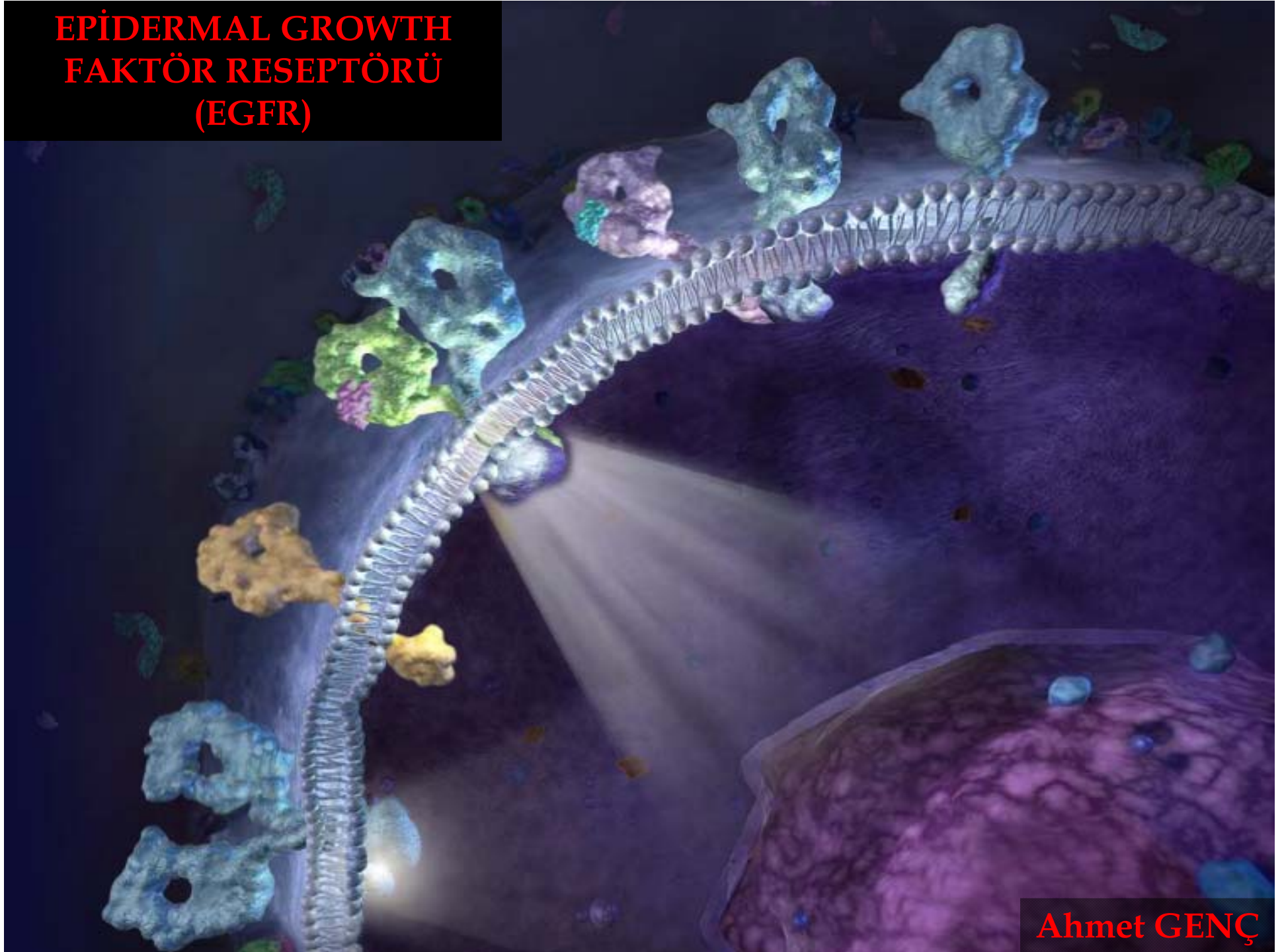
