancer Res* 2004;10(7):2473-81.
- Risch HA, McLaughlin JR, Cole DE, et al.Prevalence and penetrance of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. *Am J Hum Genet* 2001;68(3):700-10.
- Ferla R, Calo V, Cascio S, et al. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. *Ann Oncol* 2007;18:93-8.

Jinekolojik Kanserlerde Mutasyon Profilleri

23. Shanmughapriya S, Nachiappan V, Natarajaseenivasan K. BRCA1 and BRCA2 mutations in the ovarian cancer population across race and ethnicity: special reference to Asia. *Oncology* 2013;84(4):226–32.
24. D.Ford, D.F.Easton, M.Stratton, et al.Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. *Am J Hum Genet* 1998;62:676-89.
25. A.Antoniou, P.D.P. Pharoah, S. Narod, et al.Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies. *Am J Hum Genet* 2003;72:1117-30.
26. King MC, Marks JH, Mandell JB; New York Breast Cancer Study Group. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science* 2003;302(5645):643-6.
27. Biron-Shental T, Drucker L, Altaras M, Bernheim J, Fishman A. High incidence of BRCA1-2 germline mutations, previous breast cancer and familial cancer history in Jewish patients with uterine serous papillary carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2006;32:1097–100.
28. Lavie O, Ben-Arie A, Segev Y, et al. BRCA germline mutations in women with uterine serous carcinoma--still a debate. *Int J Gynecol Cancer* 2010;20:1531–4.
29. Goshen R, Chu W, Elit L, et al. Is uterine papillary serous adenocarcinoma a manifestation of the hereditary breast-ovarian cancer syndrome? *Gynecologic oncology* 2000;79:477–81.
30. J.M. Lancaster, C.B. Powell, L.M. Chen, D.L. Richardson. SGO Clinical Practice Committee Society of Gynecologic Oncology statement on risk assessment for inherited gynecologic cancer predispositions. *Gynecol Oncol* 2015;136 (1):3-7.
31. Hampel H, Bennett RL, Buchanan A, Pearlman R, Wiesner GL; Guideline Development Group, American College of Medical Genetics and Genomics Professional Practice and Guidelines Committee and National Society of Genetic Counselors Practice Guidelines Committee. A practice guideline from the American College of Medical Genetics and Genomics and the National Society of Genetic Counselors: referral indications for cancer predisposition assessment. *Genet Med* 2015;17:70–87.
32. Myriad Genetic Laboratories.Mutation prevalence table for HNPCC. [Retrieved October 2005]; Available at:myriadtests.com/provider/mutprevhnpcc.htm.
33. Trainer AH, Meiser B, Watts K, et al. Moving toward personalized medicine: Treatment-focused genetic testing of women newly diagnosed with ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2010;5:704–16.
34. M.B. Daly, R. Pilarski, J.E. Axilbund,et al. Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian. Version 2. *J Natl. Compr Cancer Netw* 2016;14(2):153-62.
35. K.H. Lu, M.E. Wood, M. Daniels, et al. American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology Expert Statement: collection and use of a cancer family history for oncology providers. *J Clin Oncol* 2014;32(8):833-40.
36. K.P. Pennington, E.M. Swisher Hereditary ovarian cancer: beyond the usual suspects. *Gynecol Oncol* 2012;124(2):347-353.
37. B.Kaufman, R. Shapira-Frommer, R.K. Schmutzler, et al.Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline BRCA1/2 mutation. *J Clin Oncol* 2015;33(3): 244-50.
38. Dung T. Le, Jennifer N. Uram, Hao Wang, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch repair deficiency. *N Engl J Med* 2015;372:2509-20.
39. Richards S., Aziz N., Bale S.,et al. Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405-23.
40. Eccles DM, Balmaña J, Clune J, et al. Selecting Patients with Ovarian Cancer for Germline BRCA Mutation Testing: Findings from Guidelines and a Systematic Literature Review. *Adv Ther* 2016;33(2):129-50.
41. Bell, D., Berchuck, A., Birrer, M, et al. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature* 2011; 474: 609–15.
42. Maistro S, Teixeira N, Encinas G, et al. Germline mutations in BRCA1 and BRCA2 in epithelial ovarian cancer patients in Brazil. *BMC Cancer* 2016;16(1):934.
43. George A, Riddell D, Seal S, et al. Implementing rapid, robust, cost-effective, patient-centred, routine genetic testing in ovarian cancer patients. *Sci Rep* 2016;6:29506.
44. Alhuqail AJ, Alzahrani A, Almubarak H, et al.High prevalence of deleterious BRCA1 and BRCA2 germline mutations in arab breast and ovarian cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2018;168(3):695-702.
45. Li A, Xie R, Zhi Q, et al. BRCA germline mutations in an unselected nationwide cohort of Chinese patients with ovarian cancer and healthy controls. *Gynecol Oncol* 2018;151(1):145-152.
46. Yazıcı H, Kılıç S, Akdeniz D, et al. Frequency of Rearrangements Versus Small Indels Mutations in BRCA1 and BRCA2 Genes in Turkish Patients with High Risk Breast and Ovarian Cancer. *Eur J Breast Health* 2018;14(2):93-99.
47. Laitman Y, Michaelson-Cohen R, Levi E, et al. Israeli Consortium of Hereditary Breast Cancer. Uterine cancer in Jewish Israeli BRCA1/2 mutation carriers. *Cancer* 2019;125(5):698-703.
48. Segev Y, Iqbal J, Lubinski J, et al. The incidence of endometrial cancer in women with BRCA1 and BRCA2 mutations: an international prospective cohort study. *Gynecol Oncol* 2013;130:127–31.
49. Tan David SP, Rothermundt C, Thomas K, et al. “BRCAness” syndrome in ovarian cancer: a case–control study describing the clinical features and outcome of patients with epithelial ovarian cancer associated with BRCA1 and BRCA2 mutations. *J Clin Oncol* 2008;26(34):5530–6.
50. Quinn JE, James CR, Stewart GE, et al. BRCA1 mRNA expression levels predict for overall survival in ovarian cancer after chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2007;13(24):7413–20.
51. Cuppone F, Bria E, Carlini P, et al. Taxanes as primary chemotherapy for early breast cancer: meta-analysis of randomized trials. *Cancer* 2008;113(2):238–46.
52. Chen Y, Zhang L, Hao Q. Olaparib: a promising PARP inhibitor in ovarian cancer therapy. *Arch Gynecol Obstet* 2013;288(2):367–74.
53. Lee J, Lederhmann JA, Kohn EC. PARP inhibitors for BRCA1/2 mutation-associated and BRCA-like malignancies. *Ann Oncol* 2014;25(1):32–40.
54. C.H.M. Leenen, M.G.F. van Lier, H.C. van Doorn, et al.Prospective evaluation of molecular screening for Lynch syndrome in patients with endometrial cancer ≤70 years. *Gynecol Oncol* 2012;125:414-20.
55. F.J. Backes, D.E. Cohn Lynch syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 2011;54:199-214.
56. M.-H. Tan, J.L. Mester, J. Ngeow, et al. Cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. *Clin Cancer Res* 2012;18:400-7.
57. E. Barrow, J. Hill, D.G. Evans Cancer risk in Lynch syndrome. *Fam Cancer* 2013;12:229-40.
58. Özdemir TR, Alan M, Sancı M, Koç A. Targeted Next-Generation Sequencing of MLH1, MSH2, and MSH6 Genes in Patients with Endometrial Carcinoma under 50 Years of Age. *Balkan Med J* 2019;36(1):37-42.

