

Genomiks ve Yeni İlaç Geliştirme

Dr. Ecz. Zühal KILIÇ-KURT

Genomics, New Drug Development, and Precision Medicines

D. McHale¹, M. Penny²

¹UCB, Braine L'Alleud, Belgium; ²Biogen, Cambridge, MA, United States

Chapter Outline

Introduction	247	Applying Pharmacogenetics to Drug Development	253
The Drug Discovery and Development Process	248	Pharmacodynamic Variability	253
Preclinical Testing	248	Pharmacokinetic Variability	254
Clinical Development	249	Predicting Safety	255
Phase I	249	Predicting Type B Adverse Events	255
Phase II	249	Predicting Type A Adverse Events	255
Phase III	250	Individualized Therapy: An Integrated Response	256
Phase IV	250	Improving Disease Classification: Stratified Medicines	256
Applying Genomics to Drug Discovery	250	Adverse Drug Reactions	257
Choosing the Best Drug Targets	250	Summary	257
Complex Trait Genetics	251	References	258
Single Gene Disorders/Traits	251		
Drug-Specific Targets Approach	252		
Effect of Genetic Variation on Compound Screening	252		

INTRODUCTION

Pharmaceutical companies have historically focused their drug discovery and development programs on finding therapies for broad use in large disease populations, the so-called “blockbuster business model.” A blockbuster drug is usually defined as one with peak annual sales of greater than \$1 billion and is generally developed for long-term use to treat common complex chronic disorders in the general population. The strategy to identify and develop blockbuster drugs has been the response to the high cost of drug discovery and development. A survey of the drug development costs of 68 new compounds from 10 pharmaceutical companies estimated that the cost to develop a new drug in 2000 was \$802 million [1]. The high cost of developing drugs can be attributed to two main factors: the large size and duration of the clinical trials required to provide the data to show safety and efficacy of the compound, and the high rate of attrition of compounds in clinical development. Fewer than 10% of compounds entering phase I clinical development reach the market, the majority failing in clinical development because lack of efficacy in phase II. This

lack of recent research and development success in finding blockbuster drugs combined with financial pressure caused by patent expiration and downward pressure on pricing has led to a shift in strategy for many companies within the biopharmaceutical industry. Companies are shifting toward the discovery and development of stratified medicines. A stratified medicine is one that is targeted at a subgroup of a traditionally classified disease; eg, trastuzumab (Herceptin) for the treatment of *Her2* overexpressing breast cancer. Stratified medicines offer significant opportunity to the industry because they have an increased probability of success and the potential of smaller programs, to the regulators as the benefit-risk profiles of these medications are greater than unselected medications, to the payers because they are more cost-effective, and most importantly to patients because they are more effective and safer therapies. Genomics has a large role to play in the development of stratified medicines because many of the tools used to stratify the patient populations are genomic; eg, epidermal growth factor receptor (*EGFR*) mutation status and gefitinib, *KRAS* mutation status and cetuximab (Erbix) and panitumumab (Vectibix), *ALK4* mutation status and crizotinib.

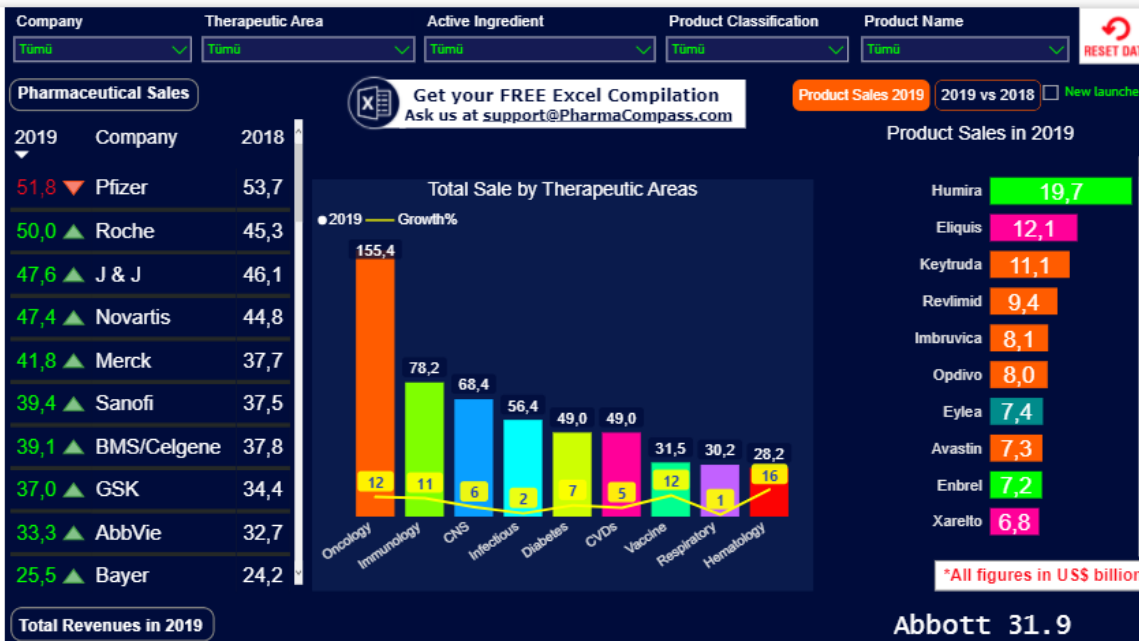
Yeni İlaç Geliştirme

➤ İlaç şirketleri tarihsel olarak ilaç bulma ve geliştirme çalışmalarında, geniş hastalık popülasyonlarının tedavisi için geniş kullanım alanı olan ilaç geliştirme, “blockbuster business model”(Gişe rekorları kıran iş modeli) üzerine odaklanmışlardır.

Blockbuster drug



Yılda 1 milyar dolardan fazla satışı olan ilaç



Yeni İlaç Geliştirme

- 2000 yılında 10 ilaç şirketinin 68 yeni ilaç bileşiği geliştirmek için harcadığı para 802 milyon dolar olarak açıklanmıştır.
- Yüksek ilaç geliştirme maliyeti iki ana faktöre bağlanabilir:
 - a) Bileşiklerin güvenliğini ve etkinliğini gösteren verileri sağlamak için gerekli klinik deneylerin büyük çapta ve uzun süreli olması
 - b) Klinikte bileşiklerin elenmesi.

Box 19.1 Human Studies Have Traditionally Been Split into Four Phases (Phases I–IV)

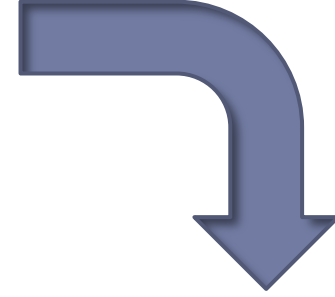
- Phase I: pharmacokinetic (PK) and safety profiles in healthy volunteers
- Phase II: safety and efficacy in patients and the establishment of the dose response
- Phase III: safety and efficacy at the chosen dosage
- Phase IV: postapproval studies to answer specific safety or efficacy questions and to support commercial strategies



Yeni İlaç Geliştirme

“Blockbuster drug” dezavantajı:

- Ciddi yan etki
- Büyük para kaybı
- Patentin kapsam dışı olmasıyla özel hakların son bulması
- Fiyat düşüşü



Stratified Medicine
(Alt grup tıp)
(Tabakalı tıp)



Biofarmasötikal endüstri



Stratified Medicine (Alt grup tıp, Tabakalı tıp)

- “Stratified medicine”, hasta alt gruplarının farklı hastalık mekanizmalarına veya tedavilere verdikleri özel yanıtlara göre tanımlanması esasına dayanır.
- Belirli hasta gruplarına etkili olan tedavilerin belirlenmesine ve geliştirilmesine olanak tanır.
- Doğru hastanın doğru zamanda doğru tedaviyi almasını sağlar.
- Hastalığın temelini oluşturan mekanizmaların anlaşılması, hücreler ve dokularda meydana gelen yapısal, işlevsel ve kimyasal anormallikler hakkındaki bilgilerin artmasıyla, hastalıkların aslında bu anormalliklerin alt grupları olduğu anlaşılmaktadır.

Stratified Medicine
(Alt grup tıp)
(Tabakalı tıp)



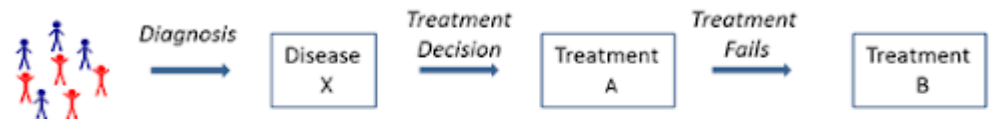
Artmış başarı olasılığı
Daha iyi yarar-zarar profili
Uygun maliyet
Daha etkili ve güvenli tedavi imkanı



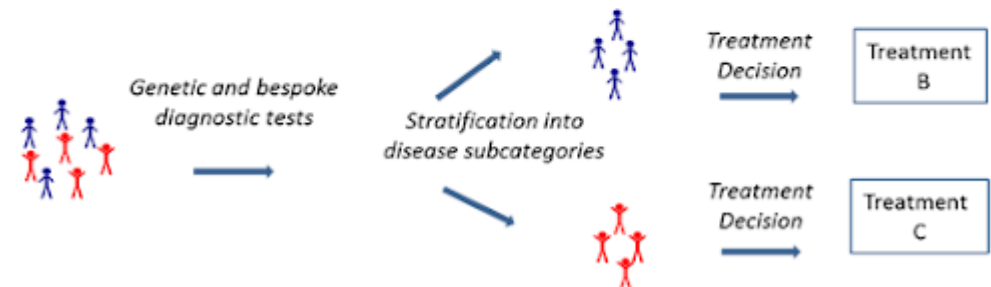
Table 1. Comparisons between the traditional current approach and the precision medicine/stratified approach

	Traditional approach	Precision medicine/stratified approach		
Methodology	Evaluation of visible properties	Classify by risk	Big data	Surveillance for preclinical disease
Intervention	One size fits all	Tailored	Unbiased	Early intervention
Result	Mixed results: Responders No effect Adverse events	Focus on responders for existing treatments	Discovery of new targets	Targeted prevention

Symptoms based approach

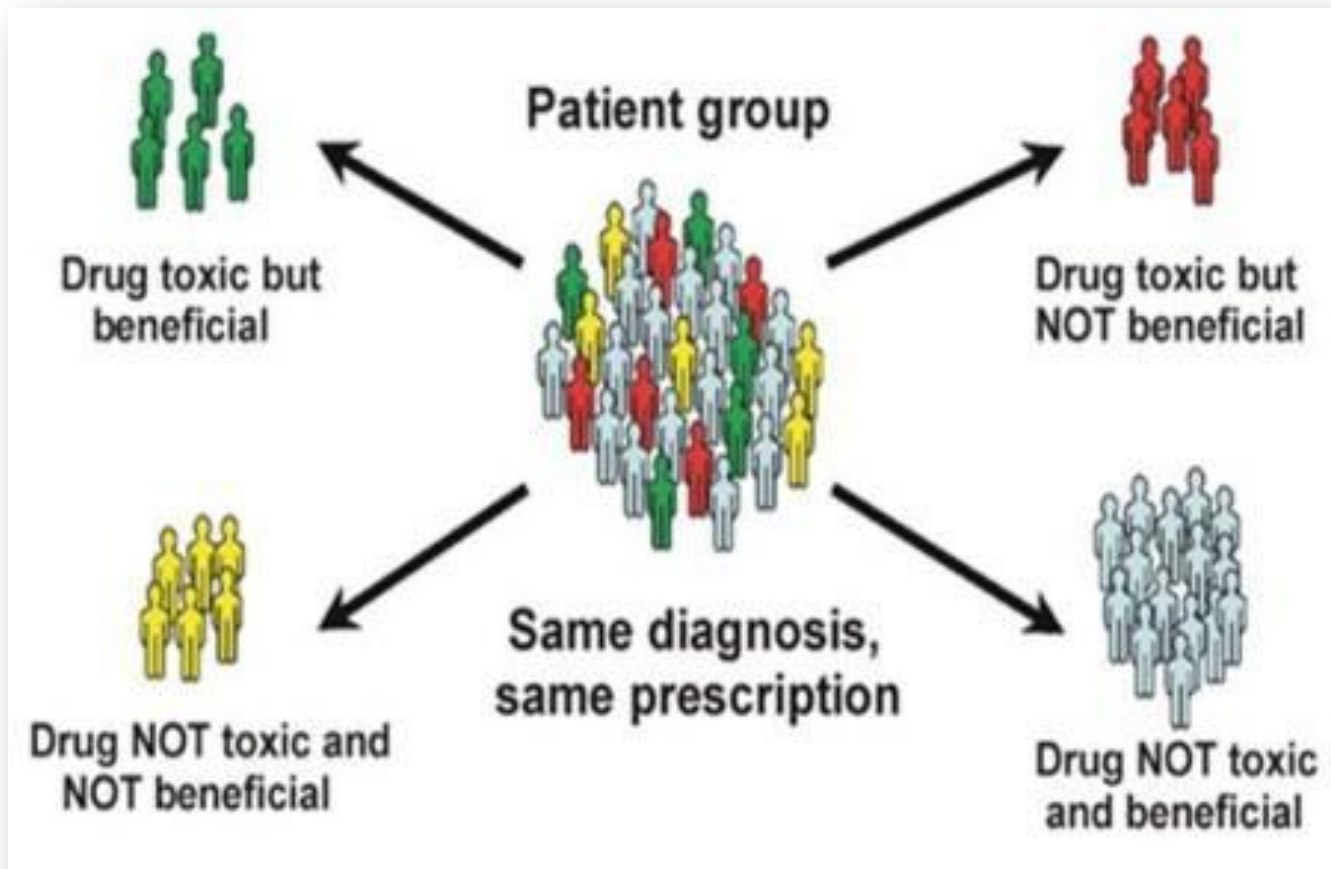


Stratified medicine approach



Stratified Medicine (Alt grup tıp, Tabakalı tıp)

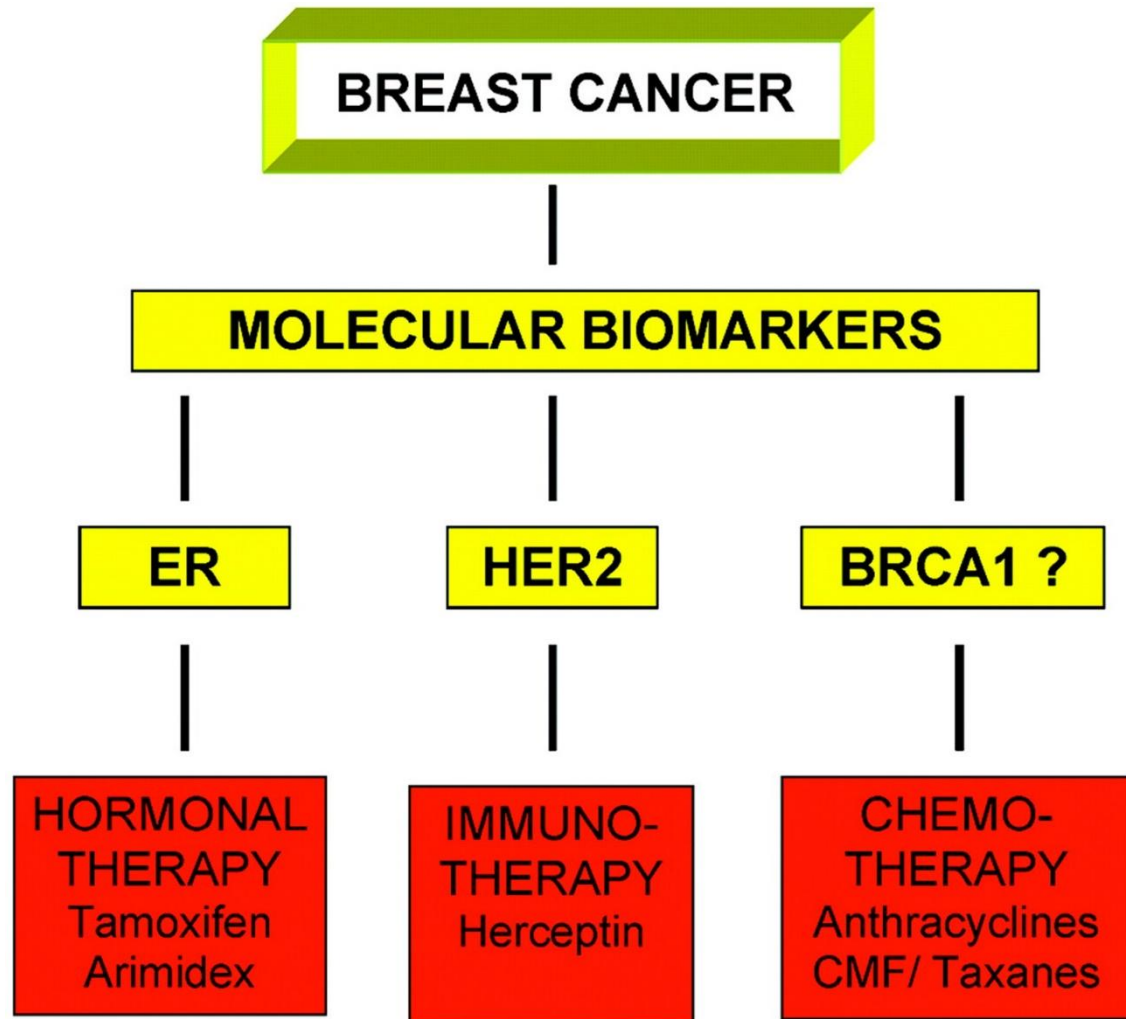
The concept of stratified medicine



Genomiks ve hedef belirleme

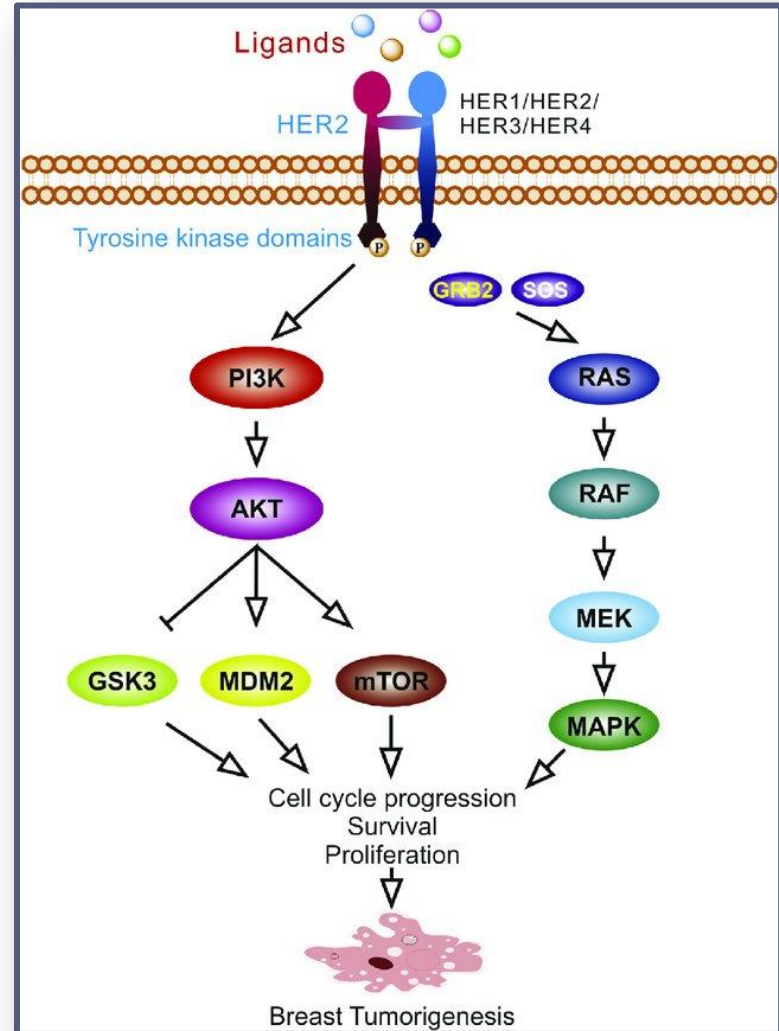
Meme kanseri:

Estrogen receptor (ER)
Progesterone receptor (PgR),
Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) status
BRCA1
(Breast Cancer Susceptibility)



Her-2 geni ve meme kanseri

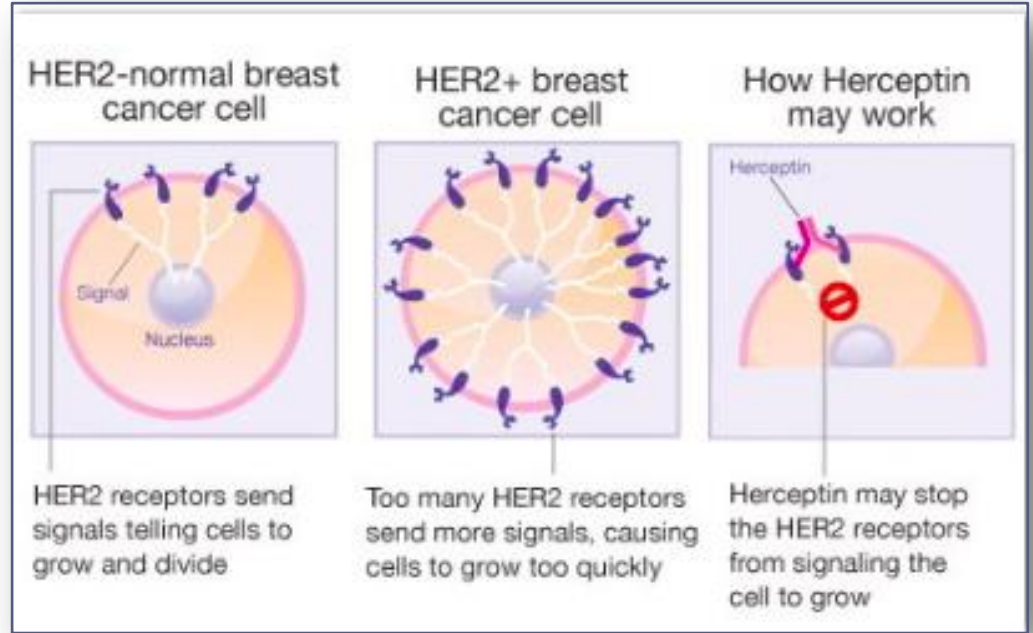
- HER2 insan epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ailesi üyesidir.
- HER-2/Neu (cerbB-2 veya p185) 17. kromozomda q12 ye yerleşmiştir.
- Protein ürünü hücre bölünmesi ve farklılaşmasına katılır.
- Normalde hücre büyümesinde ve çoğalmasında rol alır.



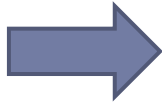
Her-2 geni ve meme kanseri

Her2 aşırı ekspresyonu:

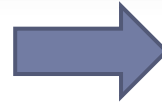
- % 15-30 invaziv meme kanserlerinde,
- Aresif tümör fenotipi
- Kötü prognoz
- Kısa sürede relaps



Her2

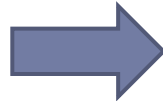


prognostik belirteç



HEDEF

Her2 + meme kanseri



Stratified medicine

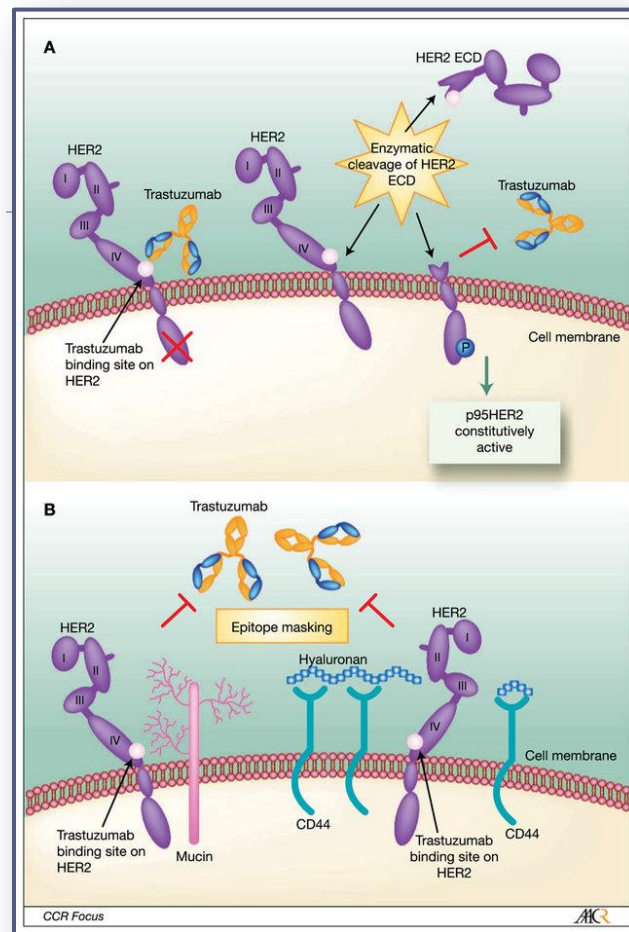
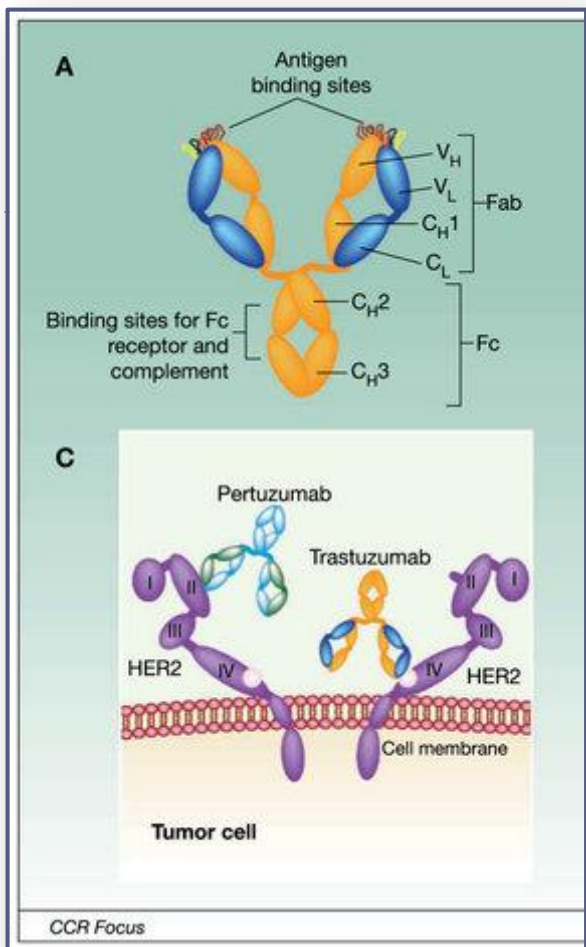


Fig. 2. A: schematic of trastuzumab (IgG1 kappa). Brackets indicate the Fab and the Fc portions of IgG1. C H I to C H 3 indicate the heavy chain constant domains I to 3, whereas C L indicates light chain constant domain. V H and V L denote variable heavy chain and variable light chain respectively. C: trastuzumab Fab-related function results from its binding to domain IV of HER2. HER2 indicates the human EGFR 2 (in purple). Pertuzumab, another antiHER2 humanized mAb, binds to an epitope present on domain II of HER2.