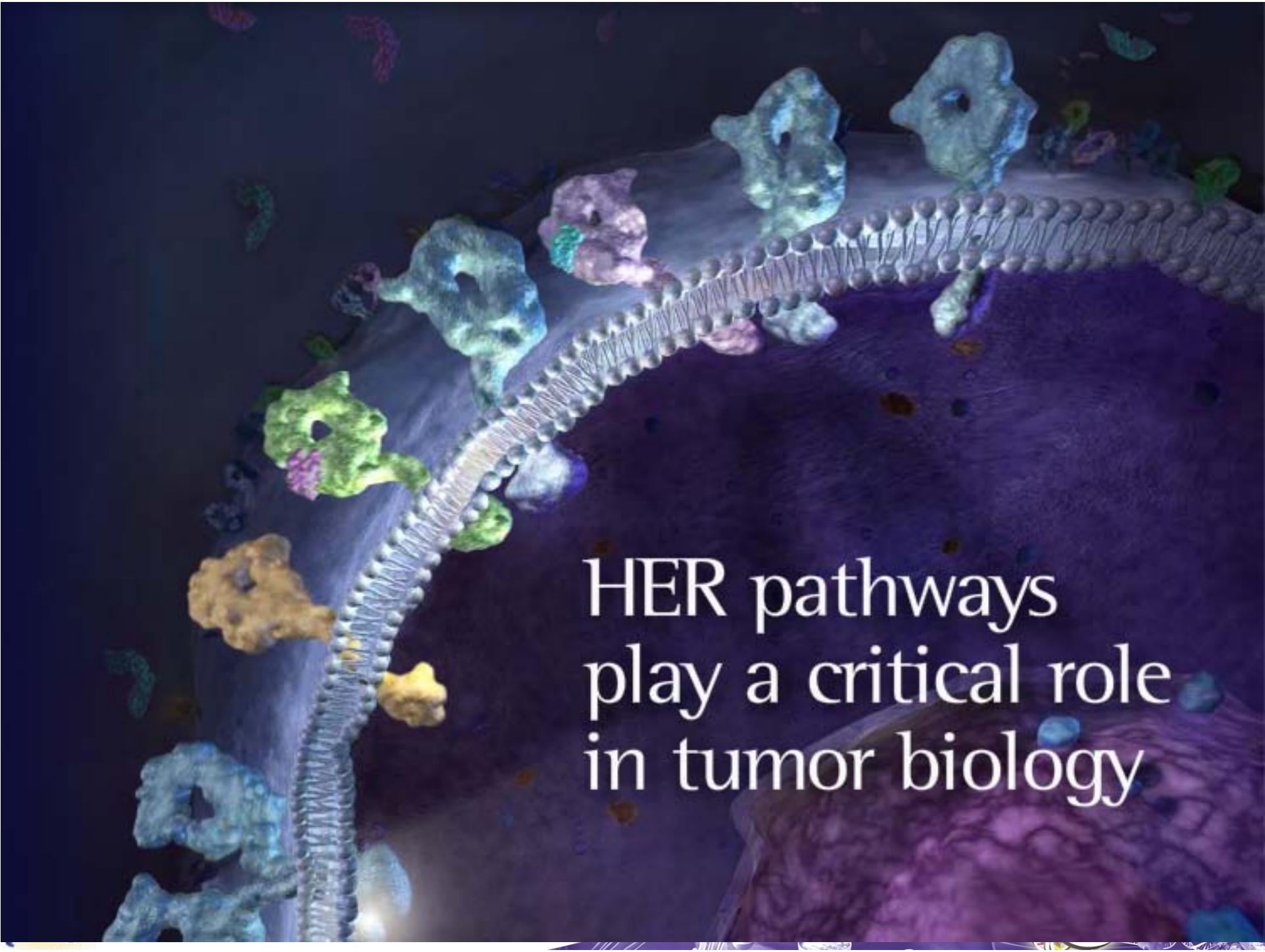