59. M.H. Chui, C.B. Gilks, K. Cooper, B.A. Clarke. Identifying Lynch syndrome in patients with ovarian carcinoma: the significance of tumor subtype. *Adv Anat Pathol* 2013;20:378-86.
60. M.H. Chui, P. Ryan, J. Radigan, et al. The histomorphology of Lynch syndrome-associated ovarian carcinomas: toward a subtype-specific screening strategy. *Am J Surg* 2014;38:1173-81.
61. C. Loveday, C. Turnbull, E. Ruark, et al. Germline RAD51C mutations confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat net* 2012;44:475-76.
62. C. Loveday, C. Turnbull, E. Ramsay, et al. Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer. *Nat Genet* 2011;43:879-82.
63. H.T. Lynch, M.J. Casey, C.L. Snyder, et al. Hereditary ovarian carcinoma: heterogeneity, molecular genetics, pathology, and management. *Mol Oncol*, 2009;3:97-137.
64. Daly MB, Pilarski R, Berry M, et al. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian, Version 2.2017. *J Natl Compr Canc Netw* 2017;15(1):9-20.
65. C. Palles, J.-B. Cazier, K.M. Howarth, et al. Germline mutations affecting the proofreading domains of POLE and POLD1 predispose to colorectal adenomas and carcinomas. *Nat Genet* 2013;45:136-44.
66. T.J. McGarrity, H.E. Kulin, R.J. Zaino. Peutz-Jeghers syndrome. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:596-604.
67. Hans F A Vasen, Ignacio Blanco, Katja Aktan-Collan, et al. Revised guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (HNPCC): recommendations by a group of European experts (the Mallorca group). *Gut* 2013;62(6): 812-23.
68. Nielsen SM, Eccles DM, Romero IL, Al-Mulla F, et al. Genetic Testing and Clinical Management Practices for Variants in Non-BRCA1/2 Breast (and Breast/Ovarian) Cancer Susceptibility Genes: An International Survey by the Evidence-Based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles (ENIGMA) Clinical Working Group. *JCO Precis Oncol* 2018;2:10.1200/PO.
69. Kurian AW. BRCA1 and BRCA2 mutations across race and ethnicity: distribution and clinical implications. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010;22(1):72-8.
70. Eccles DM, Mitchell G, Monteiro AN, et al. ENIGMA Clinical Working Group. BRCA1 and BRCA2 genetic testing-pitfalls and recommendations for managing variants of uncertain clinical significance. *Ann Oncol* 2015;10:2057-65.
71. J.M. Egginton, K.R. Bowles, K. Moyes, et al. A comprehensive laboratory-based program for classification of variants of uncertain significance in hereditary cancer genes. *Clin Genet* 2014;86:229-37.
72. Frey MK, Kim SH, Bassett RY, et al. Rescreening for genetic mutations using multi-gene panel testing in patients who previously underwent non-informative genetic screening. *Gynecol Oncol* 2015;139(2):211-5.
73. Ahmed M, Rahman N. ATM and breast cancer susceptibility. *Oncogene* 2006;25(43):5906-11.
74. Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, (eds). *Gene Reviews*. University of Washington, Seattle: 2016.
75. ClinVar aggregates information about genomic variation and its relationship to human health. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
76. Southey MC, Goldgar DE, Winqvist R, et al. PALB2, CHEK2 and ATM rare variants and cancer risk: data from COGS. *J Med Genet* 2016;53(12):800-811.