Bcr-Abl geni ve Kronik myeloid lösemi (KML)

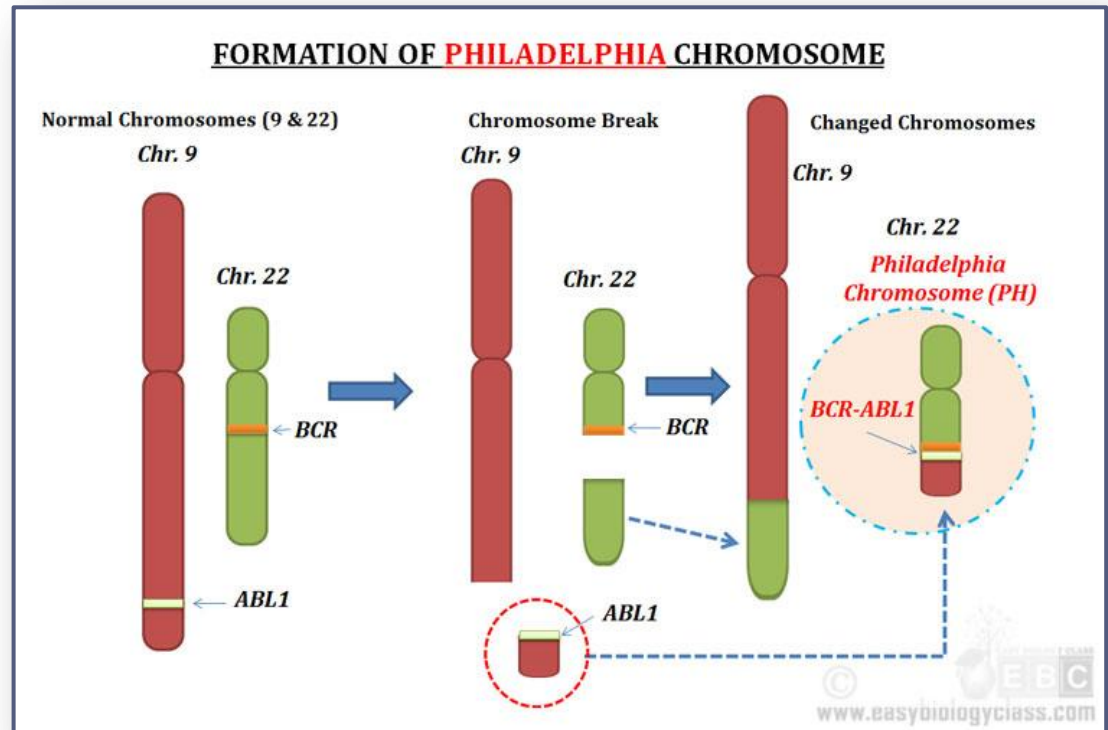
□ Bcr-abl füzyon geni (9;22) translokasyonu sonucunda oluşan ve KML oluşumuna neden olduğu gösterilen ilk gen olup, KML hastalığı da etkin hedefe yönelik tedavinin ilk uygulandığı hastalık olma özelliğine sahiptir.

Abl = proto-onkogen
Bcr-Abl = onkogen

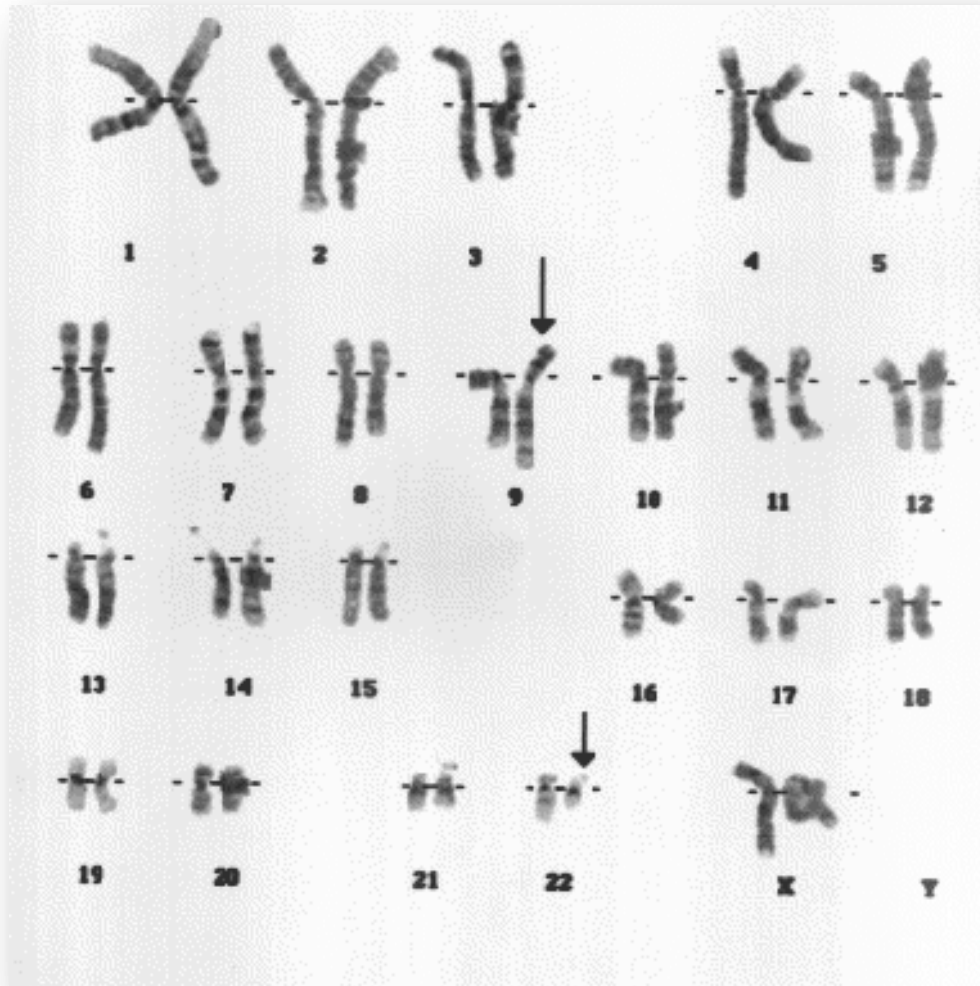
Abl (Abelson proto-onkogeni)



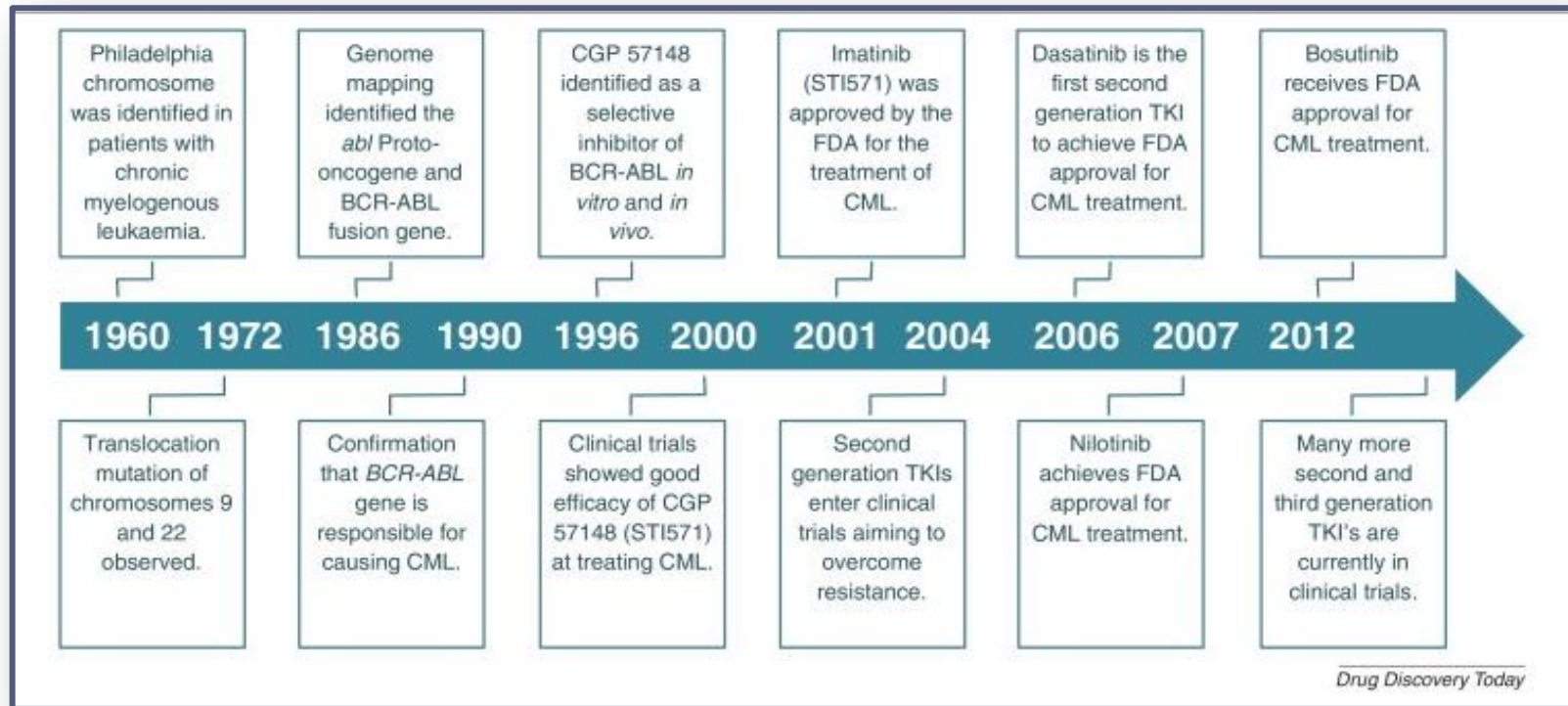
Sitoplazmada ve nükleustaki tirozin kinazi kodlar



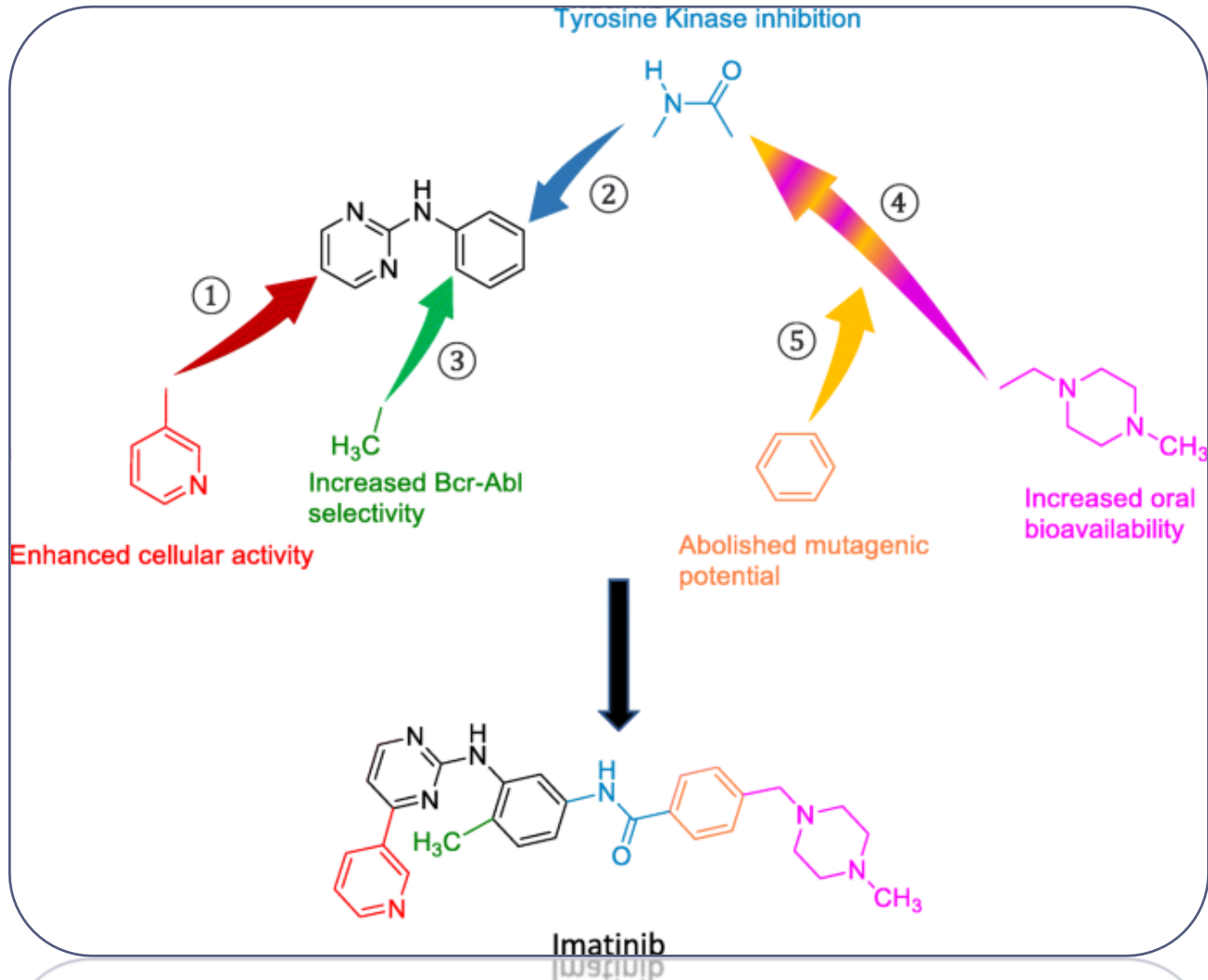
Bcr-Abl geni ve Kronik myeloid lösemi (KML)

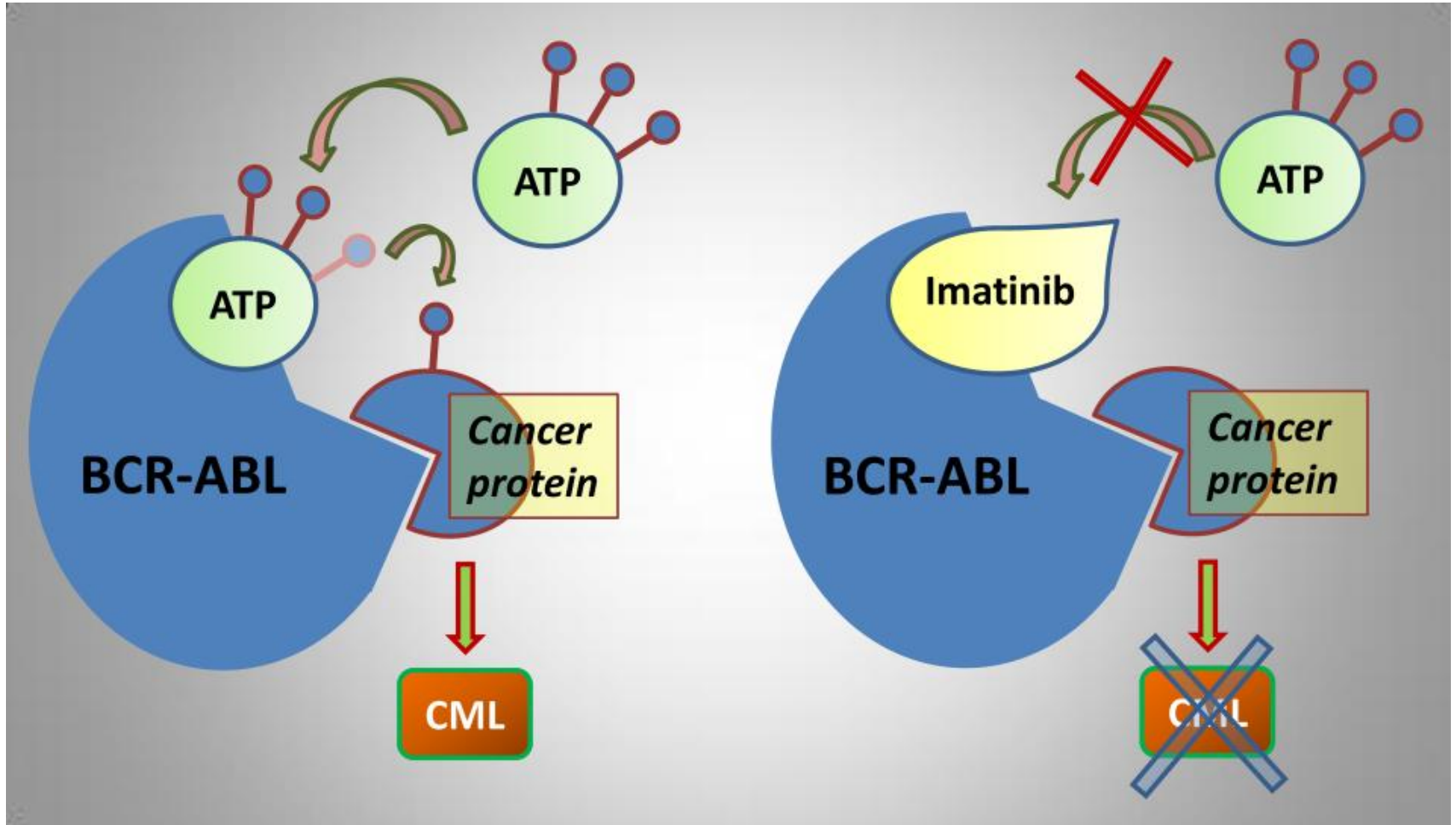


Bcr-Abl inhibitörlerinin geliştirilmesi



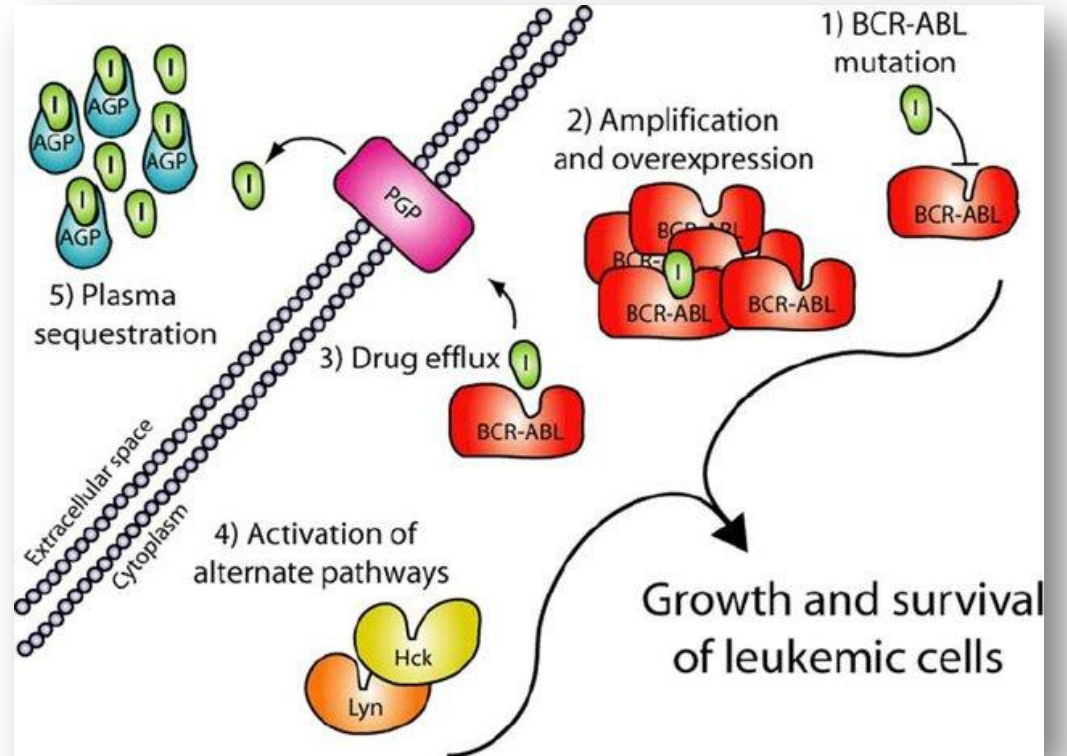
Bcr-Abl inhibitörlerinin geliştirilmesi





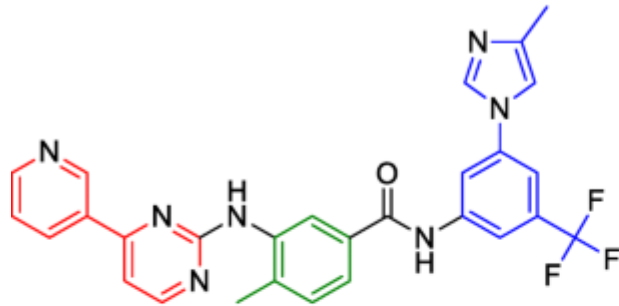
İmatinib Direnç Gelişme Mekanizmaları:

- (a) hastanın tedaviye uyumsuzluğu,
- (b) diğer ilaçlar ile etkileşim (sitokrom P450 ailesi),
- (c) BCR-ABL gen amplifikasyonu,
- (d) BCR-ABL kinaz mutasyonları,
- (e) ilacın hücre içine alınmaması/
hücre dışına atılması,
- f) diğer tirozin kinazların aşırı yapımı,
- (g) ek sitogenetik anomaliler

