

MEME KANSERLERİNE KLİNİK GENETİK YAKLAŞIM

Selçuk Sözer Tokdemir^{1,2}, Ayşe Nur Kavasoglu¹, Aysel Kalaycı Yiğın¹, Mehmet Seven¹

¹ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

Kanser, klinik olarak dünyada en sık görülen ve en ciddi sonuçlar doğuran genetik bir hastalıktır. Büyük çoğunluğu yaşam tarzı, çevre, hormonlar ve şans unsuru gibi kalıtsal olmayan faktörlere bağlı sporadik olarak meydana gelirken, sadece % 5-10'u kalıtsal bir özelliğe sahiptir. Yüksek riskli bireylerin belirlenerek, erken dönemde tanımlanacak germline mutasyonlar ile daha fazla sayıda hastaya ulaşılması, bunların takibi ve kanser riskini azaltacak stratejilerin, tedavi protokollerinin erken dönemde uygulanmaya başlanması hasta sağlığı bakımından çok önemlidir. Bunlara paralel olarak, kanserlerde genetik testlerin önemi de hızla artarak yoğun ve yeni bir araştırma alanı olarak ortaya çıkmıştır.

Kanser biyolojisinde genel olarak, kanser oluşum, ilerleme ve metastatik yayılımda rolü olan altı temel özellik mevcuttur[1]. Bunlardan birincisi; kanser hücrelerinde proliferatif sinyallerin devam ettirilmesidir. Proliferatif sinyallerin devam ettirilmesinde, kanser progresyonu sırasında oluşan ek somatik mutasyonlar ile hücre içi farklı yolların etkinleştirilmesi, proliferatif sinyalleri etkileyen negatif geri-besleme mekanizmalarının bozulması ve oluşan aşırı proliferatif sinyaller ile hücre yaşlanmasının tetiklenmesi rol oynar. İkincisi, kanserin tümör baskılayıcı genlerden kaçınma veya fonksiyonunu bozma/baskılama özelliğine sahip olmasıdır. Normalde yeni hücreler oluştuğu zaman, tümör baskılayıcı genler, bu yeni hücre genomunda bilgisayarımıza yüklenen Ofis programındaki "yazım denetimi" gibi çalışır ve yapılan hataların düzeltilmesine yardımcı olur. Bu yüzden tümör baskılayıcı genlerden biri görevini yapamıyorsa, kişinin kanser geliştirme riski de artar. Bu nedenle, hem tümör supresör genlerde meydana gelen mutasyonlar, hem de baskılayıcı gen fonksiyonlarını etkileyen nedenler kanser gelişiminde kritik öneme sahiptir. Üçüncüsü, hücre ölümüne karşı direnç oluşturulmasıdır. Dördüncüsü, replikatif ölümsüzlüğün etkinleştirilmesi ve bu sayede kanser hücrelerinin "ölümsüz" denilen forma girmesidir. Beşincisi, kanser hücrelerinde invazyon ve metastaz yapabilme özelliklerinin aktifleştirilmesi ve son olarak da anjiogenezin indüklenmesidir.

Tümör oluşumunda geçirilen tüm bu süreçlerde tespit edilen mutasyonların sayısı çok değişken olup, bir yada binlercesine rastlanabilmektedir. Tümör dokusundan sekanslanma yöntemiyle tespit edilen mutasyonların çoğu rastlantısal gibi görünmektedir. Belli özelliklere sahip aynı kanser türlerinde tekrarlayıcı olmayıp, kanser gelişiminde veya ilerlemesinde rol oynamaktan ziyade kanser geliştikçe

ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu tür mutasyonlar “**yolcu mutasyon**” olarak adlandırılır. Diğer taraftan, bazı genlerin, aynı türdeki kanserlerde veya farklı tipteki kanserlerde yüksek frekansta mutasyona uğradığı görülmektedir. Bu genlerin kanserin gelişmesine veya ilerlemesine önemli katkı sağladığı belirtilmektedir. Kanser gelişmesine neden olabilecek bu tür mutasyonlara ise “**sürücü gen mutasyonları**” denilmektedir[2]. Bazı sürücü genlerin, p53 proteini kodlayan TP53 geninde olduğu gibi, birçok farklı tür kanserlerde bulunduğu bilinmektedir. Diğer taraftan, ailesel meme kanserlerinde olduğu gibi, bazı sürücü genlerin belirli tümör tiplerine özgü olduğu belirtilmektedir[3]. Genomda tespit edilen pek çok değişikliğin, sürücü gen mutasyonları gibi davranabildiği, bazen de tek bir nükleotid değişikliği veya küçük bir delesyon/duplikasyonun sürücü mutasyona yol açabildiği görülmektedir. Genomda etkilerine göre sürücü mutasyonlar da farklı alt gruplara bölünerek incelenir. Özellikle, hücresel proliferasyon veya sağkalım üzerinde spesifik etkisi olan ve genom veya DNA bütünlüğü üzerinde global etkileri olan mutasyonlar kanser oluşumunda iki farklı fonksiyonel kategori oluştururlar. Bunlardan biri “**proto-onkogenler**”, diğeri “**tümör supresör genler**”dir. Aslında, proto-onkogenler, farklı şekillerde mutasyona uğramış ve aşırı aktivite düzeylerine sahip olan sürücü genler haline gelmiş normal genlerdir. Bir allelde sadece tek bir mutasyon, kromozomal translokasyonlar veya gen amplifikasyonu ile proto-onkogen aktivasyonu görülebilir ve bu şekilde oluşan mutasyonlar, sürücü genlerin aktif onkogenler haline gelmesine yol açar. Sonuçta bir genin aşırı ekspresyonu ile kodlanmış mRNA ve protein ürününde aşırı artışa ve bu şekilde oluşan proteinin yapısal, sayısal ve/veya fonksiyonel düzensizliğine ve hiperaktivitesine neden olur.

İkinci ve daha yaygın olan sürücü genler kategorisinde yer alan **tümör supresör (baskılayıcı) genlerin** (TSG'lerin) mutasyonları ise, kanserlerin gelişimini kontrol etmek için gerekli olan protein ekspresyonunun kaybına yol açar. Kanserogenezi sürdürmek için, bir TSG'nin fonksiyon kaybı genellikle her iki allelde de mutasyon oluşumunu gerektirir. Bu olay Knudson'un çift-vuruş (**two-hit**) hipotezi olarak adlandırılır[4]. Bir hücrenin TSG allellerinin işlevini kaybedeceği pek çok yol vardır. Bunlardan bazıları, kromatin konformasyonunun değişimi, promotor metilasyonuna bağlı epigenomik transkripsiyonel susturulma veya miRNA'lar ile transkripsiyonel olarak susturulma ya da transkripsiyonel düzeneğin diğer bileşenlerinde meydana gelen bozukluklar olarak sıralanabilir.

Kanser oluşumunu etkileyen diğer genetik faktörler de mutant genin **penetrans ve ekspresivite**'sidir. **Penetrans** mutant allel veya alellerin herhangi bir fenotipik ifadeye sahip olma olasılığıdır. Örneğin, belirli bir otozomal dominant hastalıktan sorumlu gende bir mutasyon % 95 penetransa sahipse, mutasyona sahip olanların % 95'i hasta olurken % 5'i hasta olmayacaktır. Bu durum , şöyle açıklanmaktadır; bir organizma belirli bir genotipe sahip olabilir, ancak genomun geri kalanındaki modifiye edici genler ve/veya mekanizmalar, epistatik genler veya baskılayıcı genler veya çevrenin etkisi nedeniyle karşılık gelen fenotipi ifade edemez. Bunun yanında, bir genin fonksiyon yokluğu, aslında, laboratuvar ortamında ölçülmesi belki de çok zor olan çok hassas etkilere sahip olabilir ve tespit edilemeyebilir. Bir fenotipin ekspresyon sıklığı % 100'den az olduğunda yani, ilgili genotipe sahip olanların bazıları bunu tamamen ifade edemediğinde bozukluğun azalmış veya eksik penetrans gösterdiği söylenir. Bir mutant genin **ekspresyonu** ise, bir fenotipin varlığına veya yokluğuna bağlı olarak değil de, aynı hastalığa neden olan genotipe sahip bireyler arasında bu fenotipin ifadesinin şiddetini açıklamaktadır. Farklı bireylerde farklı derecelerde ifade, genomun geri kalanının veya çevresel faktörlerin mutant allel yapısındaki varyasyona bağlı olabilir.