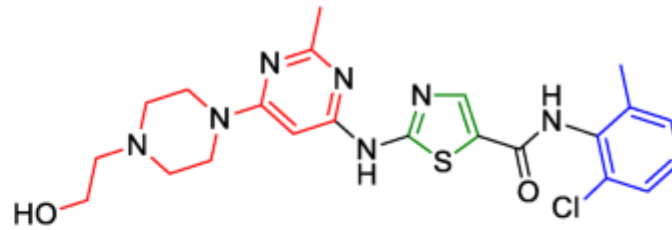


nilotinib, dasatinib, bosutinib = ikinci kuşak Bcr-Abl inhibitörleri

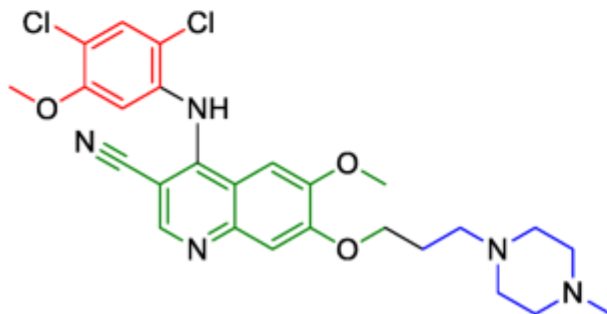
a Nilotinib



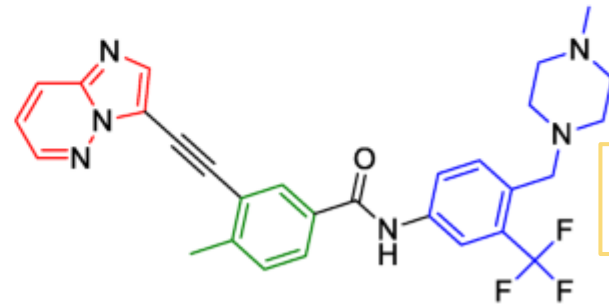
b Dasatinib



c Bosutinib



d Ponatinib



Üçüncü kuşak Bcr-Abl inhibitörleri

Klinik çalışmaları devam eden Bcr-Abl inhibitörleri

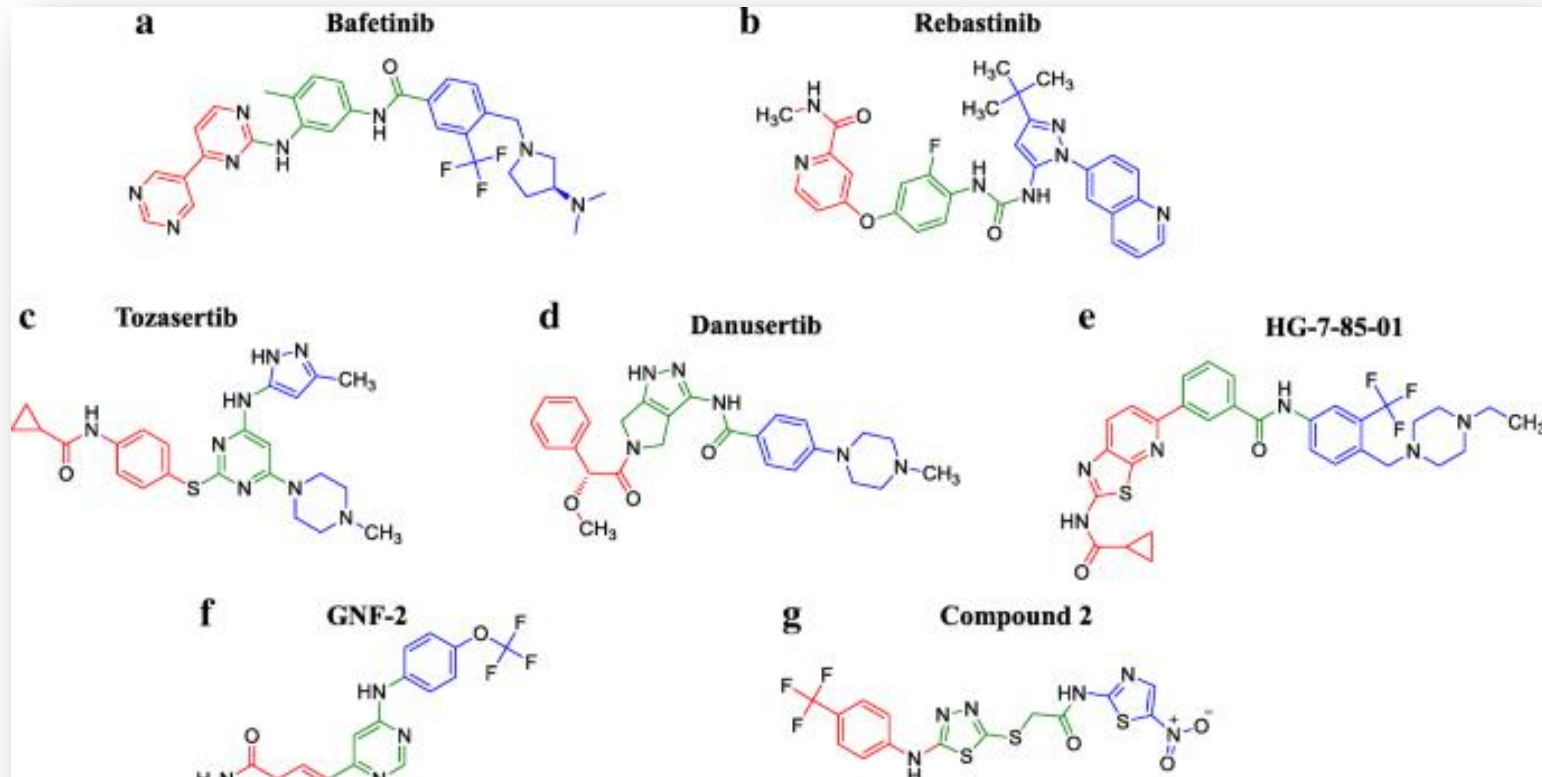
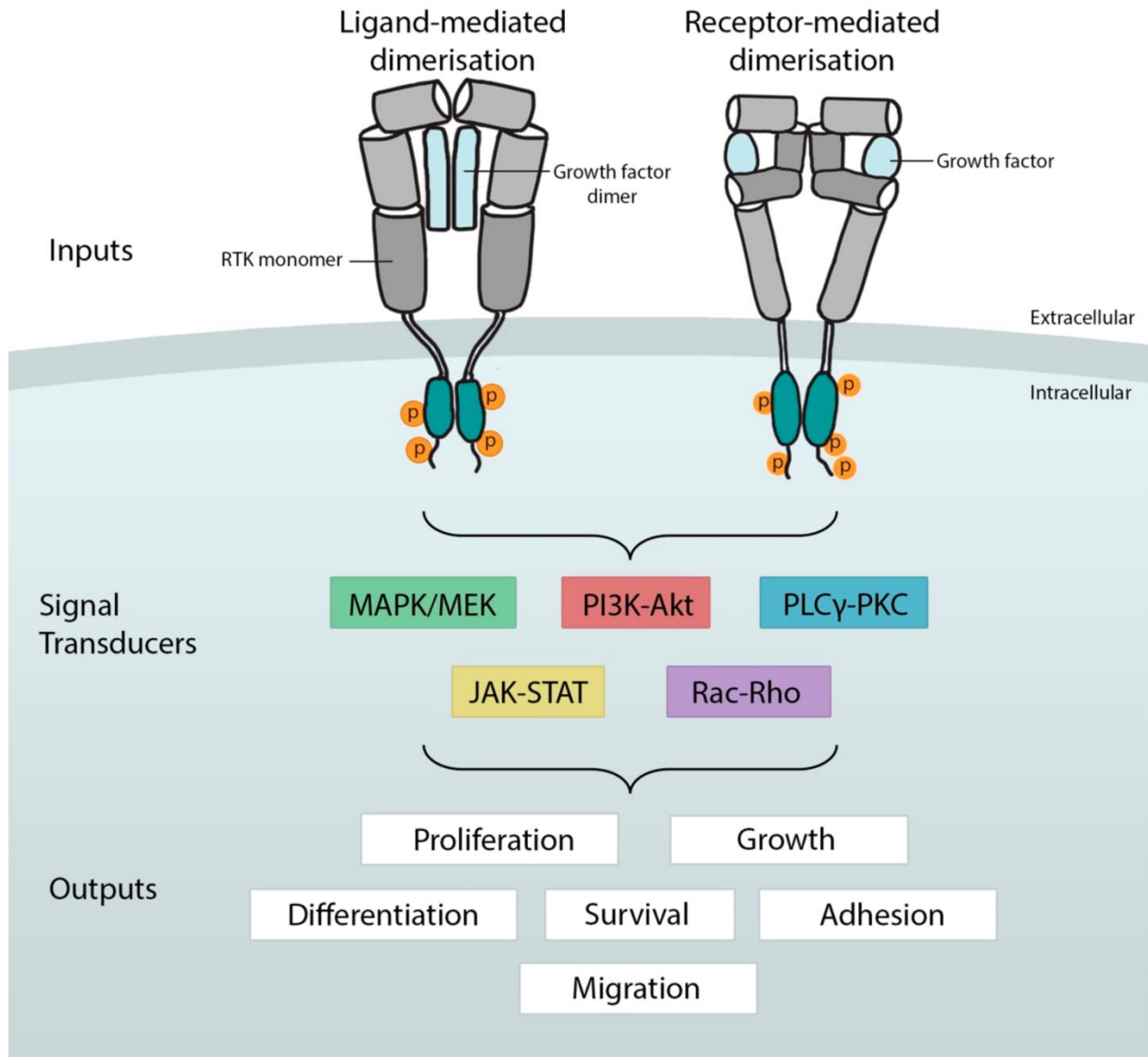
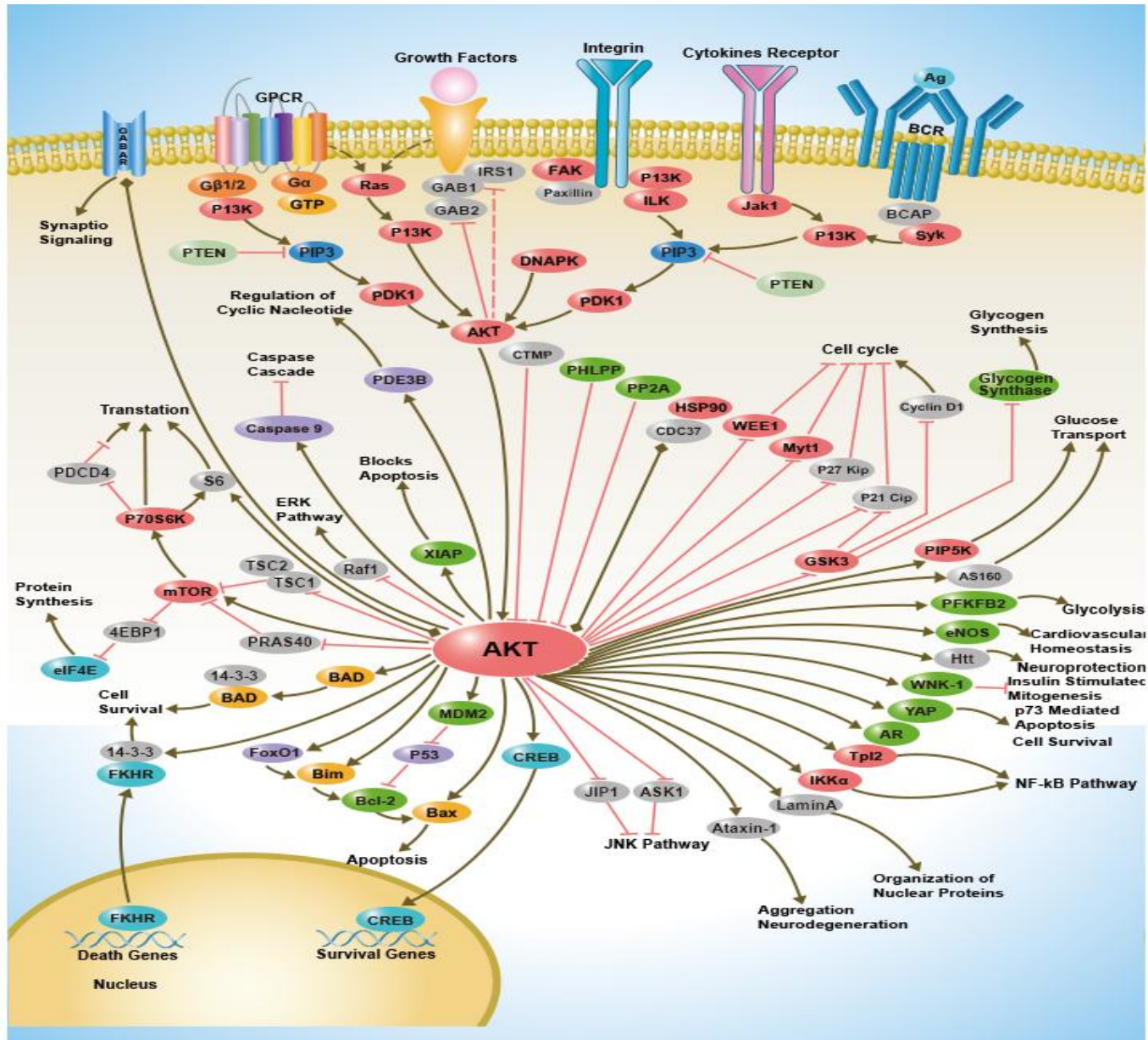


Fig. 5 a-g Structure comparison of Bcr-Abl preclinically validated inhibitors. Chemical structures are here represented in color code with regard to analogous groups of different tyrosine kinase inhibitors (green: core structure; red and blue: substituents group)

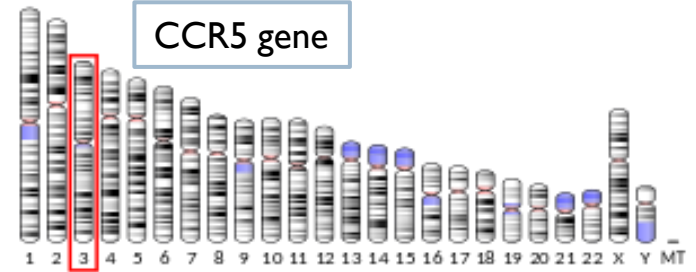
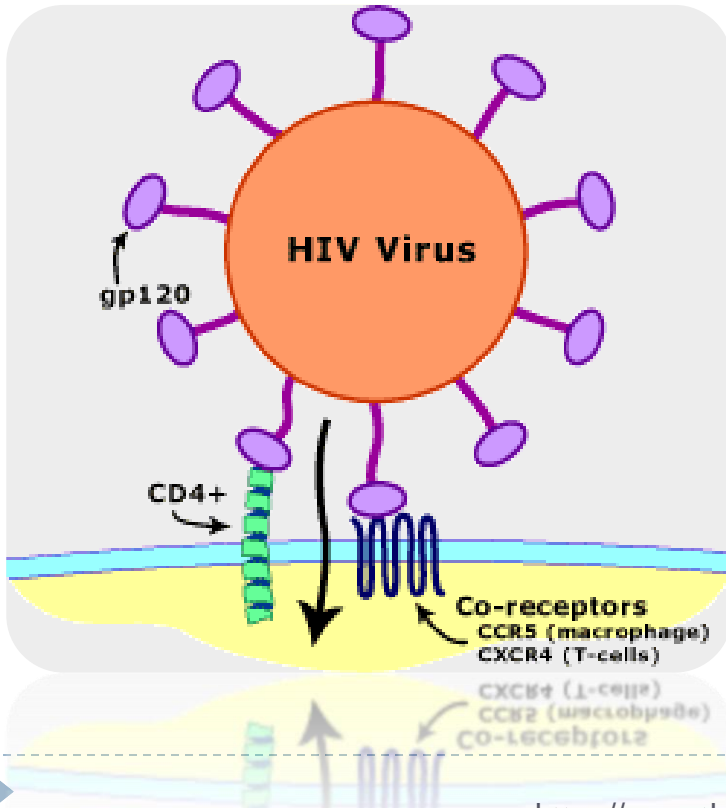




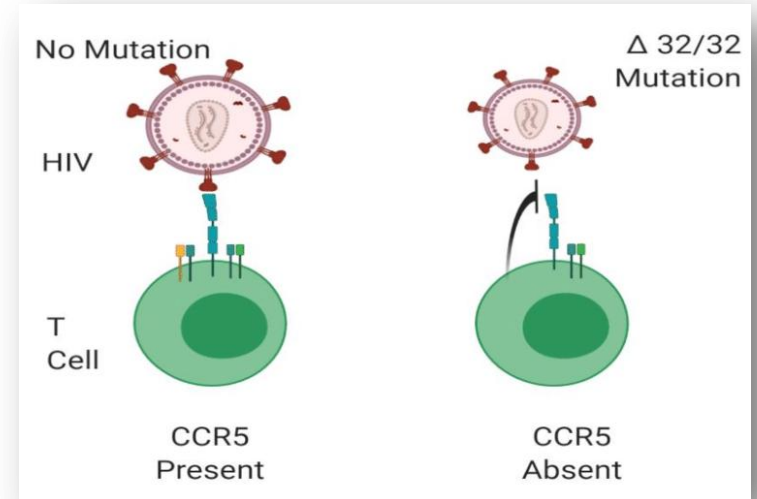
HIV-CCR5 geni

HIV = Human Immunodeficiency Virus
/ İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü

AIDS = Acquired Immune Deficiency Syndrome'un (Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu)



CCR5 = C-C chemokine receptor type 5
CXCR4 = C-X-C chemokine receptor type 4



CCR5 mutasyonu = AIDS direnci
Genetik polimorfizm = hızlı ilerleme
(artmış CCR5 ekspresyonu)

Maraviroc geliştirilmesi

- Maraviroc (UK-427857) = CCR5 reseptör antagonist sınıfında antiretroviral bir ilaçtır.
- Pfizer- 2007 FDA onayı

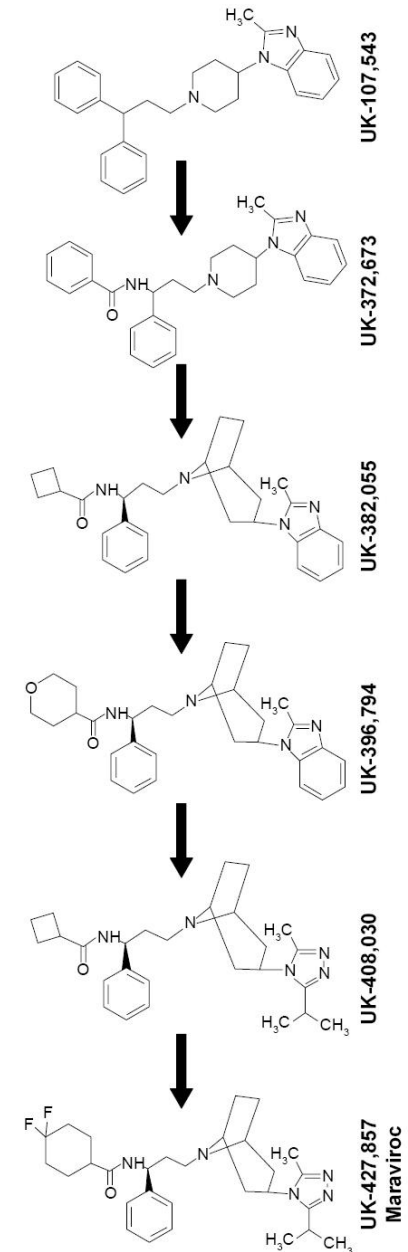
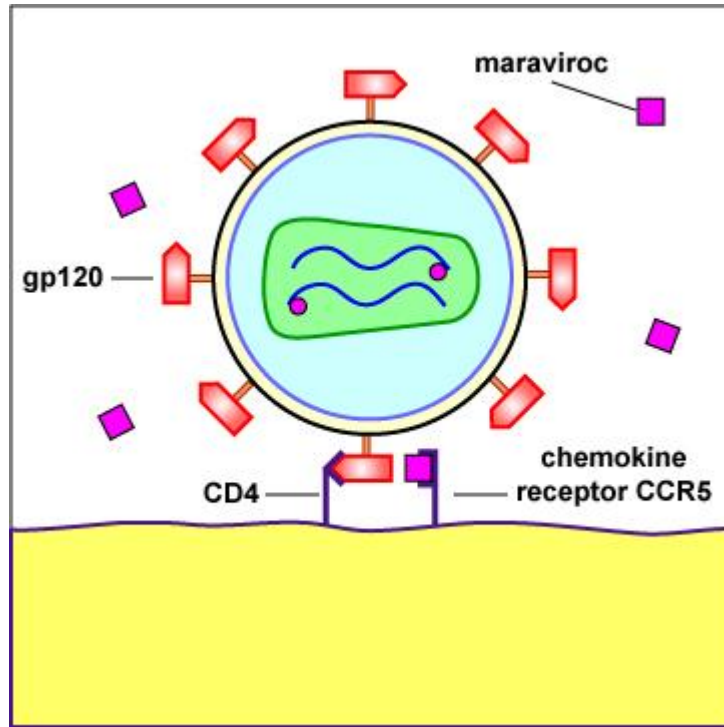
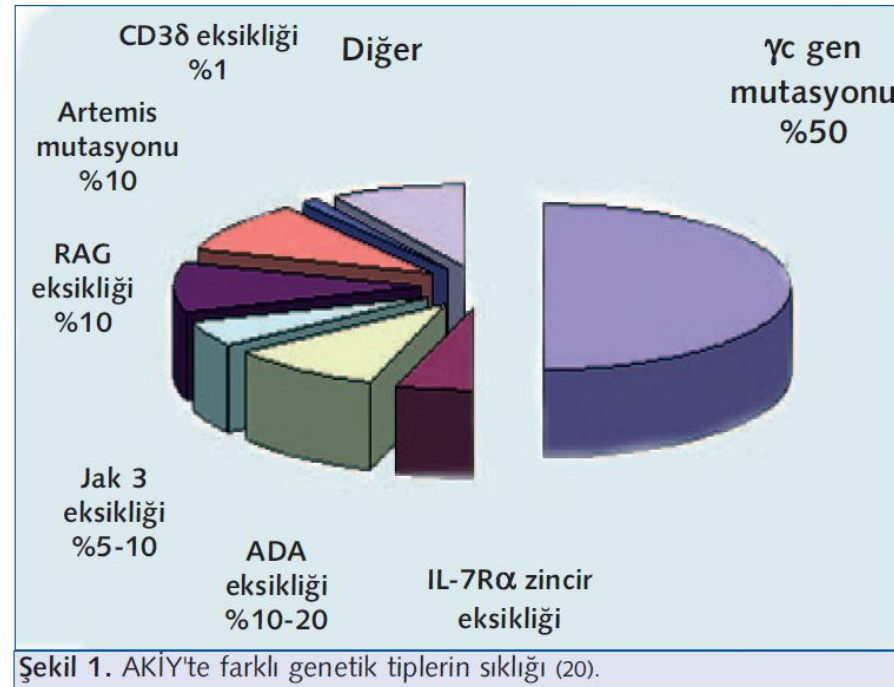


Figure 1 Development of maraviroc.

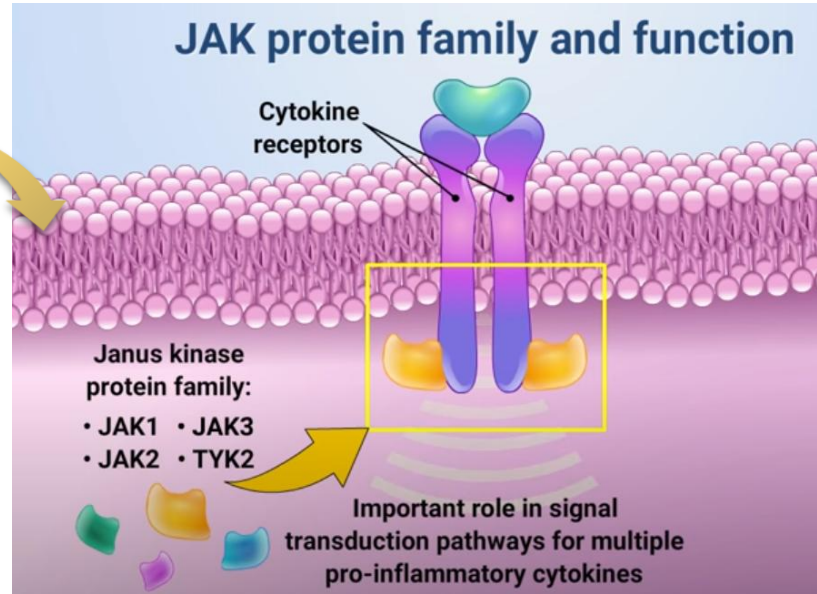
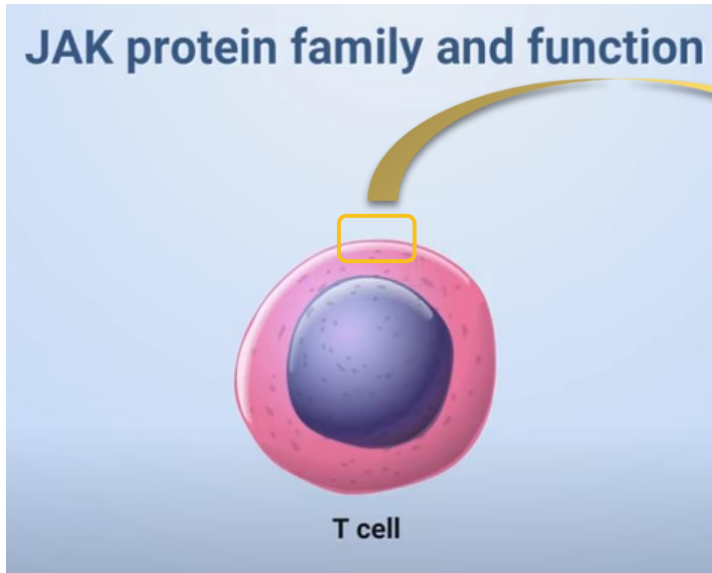
Notes: Panels show the sequential optimization from the initial compound UK-107,543 to UK-372,673; UK-382,055; UK-396,794; UK-408,030; and finally maraviroc. Reprinted from *Prog Med Chem*, 43, Wood A, Armour D. The discovery of the CCR5 receptor antagonist, UK-427,857, a new agent for the treatment of HIV infection and AIDS., 239–271, Copyright © 2015, with permission from Elsevier.¹⁹

JAK3 geni-Ağır kombine immÜN yetmezlik [SEVERE combined immune deficiency (SCID)]

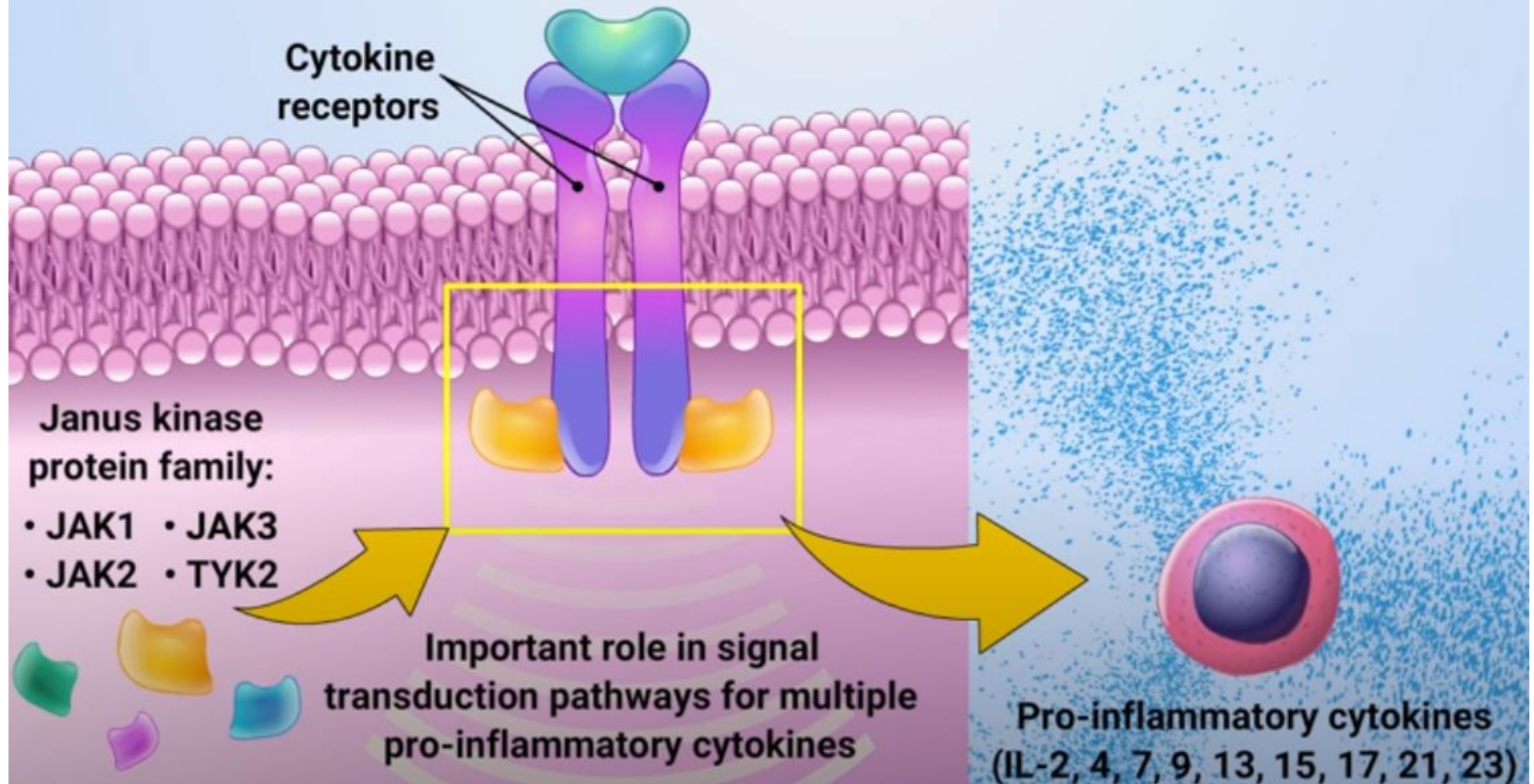
- Ağır kombine immÜN yetmezlik (AKİY), farklı genetik nedenlere bağlı ortaya çıkabilen, T ve B lenfosit fonksiyonlarında bozuklukla karakterize bir primer immÜN yetmezlik hastalığıdır. X'e bağlı ya da otozomal resesif geçiş gösterebilir.
- Görülme sıklığı 1/50.000- 1/100.000 canlı doğumdur.



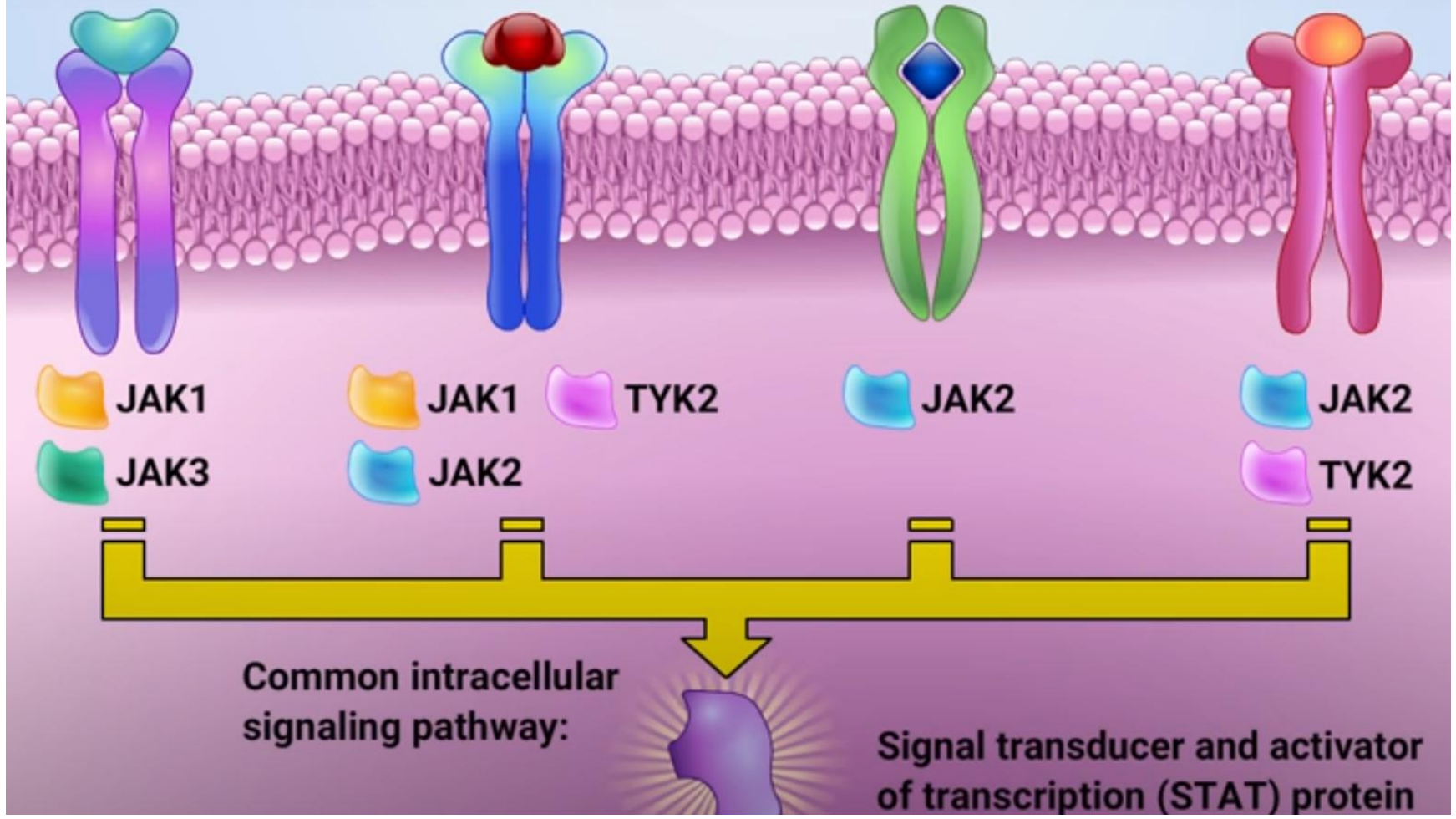
JAK kinaz ailesi



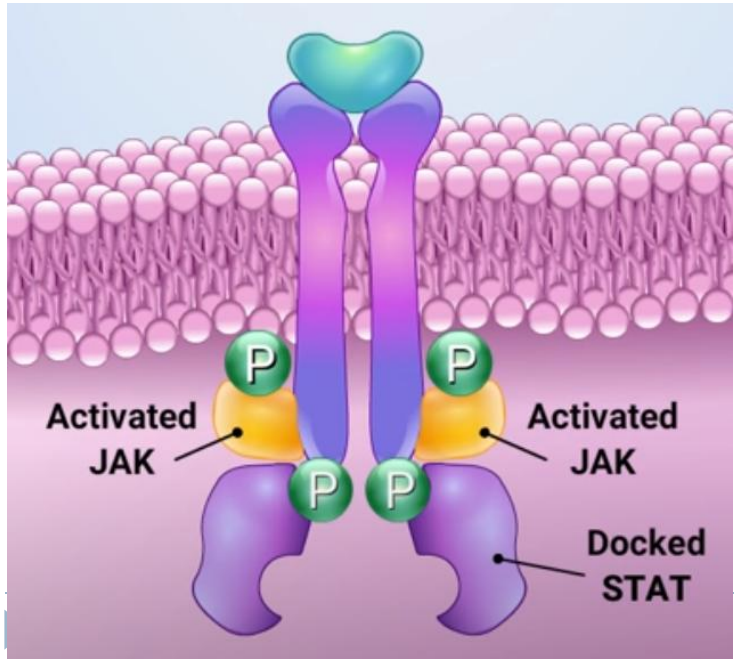
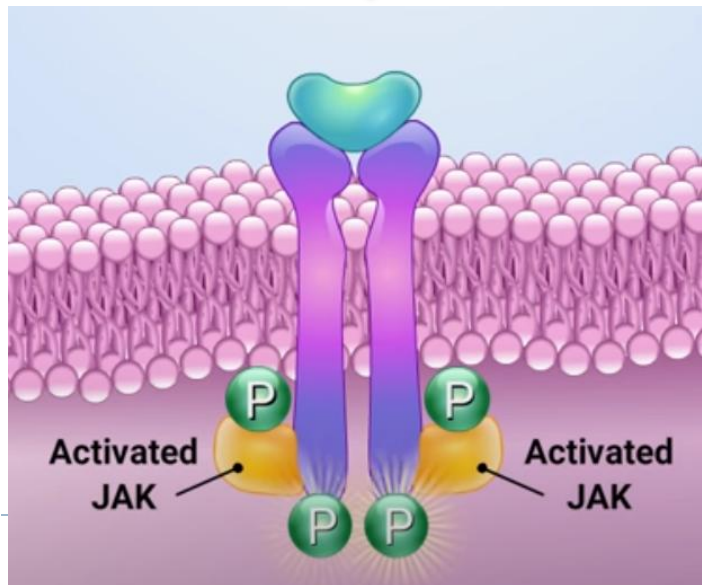
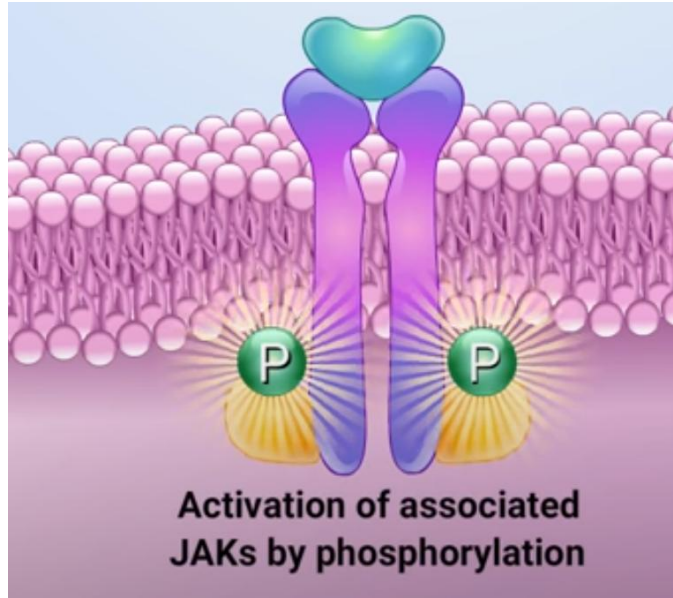
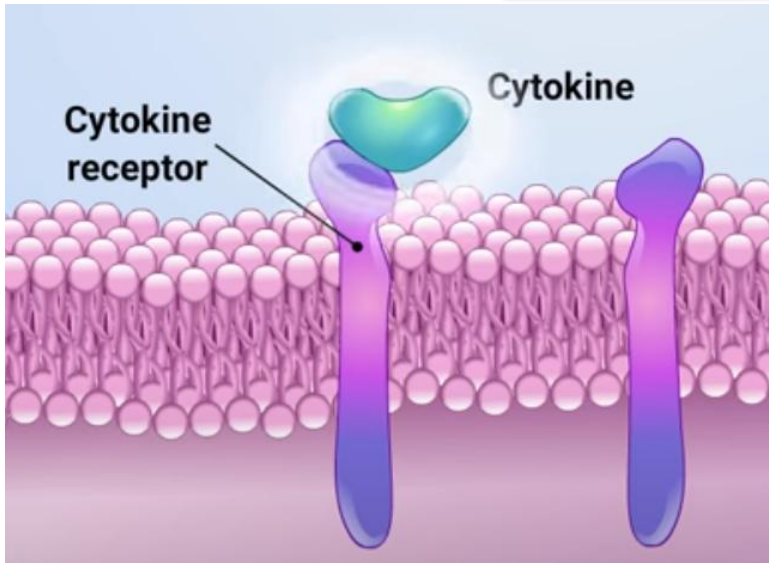
JAK protein family and function

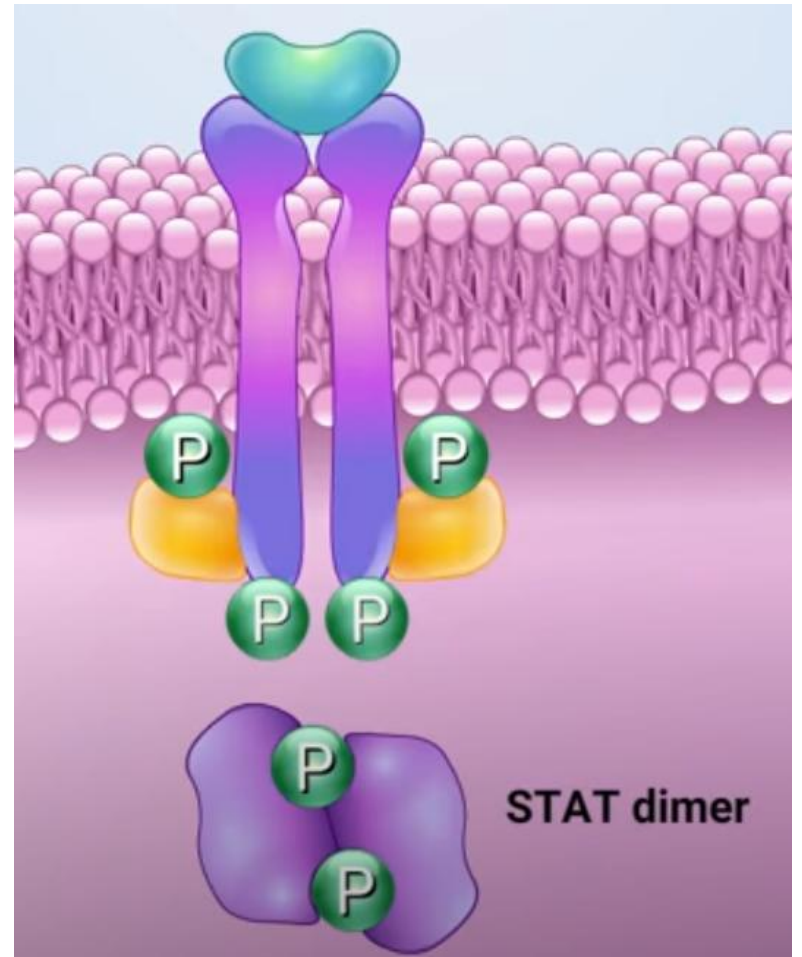
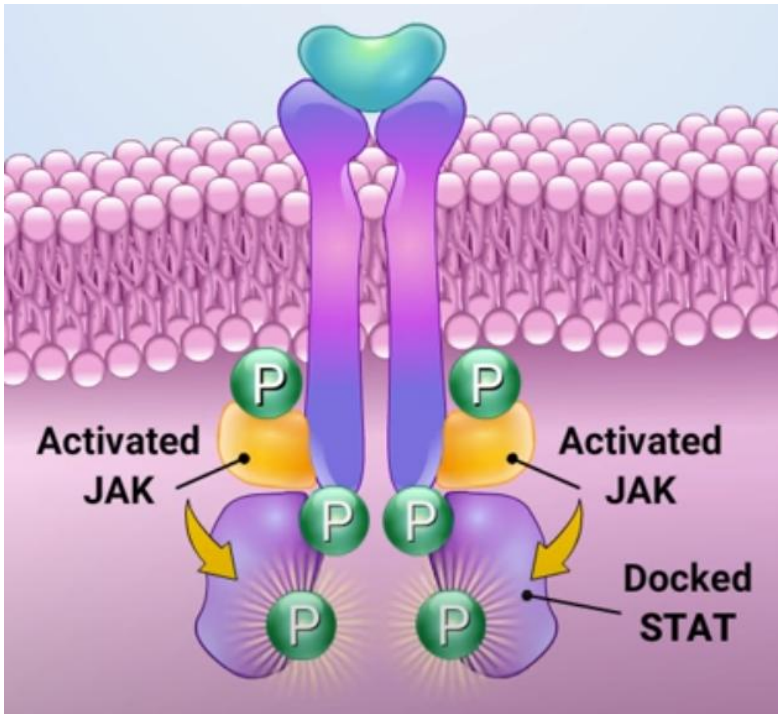


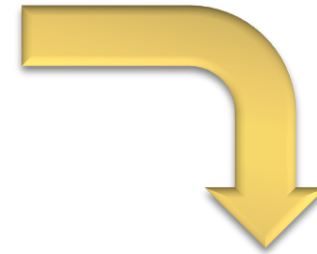
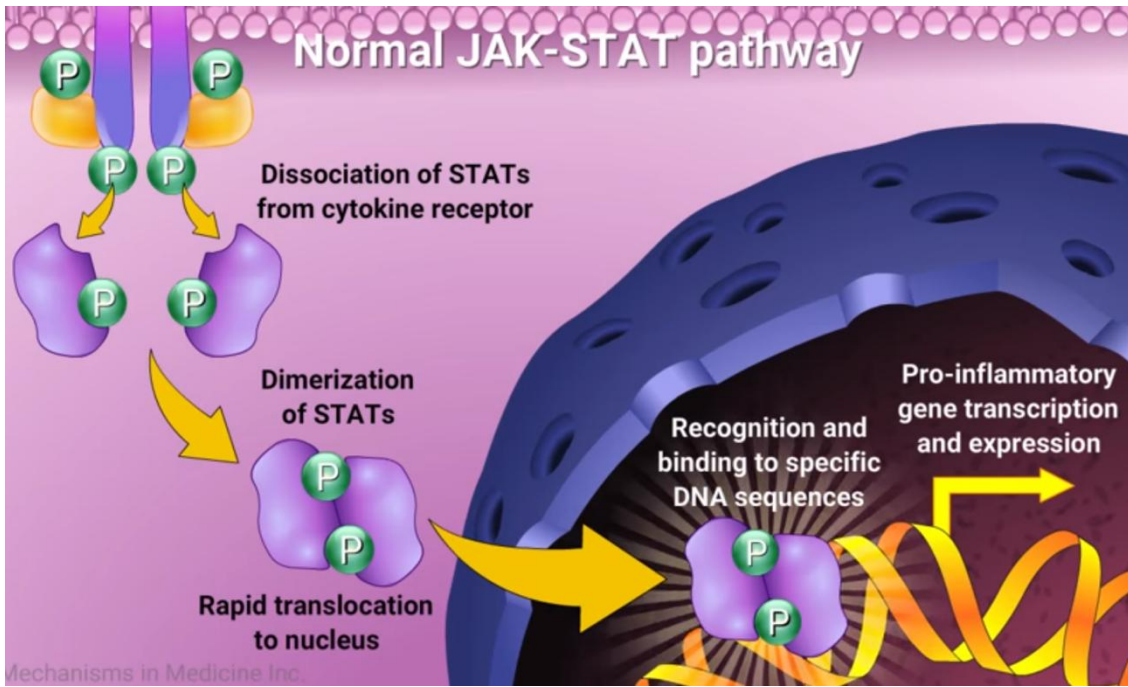
4 distinct cytokine receptor families



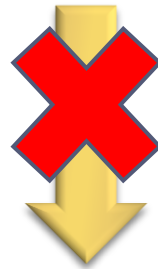
Normal JAK-STAT yolağı





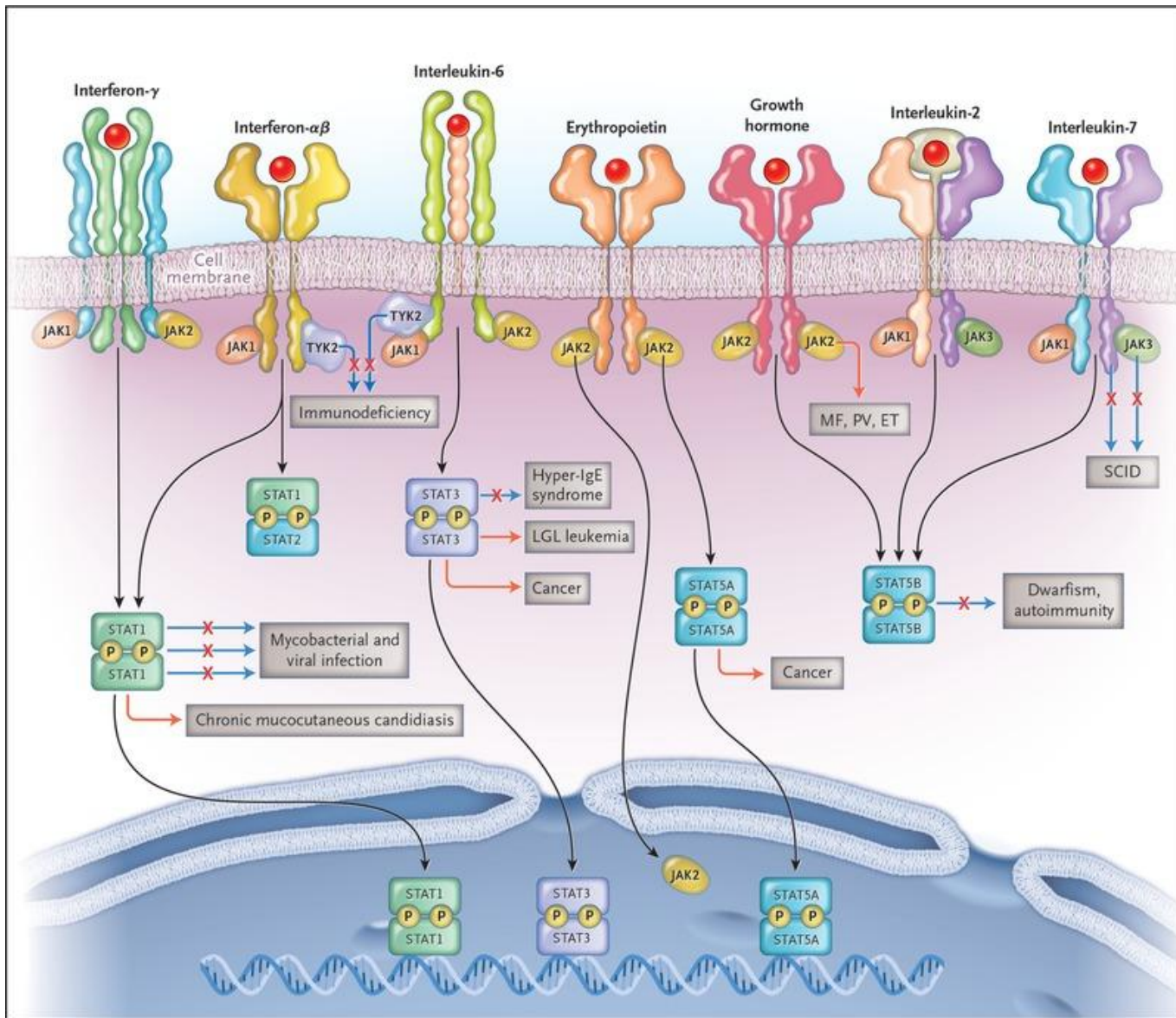


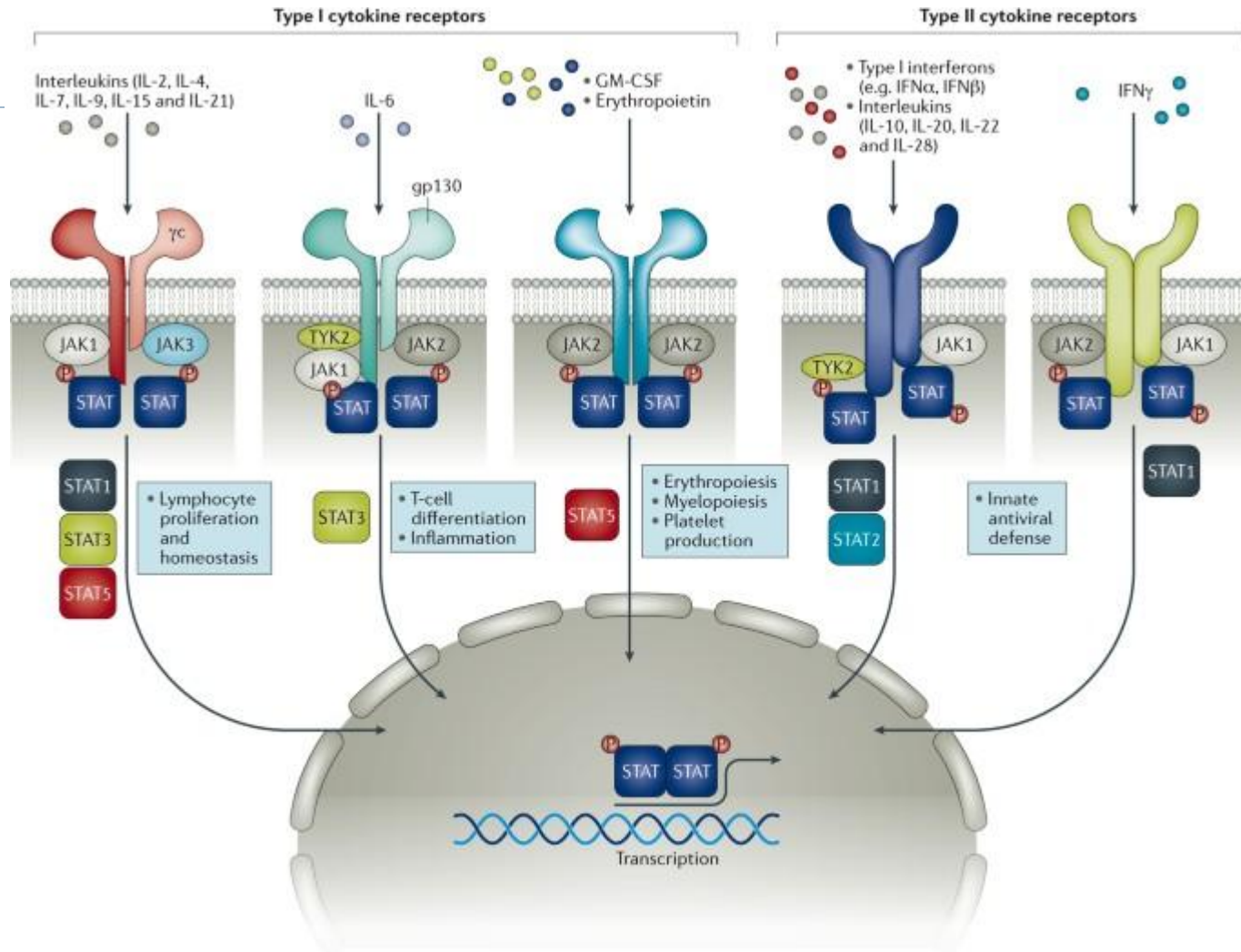
- Hematopoiesis
- Lactation
- development of the immune system and mammary glands
- Inflammatory response



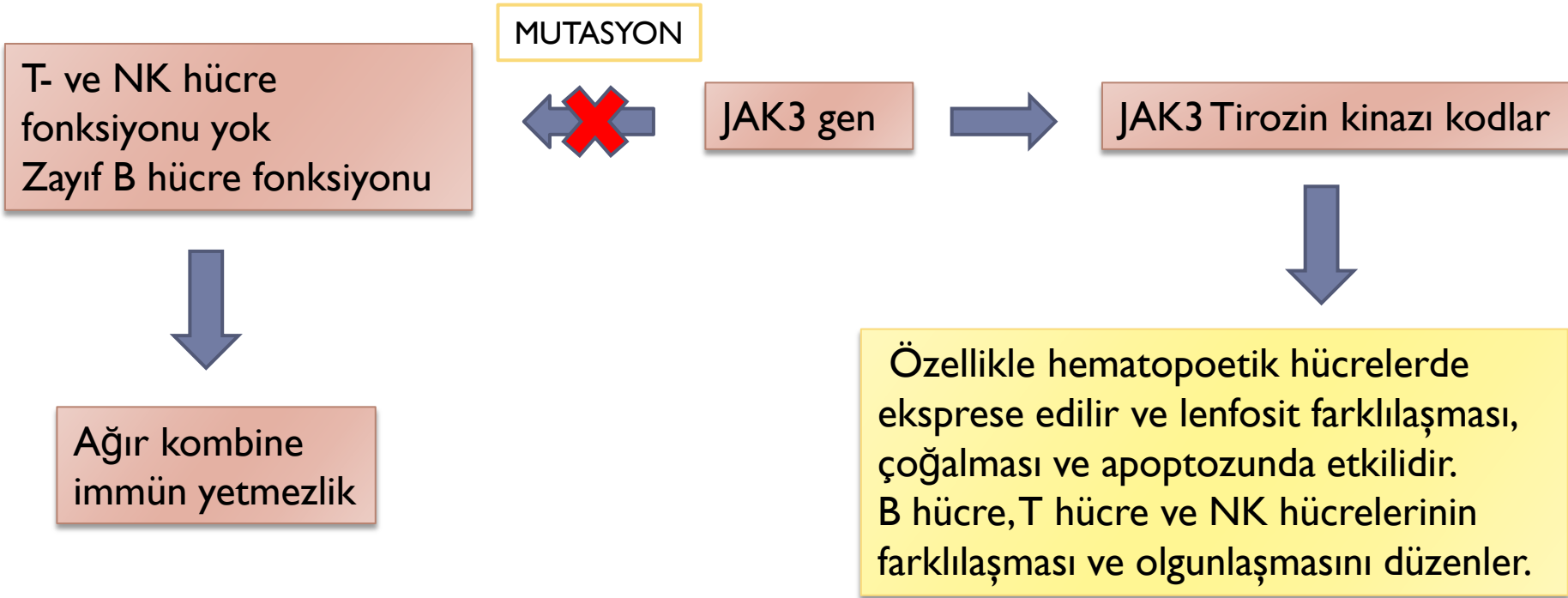
İmmün yetmezlik hastalıkları
(romatoid artrit, psoriasis,
multiple sclerosis vs)
Kanser







JAK3 gene-Ağır kombine immün yetmezlik [SEVERE combined immune deficiency (SCID)]



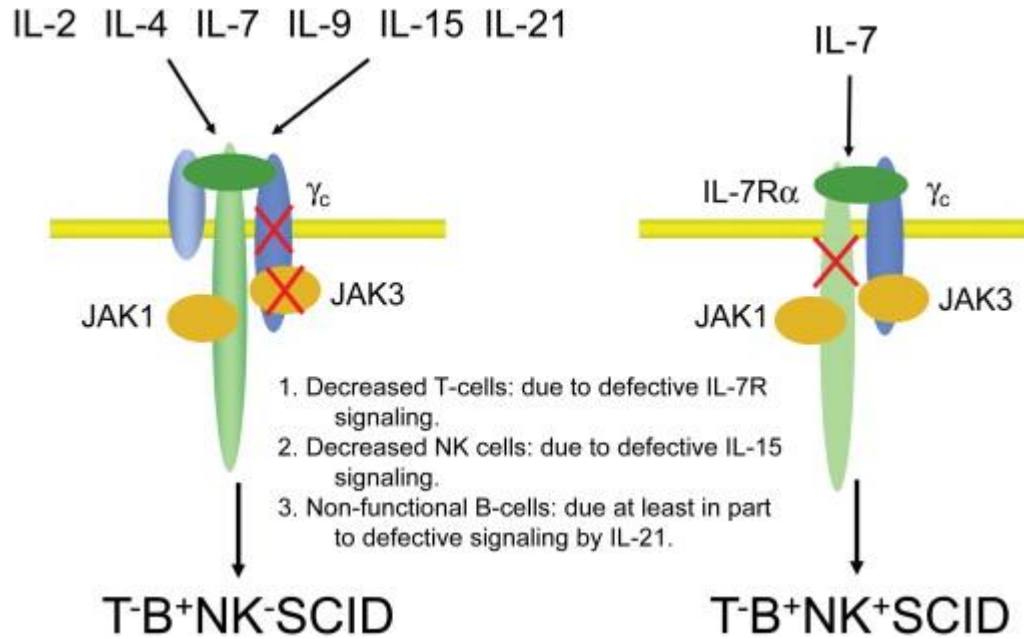
JAK3 inhibisyonu



İmmün
supresyonunda
yeni yaklaşım

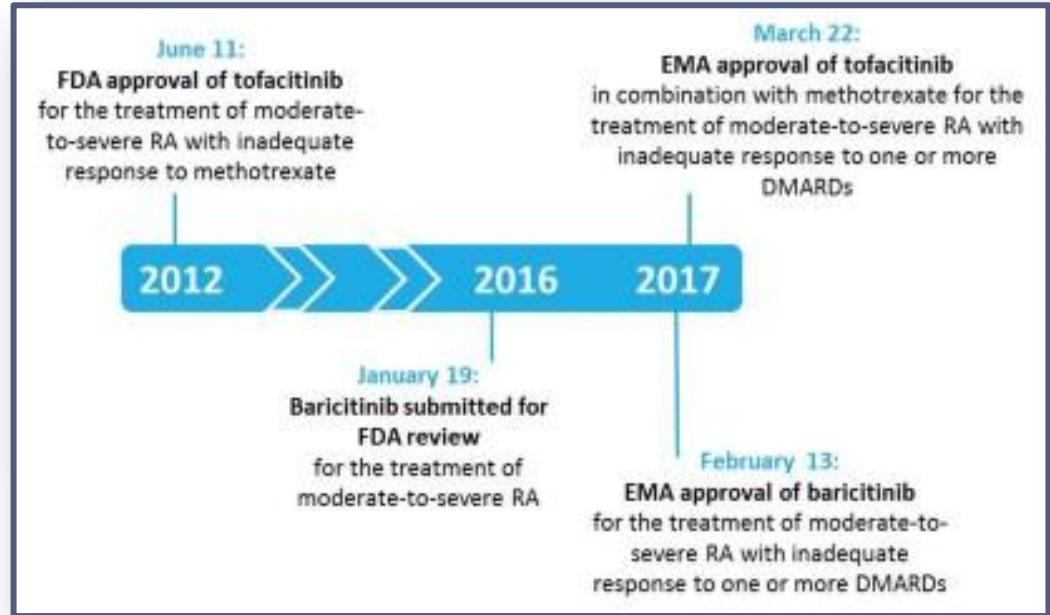
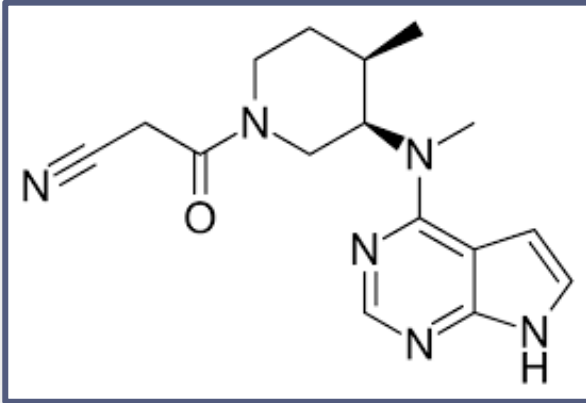