Meme kanseri toplumda sık görülen kanser türlerinden biridir. Genel olarak meme kanserlerine yatkınlıktan sorumlu tutulan genlerden birisi BRCA1 ve diğeri BRCA2'dir. Gen isimlendirmesi "meme kanseri" kelimelerinin ilk harfleri kullanılarak elde edilmiştir (breast cancer: BRCA). Yapılan çalışmalarda, BRCA1 (113705 OMIM) ve BRCA2'nin (600185 OMIM) germline mutasyonları ile meme kanseri gelişimi arasında güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir[3]. Ayrıca, BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlarının over, uterus tüpleri ve periton kanseri riskini, özellikle BRCA2 mutasyonlarının ise erkeklerde meme kanseri, pankreas kanseri ve melanoma riskini artırdığı bildirilmektedir[5]. Bunlar kalıtsal meme ve over kanseri sendromu (HBOC) adı altında incelenmektedir[6]. Her iki gen de otozomal dominant kalıtılır ve tümör baskılayıcı genlerin iyi tanımlanmış bir örneğini oluştururlar[6, 7] (Tablo 1).

BRCA1 geni, 17. Kromozomun uzun kolunda (17q21) lokalize olup, diğer işlevlerin yanı sıra, çift iplikçikli DNA hasarının homolog rekombinasyon ile tamiri ve kromatinin yeniden şekillenmesinde rol oynayan E3 Ubiquitin ligazı kodlar[8]. İlk olarak, 1991 yılında meme kanseriyle ilişkilendirilmiştir[9]. Bundan kısa bir süre sonra, 1994 yılında da BRCA2 geni tespit edilmiştir[10]. BRCA2 geni 13. Kromozomun uzun kolunda (13q13.1) yer alır ve çift iplikçikli DNA hasarının homolog rekombinasyon ile tamirine katkıda bulunan Rad51 proteininin bağlanma bölgesini kodlar. Farklı kromozomlar üzerinde lokalize olan bu genlerin herbiri DNA tamir mekanizmasında rol alsa da kullandıkları yollar farklıdır[11].

Kanser oluşumunu bu genlerdeki zararlı mutasyonlarla ilişkilendiren ilk çalışmalar, sadece çok yüksek kanser yükü olan ve tanı konulan genç yaşta ailelerle sınırlı kalmıştır. Bu çalışmalarla BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları için çok yüksek penetrasyon tahminleri yapılmış, % 90 'lar civarında yaşam boyu meme kanseri oluşma riski öngörülmüştür. Ancak, sonraki çalışmalarda, hasta sayısı arttırılmış ve bilinen bir aile kanseri öyküsü ya da genç yaşta meme veya over kanseri olmayan hastalar da çalışmalara dahil edilerek daha geniş toplum-temelli çalışmalar yapılmış ve bu analizlerde daha düşük ve daha genellenebilir penetrasyon tahminleri elde edilmiştir. Meme kanseri, tüm dünyada kadınlarda %23-30 oranında görülmekte olup, en sık saptanan kanser özelliğine sahiptir. Aynı zamanda kansere bağlı kadın ölümlerinde de ilk sırada yer almaktadır [12, 13]. Bir kadının tüm yaşamı boyunca meme kanserine yakalanma riski yaklaşık %9-11 olarak bildirilmektedir [14]. BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları, özellikle erken başlangıçlı meme kanseri, bilateral meme kanseri ve üçlü negatif (triple-negative breast cancer (TNBC): östrojen reseptörü negatif, progesteron reseptörü negatif ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2 negatif) meme kanseri veya ailede meme kanseri öyküsü olan kişilerde sıklıkla görülmektedir. BRCA1 veya BRCA2 mutasyonları nedeniyle oluşan meme kanserleri kalıtsal kanserlerin %30'unu oluşturmaktadır[15-17]. Yapılan meta-analizler ile bu genlerdeki patojenik varyant insidansı genel popülasyonda % 0,1 ila % 0,2 bulunmuş, tüm meme kanserlerinde ise % 5 olarak tespit edilmiştir[18]. BRCA1 ve BRCA2 mutasyon taşıyıcıları arasında meme kanseri gelişme riski sırasıyla % 57 ve % 49, over kanseri gelişme riski % 40 ve % 18 olarak belirlenmiştir[19].

Bunun yanında, kurucu mutasyonlara bağlı olarak meme kanseri sıklığı artmış popülasyonlar da vardır. Özellikle, Ashkenazi Yahudi nüfusunda tespit edilmiş en önemli üç mutasyon (BRCA1.185delAG, BRCA1.5382insC ve BRCA2.6174delT) nedeniyle meme kanserinin kalıtsal kanserler içeresindeki sıklığı %10'a kadar çıkabilmektedir [20].

Meme Kanseri Tanısı Konulan veya Henüz Tanısı Konulmamış Kadınlarda Genetik Test Endikasyonları

Genetik testler, meme kanserlerinin tedavi planlamasının ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Bu konuda hastalara verilen genetik danışmanlık, test sonucuna dayanılarak bilinçli karar vermek için kritik öneme sahiptir. BRCA1 ve BRCA2 için yapılan klinik genetik testler, 1990'lı yıllarda başlamıştır. Ancak patent kanunlarındaki sınırlamalar nedeniyle az sayıda laboratuvarlar belirli testleri yapabilmekte ve hizmet olarak sunabilmekteydi[21]. 2004 yılında Avrupa Patent Ofisi tarafından, BRCA1 ve BRCA2 için yapılan patent talebine, patent kabulü için gerekli olan ve yasalarda tanımlanmış yaratıcılık unsurunu karşılamadığı gerekçesiyle sınırlama getirilmiştir. Benzer şekilde, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde, yeni tespit edilmiş “genlerin” Patent Yasası çerçevesinde değerlendirilip değerlendirilemeyeceği tartışılmıştır. Ancak, yirmi üç yıl sonra, 2013 yılında, ABD Yüksek Mahkemesi insan genlerinin doğal olarak meydana geldiğini ve bu nedenle patentli olamayacağına karar vermiştir[5, 22]. Patent kanunlarındaki bu değişiklikler ve testin klinik teşhis ve tedavide belirlenen faydalarının artması nedeniyle BRCA1 ve BRCA2 testi sunan laboratuvar sayısı ve bununla bağlantılı olarak hasta sayısı ve test sunulan hasta yelpazesi de genişleyerek artmıştır.

Geçtiğimiz yıllarda dünya genelinde üne sahip bazı sanatçıların yaptığı açıklamalar, meme veya over kanser öyküsü olan aile fertlerine genetik test yaptırmanın önemi konusunda farkındalığı artırmış ve hastaların bu konuyla ilgili testi kendisinin isteyerek yaptırmasının önünü açmıştır. Hatta, aktris Angelina Jolie'nin BRCA1 mutasyon taşıyıcısı olduğu için meme kanseri gelişme riskini azaltmak amacıyla bilateral mastektomi yaptırması hikayesinin etkilerini değerlendiren retrospektif bir çalışma da gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, genetik danışma için başvurunun, hikayenin yayınlanmasından sonraki ilk 6 ay içinde % 90 arttığı ve sayının tanımlanan BRCA1 ve BRCA2 taşıyıcıları için % 110 arttığı belirtilmiştir[23]. Bu da, önemli bir aile öyküsü ve mutasyon pozitifliği için artmış riski olan bireyler daha fazla mutasyona sahip oldukları için, özellikle yüksek riskli hasta grubun taranması, zamanla daha fazla mutasyon taşıyıcılarının tanımlanmasına imkan sağlayacağını göstermektedir.

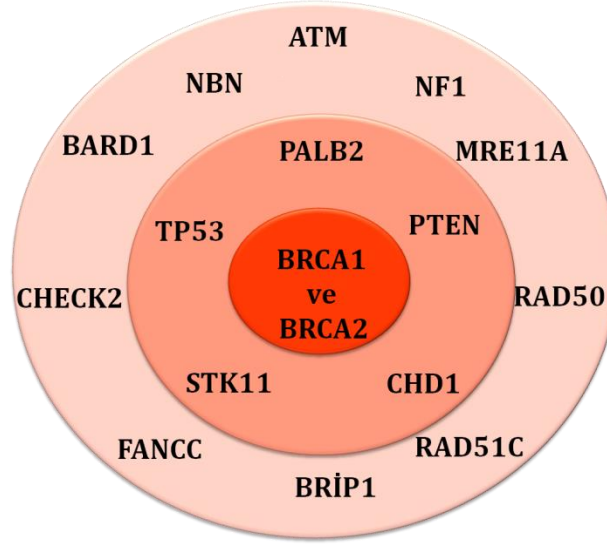
Tüm bunların yanında, genetik testler ve genetik danışmayla ilgili daha yaygın bir kamu bilincinin gelişmesine ve bu testlere erişilebilirliğin artmasına rağmen, malesef yapılan başka bir çalışmada da, risk faktörleri olan bireyler arasında bile yapılan tanı testlerinin yetersiz kaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, yüksek risk taşıyan meme kanserli hastaların sadece yarısının genetik testlere tabi tutulduğu ve genetik test yapılmayanların yarısından fazlasına hekim tarafından bile test tavsiye edilmediği bildirilmiştir[24].