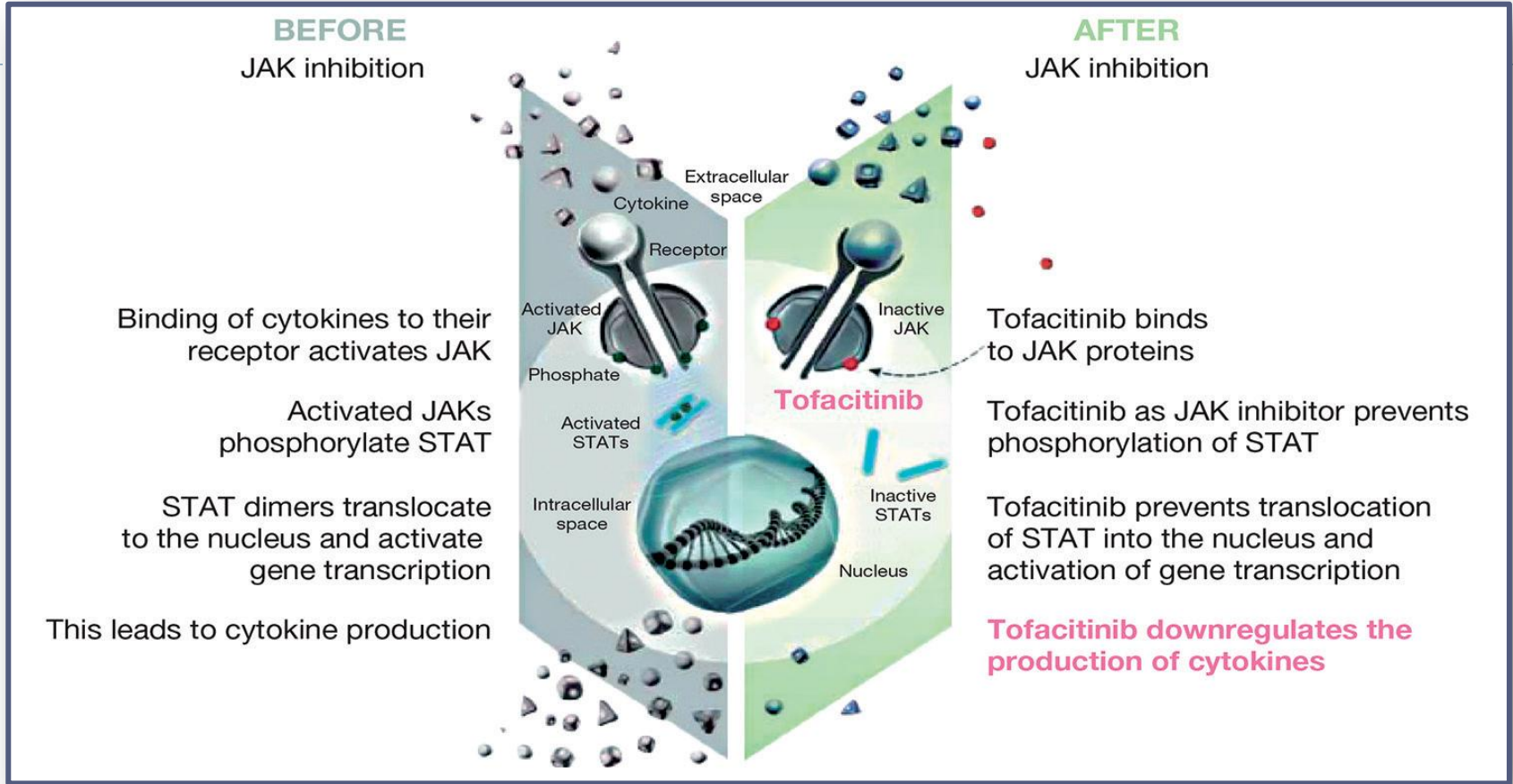
Romatoid artrit
Ülseratif kolit
Crohn hastalığı
Psoriasis
Böbrek Nakli



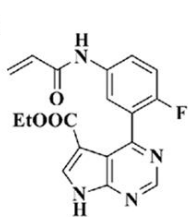
Tofacitinib

- Tofacitinib romatoid artrit, ülseratif kolit, Crohn hastalığı ve psoriasis gibi T-hücre aracılı otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır.
- Artrit bulgularında, psoriasis fonksiyonel skorlarında belirgin iyileşme sağlamıştır.
- Kasım 2012'de FDA tarafından metotreksat intoleransı/ yetersiz yanıtı olan orta ciddi romatoid artritli hastaların tedavisinde monoterapi veya kombinasyon tedavisinde kullanımı onaylanmıştır.

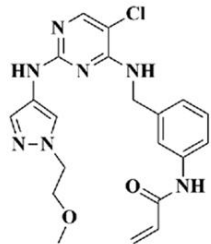




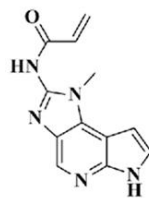
Tofacitinib IL-2R γ sitokin reseptör zinciri aracılığıyla sitokin sinyalizasyonunu bloke eder ve T, B, NK hücrelerinin apoptoza yatkınlığını arttırır

A

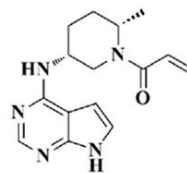
Taunton et al
JAK3: IC₅₀ = 0.43 nM
JAK1: IC₅₀ = 1520 nM
JAK2: IC₅₀ = 8680 nM



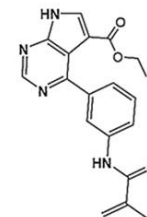
Gray et al
JAK3: IC₅₀ < 0.5 nM
JAK1: IC₅₀ = 35 nM
JAK2: IC₅₀ = 51 nM



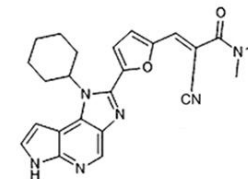
Goedken et al
JAK3: IC₅₀ < 3 nM
JAK1: IC₅₀ = 4000 nM
JAK2: IC₅₀ = 1600 nM



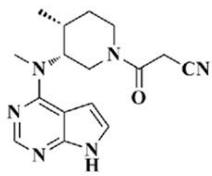
PF-06651600
JAK3: IC₅₀ = 33.1 nM
JAK1: IC₅₀ > 10000 nM
JAK2: IC₅₀ > 10000 nM



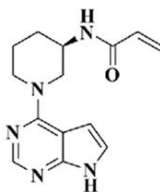
Elwood et al
JAK3: IC₅₀ = 150 nM
JAK1: IC₅₀ = 640 nM
JAK2: IC₅₀ = 1500 nM



Forster et al
JAK3: IC₅₀ = 0.154 nM
JAK1: IC₅₀ = 52 nM
JAK2: IC₅₀ = 346 nM

B

Tofacitinib
JAK3: IC₅₀ = 1 nM
JAK1: IC₅₀ = 112 nM
JAK2: IC₅₀ = 20 nM

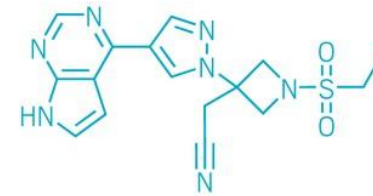
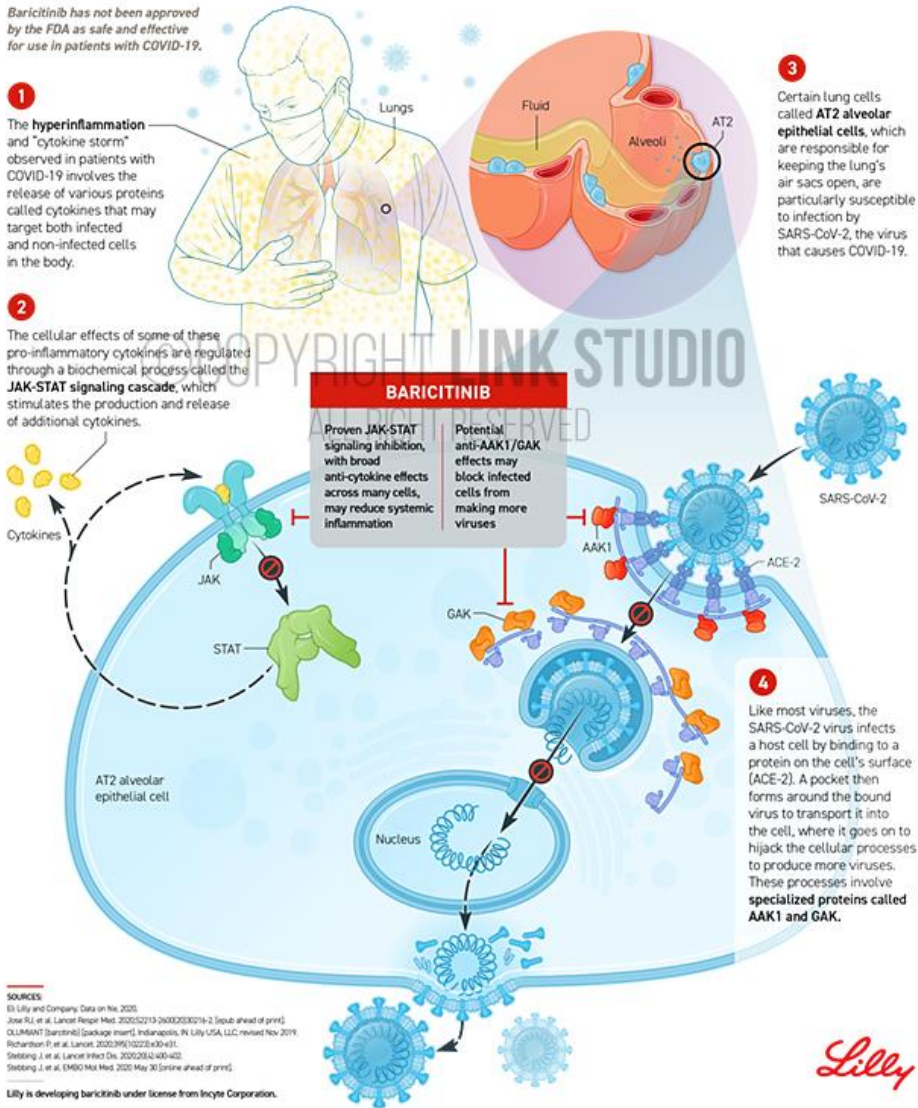


RB1
JAK3: IC₅₀ = 40 nM
JAK1: IC₅₀ > 5000 nM
JAK2: IC₅₀ > 5000 nM

BLOCKING HYPERINFLAMMATION WITH BARICITINIB

In later stages of COVID-19 infection, the patient's (host's) own immune response to the virus becomes a major contributor to inflammatory lung damage. Baricitinib, a drug proven to reduce inflammatory processes in the immune system, is being investigated for the treatment of hospitalized patients with COVID-19 because of its known anti-cytokine effects (1 & 2) and its potential antiviral properties (3 & 4).

Baricitinib has not been approved by the FDA as safe and effective for use in patients with COVID-19.



Baricitinib

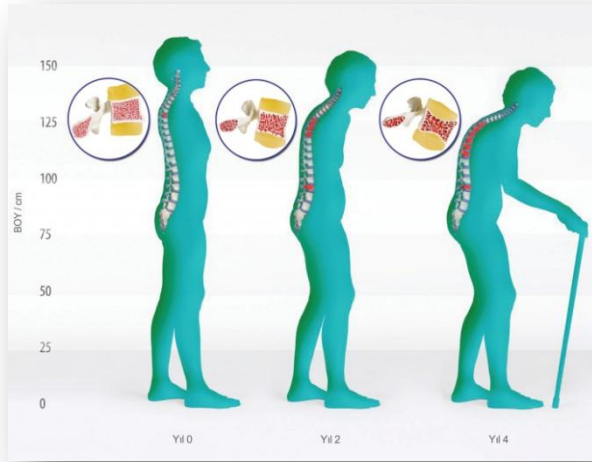


COVID-19 | Blocking Hyperinflammation with Baricitinib

This illustration was produced to accompany the announcement of a federal clinical trial to test the efficacy of Baricitinib on patients with COVID-19. Hyperinflammation and the “cytokine storm” are observed in these patients with COVID-19 and may contribute to patient outcomes. Baricitinib is being researched and tested to determine if its anti-inflammatory effects can be used to treat patients with COVID-19.

Osteoporoz-Sclerostin gen

- Osteoporoz, kemik mineral yoğunluğunun azalması ve kemik dokusunun mikro yapısının bozulması ile karakterize multifaktöriyel bir hastalıktır.
- Kemik mineral yoğunluğunu (KMY) etkileyen bir çok çevresel faktör olmasına rağmen son yıllarda yapılan çalışmalarda genetik yapının osteoporoz patogenezindeki etkisi üzerinde durulmuş ve kemik kütlesi üzerine etkisi olan bir çok aday genin varlığı rapor edilmiştir.



- Erişkin insanda iskeletin boyutunda herhangi bir azalma ya da artış meydana gelmez. Buna rağmen kemik dokusu devamı olarak yıkılır ve yapılır.
- Diğer bir ifade ile kemik rezorbe eden hücrelerin net aktivitesi kemik yapıcı hücrelerin net aktivitesine eşittir.
- Erişkinde bu aktivite başlıca kemiğin yeniden yapılanması (remodelling) yolu ile oluşur.
- Yeniden yapılanmada kemik yıkımını kemik yapımı takip eder.

Bone Formation

- Osteoblasts
 - Bone-forming cells
- Osteocytes
 - Bone cell responsible for the maintenance and turnover of the mineral content of surrounding bone
- Osteoclasts
 - Cell in developing bone concerned especially with the breaking down of unnecessary bone parts

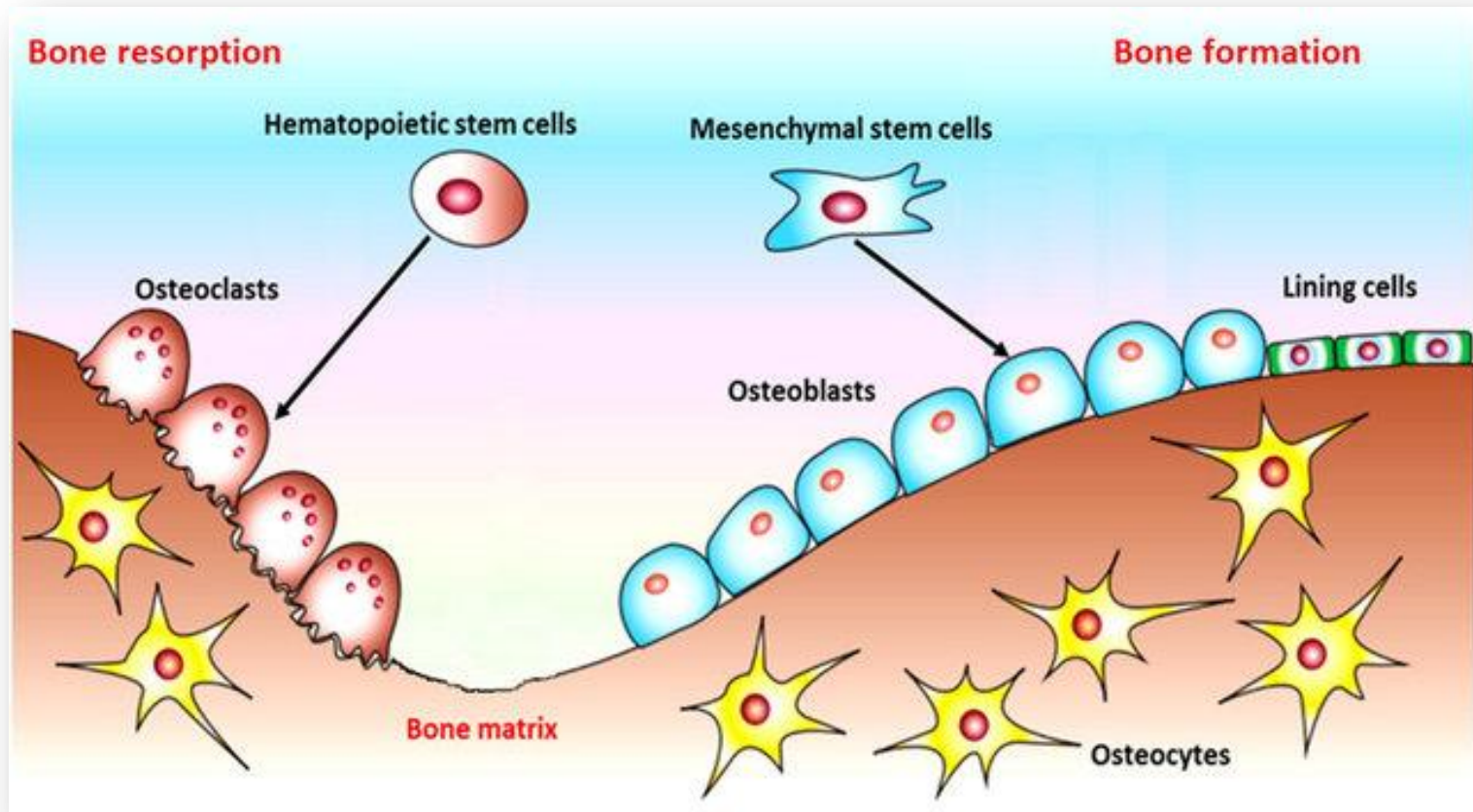
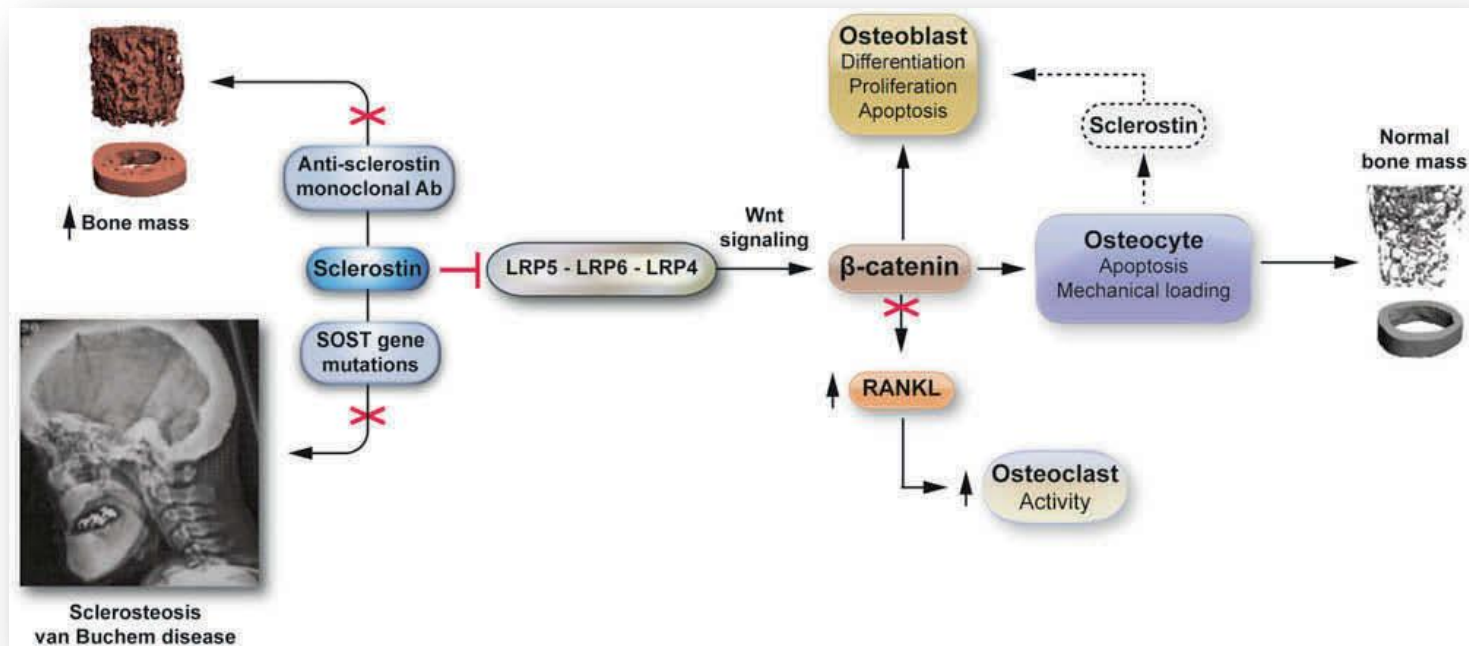
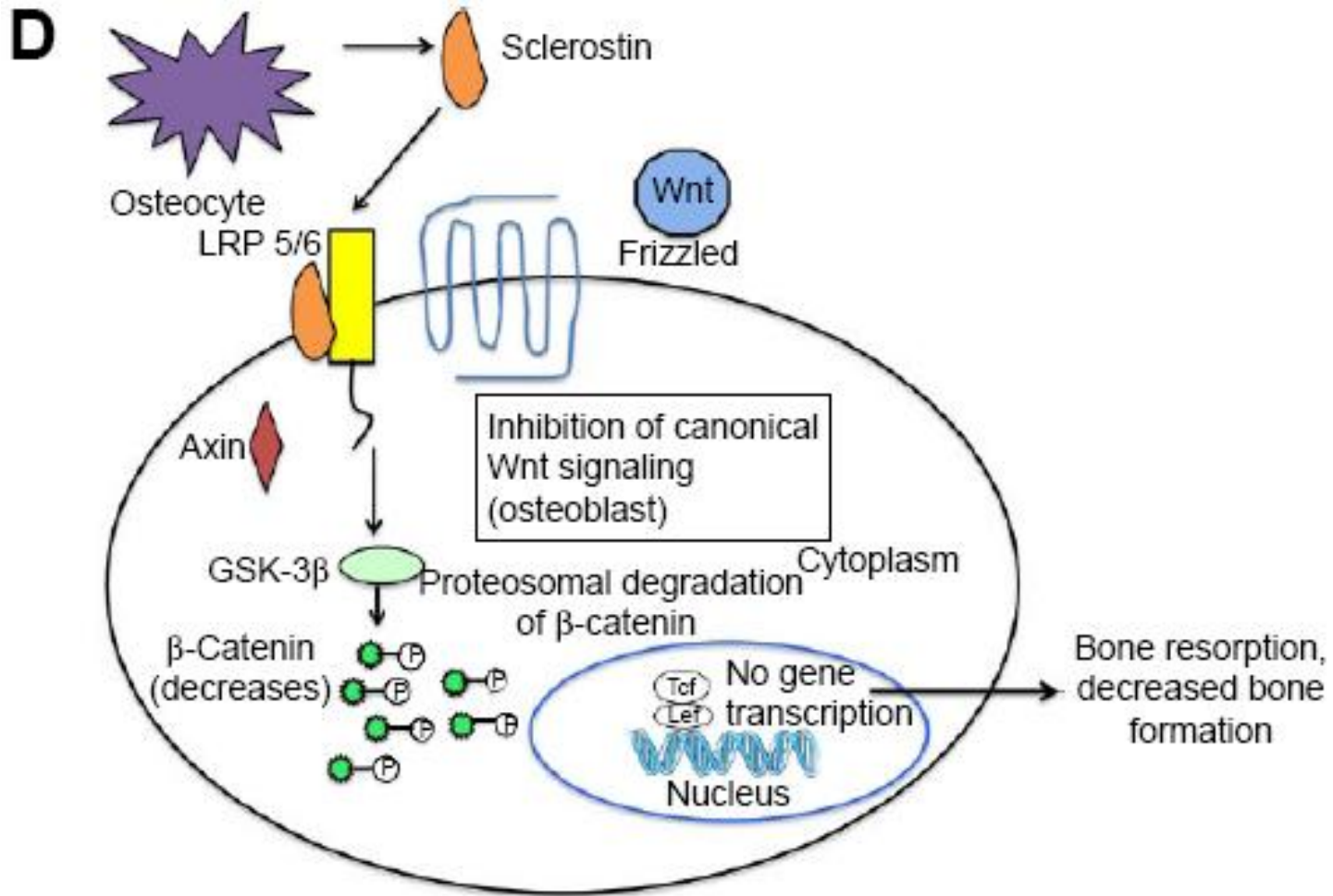


Fig. 1-Bone remodeling: During bone remodeling osteoclasts, derived from hematopoietic stem cells, resorb old and damaged bone. At the completion of bone resorption, osteoblasts recruited to the resorbed area form new bone. Osteoblasts that get trapped in the bone matrix during bone formation become osteocytes.

- Sclerosteosis and Van Buchem disease are two rare skeletal disorders characterized by generalized bone overgrowth.
- Recent advances in molecular genetics have revealed that both of them are caused by functional mutations in the SOST gene, which is localized in the 17q12-21 chromosomal region and codes for sclerostin, a glycoprotein that is solely expressed by osteocytes.
- Sclerostin acts as a negative regulator of bone formation, through inhibition of the Wnt signaling pathway, which is of critical importance for the development and function of osteoblasts.
- Undetectable or very low levels of sclerostin in these patients result in excessive bone growth and increased bone strength.





Osteoporoz-Sclerostin gen



**NOVEL MOLECULAR
TARGETS FOR
TREATMENT
OF OSTEOPOROSIS**



HORMONES 2014, 13(4):476-487

Review

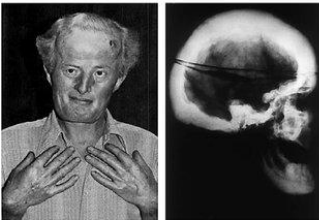
The sclerostin story: From human genetics to the development of novel anabolic treatment for osteoporosis

Maria P. Yavropoulou, Christos Xygonakis, Maria Lolou, Fotini Karadimou, John G. Yovos

Division of Clinical and Molecular Endocrinology, 1st Department of Internal Medicine, AHEPA University Hospital, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Osteoporozla ilişkili genler

Sklerostin Geni (SOST): SOST geni osteositler tarafından üretilen ve kemik oluşumunu inhibe eden sklerostin proteinini kodlamaktadır. SOST genini inaktive edici mutasyonlar yüksek kemik kütlesinin görüldüğü sklerostozis ve ya Buchems hastalıklarına neden olmaktadır.