Genetik test için uygun zamanın belirlenmesi, özellikle cerrahi müdahale endikasyonu konulmamış hastalar için önemlidir. Test sonucunun cerrahi endikasyon sürecini etkileyebilen önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Özellikle ameliyat kararı verilmiş hastalarda genetik testin zamanlamasına karar verirken bazı değişkenler göz önünde bulundurulmalıdır. Bunlar arasında, pozitif sonuç olasılığı ve hastanın genetik test

sonuçlarından bağımsız olarak koruyucu tedaviye yönelme arzusu ile durumun uygunluğu önemli bir faktördür. Bu nedenle, genetik test ve cerrahi tedavi zamanlamasında, diğer değişkenlerin yanısıra, farklı klinik durumların da göz önünde bulundurulması önerilmektedir.

Meme Kanseri Riskini Arttıran Mutasyonlar

BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlarından daha az yaygın olan, farklı penetrasyon ve görülme sıklığına sahip diğer gen mutasyonları da kalıtsal meme kanseri sendromları ile ilişkili bulunmuştur (Tablo 1 ve Şekil 1). Li-Fraumeni sendromu[25] ve Cowden hastalığı (PTEN hamartoma tümör sendromu)[26] ile ilişkili mutasyonlar literatürde en çok bildirilenler arasındadır. Bu çalışmalarda tespit edilen yeni genler meme kanseriyle de ilişkilendirilmiş ve klinik meme kanseri araştırmalarına yeni mutasyon olarak eklenmiştir. Bu genler arasında öncelikle, CDH1, PTEN, STK11 ve TP53 gen mutasyonları yer alırken, daha sonra BRCA1 ve BRCA2 'ye benzer fonksiyonlara sahip (çift iplikli DNA hasarı onarımı ve birden fazla organda kanser riski oluşması) ATM, BARD1, CHEK2, PALB2 gibi genler çalışılmaya başlanmıştır. Tüm bunlara ilave olarak, meme kanserinde rol oynayabileceği düşünülen aday genler de (örneğin, CDKN2A, MEN1, MLH1, MSH2, MSH6 ve MUTYH) eklenerek tetkik edilen mutasyon sayıları artırılmıştır. Tüm bu patojenik mutasyonların sıklıkları, kanserogenezdeki rolleri ve mutasyon tespitinde klavuzlarda önerilen klinik uygulamalar Tablo-1 de özetlenmiştir (Tablo 1). Meme kanserinde taşımış oldukları risk sınıflaması ise Şekil-1'de şematize edilmiştir (Şekil 1). BRCA mutasyonu bulunmayan kalıtsal sendromlar arasında Peutz-Jeghers sendromu, kalıtsal yaygın mide kanseri (CDH1) ve kalıtsal nonpolipozis kolon kanseri (Lynch sendromu) yer alır.



Şekil 1: Meme Kanseri Risk Artışı İle İlişkili Genler. Çekirdekten periferik doğru kırmızı renk skalası kullanarak meme kanseri risk artışı ile ilişkilendirilmiş olan genler gösterilmiştir. En sık görülen BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları daha az sıklıkla görülen, TP53, PTEN, PALB2, CHD1 ve STK11 genleri ve en az sıklıkla görülen, ATM, NF1, NBN, BARD1, CHECK2, FANCC, BRIP1, RAD51C, RAD50, MRE11A ve NF1 genleri bulunmaktadır.

Tablo 1: Meme kanseri ile ilişkili genlerin tahmini kanser riskleri ve yatkınlık gösterdiği kanserler				
Gen	Gen Lokasyonu	Gen Fonksiyonu	Rölatif Meme Kanseri Riski	Diğer Kansere Yatkınlık
BRCA1	17q21.3	Tümör baskılayıcı bir protein kodlar. DNA tamir mekanizmasında rol oynar.	10 kat	over
BRCA2	13q13.1	Tümör baskılayıcı bir protein kodlar. DNA tamir mekanizmasında rol oynar.	10 kat	over, prostat, pankreas, melanoma
TP53	17p13.1	Tümör baskılayıcı gen (hücre büyüme düzenleyicisi)	en az 10 kat	Li-Fraumeni Sendromu. Tüm neoplazilere yatkınlığa nedene olur. Özellikle adrenokortikal, beyin, lösemi,sarkom
PTEN	10q23.3	Fosfataz homologudur. Tümör baskılayıcı görevi görür ve mutasyonlarında hücre döngüsünü durdurur.	en az 5 kat	Cowden Hastalığı: PTEN Tumor Hamartoma Sendromu: tiroid, endometrial, kolon, renal, lipoma, tricholemmoma
STK11	19p13.3	Tümör baskılayıcı gen; apoptoz ile ilişkili;mTOR yolu negatif düzenleyici	en az 5 kat	Peutz-Jeghers Sendromu: Sindirim Sistemi, pankreas, over, endometrial, serviks, testis, akciğerler
CDH1	16q22.1	Epitelyal hücre-hücre adezyon molekülü (E-Kadherin)	5 kat (özellikle lobüler meme kanseri ile bağlantılı)	Kalıtıl Difüz Gastrik Kanseri Sendromu: Difüz Mide Kanseri
PALB2	16p12.2	DNA homolog rekombinasyon tamiriyle ilişkili BRCA2 bağlanma ortağı ve lokalizörü	2 ila 3 kat	pankreas, over (muhtemel)
CHEK2	22q12	DNA çift iplikli kırılma onarımı ile ilişkili serin treonin kinaz; Ayrıca BRCA1 fosforile eder	2 ila 3 kat (1100delC kesik mutasyon ile üç kat risk)	Muhtemel kolorektal , tiroid ve akciğer (aile hikayesi ile bağlantılı)
ATM	11q22	DNA çift iplikli kırılma onarımı ve hücre döngüsü ilerlemesi ile ilişkili	2-3 kat (c.7271T9G missense mutasyonu olanlarda 80 yaşına gelindiğinde % 60 meme kanseri riskine sahip)	Ataksi-telenjektazi Sendromu (homozigot mutasyon ise)kolon, pankreas, prostat (muhtemelen aile hikayesi ile bağlantılı)
NF1	17q11.2	Tümör baskılayıcı protein olarak görev yapan Neurofibromini kodlar.	2 ila 3 kat	merkez sinir sistemi, perifer sinir kılıfı
NBN	8q21.3	NBN geni, nibrin adlı proteini kodlar. Bu protein, hasar görmüş DNA'nın onarımı dahil olmak üzere çeşitli kritik hücre işlevlerinde rol oynar.	2 ila 3 kat	Nijmegen Kırık Sendromu (homozigot mutasyon varlığında), muhtemelen over

Meme Kanseri Genetik Tanı Testleri ve Bu Testlerin Yorumlanması

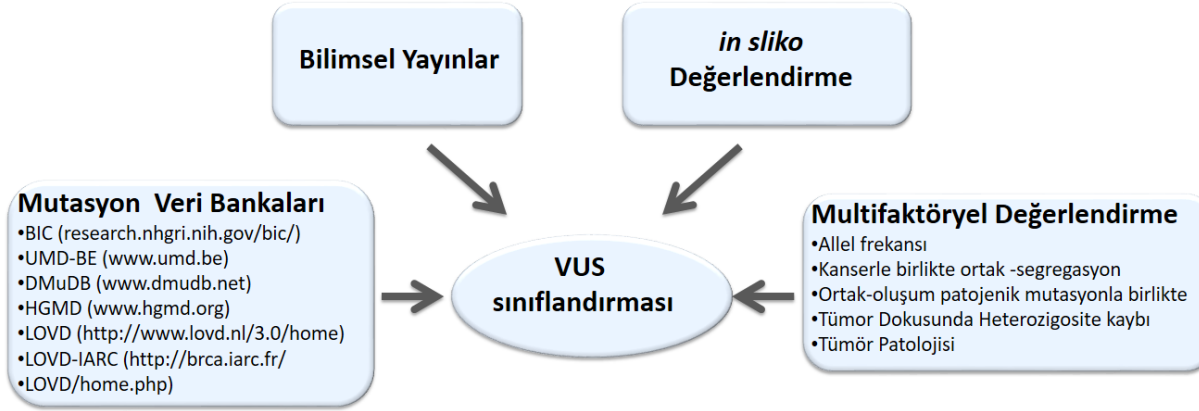
BRCA mutasyon genetik test endikasyonları, çeşitli kuruluşlar tarafından sağlanan klinik uygulama kılavuzlarında bulunabilir. Bunlar içerisinde en fazla takip edilen; Amerikan Meme Cerrahisi Derneği (ASBrS)[27], Ulusal Kapsamlı Kanseri Ağı (NCCN)[28] ve ABD Önleyici Hizmetler Görev Gücü (USPSTF)[29]'dir. Bu kılavuzlar, bir kadının meme kanserine yakalanma ihtimalini arttıran günümüze kadar yapılmış araştırmalar baz alınarak belgelenmiş sayısız risk faktörlerini dikkate almakta ve meme kanseri öyküsü olan ve olmayan kadınları kapsamaktadır. ASBrS, NCCN ve USPSTF kılavuzları hafif farklılık gösterse de, her 3 kuruluşun listelediği kriterler arasında BRCA1 ve / veya BRCA2 mutasyonlarının aile öyküsü, erken başlangıçlı meme kanseri (genellikle ≤ 50 yaşında tanı olarak tanımlanmaktadır), 2 veya daha fazla primer meme kanseri ve belli etnik geçmişe sahip olma gibi kriterleri içermektedir. Kılavuzlar baz alınarak risk skorlaması yapılan ve yüksek riskli bulunan ve/veya erken tıbbi ve/veya cerrahi girişim yanında genetik testler yapılan kadınlara, BRCA mutasyon testlerinin de faydalı olacağı belirtilmektedir.

BRCA1 ve BRCA2 genetik tanı testleri, hem üniversitelerde, hem de bazı özel laboratuvarlar bünyesinde yer alan pek çok Genetik Tanı Merkezleri tarafından yapılabilmektedir. Test, hastanın bukkal mukozası, likid biyopsisi veya periferik kan nümunesinden elde edilen amplifiye DNA parçaları ile çalışılmaktadır. Bu mutasyonların tespit edilmesiyle birlikte meme kanseri riski hesaplanır ve ardından Tıbbi Genetik Uzmanının hastaya vereceği danışmada kanser riskinin azaltılması konusunda stratejiler belirlenerek hastaya yardımcı ve destek olunur.

Tüm bunlara ek olarak, son yıllarda hızlı teknolojik gelişmeler sayesinde yeni nesil cihazlar üretilmiş ve gen dizisini kısa sürede ve yüksek hassasiyette okuyup sonuç veren bu cihazlar tanı laboratuvarlarında kullanılmaya başlanılmıştır. Bu teknoloji ve patent kanunundaki değişiklikler, ticarileştirilmiş daha fazla geni kapsayan test panellerin olduğu rekabetçi bir pazara kapı açmış ve genetik tanı laboratuvarlarında hizmet olarak sunulmaya başlanmıştır. Test panelleri kanser yapma potansiyeline sahip 100'den fazla gen içermektedir[30]. Test panelleri eski testlerle kıyaslandığında daha ucuz, daha kısa sürede ve daha fazla sayıda mutasyonla ilgili sonuç verme özelliği gibi önemli avantajlara sahiptir. Ancak bunların çoğu hasta bakımını ve tedavi girişimini yönlendirmek için yeterli sağlam klinik verilerden yoksundur (örneğin: AXIN2, CYLD, SLX4 mutasyonları gibi). Fakat, bu gibi çok sayıda panellerin yaygın kullanılabilirliği ile, kalıtsal kanser kliniğini değerlendirmede genetik bazlı yaklaşımlar ön plana çıkmış, tanı ve tedavide yol gösterici olmuştur. Geçmişte, önerilen genetik testler öncelikle hastanın fenotipine göre tercih edilmekte ve istenmekte iken, günümüzdeki yaklaşım ise panel-test tabanlı genetik testler yapılması yönündedir[5]. Her ne kadar istenilecek genetik test, kılavuzlarda belirlenen kriterler temel alındığında sadece bir veya iki mutasyonu kapsayan genetik test endikasyon olarak gösterilse de, bu durum birçok patojenik mutasyonun varlığının farklı bir çok gende test edilmesi anlamına da gelmektedir. Nitekim, Ulusal Kapsamlı Kanseri Ağı (NCCN), BRCA1 ve BRCA2 test sonucu negatif olan, 1 veya daha fazla kalıtsal sendroma sahip olduğundan şüphelenilen bireylere, verimlilik ve maliyet etkinliği için multigen panel değerlendirmesi tavsiye edilmektedir[28]. Şu da unutulmamalıdır ki, tüm bu genişletilmiş, panel tabanlı genetik testlerin nihai amacı, kanser hastası ve hasta yakınına verilebilecek en üst seviyede bakım ve tedavi yaklaşımları sunmaktır. Bu durum

özellikle kontralateral meme kanser riskinin değerlendirilmesinde ve oluşma ihtimali yüksek diğer kanserlerin (over, kolorektal, pankreatik kanserler gibi) değerlendirilmesinde ve etkilenmemiş aile üyeleri arasında kanser oluşumunu önlemeyi hedeflemektedir.

Şu anda, BRCA test raporlaması veya sürekli olarak üzerinde anlaşmaya varılmış bir sınıflandırma sistemi için uluslararası kabul görmüş bir standart bulunmamaktadır. Bu da bazı laboratuvarların yorumlamadan varyantları bildirmesine yol açmaktadır. Raporlama sırasında kanser oluşturmadaki önemi henüz belli olmayan genetik değişimlere variant of uncertain significance (VUS) denir. VUS'un hastalıkla ilişkisi bilinmemektedir. VUS'lar genetik tanı raporlaması aşamasında farklı parametreler ve veri bankaları kullanılarak elde edilen en güncel bilgilerden kaynaklanır (Şekil 2).



Şekil 2: BRCA için VUS sınıflandırmasında kullanılan parametreler[31].

Her daim güncel tutulması gereken tüm bu bilgiler gözden geçirilir ve VUS'lar için bir değerlendirme yapılarak bir sınıf belirlenir. Belirlenen bu sınıf sayesinde analizde tespit edilen VUS'un patojenik olup olmadığı ile ilgili bir sonuca varılır. Bu değerlendirmeye göre 5. Sınıfta olan VUS Kesinlikle patojenik olarak kabul edilir. 4.Sınıf: Muhtemelen patojenik, 3.Sınıf: belirsiz, 2 Sınıf: Muhtemelen patojenik değil veya çok az klinik öneme sahip, ve 1.sınıf ise Patojenik olmayıp, klinik öneme sahip değildir (Tablo2).

Tablo 2: VUS Sınıflaması [32]

Sınıf	Tanım	Olabilirlik	Klinik yönetimi
5	Kesinlikle patojenik	>0.99	varyant için risk altındaki akrabalar test etmeli, tüm yüksek riskli gözetim kuralları /Risk azaltıcı stratejiler uygulanmalı ve / veya terapi ile ilgili bilgiler verilmeli
4	Muhtemelen patojenik	0.95–0.99	varyant için risk altındaki akrabalar test etmeli ¹ , tüm yüksek riskli gözetim kuralları uygulanmalı
3	belirsiz	0.05–0.949	Risk altındaki akrabalarda öngörme testi için kullanmayın ¹
2	Muhtemelen patojenik değil veya çok az klinik öneme sahip	0.001–0.049	Risk altındaki akrabalarda öngörme testi için kullanmayın ¹
1	Patojenik değil veya klinik öneme sahip değildir	<0.001	Risk altındaki akrabalarda öngörme testi için kullanmayın ¹

¹ Söz konusu rahatsızlık için probanda başka ek test önerilir. Örneğin, Rearranjman testi

VUS, sadece BRCA1 ve BRCA2 genleri test edildiğinde bu genlerin son yıllarda farklı popülasyonlarda giderek artan oranda yaygın testlerinin yapılmasından dolayı nispeten nadirdir (% 2-5). Ancak, çoklu gen panel testinin ortaya çıkışı, tüm sekanslanmış genler arasında en az olan VUS prevalansını % 20-40'a çıkarmıştır[33]. Bu da aynı genetik variant için farklı genetik laboratuvarlarda değişik yorumlar yapılmasına neden olmaktadır. Bu çelişkili durum hem raporu veren kişiler, hem de hasta bireyler için telafisi güç sonuçlara yol açabilmektedir. Bu tür genetik bulguların klinik anlamı konusundaki belirsizlik, hasta ve ailelerin moralini bozarak huzursuzluğa yol açabilmektedir. Bu tür bir çelişki ile karşı karşıya kalan hasta, her şeyden daha fazla duyduğu sözün “belirsiz” olmasından kaynaklanan endişe ve stres yaşamaktadır. Bu nedenle de daha kapsamlı bir ameliyat yapılması yönünde karar vermektedir. Bu yüzden, VUS sonuçlarının uygun bir şekilde gözden geçirilmesi ve tartışılması kaçınılmazdır. Bu durum, tabiki VUS literatürüne iyi derecede hakim olmayı ve veri bankalarının güncel takibini gerektirir. Sonuç olarak, VUS verilerinin etkileri tam olarak bilinmeli ve hasta yanlış yönlendirilmemelidir.