Tablo 3. Osteoporozda Aday Genler (15,25)

GENİN ADI LOKASYON	SEMBOL	KROMOZOMAL	GENİN ADI LOKASYON	SEMBOL	KROMOZOMAL
Matriks protein molekülleri			Büyüme faktörleri/Sitokinler/Reseptörler		
Osteokalsin	BGLAP	1q25-q31	İnterlökin-1 β Reseptör Antagonist	IL-1RN	2q14,2
A2HS Glycoprotein	AHSG	3q27	İnterlökin-4	IL4	5q31,3
Osteopontin	SPP1	4q21-q25	İnterlökin-6	IL-6	7p21
Osteonektin	SPOCK	5q31,3-q32	Transforming Büyüme Faktör β 1	TGF β 1	19q13,2
Kollajen tip 1 α 1	COL1A1	17q21,3-q22,1	Transforming Büyüme Faktör β 2	TGF β 2	1q41
Kollajen tip 1 α 2	COL1A2	7q22,1	Büyüme Hormonu	GH1	17q22-q24
Matriksle ilişkili enzimler			Büyüme Hormonu Reseptörü	GHR	5p13-p12
Katepsin K	CTSK	1q21	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1	IGF1	12q22-q23
Alkalın fosfataz	ALPL	1p36,1-p34	İnsülin Benzeri Büyüme 1 Faktörü Reseptörü	IGF1R	15q25-q26
Karbonik Anhidraz II	CA2	8q22	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 2	IGF2	11p15,5
Matriks metalloproteinaz 3	MMP3	11q22,3	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Reseptörü 1	IGF2R	6q26
Lizil Oksidaz	LOX	5q23,3-q31,2	IGF- bağlanma proteini 3	IGFBP3	7p14-p12
Lizin hidroksilaz	PLOD	1p36	Tümör Nekrosis Faktör α	TNF	6p21,3
Lizin hidroksilaz 2	PLOD2	3q23-q24	TNF reseptör süperaille/1 β	TNFRG5	1p36,3-p36,2
Lizin hidroksilaz 3	PLOD3	7q36	Kemik Morfogenik Protein 2	BMP2	20p12
Kalsiyotropik (Steroid) Hormon/Reseptör/Enzimleri			Kemik Morfogenik Protein 3	BMP3	4p14-q21
Estrojen Reseptör α	ESR1	6q25,1	Sklerostin	SOST	17q12-q21
Estrojen Reseptör β	ESR2	14q23	Osteoprotegerin	OPG/TNFRSF11B	8q24
Aromataz	CYP19	15q21,2	RANK	RANK/TNFSF11A	18q22,1
Androjen Reseptör	AR	Xq11	RANK ligand/OPG ligand	RANKL/TNFSF11	13q14
Glukokortikoid Reseptör	GR/NR3C1	5q31	Wnt-Sinyal yolağında		
Vitamin D reseptör	VDR	12q13	Düşük yoğunluklu lipoprotein reseptör-ilişkili protein 5	LRP5	11q12
Vitamin D bağlanma proteini	DPB/GC	19q13,3	Homosistein yolağı		
B3-adrenerjik Reseptör	ADRB3	8p12-p11,2	Metilen Tetra Hidro Folat Reduktaz	MTHFR	1p36,3
Peroxisom proliferatör aktive reseptör γ	PPARG	3p25	Sistathionin beta-sentaz	CBS	21q22,3
Kalsiyum duyarlı Reseptör	CASR	3q21-q24	Metil sentetaz reduktaz	MTRR	5p15,3-p15,2
Kalsitonin Reseptör	CALCR	7q21,3	Metilentetrahidrofolat homosistein s-metiltransferaz	MTR	1q43
Paratiroid Hormon	PTH	11p15,3-p15,1	Timidilat sentetaz	TYMS	18p11,32
PTH reseptör	PTH1R	3p22-p21,1	Diğer Genler		
Epidermal Büyüme Faktörü	EGF	4q25	Majör Histocompatibility kompleks	MHC/HLA	6p21,3
Gonadotropin salıcı hormon 1	GNRH1	8p21-p11,2	Apolipoprotein E	APOE	19q13,2
Gonadotropin salıcı hormon	GNRHR	4q21,2	Rho guanin nükleotid değişim faktör (Gef) 3	ARHGGEF	3p14-p21
Luteinleştirici hormon beta peptid	LHB	19q13.32	Albumin promotörü D bölgesi bağlanma proteini	DBP	19q13,3
LH-kroireseptör gonadotropin	LHCGR	2p21	Flamin B β	FLNB	13p14,3
			İntegrin alfa1	ITGA	5q11,2
			Ras homolog gen ailesi, üye A	RHOA	3p21,3
			Sklerosteosis	SOST	17q11,2

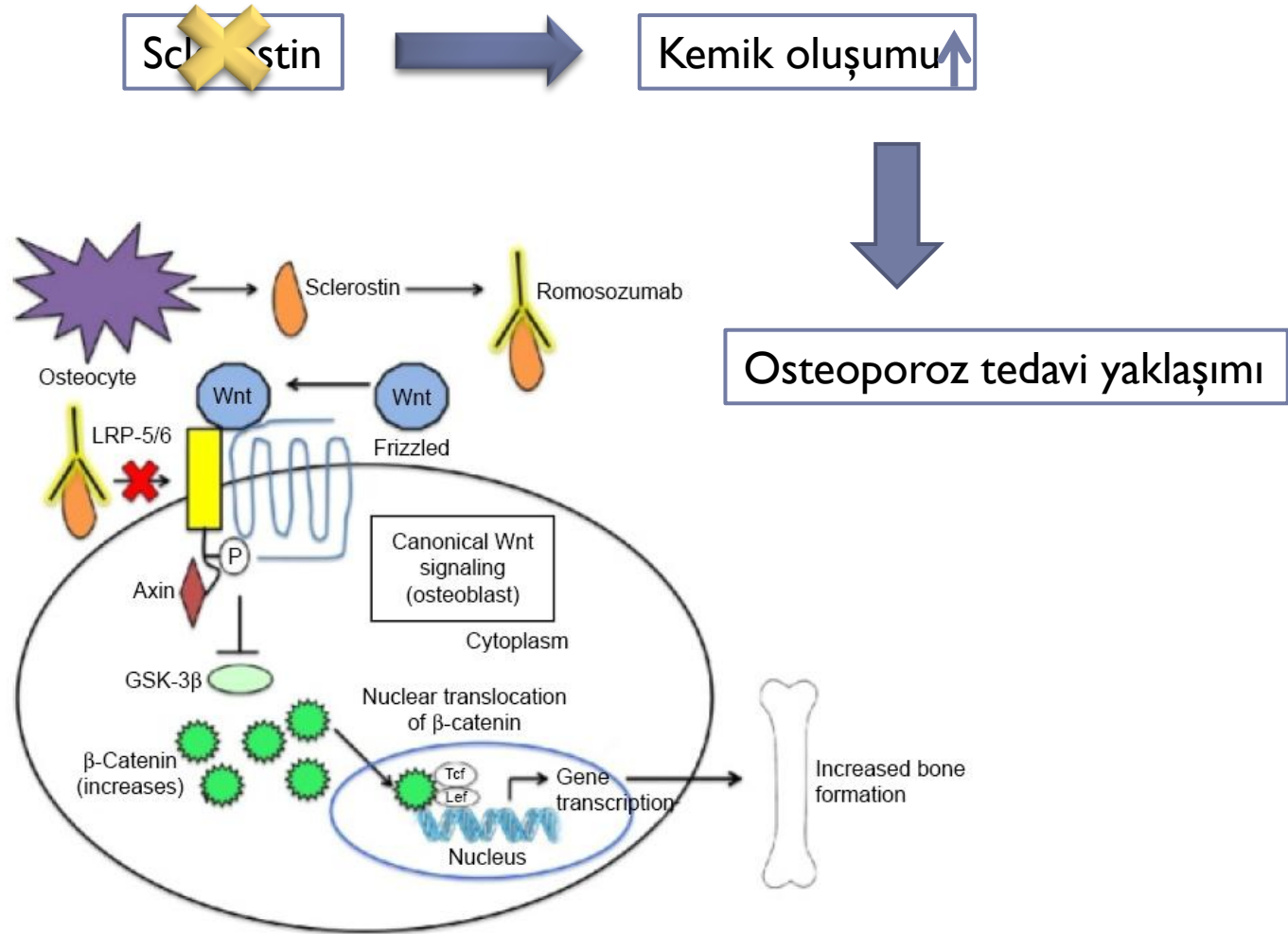


Figure 2 Mechanism of action of romosozumab.

Notes: Romosozumab is a human monoclonal antibody that binds sclerostin (an inhibitor of Wnt pathway signaling). When this monoclonal antibody binds to sclerostin, sclerostin cannot bind to the LRP-5 and LRP-6 receptors and is unable to exert its inhibitory effect. Wnt binds to LRP-5 or LRP-6 coreceptors and specific Frizzled family receptor, leading to activation of the Wnt signaling pathway and bone formation. Copyright ©2015. Dove Medical Press. Shah AD, Shoback D, Lewiecki EM. Sclerostin inhibition: a novel therapeutic approach in the treatment of osteoporosis. *Int J Womens Health*. 2015;7:565–580.⁷

Abbreviation: LRP, LDL-receptor-related protein.

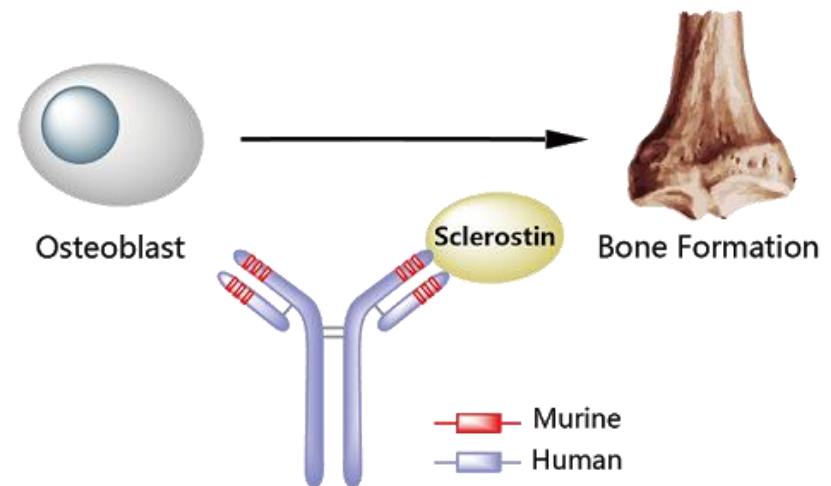
Romosozumab



Romosozumab was approved for medical use in Japan, the United States and the European Union in 2019

KEY POINTS

- Romosozumab is a monoclonal antibody against sclerostin that works by increasing production of bone matrix and reducing bone resorption
- It is licensed for the treatment of severe osteoporosis in postmenopausal women at high risk of fracture
- It is contraindicated in patients with previous myocardial infarction or stroke
- Treatment is given over a 12-month period at a dose of 210mg per month (given as two subcutaneous injections of 105mg each)
- In clinical trials, romosozumab significantly reduced the incidence of new vertebral fractures compared with placebo after 12 months' treatment and, after switching to denosumab, at 24 months
- Romosozumab also significantly reduced the incidence of new vertebral fractures after a year's treatment followed by a switch to alendronate for a year, compared with continuous alendronate for 24 months
- The frequency of adverse events reported with romosozumab in two large phase 3 trials was similar to that with placebo and alendronate
- A one-year course of treatment with romosozumab costs £5133



Kistik fibrosis ve CFTR geni

- Kistik fibrosis batı toplumlarında en sık rastlanılan, otozomal resessif kalıtılan tek gen hastalığıdır.
- Ağır semptomları olan olgular erken yaşlarda kaybedilir.



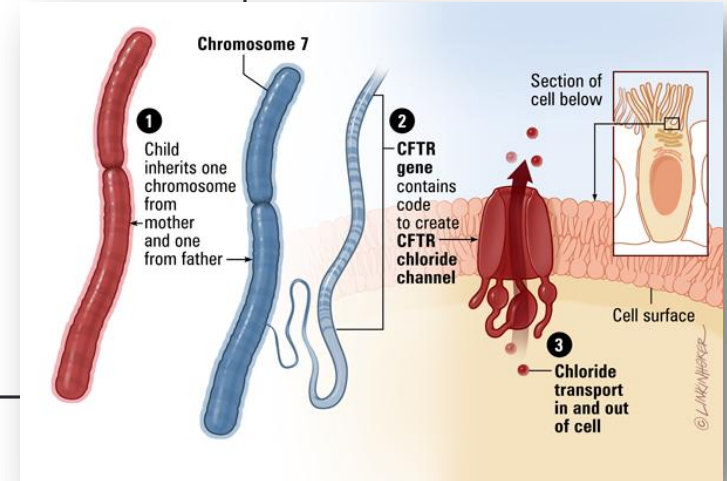
- kronik akciğer hastalığı,
- pankreas yetmezliği,
- intestinal obstrüksiyon,
- erkeklerde infertilite
- terde klor miktarında artış ile karakterize olan kalıtsal bir hastalıktır.

KİSTİK FİBROZ - Tarihçe

- 7. Yüzyıl: “Öpüldüğünde alnında tuz tadı olan çocuk çok geçmeden ölür” (İsviçre’den Almanca bir çocuk oyun şarkısı)
- 1938 - CF de pankreas tutulumu Dr. Dorothy Andersen (patalog)
- 1943 - Mukovisidozis Dr. Sydney Farber (patalog)
- 1948 - Hyponatremic dehydration – CF
- 1953 - Terde Cl artışının tanı testi olması Dr. Paul di Sant’Agnese

KİSTİK FİBROZ - Tarihçe

- 1980 - Tedavi ile yaşam süresinin uzaması
 - Pankretik enzimler
 - Vitamin desteği, semptomatik tedavi
- 1989 – CFTR geninin klonlanması ve 7. kromozomda olduğunun belirlenmesi, Delta F508 in tanımlanması
 - Reverse genetik
- 2015 – 1950 'den fazla mutasyonun tanımlanması



Kistik fibrosis ve CFTR geni

Kistik fibroz hastalığından sorumlu gen

- CFTR geni
- (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)

CFTR geni

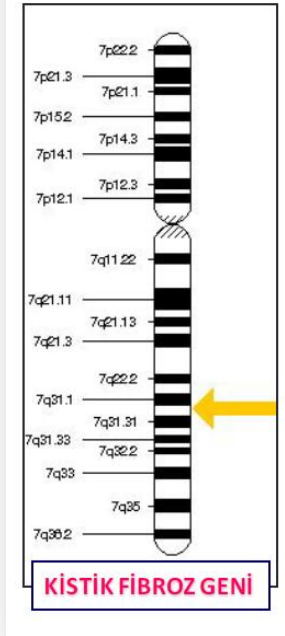
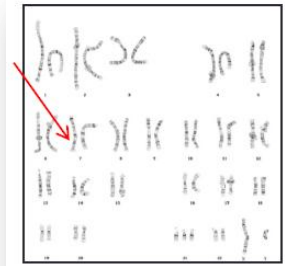
- 1988 yılında klonlanmıştır.
- 2015 yılına kadar gen içinde 2000 den fazla mutasyon tarif edilmiştir.

CFTR geni

- 7. Kromozomda bulunur.
- CFTR proteinini kodlar.

CFTR proteini

- Hücre memebbranında bulunan bir kanaldır.
- Klor ve sodyum bikarbonat gibi moleküllerin geçişini düzenler.

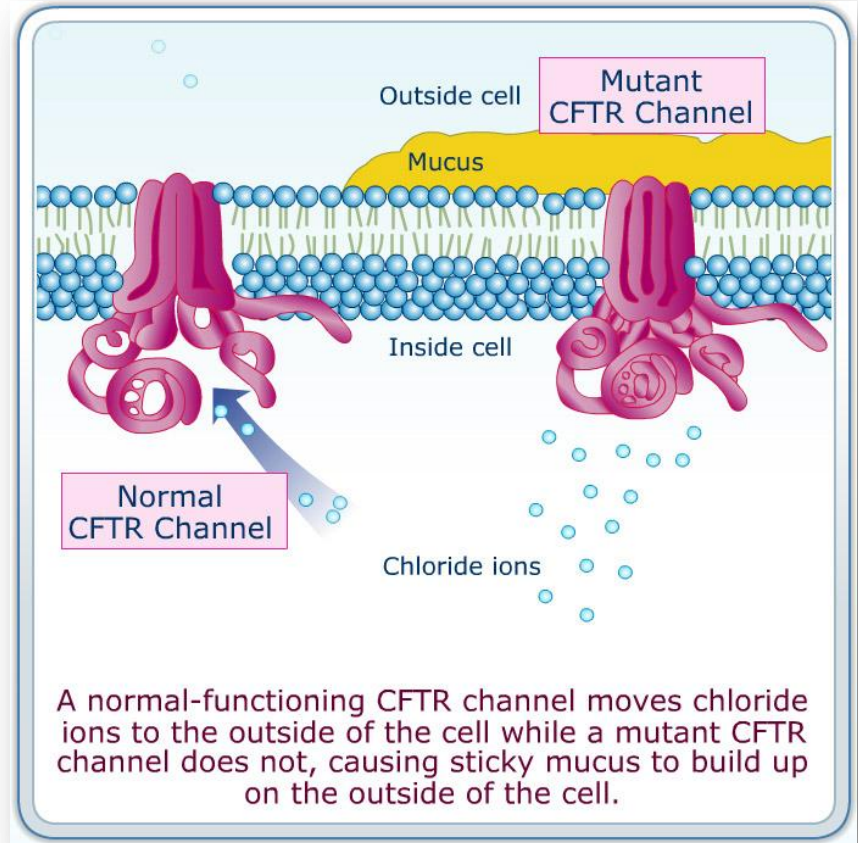


Kistik fibrosis ve CFTR geni

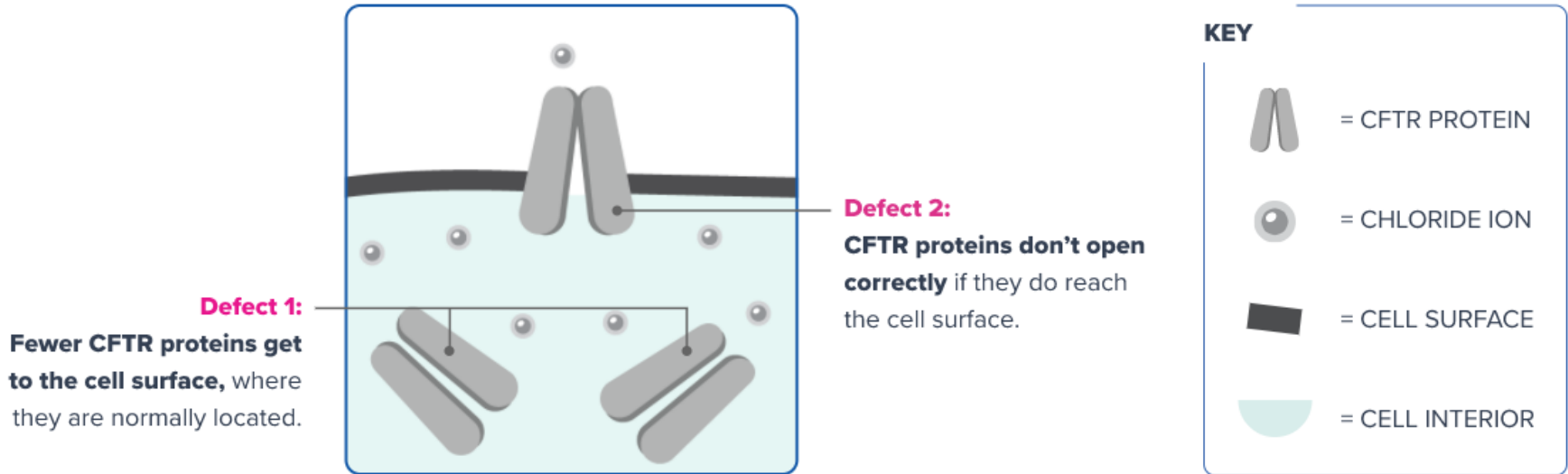
CFTR gen mutasyonu



CFTR proteini hatalı sentezlenerek, klor iyonlarının epitelyum hücrelerinden yanlış taşınmasına, bunun sonucunda da vücut sıvılarının viskozitelerinin artmasına, salgı bezlerinin kanallarında tıkanıklıklara neden olur.




CF gene mutations cause one or both defects illustrated below:



Defect 1:
Fewer **CFTR proteins** get to the cell surface, where they are normally located.

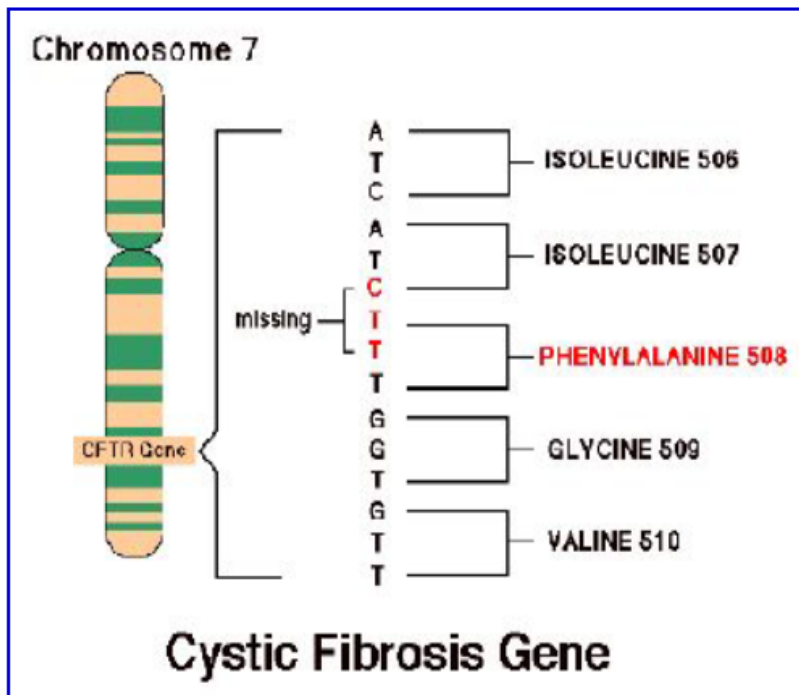
Defect 2:
CFTR proteins don't open correctly if they do reach the cell surface.

KEY

-  = CFTR PROTEIN
-  = CHLORIDE ION
-  = CELL SURFACE
-  = CELL INTERIOR

Because of these defects, chloride ions cannot move into or out of the cells like they should. This can cause thick, sticky mucus to build up in organs, such as the lungs.

Kistik fibrozis geninde en sık rastlanılan mutasyon → Delta F508 → **F508del**



CFTR Sequence:

Nucleotide	ATC	AT	C T T	T	GGT	GTT
Amino Acid	Ile	Ile	Phe		Gly	Val
	506		508			510

Deleted in Δ F508

Δ F508 CFTR Sequence:

Nucleotide	ATC	ATT	GGT	GTT
Amino Acid	Ile	Ile	Gly	Val
	506			

Delta F508 mutasyonu sıklığı etnik gruplara göre değişir

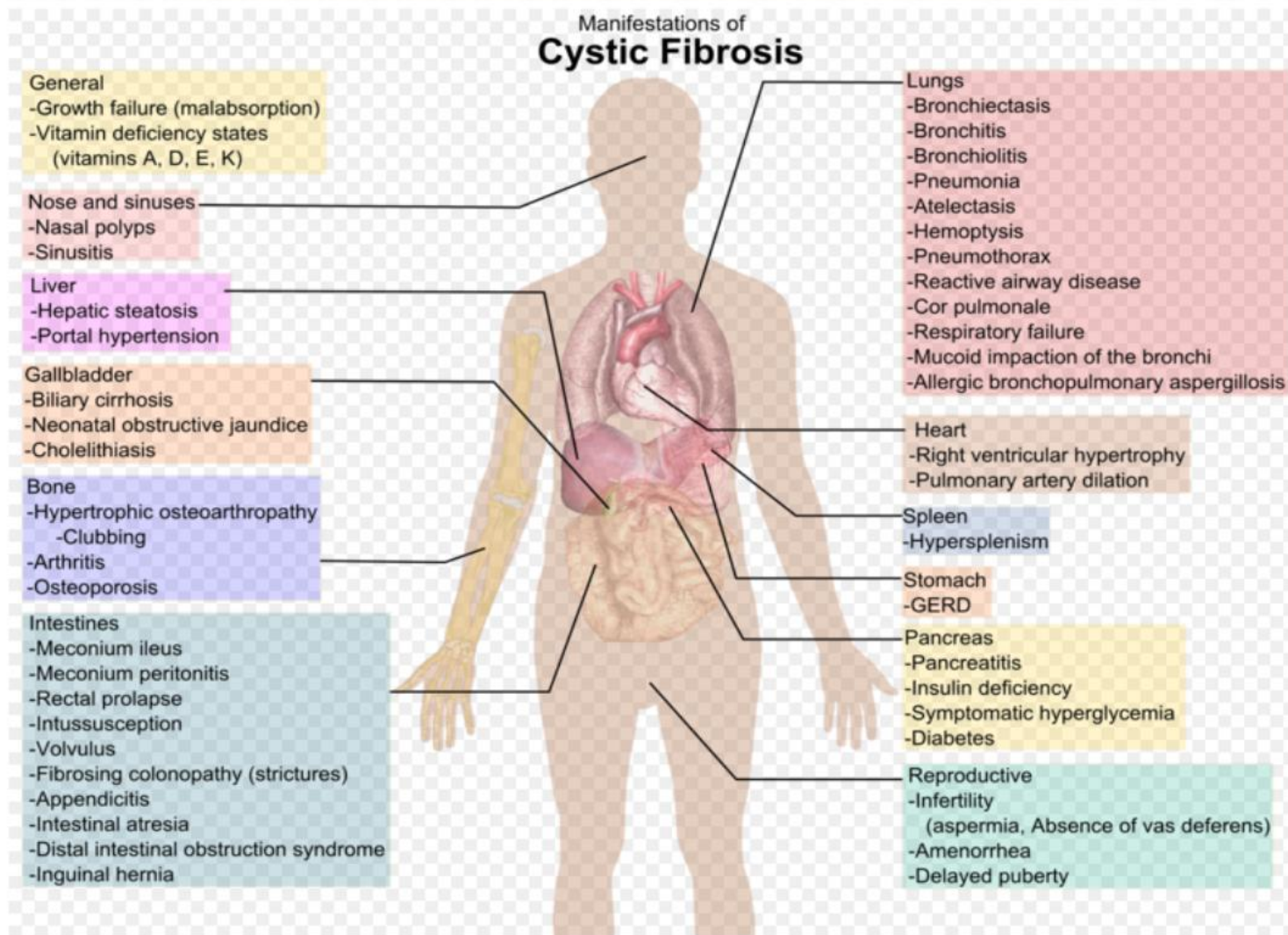
Etnik grup

Delta F508
%

Diğer sık rastlanılan
mutasyonlar
%

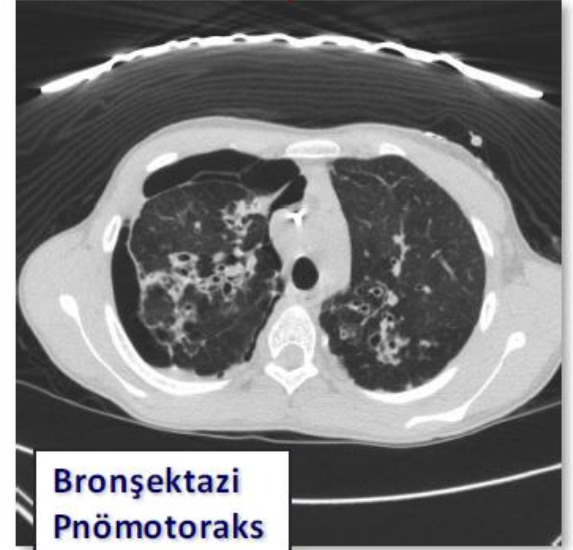
• Beyaz ırk	70	13
• Musevilerde	30	67
• İspanyol kökenli	46	11
• Afrika kökenli Amerikalı	48	4
• Asya kökenlilerde	30	?
• TÜRKLER	18-30	?