Bu durum karşısında klinisyenlerin bilmesi gereken şey, sürecin “geçeci” bir dönem olduğudur. Çünkü, VUS'un büyük çoğunluğu, yeterli veriler elde edildikten sonra yeniden benign polimorfizmler olarak yorumlanabilir. Daha fazla hasta taranması ve yaygın ve halka açık bir veritabanı oluşturulması, yeni nesil sıralamaların başarılı bir şekilde uygulanması gibi yapılacak iyileştirmeler yüksek VUS oranının çözümüne yönelik bir adım olacaktır. Çoğu VUS en nihayetinde benign olarak yeniden sınıflandırıldığı için, VUS taşıyan bir bireyde tedavi yönetimi sadece

varyantın varlığı veya yokluğu olarak değil, kişisel ve aile geçmişine bakılarak değerlendirme yapılmalıdır [34, 35]. Bu nedenle, önemli bir aile öyküsü veya kişisel risk faktörü olmayan meme kanseri olan bir hastanın, sadece VUS sonucu temelinde bilateral mastektomi geçirmesi önerilmemelidir[35]. Toplum tabanlı çalışmalar, yüksek riskli kanser klinikleri dışındaki genel popülasyonda da yapılmalıdır. Bu çalışmalar meme kanseri duyarlılık gen mutasyonlarının gerçek prevalansını anlamak için gereklidir. Ayrıca, bu gibi patojenik gen mutasyonları taşıyan hastalar için kanıta dayalı klinik kılavuzlar, ancak bunların prevalansı ve penetransı daha iyi anlaşılırsa uygulanabilir. Bunlar arasında önemli bir öncelik, daha büyük ve daha çeşitli popülasyonları tarayarak rapor edilen VUS prevalansını azaltmak olmalıdır.

Genetik Danışma ve Meme Kanseri

Genetik danışma, kalıtsal bir hastalığı olan veya kalıtsal hastalık taşıma riskine sahip kişilere verilmekte olup, kişilerin hastalıklarıyla ilgili tıbbi, psikolojik ve ailelerinin durumunu anlamaya yardımcı olmayı amaçlayan süreçler bütünüdür. Hastalığın görülme ve tekrarlanma riskini ortaya koymak için ayrıntılı aile öyküsü alınması, hastalığın seyri, önleme yolları, tanı ve tedavi yöntemleri, ailenin ve tıbbi öykünün yorumlanması hakkında kişi veya ailenin bilgilendirilmesi gibi konuları kapsar [36]. Genetik danışmanın test öncesi ve test sonrası olmak üzere iki aşamada verilmesi önerilmektedir [37]. Genetik test bu sürecin sadece bir parçası olup, yeterli bilgi ve tecrübeye sahip uzmanlar eşliğinde, test öncesi ve sonrası danışmanlık hizmetiyle birlikte yapılması gerekir. Test öncesi genetik danışmada kişiye risk değerlendirmesi yapılır, test endikasyonu, sonuçları ve potansiyel etkileri tartışılır, yapılacak testler için onay alınır. Test sonrası danışmada ise sonuçlar yorumlanır, hastanın ve risk altındaki bireylerin tıbbi yönetimi tartışılır [38-40]. Genetik danışma, yönlendirici olmadan kanser gelişme riski farklı olan bireyleri belirlemeyi ve bu kişilere danışma vermeyi amaçlar. Meme kanserleri toplumda en sık görülen kanserlerden biri olması nedeniyle, etkilenmiş ya da risk altında olan bireyler ve yakın akrabaları genetik danışmana zaman kaybetmeden yönlendirilmelidir.

Meme Kanserinde Test Öncesi Genetik Danışma ve Risk Değerlendirmesi

Meme kanseri risk değerlendirmesinde, danışma verilen kişinin ve ailesinin diğer üyelerinin meme kanserine yakalanma riski hesaplanır. Bunun için öncelikle kapsamlı bir öz geçmiş ve en az 3-4 kuşaktan oluşan pedigr analizi çizilmelidir. Bu bilgiler içerisinde öz geçmiş sorgulama, kanser sürveyansı, benign/malign tümör tanısı, menarş yaşı, ilk doğumdaki yaş, oral kontraseptif kullanımı, infertilite ve hormon replasman tedavisi, menopoz yaşı, alkol-sigara kullanımı, beslenme özellikleri ve kişinin mesleki bilgileri olmalıdır. Aile öyküsü ise akrabaların o günkü yaşları, tanı anındaki yaşları ve tanı konulan kanserin patolojik özellikleri (tümör evresi, derecesi, biyolojik özellikleri), alınan tedavi (cerrahi, kemoterapi, radyoterapi, hormon terapisi) gibi bilgileri içermeli ve bunlar ayrıntılı bir şekilde çizilmiş pedigrde gösterilmelidir [41]. Danışmaya alınan bireylerin, eğer varsa, tüm patoloji raporları sağlanmalıdır [42]. Hasta kişinin anne ve babasının aile öyküsü, akrabalık ilişkileri, etnik köken gibi parametreler, hasta bireylerin sorgulanmasıyla elde edilen bilgiler ayrıntılı şekilde değerlendirilmelidir. Genetik danışma alan bireyler aile öyküsünde hastalık tanısı, ölüm, doğum gibi yeni bilgileri danışmana bildirmelidir [43].

Detaylı bir şekilde aile öyküsü alındıktan sonra gerekli görülen bireylere genetik testler önerilir. Genetik analiz için dikkat edilmesi gereken hususlar değişik kılavuzlarda belirtilmiştir [44, 45]. Genetik danışmada genetik analizlerin potansiyel yararları, riskleri ve sınırları ile birlikte genetik test sonucuna göre kanser önleme ve risk azaltıcı cerrahi seçenekler tartışılır. Hastanın önerilen testi yaptırmayı kabul edip etmeme hakkı olduğu hatırlatılır [46, 47].

Hasta veya aile yakınlarının kanser geliştirme ve mutasyon taşıma riskini hesaplayabilmek için bir çok tahmini risk belirleme programı kullanılmaktadır. BOADICEA, BRCAPRO, Myriad, Jonker ve Couch modelleri en yaygın kullanılan programlara örnek olarak verilebilir [48-52]. Ancak bu yöntemlerden bazıları objektif bilimsel araştırmalarla henüz doğrulanmamıştır. Ayrıca bu modelleri karşılaştıran veriler sınırlı olup, klinik olarak anlamlı düzeyde kısıtlayıcı özellikleri bulunmaktadır [53-55]. Örneğin, bu modeller risk azaltıcı cerrahi prosedürleri içermemektedir. BRCAPRO birden fazla evlilik ve ikinci derece akraba bilgisini, BOADICEA gibi diğerleri ise erkek meme kanseri, iki primer kanser ya da bilateral meme kanseri gibi bilgileri kapsamamaktadır [38].

Genetik test çalışılma kararı verildikten sonra birey, test sonuçları için psikolojik olarak hazırlanmalıdır. Yapılan çalışmalarda genetik test öncesi danışmada anksiyete seviyesi yüksek olarak tespit edilmişken, pozitif test sonuçlarının depresyon ve anksiyete üzerinde etkisi olmadığı bildirilmektedir [56, 57].

Meme Kanserinde Test Sonrası Genetik Danışma

Genetik test yapıldıktan sonra, danışma sırasında test sonuçları açıklanır, kanser riski ve mevcut tıbbi seçenekler yeniden tartışılır ve psikolojik etki değerlendirilir. Gerekli görüldüğü takdirde, kişi, ek öneriler ve risk azaltıcı cerrahi gibi konularda karar verme için uygun bir sağlık uzmanına yönlendirilir. Test sonucunun pozitif veya negatif olması analiz edilen gen için kesin bilgi sağlar, ancak bazı durumlarda test sonucu bilgi verici olmayabilir. Örneğin, ailede bilinen bir mutasyon yoksa ve probandin analizi de negatif sonuçlanmışsa kanserin herediter olup olmadığı konusunda bu test bilgi verici değildir. Buna ek olarak eğer bireyde, test sonucunda patolojik önemi bilinmeyen bir varyant saptanmışsa, gen fonksiyonu üzerinde etkisi bilinmediği için, bu sonuç da bilgi verici kabul edilmemektedir [38, 58].

Meme Kanserinde Risk Yönetimi

Genetik testi pozitif saptanan kişilere olası kanser riskine karşı risk azaltıcı öneriler ve erken tanı yöntemleri sunulur. Bunlar klinik ve radyolojik takip, cerrahi ve farmakolojik profilaksi şeklinde olabilir. Bu konuda en yaygın görüş, meme kanseri için yüksek riske sahip kişilere yönelik taramaların 25-35 yaş döneminde başlatılmasıdır [59]. Taramaların iyi yönetilmesine rağmen, iki tarama arasında malignite gelişebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır [60].

BRCA1/2 mutasyonu taşıyan bireyler için 18 yaşından başlayarak aylık olarak kendi kendine meme muayenesi, 25 yaşından itibaren de 6 ayda bir ilgili uzmanlarca meme muayenesi önerilmektedir [61]. Ayrıca yıllık mammografi ve manyetik rezonans (MR) ile takibin 25-30 yaşında başlaması ya da ailede görülen en erken kanser tanı yaşına göre düzenlenmesi belirtilmektedir. Altı ayda bir meme ultrasonografisinin yapılabileceği belirtilmekle birlikte, MR görüntülemenin mamografi ve ultrasonografinin birlikte yapılmasından daha faydalı olduğu bildirilmiştir [62, 63]. MR görüntüleme spesifitesi değişken ve maliyeti fazla olmasına rağmen yüksek riskli kadınlarda kanseri daha erken teşhis edebilmektedir [64]. Ayrıca, halen radyasyona bağlı meme kanseri riski ise tartışmalıdır. Tanısal röntgen taramalarının, özellikle 30 yaş öncesinde, BRCA1/2 taşıyıcıları için riski artırabileceği yönünde görüşler mevcuttur. Bu nedenle MR görüntüleme gibi non-iyonize radyasyon teknikleri tarama için tercih edilmektedir.

BRCA1/2 mutasyonu taşıyan erkekler için ise; aylık kendi kendine meme muayenesi ve 6 ayda bir uzman meme muayenesi önerilmektedir. Mamografi çekilmesi ve jinekomastisi veya parenkimal/glandula meme dansitesi yoğun olan erkekler için ayrıca yıllık mamografi kontrolü önerilmektedir. Prostat kanseri olan hasta için toplum tarama kuralları geçerli kabul edilmeli, melanom taraması için tüm vücut deri muayenesi ve pankreas kanseri taraması için araştırma protokolleri göz önüne alınmalıdır [65].

BRCA1/2 mutasyonu taşıyan ya da herediter meme kanseri öyküsüne sahip yüksek riskli kadınlar için riski en çok azaltan (%90) yöntem bilateral mastektomidir [66]. Risk azaltıcı salpingo-ooforektomi de jinekolojik kanserler (over, fallop tüpleri) açısından BRCA1/2 mutasyonu taşıyan kadınlar için, meme kanseri öyküsü olsun veya olmasın faydalıdır. Salpingo-ooforektomi aynı zamanda azalmış hormon maruziyeti sebebiyle 50 yaş altındaki kadınlarda meme kanseri riskini %50 oranında azaltmaktadır [67, 68]. Riskin azalma oranı aynı zamanda BRCA mutasyonuna bağlıdır. BRCA2 mutasyon taşıyıcılarının salpingo-ooforektomiden daha fazla yararlandığı belirtilmektedir [69]. Risk azaltıcı salpingo-ooforektomi, kişinin artık çocuk doğurmak isteği ortadan kalktıktan sonra, 40 yaşında ya da ailede en erken over kanseri görülme yaşından 5 yıl önce yapılması önerilmektedir [70]. Cerrahi prosedürlerin yanında, profilaktik mastektomi tercih etmeyen kadınlar için, tamoksifen ya da raloksifen gibi kimyasal profilaksi sağlayan ajanlar da kullanılmaktadır. BRCA mutasyon taşıyıcıları için tamoksifen kullanımının, meme kanseri riskini %50 oranında azalttığına dair çalışmalar bulunmaktadır [71].

Sosyal ve Kişisel Etkiler

Genetik danışma pek çok etik ve sosyal durumla ilişkilidir. Bilgilendirilmiş onam, mahremiyet ve gizlilik, genetik durumu kişinin bilme veya bilmeme hakkı, taşıyıcıların genetik bilgiyi risk altındaki akrabalarıyla paylaşma sorumluluğu, hekimlerin yakınları uyarma gibi görevleri de genetik danışma kapsamı içindedir [72, 73]. 20/10/2016 tarih ve 29863 sayılı Remi Gazete’de “Kişisel Sağlık Verilerinin İşlenmesi Ve Mahremiyetinin Sağlanması Hakkında Yönetmelik” yayımlanmış ve bu bilgiler koruma altına alınmıştır.

Yüksek riskli hastalar için genetik analizlerin yorumu ve meme kanserinin önleme/erken teşhis yöntemlerinin çeşitliliği farklı duygusal durumlara yol açabilmektedir. Duygusal stresin şiddeti hastalığın beklenen prognozu, test sonuçları, testin yapıldığı yaş, cinsiyet ve kanser tanısının olup olmaması gibi faktörlerle değişebilmektedir. Genetik testin akrabalar, kişinin çocukları ve eşleri üzerindeki etkilerini ise tespit etmek daha zordur ancak bu durumun aile ilişkileri üzerinde etkili olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır [38].

Meme Kanseri Klinik Genetiğinde Ülkemizdeki Durum

Genetik testler, meme kanseri riski yüksek olan bireylerde BRCA1 ve BRCA2 genleri yanında diğer gen mutasyonlarının da saptanmasına olanak sağlar. BRCA mutasyonları ile ilgili genetik testlerin yapılmasına rağmen, BRCA mutasyonları dışında görülen mutasyonların test endikasyonları ve yorumları günümüzde tam olarak yapılamamaktadır.

Meme kanseri danışmanlık hizmeti verecek gelişmiş merkezlerde, hasta için en iyi tedavi planı ve genetik testleri uygulayabilecek, aynı zamanda uygun danışmanlık hizmeti verebilecek nitelikli bir Tıbbi Genetik Uzmanı bulunması gerekmektedir. Hastanın ihtiyaç duyduğu taktirde ve/veya doktorun-cerrahın yönlendirmesiyle Tıbbi Genetik Uzmanı tarafından sağlanan danışmanlık hizmetleri, ülkemizde bu alanda uzman doktorların sınırlı sayıda bulunması nedeniyle maalesef yeterince etkin değildir. Son yıllarda, Sağlık Bakanlığına bağlı ve/veya Üniversite Hastanelerinde eğitim alan Tıbbi Genetik Uzmanı sayısı, artan ihtiyaç nedeniyle henüz yeterli sayıya ulaşamamıştır. Ayrıca, hastanın üç kuşak aile ağacının çizilmesi ve test öncesi risk değerlendirmesinin tamamlanması zaman alıcı olup, yoğunluk nedeniyle bir hekimin bu hizmetin altından kalkabilmesi günümüz şartlarında mümkün olmayabilir.

Yeni teknolojilerin gelişmesine paralel olarak genetik testlerin maliyeti de giderek artmaktadır. Fiyatlamada rol oynayan etmenler arasında her bir laboratuvarın kendine özel bir fiyat belirlemesi, sigorta kapsamı ve hastanın bireysel risk faktörleri de rol oynamaktadır. Buna rağmen, hastalığın sıklığı ve erken teşhisi göz önüne alındığında, bu alanda hizmet veren uzmanlar için, test endikasyonları, meme kanseri tanısında genetik testlerin rolü ve yorumları oldukça önemli hale gelmiştir.