Kistik Fibrozda Tutulan Organlar



KİSTİK FİBROZİSTE EN SIK SEMPTOMLAR

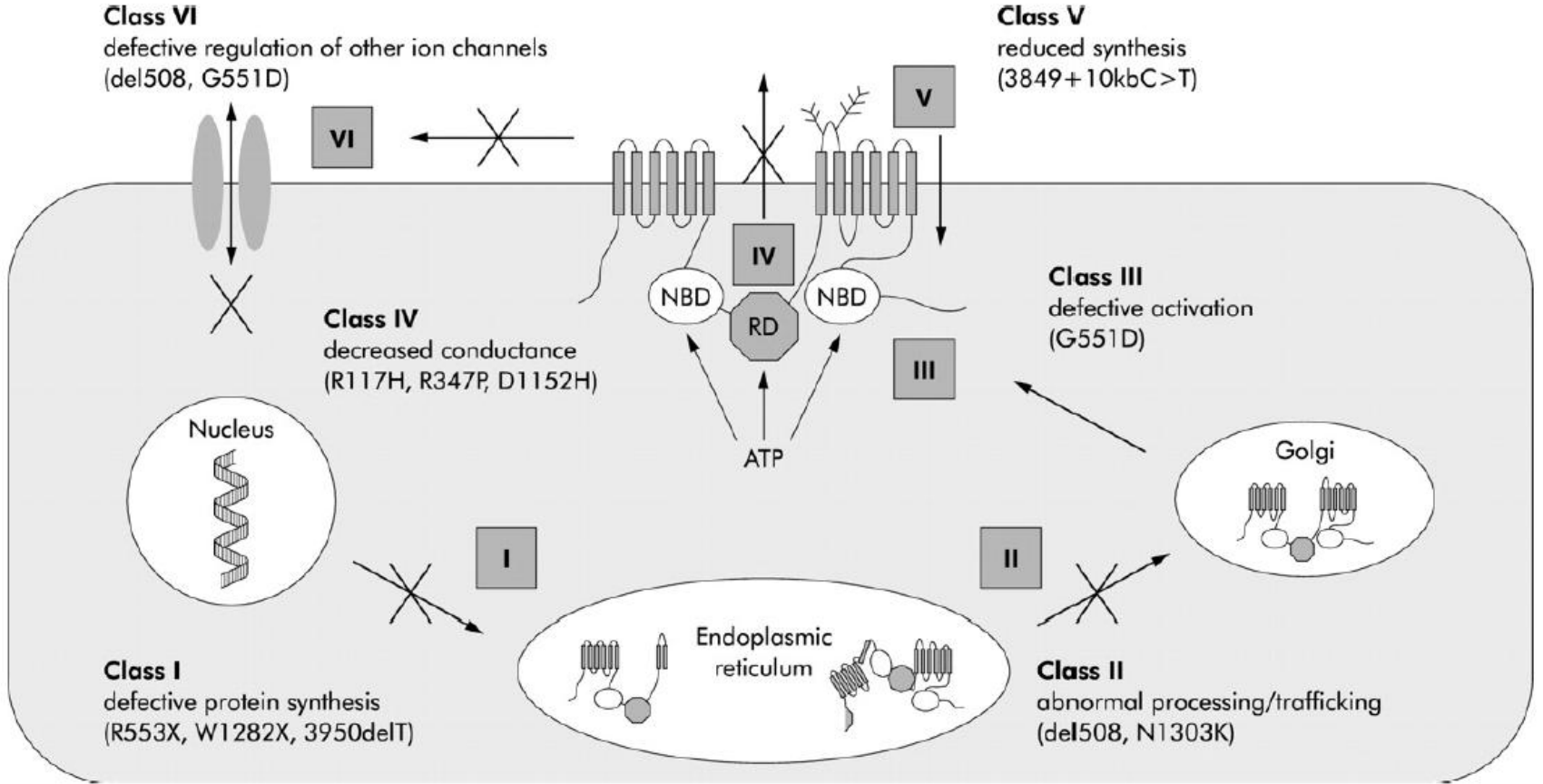
- *öksürük/hışıltı
- * infeksiyonlar/ pnömoni
- * nazal polipler
- * GİS problemleri
- * büyüme geriliği
- * tuzlu cilt
- * infertilite



Bronşektazi
Pnömotoraks
Müküs tıkaçı

**Semptomların çeşidi ve ağırlığı
kişiden kişiye değişir.**

CFTR yapısı ve fonksiyonuna göre mutasyonların sınıflaması



CFTR proteininde meydana getirdikleri fonksiyon bozukluğuna göre mutasyonlar sınıflara ayrılır

- **Sınıf I** : Protein sentezi yok. Nonsens, frameshift, veya splicing mutasyonlar
- **Sınıf II** : Proteinin işlenmesinde, yanlış katlanmadan dolayı,bozukluk. Missens mutasyonlar, amino asit delesyonları
- **Sınıf III**: Klor kanalı düzenlenmesinde blok yapanlar. Missens mutasyonlar (ATP bağlayıcı bölgelerde)
- **Sınıf IV**: Klor iletimini değiştirenler. Missens mutasyonlar (Membran yapıcı bölgede)
- **Sınıf V** : Fonksiyonel protein sentezini azaltanlar. Nonsens, frameshift, veya splicing mutasyonlar
- **Sınıf VI** : Proteinin yarılanma ömrünü kısaltanlar. Diğer iyon kanallarındaki defektif durum kaynaklı

CFTR Mutasyon Sınıflarına Göre Klinik Bulgular

Sınıf IV mutasyonlarında pankreatik yetmezlik, diyabet ve karaciğer hastalığı görülmemekte, akciğer bulguları hafif

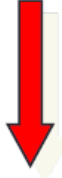
Sınıf V mutasyonlarında da akciğer bulguları hafif olmaktadır.

Her iki sınıftan mutasyonlarda *P. aeruginosa* kolonizasyonu geç görülmektedir.



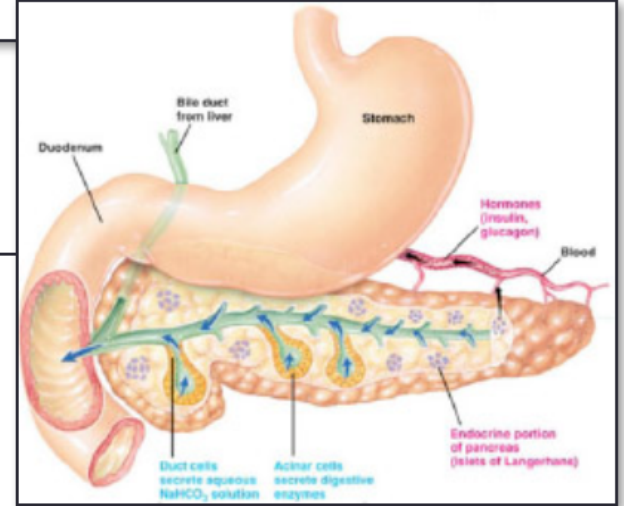
European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis (ERCF): Comparison of major disease manifestations between patients with different classes of mutations
Pediatr Pulmonol. 2001; 31:1-12.

**Klasik KF hastalarının %85inde
pankreatik yetmezlik vardır**



**ağır klinik tablo yapan
mutasyonlar (sınıf I, II, III)
homozigot veya bileşik heterozigot olarak
bulunur**

**Delta F508/ Delta F508
Delta F508/ N1303K**



Kistik Fibrozda Tedavi

- Havayolunu temizleme (fizik tedavi, bronkodilatatör, pulmozyme, kortikosteroid, vs)
- Enfeksiyonları önleme ve tedavi (antibiyotikler vs)
- Antinflamatuvarlar
- Pankreas enzimleri
- İyi beslenme
- Transplantasyon
- Gen Tedavisi
- Mutasyon hedefli tedavi



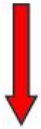
Ramsey BW, et al., 2011 McKone EF, et al. 2011, Pettit RS 2012, Hanrahan JW, et al. 2012

Kistik Fibrozda Tedavisinde Hedef



**CFTR
fonksiyonunu
%25 e
çıkarmak**

3 çeşit mutasyon hedefli tedavi var



**Fonksiyon
arttırıcılar
(Potentiators)**



**Onarıcılar
(Correctors)**



**mRNA erken stop
kodonları düzelterek
okuma
(Read Through
mRNA Premature
Stop Codons)**

Kistik fibrosis ve tedavisi

Kistik fibroziste mutasyon sınıfına göre uygulanan tedavi ajanları geliştirilmiştir. Mutasyona özgün tedavi, mutasyonun oluşturduğu bozukluğa göre 3 ayrı tipte küçük moleküllü ajanla yapılmaktadır.

- Fonksiyon. arttırıcılar

Ivacaftor

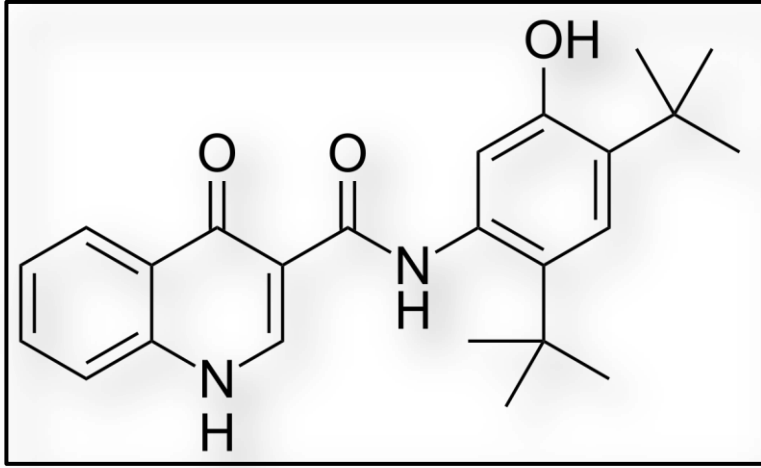
- Onarıcılar

Lumacaftor

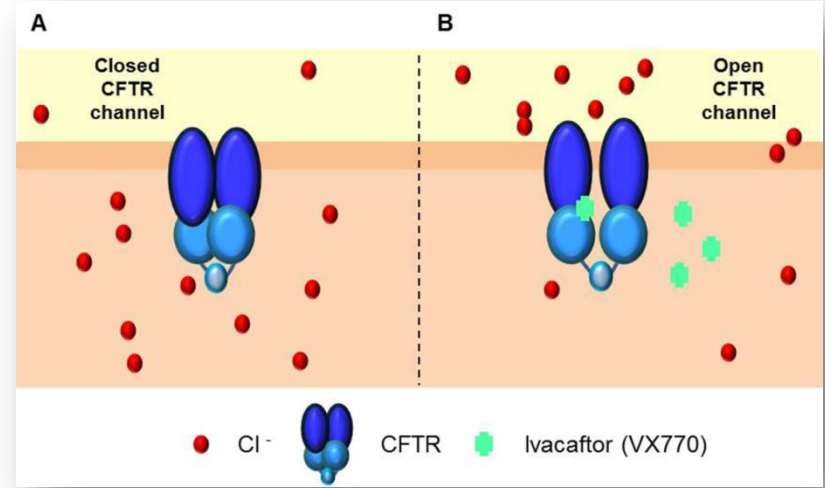
- mRNA da erken stop kodonları düzelterek okumayı sağlayan ajanlardır

Ataluren

Kistik fibrosis ve tedavisi



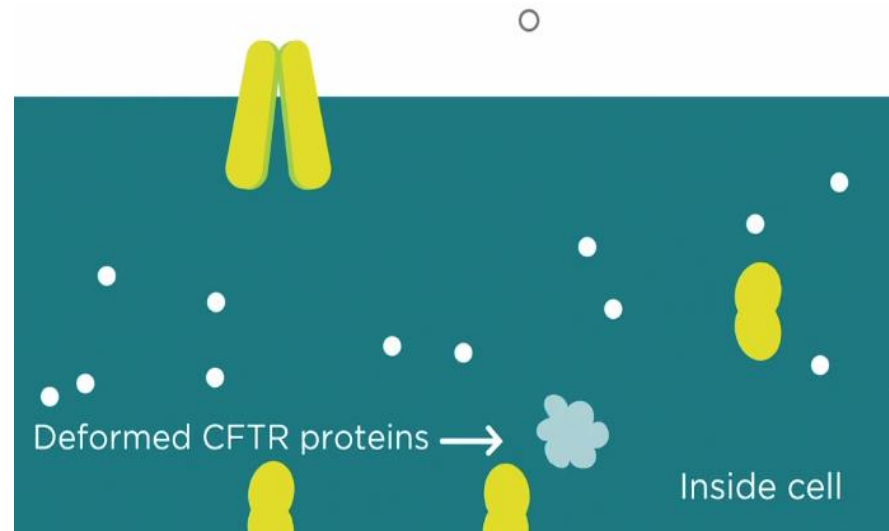
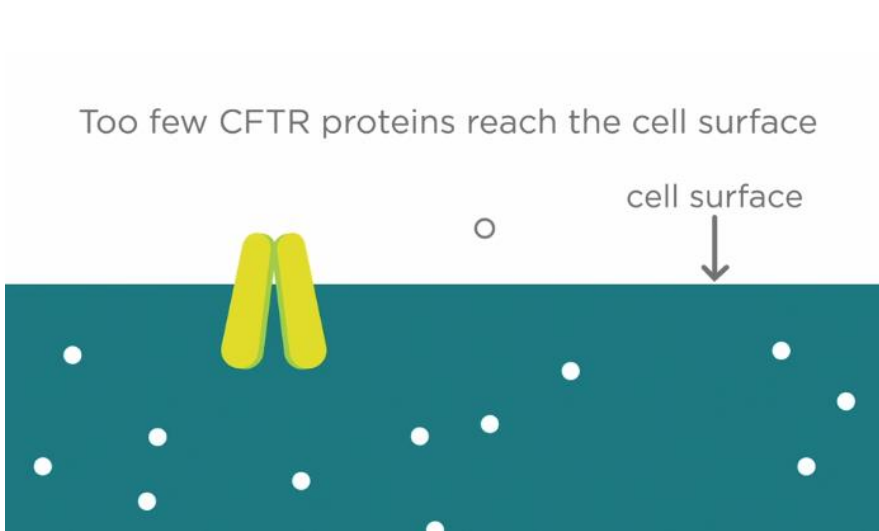
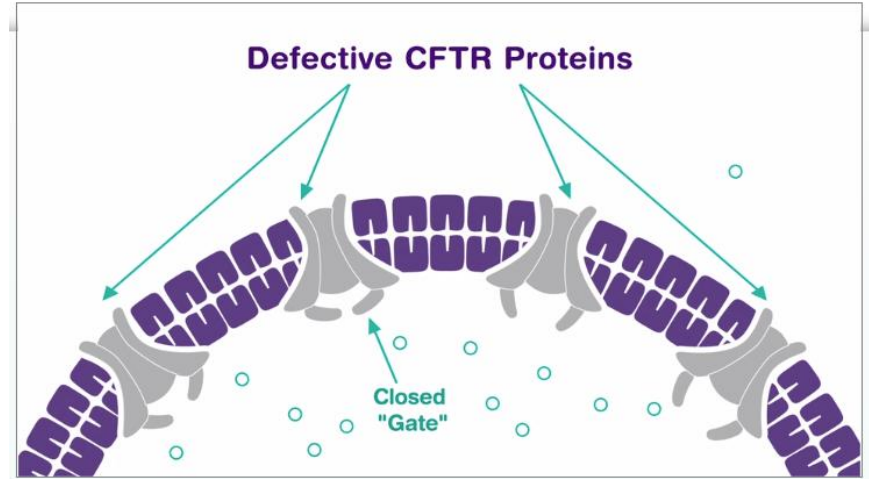
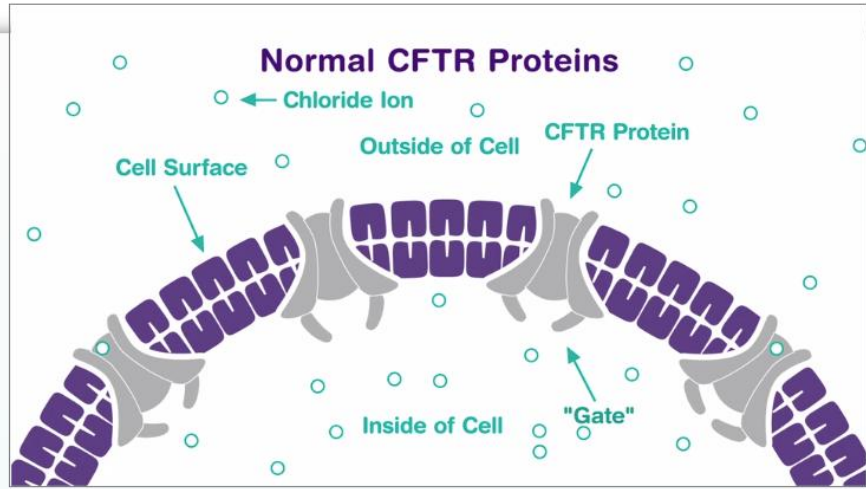
Ivacaftor-Fonksiyon artırıcı



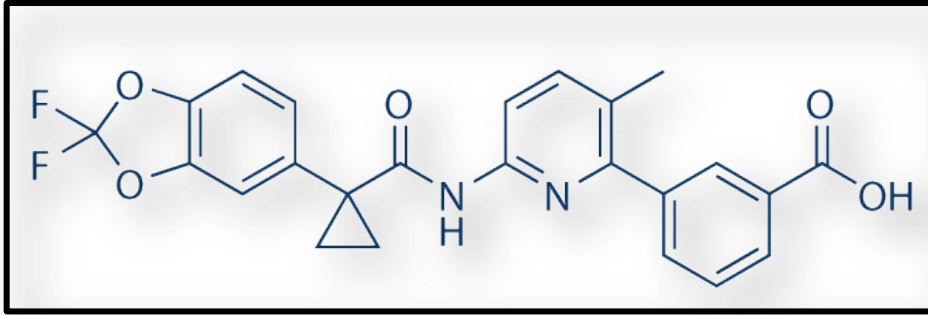
Membranda var olan ancak kapalı veya dar olan Cl kanalının aktivitesini arttırırlar.

FDA onaylı **ivacaftor (VX-770)** tarih: 2/2012

- 6 yaşın üstünde ve G551D mutasyonu taşıyanlarda
- Sınıf III ve IV mutasyonları için uygun, Delta F508 de denenmekte (faz III çalışmaları)
- Pulmoner fonksiyonlarda düzelme, kiloda artma, ter klorunda ve pulmoner ataklarda azalma saptanmıştır.



Kistik fibrosis ve tedavisi



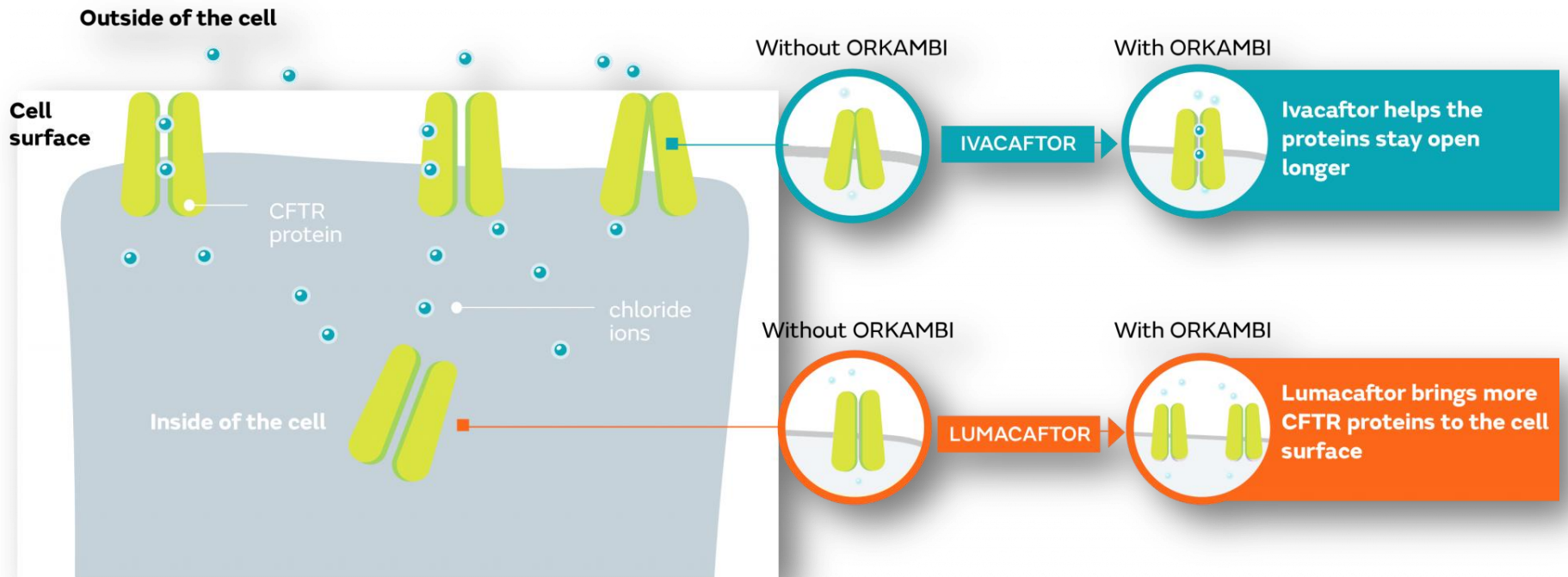
CFTR proteininin kanal oluşturmak üzere hücre yüzeyine göçünü sağlar.

Lumacaftor-Onarıcı

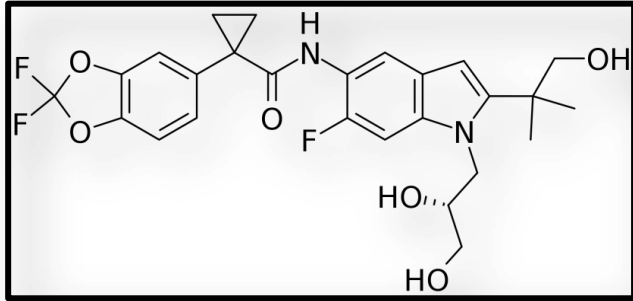
Bu gruptan lumacaftor (VX-809) ile ilgili çalışmalar, özellikle Ivacaftor ile kombine kullanımı ile Delta F-508 mutasyonu taşıyanlarda uygun olabileceğini göstermiştir.

Amerika Birleşik Devletlerinde 12 yaş üstünde homozigot DF508 taşıyan hastalarda Lumacaftor + Ivacaftor (Orkambi) kullanımı 2015'de FDA tarafından onaylanmıştır.

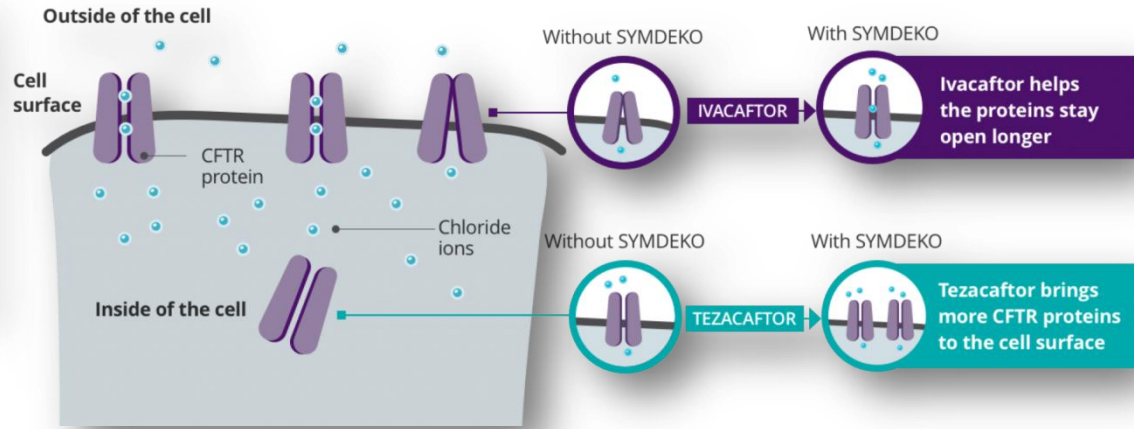
Tek başına kullanımı yoktur.



Kistik fibrosis ve tedavisi



Tezacaftor-Onarıcı

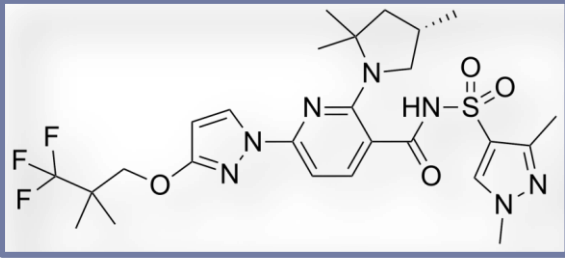


CFTR proteininin kanal oluşturmak üzere hücre yüzeyine göçünü sağlar.

2018 yılında FDA onayı almıştır.

Ivacaftor ve tezacaftor kombine halde (Symdeko) kullanılmaktadır.
6 yaş ve üzerindeki hastalarda kullanılır.

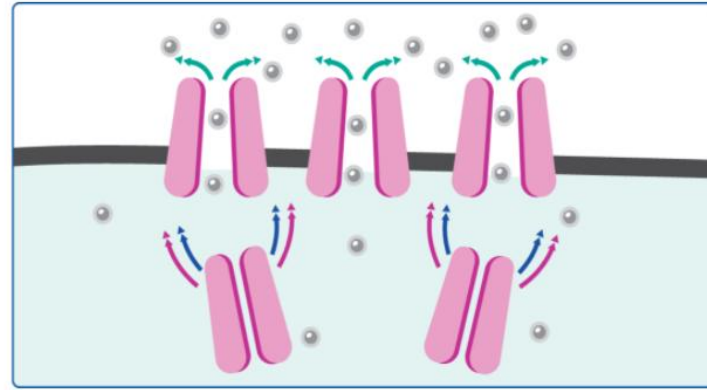
Kistik fibrosis ve tedavisi



Elexacaftor-onarıcı

TRIKAFTA adds **elexacaftor** to **tezacaftor** and **ivacaftor** to target CFTR protein defects caused by the F508del mutation or another mutation responsive to TRIKAFTA.

By binding to different places on CFTR proteins, **ELEXACAFTOR** and **TEZACAFTOR** work together to help more proteins reach the cell surface.