Son yıllarda, meme kanseri tanısında kullanılan genetik testler, hastalığın tedavisinin kişiselleştirilmesinde ve ailesindeki riskli bireylerin belirlenmesinde ve yönetilmesinde vaz geçilmez bir araç haline gelmiştir. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'nde (GETAM) yoğun talep ve artan ihtiyaca binaen Meme Kanseri için Genetik Danışma Poliklinik hizmeti verilmeye başlanmış olup, son teknoloji ürünü olan cihazlarla da kısa sürede ve güvenilir bir şekilde genetik testler yapılabilmektedir. Ayrıca genetik testlerin doğru yorumlanması ve genetik danışma hizmeti ile meme kanserine yakalanmış bireylerin tedavisinden sorumlu uzmanlara önemli bir katkı sağlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Hanahan D, Weinberg Robert A: **Hallmarks of Cancer: The Next Generation.** *Cell* 2011, **144**(5):646-674.
2. De S, Ganesan S: **Looking beyond drivers and passengers in cancer genome sequencing data.** *Annals of Oncology* 2017, **28**(5):938-945.
3. Curran JE, Vaughan T, Lea RA, Weinstein SR, Morrison NA, Griffiths LR: **Association of A vitamin D receptor polymorphism with sporadic breast cancer development.** *Int J Cancer* 1999, **83**(6):723-726.
4. Berger AH, Knudson AG, Pandolfi PP: **A continuum model for tumour suppression.** *Nature* 2011, **476**:163.
5. Grignol VP, Agnese DM: **Breast Cancer Genetics for the Surgeon: An Update on Causes and Testing Options.** *Journal of the American College of Surgeons* 2016, **222**(5):906-914.
6. Newman B, Austin MA, Lee M, King MC: **Inheritance of human breast cancer: evidence for autosomal dominant transmission in high-risk families.** *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1988, **85**(9):3044-3048.
7. Boulton SJ: **Cellular functions of the BRCA tumour-suppressor proteins.** *Biochemical Society Transactions* 2006, **34**(5):633-645.
8. Sobhian B, Shao G, Lilli DR, Culhane AC, Moreau LA, Xia B, Livingston DM, Greenberg RA: **RAP80 Targets BRCA1 to Specific Ubiquitin Structures at DNA Damage Sites.** *Science* 2007, **316**(5828):1198-1202.
9. Lenoir GM, Lynch H, Watson P, Conway T, Lynch J, Narod S, Feunteun J: **Familial breast-ovarian cancer locus on chromosome 17q12-q23.** *The Lancet*, **338**(8759):82-83.
10. Wooster R, Neuhausen S, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N, Nguyen K, Seal S, Tran T, Averill D *et al*: **Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13.** *Science* 1994, **265**(5181):2088-2090.
11. Xia B, Sheng Q, Nakanishi K, Ohashi A, Wu J, Christ N, Liu X, Jasin M, Couch FJ, Livingston DM: **Control of BRCA2 Cellular and Clinical Functions by a Nuclear Partner, PALB2.** *Molecular Cell*, **22**(6):719-729.
12. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D: **Global cancer statistics.** *CA Cancer J Clin* 2011, **61**(2):69-90.
13. Siegel RL, Miller KD, Jemal A: **Cancer Statistics, 2017.** *CA Cancer J Clin* 2017, **67**(1):7-30.
14. Jbilou J, Halilem N, Blouin-Bougie J, Amara N, Landry R, Simard J: **Medical genetic counseling for breast cancer in primary care: a synthesis of major determinants of physicians' practices in primary care settings.** *Public Health Genomics* 2014, **17**(4):190-208.
15. Economopoulou P, Dimitriadis G, Psyrris A: **Beyond BRCA: New hereditary breast cancer susceptibility genes.** *Cancer Treatment Reviews* 2015, **41**(1):1-8.
16. Sharma P, Klemp JR, Kimler BF, Mahnken JD, Geier LJ, Khan QJ, Elia M, Connor CS, McGinness MK, Mammen JMW *et al*: **Germline BRCA mutation evaluation in a prospective triple-negative breast cancer registry: implications for hereditary breast and/or ovarian cancer syndrome testing.** *Breast Cancer Research and Treatment* 2014, **145**(3):707-714.
17. Christinat A, Pagani O: **Practical aspects of genetic counseling in breast cancer: Lights and shadows.** *The Breast* 2013, **22**(4):375-382.
18. Castéra L, Krieger S, Rousselin A, Legros A, Baumann J-J, Bruet O, Brault B, Fouillet R, Goardon N, Letac O *et al*: **Next-generation sequencing for the diagnosis of hereditary breast and ovarian cancer using genomic capture targeting multiple candidate genes.** *European Journal Of Human Genetics* 2014, **22**:1305.

19. Malone KE, Begg CB, Haile RW, Borg A, Concannon P, Tellhed L, Xue S, Teraoka S, Bernstein L, Capanu M *et al*: **Population-Based Study of the Risk of Second Primary Contralateral Breast Cancer Associated With Carrying a Mutation in BRCA1 or BRCA2**. *Journal of Clinical Oncology* 2010, **28**(14):2404-2410.
20. King M-C, Marks JH, Mandell JB: **Breast and Ovarian Cancer Risks Due to Inherited Mutations in BRCA1 and BRCA2**. *Science* 2003, **302**(5645):643-646.
21. Baldwin AL, Cook-Deegan R: **Constructing narratives of heroism and villainy: case study of Myriad's BRACAnalysis® compared to Genentech's Herceptin®**. *Genome Medicine* 2013, **5**(1):8.
22. A L: **Justices, 9-0, bar patenting human genes**. *New York Times* November 11, 2016.
23. Raphael J, Verma S, Hewitt P, Eisen A: **The Impact of Angelina Jolie (AJ)'s Story on Genetic Referral and Testing at an Academic Cancer Centre in Canada**. *Journal of Genetic Counseling* 2016, **25**(6):1309-1316.
24. Kurian AW, Li Y, Hamilton AS, Ward KC, Hawley ST, Morrow M, McLeod MC, Jagsi R, Katz SJ: **Gaps in Incorporating Germline Genetic Testing Into Treatment Decision-Making for Early-Stage Breast Cancer**. *Journal of Clinical Oncology* 2017, **35**(20):2232-2239.
25. Sidransky D, Tokino T, Helzlsouer K, Zehnbauer B, Shelton B, Prestigiacomo L, Vogelstein B, Davidson N, Helzlsouer K, Rausch G: **Inherited p53 Gene Mutations in Breast Cancer**. *Cancer Research* 1992, **52**(10):2984-2986.
26. Tsou HC, Teng DHF, Ping XL, Brancolini V, Davis T, Hu R, Xie XX, Gruener AC, Schrager CA, Christiano AM *et al*: **The Role of MMAC1 Mutations in Early-Onset Breast Cancer: Causative in Association with Cowden Syndrome and Excluded in BRCA1-Negative Cases**. *The American Journal of Human Genetics*, **61**(5):1036-1043.
27. Surgeons. ASoB: **Consensus guideline on hereditary genetic testing for patients with and without breast cancer**. . https://www.breastsurgeons.org/new_layout/about/statements/PDF_Statements/BRCA_Testingpdf Revised September 13, 2016. Accessed November 12, 2016.
28. Network NCC: **NCCN clinical practice guidelines in oncology: genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian, version 2**. . https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/genetics_screeningpdf Published December 7, 2016. Accessed January 25, 2017.
29. Moyer VA, on behalf of the USPSTF: **Risk assessment, genetic counseling, and genetic testing for brca-related cancer in women: U.s. preventive services task force recommendation statement**. *Annals of Internal Medicine* 2014, **160**(4):271-281.
30. Kapoor NS, Curcio LD, Blakemore CA, Bremner AK, McFarland RE, West JG, Banks KC: **Multigene Panel Testing Detects Equal Rates of Pathogenic BRCA1/2 Mutations and has a Higher Diagnostic Yield Compared to Limited BRCA1/2 Analysis Alone in Patients at Risk for Hereditary Breast Cancer**. *Annals of Surgical Oncology* 2015, **22**(10):3282-3288.
31. Wallace AJ: **New challenges for BRCA testing: a view from the diagnostic laboratory**. *European Journal Of Human Genetics* 2016, **24**:S10.
32. E. PS, M. ED, Douglas E, D. FW, Maurizio G, S. GM, B.L. HF, Noline H, B. SA, V. TS: **Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results**. *Human Mutation* 2008, **29**(11):1282-1291.
33. Lindor NM, Guidugli L, Wang X, Vallée MP, Monteiro ANA, Tavtigian S, Goldgar DE, Couch FJ: **A review of a multifactorial probability-based model for classification of BRCA1 and BRCA2 variants of uncertain significance (VUS)**. *Human Mutation* 2012, **33**(1):8-21.