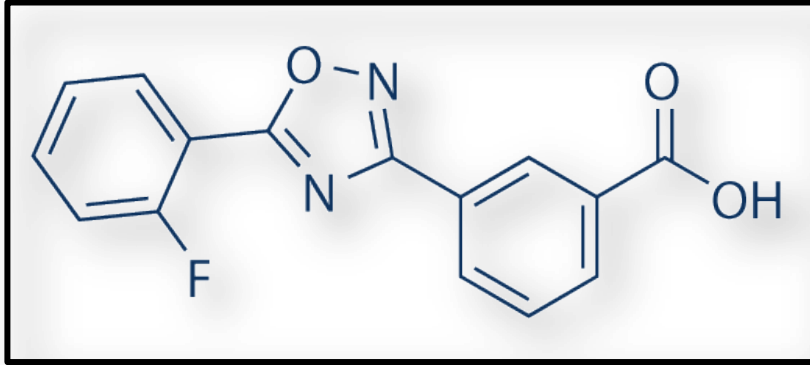


IVACAFTOR helps CFTR proteins stay open longer at the cell surface.

Together, the 3 components help responsive CFTR proteins function better.

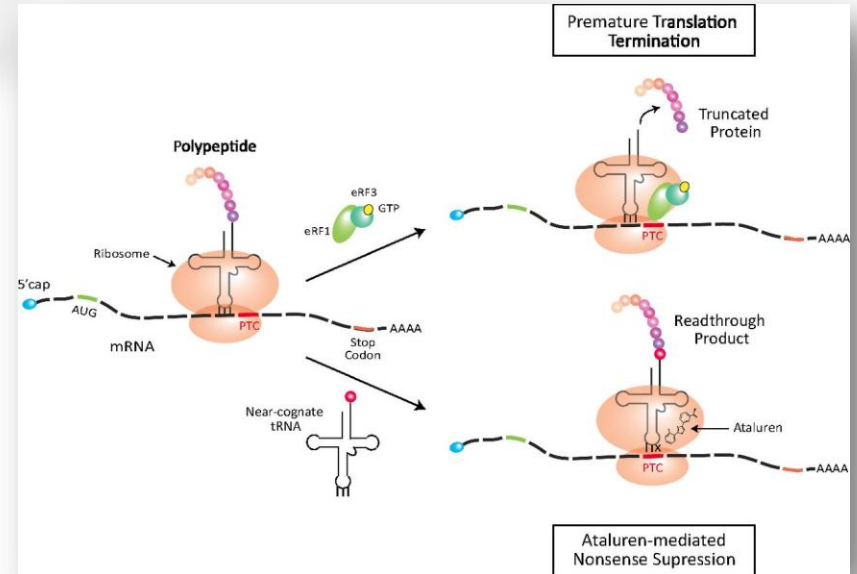
Ivacaftor ve tezacaftor ile [elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor](#) kombine kullanımı (brand name *Trikafta*), 2019 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. F508del mutasyonlu kistik fibrozisli hastalarda kullanılmaktadır.

Kistik fibrosis ve tedavisi



Stop kodon oluşturan mutasyonlarda (sınıf I) ribozomlarda stop kodonun sentezi durdurmasını önleyerek fonksiyonel protein üretimini sağlar.

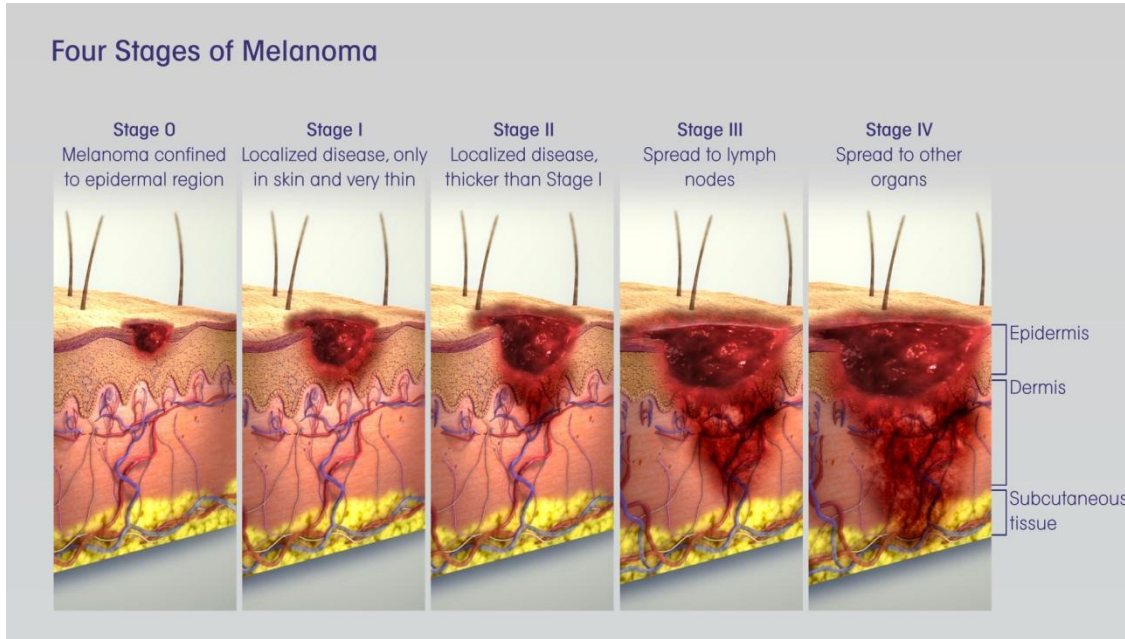
Ataluren- mRNA Erken Stop Kodonları Düzelterek Okuma



Geliştirilen bu yeni, kişiye özgün, tedavi ajanlarıyla kistik fibrozisli yeni doğan bir hastanın yaşam süresinin ortalama 50 yıl alacağı öngörülmektedir.

Melanoma ve BRAF geni

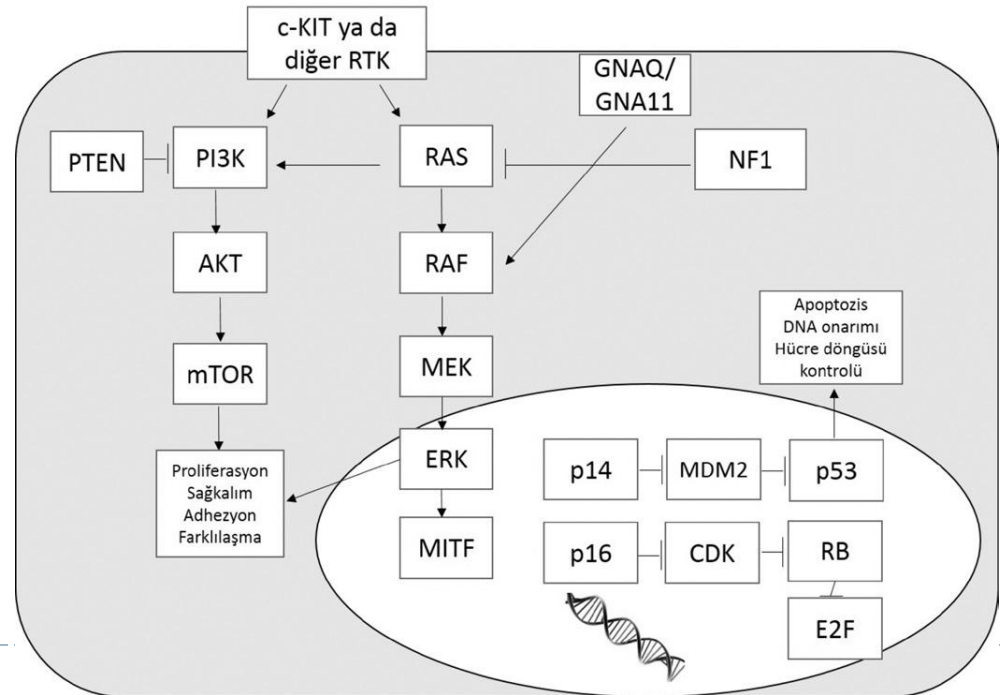
Melanomalar, pigment oluşturan hücrelerin (melanositler) malign transformasyonundan oluşurlar ve en agresif ve tedaviye dirençli insan kanserlerinden biridir.



Melanoma ve BRAF geni

Diğer kanser türlerinde olduğu gibi, melanomlar da çeşitli protoonkogenlere ek fonksiyon kazandıran mutasyonlar ya da tümör baskılayıcı genlerin işlev kaybetmesine neden olan değişimler nedeniyle gelişir.

Melanomagenezde Şekil 1'de gösterildiği gibi NRAS, BRAF, KIT gibi onkogenlerinin aktivasyonları, CDKN2A, PTEN ve p53 gibi tümör baskılayıcı genlerinin inaktivasyonlarının yanı sıra, epigenetik değişimler de (tümör baskılayıcı genlerin hipermetilasyonu ya da onkogenlerin hipometilasyonu) etkili olabilmektedir.

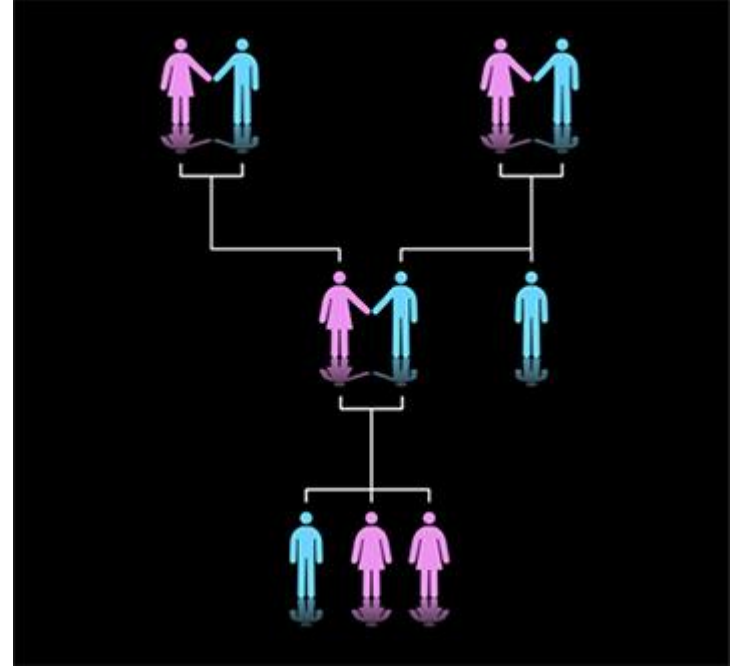


Melanoma ve BRAF geni

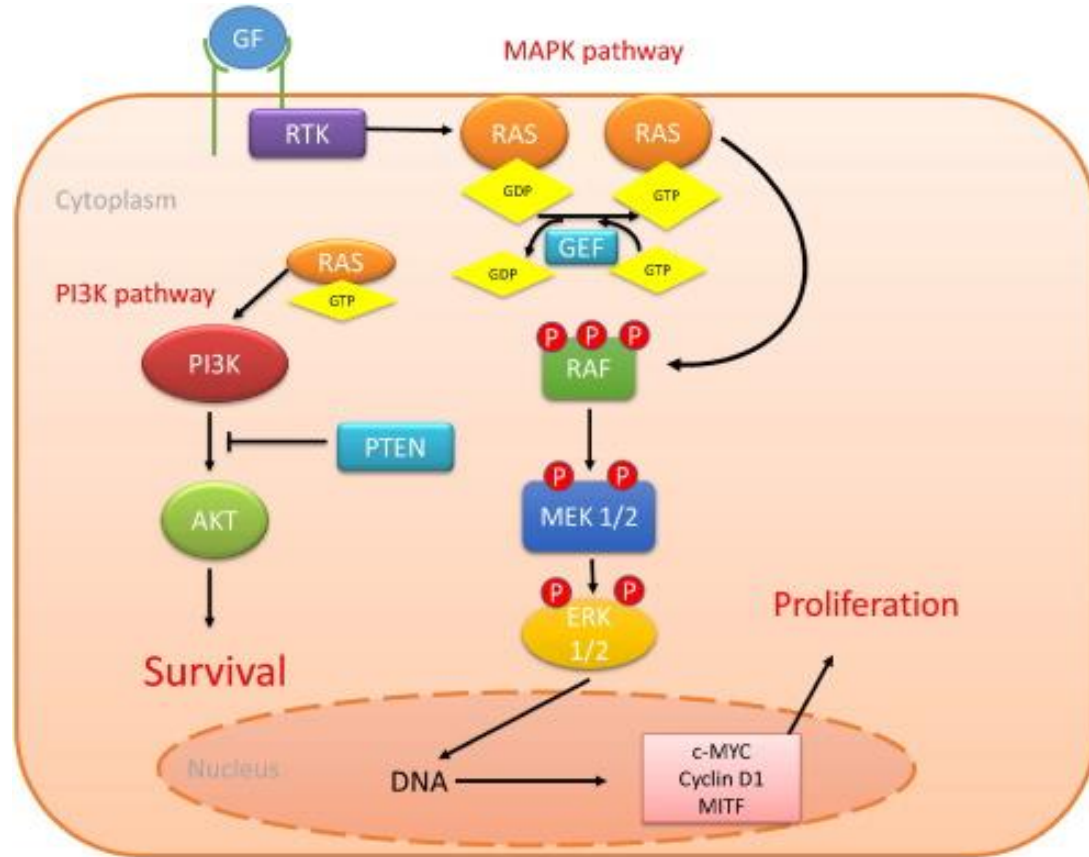
Malign melanomu ailesel geçiş gösteren ve göstermeyen olarak sınıflandırdığımızda, yaklaşık %10 kadarının kalıtsal olduğu ortaya çıkmaktadır.

Genom analiz çalışmaları ile hangi kromozom ve gen bozukluklarının melanoma neden olduğunu ve bu hatalara sahip bireylerin melanoma yakalanma riskleri öngörebilmektedir.

Aile çalışmalarında bağlantı analizi sonuçlarına göre, 1p36 (7) ve 9p21 (8) bölgelerindeki genetik değişimler melanoma kalıtsallığı ile ilişkilendirilmiştir.

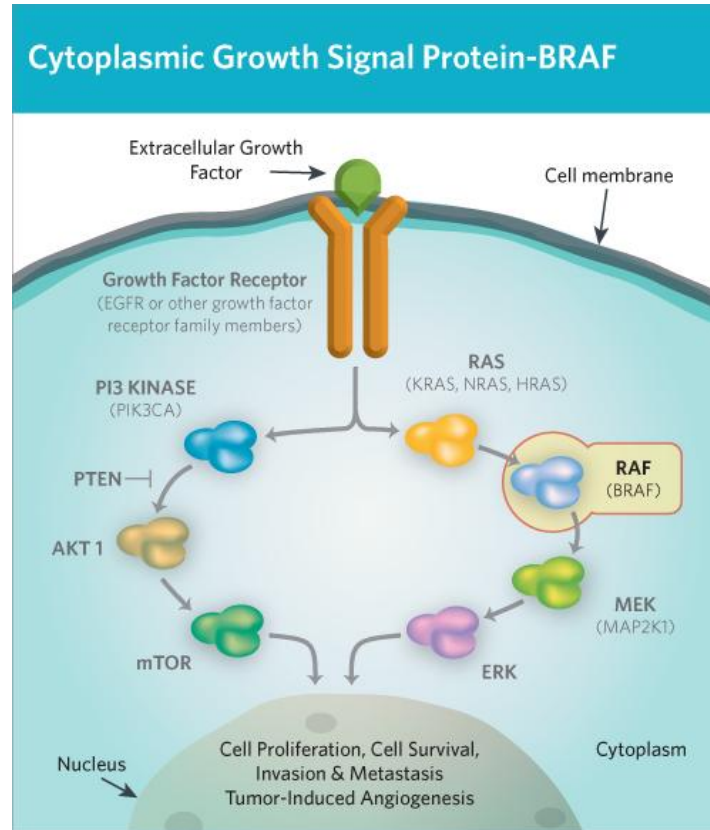


MAPK yolağı temelde, RAS, RAF, mitojenle aktive protein kinaz (MEK) ve ekstraselüler sinyalle dzenlenen kinaz (ERK) proteinlerinin görev aldığı bir sinyal yolağıdır ve pek çok tmderde RAS ya da RAF ailesi mutasyonları nedeniyle aktiftir.



Melanoma ve BRAF geni

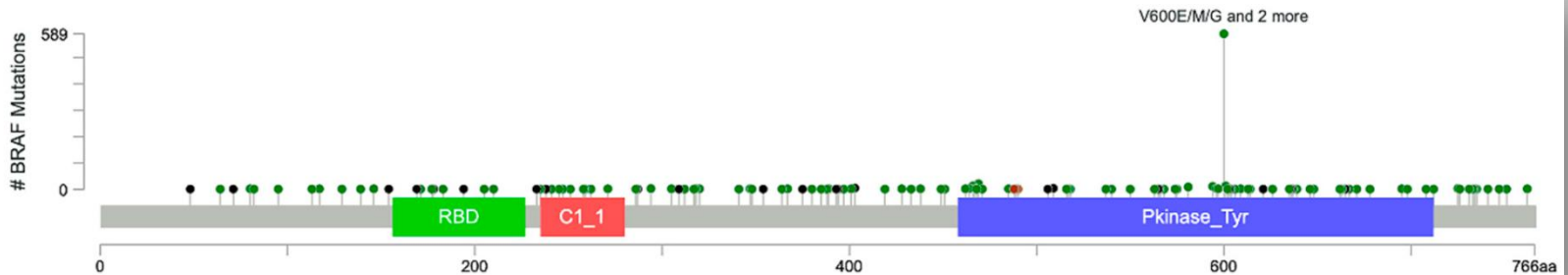
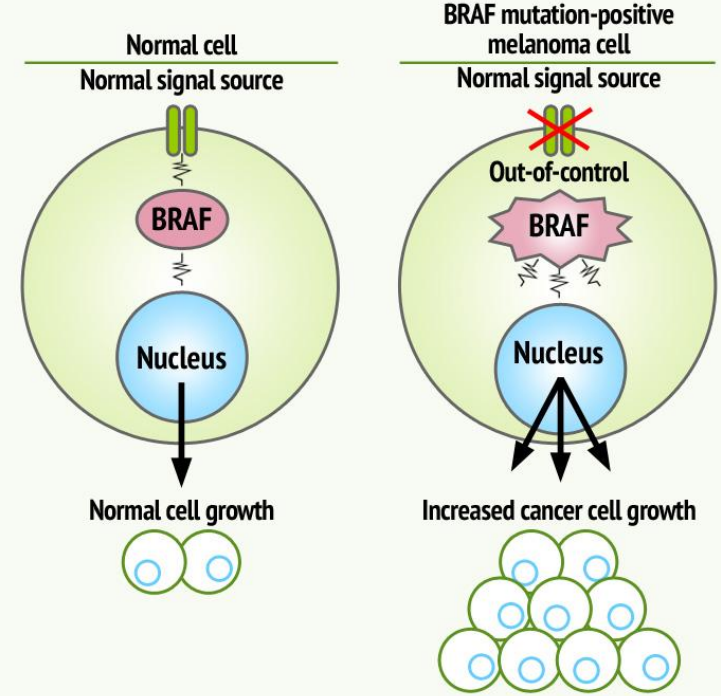
RAF kinaz ailesi üyelerinden biri olan BRAF (v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B) mutasyonlarının keşfi melanom araştırmalarının ilerlemesine çok büyük katkı sağlamış ve genellikle erken evre melanomlarla ilişkilendirilmiştir.



Braf geni 7. kromozomun uzun kolu (7q34) üzerinde yer alır ve 18 ekzondan oluşur. Mutasyonlar, sıklıkla ekzon 15 içerisinde yer alan 600. kodonda (V600A, V600D, V600E ve V600KRM) ve 11. ekzonda gözlenir.

7q34'de lokalize olan BRAF geninin genellikle 15. ekzonunda görülen mutasyonlar, insan melanom tümörlerinin yaklaşık %50'sinde, kutanöz melanomdan türetilmiş hücre hatlarının ise yaklaşık %80'inde görülmüştür

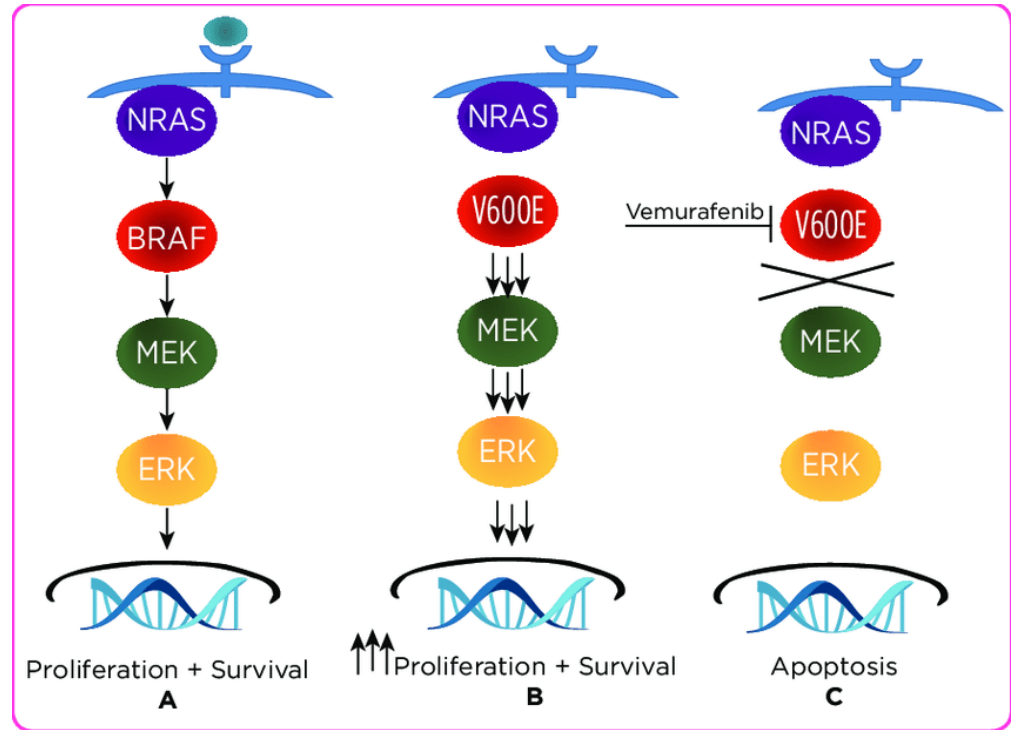
BRAF V600E MUTATION



BRAF mutasyonları genellikle kronik güneş hasarına bağlı olmayan melanomlarda gözlenmektedir.

En sık rastlanılan mutasyon ise BRAF proteininin 600. kodonunda valinin glutamik asite (V600E) dönüşümüdür.

Normalde KRAS tarafından kontrol edilen BRAF bu moleküler değişimlerle kontrolden çıkar ve KRAS'tan uyarı gelmeden de aktif durumda kalır. Bu mutasyonlar BRAF'ın kinaz aktivitesinin yaklaşık 200- 400 kat artmasına ve RAS-RAF-MEK-ERK yolağının sürekli aktif kalmasına neden olmaktadır



•BRAF mutasyonuna sahip hastalarda genel olarak hastalığın daha agresif seyrettiği bilinmekle birlikte, V600-dışı BRAF mutasyonuna sahip 4. evre kolon ve rektum kanserinde hastalık gidişatının (prognoz) çok daha iyi olduğuna dair çalışmalar mevcuttur.

•Bu nedenle, sadece bu mutasyonun pozitifliğine bakılarak yorum yapılmamalı, mutasyonun hangi kodonda yer aldığı da dikkate alınmalıdır.

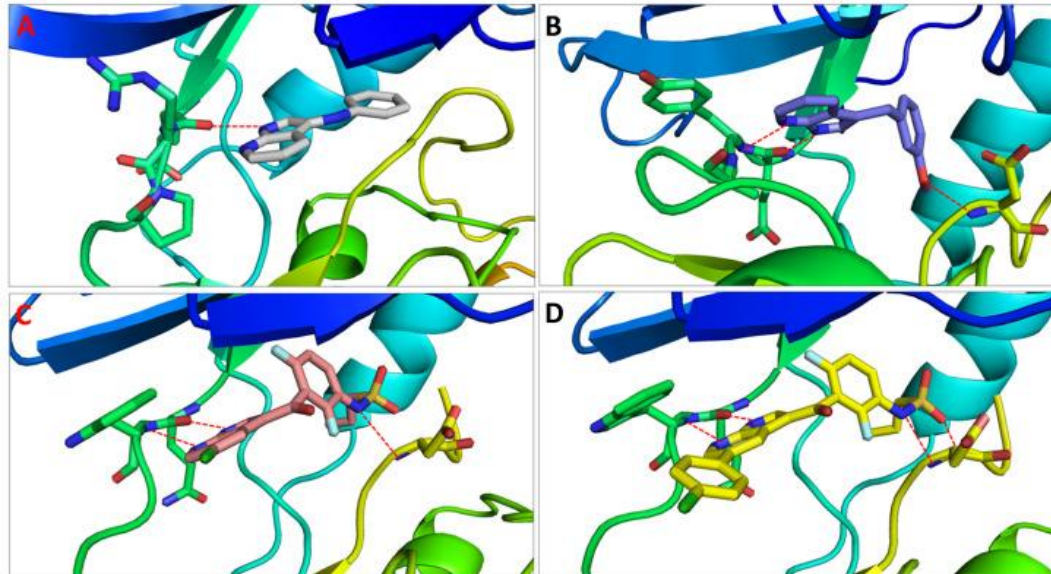
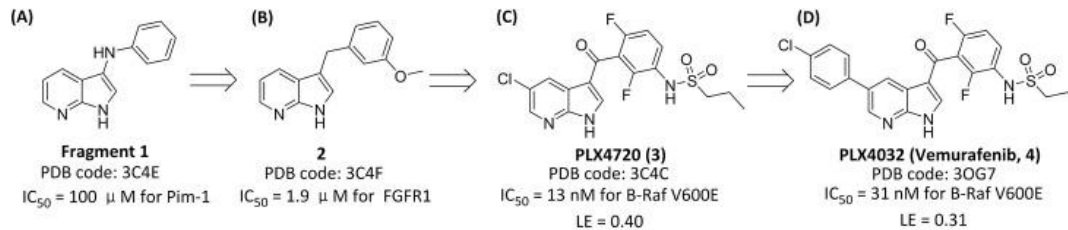
□BRAF mutant melanomda seçici BRAF inhibitörlerinin (SBI) başarısına rağmen, bu inhibitörlere karşı pek çok moleküler direnç mekanizması gelişebilmektedir.

□Bu direncin nedeni BRAF geninde oluşan ikincil mutasyonlar, RAS aracılı MAPK ya da reseptör tirozin kinaz aracılı alternatif sağkalım yollarının aktivasyonu olabilmektedir.

Vemurafenib

Vemurafenib ([INN](#), marketed as **Zelboraf**) is an inhibitor of the [Baf enzyme](#) developed by [Plexxikon](#) (now part of Daiichi-Sankyo) and [Genentech](#) for the treatment of late-stage [melanoma](#).

The name "vemurafenib" comes from [V600E](#) mutated **BRAF** inhibition. Vemurafenib received [FDA](#) approval for the treatment of late-stage melanoma on August 17, 2011, making it the first drug designed using [fragment-based lead discovery](#) to gain regulatory approval.



Vemurafenib

Vemurafenib causes programmed cell death in melanoma cell lines.

Vemurafenib interrupts the B-Raf/MEK step on the B-Raf/MEK/ERK pathway – if the B-Raf has the common V600E mutation.

Vemurafenib only works in melanoma patients whose cancer has a V600E BRAF mutation.

About 60% of melanomas have this mutation. It also has efficacy against the rarer BRAF V600K mutation.

Melanoma cells without these mutations are not inhibited by vemurafenib; the drug paradoxically stimulates normal BRAF and may promote tumor growth in such cases