34. Eggington JM, Bowles KR, Moyes K, Manley S, Esterling L, Sizemore S, Rosenthal E, Theisen A, Saam J, Arnell C *et al*: **A comprehensive laboratory-based program for classification of variants of uncertain significance in hereditary cancer genes.** *Clinical Genetics* 2014, **86**(3):229-237.
35. Easton DF, Deffenbaugh AM, Pruss D, Frye C, Wenstrup RJ, Allen-Brady K, Tavtigian SV, Monteiro ANA, Iversen ES, Couch FJ *et al*: **A Systematic Genetic Assessment of 1,433 Sequence Variants of Unknown Clinical Significance in the BRCA1 and BRCA2 Breast Cancer Predisposition Genes.** *The American Journal of Human Genetics*, **81**(5):873-883.
36. Resta R, Biesecker BB, Bennett RL, Blum S, Hahn SE, Strecker MN, Williams JL, Force NSoGCDT: **A new definition of Genetic Counseling: National Society of Genetic Counselors' Task Force report.** *J Genet Couns* 2006, **15**(2):77-83.
37. Fonda Allen J, Stoll K, Bernhardt BA: **Pre- and post-test genetic counseling for chromosomal and Mendelian disorders.** *Semin Perinatol* 2016, **40**(1):44-55.
38. Christinat A, Pagani O: **Practical aspects of genetic counseling in breast cancer: lights and shadows.** *Breast* 2013, **22**(4):375-382.
39. Robson ME, Storm CD, Weitzel J, Wollins DS, Offit K, Oncology ASOC: **American Society of Clinical Oncology policy statement update: genetic and genomic testing for cancer susceptibility.** *J Clin Oncol* 2010, **28**(5):893-901.
40. Trepanier A, Ahrens M, McKinnon W, Peters J, Stopfer J, Grumet SC, Manley S, Culver JO, Acton R, Larsen-Haidle J *et al*: **Genetic cancer risk assessment and counseling: recommendations of the national society of genetic counselors.** *J Genet Couns* 2004, **13**(2):83-114.
41. Bennett RL, French KS, Resta RG, Doyle DL: **Standardized human pedigree nomenclature: update and assessment of the recommendations of the National Society of Genetic Counselors.** *J Genet Couns* 2008, **17**(5):424-433.
42. Qureshi N, Wilson B, Santaguida P, Carroll J, Allanson J, Culebro CR, Brouwers M, Raina P: **Collection and use of cancer family history in primary care.** *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 2007(159):1-84.
43. Calzone KA, Soballe PW: **Genetic testing for cancer susceptibility.** *Surg Clin North Am* 2008, **88**(4):705-721, v.
44. Balmaña J, Díez O, Rubio IT, Cardoso F, Group EGW: **BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines.** *Ann Oncol* 2011, **22** Suppl 6:vi31-34.
45. Pruthi S, Gostout BS, Lindor NM: **Identification and Management of Women With BRCA Mutations or Hereditary Predisposition for Breast and Ovarian Cancer.** *Mayo Clin Proc* 2010, **85**(12):1111-1120.
46. Lerman C, Narod S, Schulman K, Hughes C, Gomez-Caminero A, Bonney G, Gold K, Trock B, Main D, Lynch J *et al*: **BRCA1 testing in families with hereditary breast-ovarian cancer. A prospective study of patient decision making and outcomes.** *JAMA* 1996, **275**(24):1885-1892.
47. Lerman C, Shields AE: **Genetic testing for cancer susceptibility: the promise and the pitfalls.** *Nat Rev Cancer* 2004, **4**(3):235-241.
48. Antoniou AC, Pharoah PP, Smith P, Easton DF: **The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancer.** *Br J Cancer* 2004, **91**(8):1580-1590.
49. Berry DA, Iversen ES, Gudbjartsson DF, Hiller EH, Garber JE, Peshkin BN, Lerman C, Watson P, Lynch HT, Hilsenbeck SG *et al*: **BRCAPRO validation, sensitivity of genetic testing of BRCA1/BRCA2, and prevalence of other breast cancer susceptibility genes.** *J Clin Oncol* 2002, **20**(11):2701-2712.

50. Couch FJ, DeShano ML, Blackwood MA, Calzone K, Stopfer J, Campeau L, Ganguly A, Rebbeck T, Weber BL: **BRCA1 mutations in women attending clinics that evaluate the risk of breast cancer.** *N Engl J Med* 1997, **336**(20):1409-1415.
51. Mavaddat N, Pharoah PD, Michailidou K, Tyrer J, Brook MN, Bolla MK, Wang Q, Dennis J, Dunning AM, Shah M *et al*: **Prediction of breast cancer risk based on profiling with common genetic variants.** *J Natl Cancer Inst* 2015, **107**(5).
52. Jonker MA, Jacobi CE, Hoogendoorn WE, Nagelkerke NJ, de Bock GH, van Houwelingen JC: **Modeling familial clustered breast cancer using published data.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003, **12**(12):1479-1485.
53. Jacobi CE, de Bock GH, Siegerink B, van Asperen CJ: **Differences and similarities in breast cancer risk assessment models in clinical practice: which model to choose?** *Breast Cancer Res Treat* 2009, **115**(2):381-390.
54. Panchal SM, Ennis M, Canon S, Bordeleau LJ: **Selecting a BRCA risk assessment model for use in a familial cancer clinic.** *BMC Med Genet* 2008, **9**:116.
55. James PA, Doherty R, Harris M, Mukesh BN, Milner A, Young MA, Scott C: **Optimal selection of individuals for BRCA mutation testing: a comparison of available methods.** *J Clin Oncol* 2006, **24**(4):707-715.
56. Schwartz MD, Peshkin BN, Hughes C, Main D, Isaacs C, Lerman C: **Impact of BRCA1/BRCA2 mutation testing on psychologic distress in a clinic-based sample.** *J Clin Oncol* 2002, **20**(2):514-520.
57. Bosch N, Junyent N, Gadea N, Brunet J, Ramon y Cajal T, Torres A, Graña B, Velasco A, Darder E, Mensa I *et al*: **What factors may influence psychological well being at three months and one year post BRCA genetic result disclosure?** *Breast* 2012, **21**(6):755-760.
58. Chenevix-Trench G, Healey S, Lakhani S, Waring P, Cummings M, Brinkworth R, Deffenbaugh AM, Burbidge LA, Pruss D, Judkins T *et al*: **Genetic and histopathologic evaluation of BRCA1 and BRCA2 DNA sequence variants of unknown clinical significance.** *Cancer Res* 2006, **66**(4):2019-2027.
59. Cortesi L, Turchetti D, Marchi I, Fracca A, Canossi B, Rachele B, Silvia R, Rita PA, Pietro T, Massimo F: **Breast cancer screening in women at increased risk according to different family histories: an update of the Modena Study Group experience.** *BMC Cancer* 2006, **6**:210.
60. Komenaka IK, Ditkoff BA, Joseph KA, Russo D, Gorroochurn P, Ward M, Horowitz E, El-Tamer MB, Schnabel FR: **The development of interval breast malignancies in patients with BRCA mutations.** *Cancer* 2004, **100**(10):2079-2083.
61. Daly MB, Axilbund JE, Buys S, Crawford B, Farrell CD, Friedman S, Garber JE, Goorha S, Gruber SB, Hampel H *et al*: **Genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian.** *J Natl Compr Canc Netw* 2010, **8**(5):562-594.
62. Mau C, Untch M: **Prophylactic Surgery: For Whom, When and How?** *Breast Care (Basel)* 2017, **12**(6):379-384.
63. Sardanelli F, Podo F, Santoro F, Manoukian S, Bergonzi S, Trecate G, Vergnaghi D, Federico M, Cortesi L, Corcione S *et al*: **Multicenter surveillance of women at high genetic breast cancer risk using mammography, ultrasonography, and contrast-enhanced magnetic resonance imaging (the high breast cancer risk italian 1 study): final results.** *Invest Radiol* 2011, **46**(2):94-105.
64. Kriege M, Brekelmans CT, Boetes C, Besnard PE, Zonderland HM, Obdeijn IM, Manoliu RA, Kok T, Peterse H, Tilanus-Linthorst MM *et al*: **Efficacy of MRI and mammography for breast-cancer screening in women with a familial or genetic predisposition.** *N Engl J Med* 2004, **351**(5):427-437.

65. Pijpe A, Andrieu N, Easton DF, Kesminiene A, Cardis E, Noguès C, Gauthier-Villars M, Lasset C, Fricker JP, Peock S *et al*: **Exposure to diagnostic radiation and risk of breast cancer among carriers of BRCA1/2 mutations: retrospective cohort study (GENE-RAD-RISK)**. *BMJ* 2012, **345**:e5660.
66. Rebbeck TR, Friebel T, Lynch HT, Neuhausen SL, van 't Veer L, Garber JE, Evans GR, Narod SA, Isaacs C, Matloff E *et al*: **Bilateral prophylactic mastectomy reduces breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: the PROSE Study Group**. *J Clin Oncol* 2004, **22**(6):1055-1062.
67. Rebbeck TR, Kauff ND, Domchek SM: **Meta-analysis of risk reduction estimates associated with risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers**. *J Natl Cancer Inst* 2009, **101**(2):80-87.
68. Eisen A, Lubinski J, Klijn J, Moller P, Lynch HT, Offit K, Weber B, Rebbeck T, Neuhausen SL, Ghadirian P *et al*: **Breast cancer risk following bilateral oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: an international case-control study**. *J Clin Oncol* 2005, **23**(30):7491-7496.
69. Kauff ND, Domchek SM, Friebel TM, Robson ME, Lee J, Garber JE, Isaacs C, Evans DG, Lynch H, Eeles RA *et al*: **Risk-reducing salpingo-oophorectomy for the prevention of BRCA1- and BRCA2-associated breast and gynecologic cancer: a multicenter, prospective study**. *J Clin Oncol* 2008, **26**(8):1331-1337.
70. Rhiem K, Foth D, Wappenschmidt B, Gevensleben H, Büttner R, Ulrich U, Schmutzler RK: **Risk-reducing salpingo-oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers**. *Arch Gynecol Obstet* 2011, **283**(3):623-627.
71. Lee MV, Katabathina VS, Bowerson ML, Mityul MI, Shetty AS, Elsayes KM, Balachandran A, Bhosale PR, McCullough AE, Menias CO: **BRCA-associated Cancers: Role of Imaging in Screening, Diagnosis, and Management**. *Radiographics* 2017, **37**(4):1005-1023.
72. Surbone A: **Social and ethical implications of BRCA testing**. *Ann Oncol* 2011, **22** Suppl 1:i60-66.
73. Quillin JM, Lyckholm LJ: **A principle-based approach to ethical issues in predictive genetic testing for breast cancer**. *Breast Dis* 2006, **27**:137-148.