EPİDERMAL GROWTH FAKTÖR RESEPTÖRÜ (EGFR)



Ahmet GENÇ

A 3D illustration of a cell membrane, showing a phospholipid bilayer with various receptors and signaling molecules. The membrane is depicted as a curved surface with a grid of small spheres representing the lipid heads. Several large, colorful, irregularly shaped molecules are attached to the surface, representing receptors and signaling proteins. The background is a dark, textured purple. The text "HER pathways play a critical role in tumor biology" is overlaid on the right side of the image.

HER pathways
play a critical role
in tumor biology

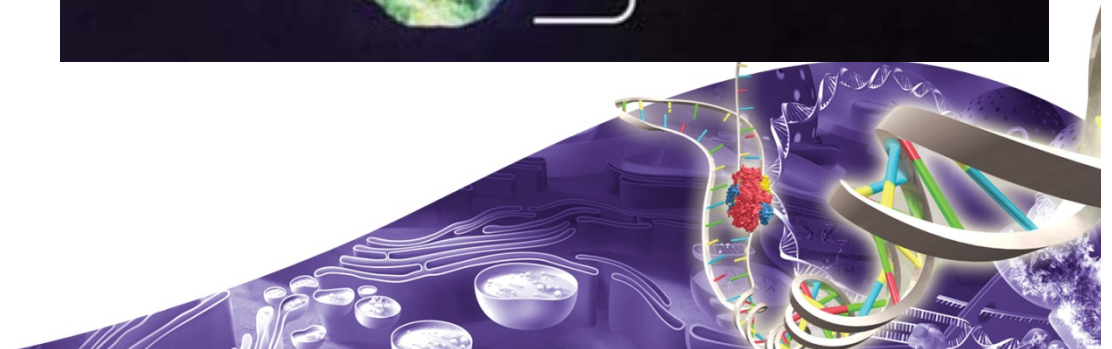
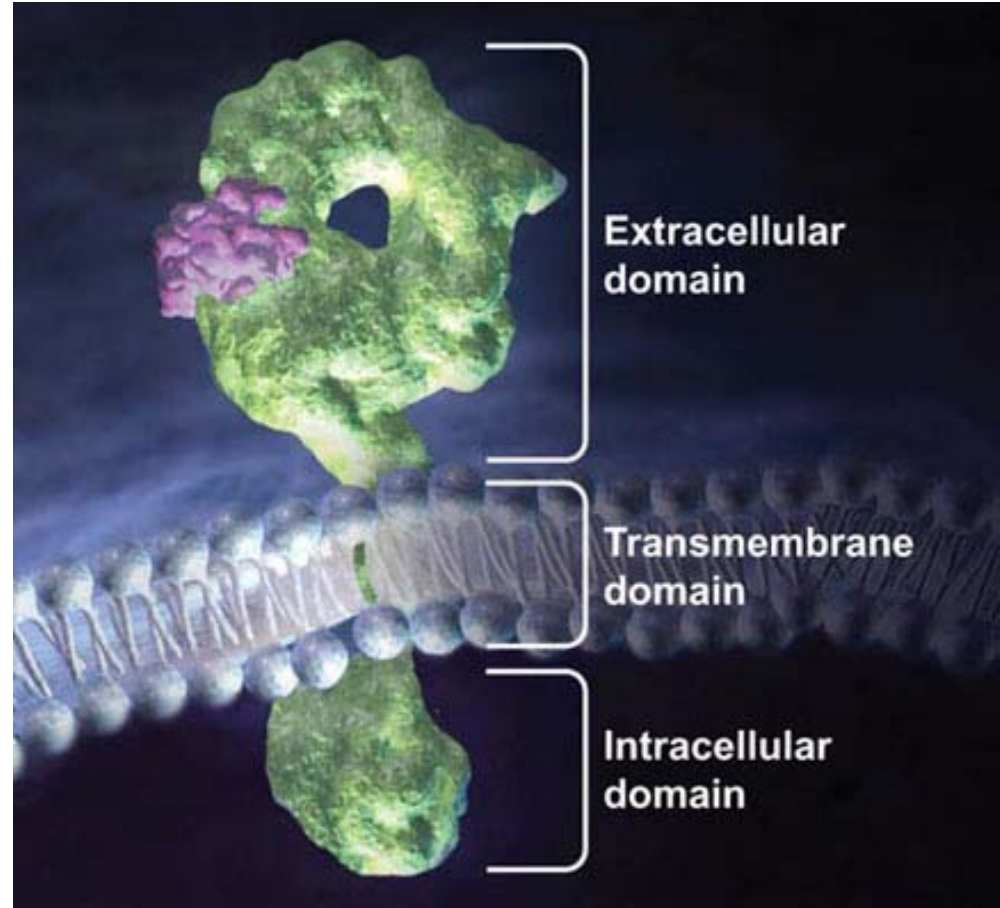
HER Ailesi Reseptörlerin Sellüler Etkileri

- Normal ve kanserli hücrelerde sellüler resöptörler sinyallerin hücre dışından hücre içine iletiminden sorumludur.
- Bu sinyallerin birçok etkileri vardır
 - Büyüme
 - Proliferasyon
 - Sağkalım gibi
- Reseptör aktivasyonu ve sellüler sinyaller normal hücrelerde sıkıca regüle edilir.
- HER sinyal yolu zamansız aktive edildiği zaman kanser hücrelerin büyüme ve yayılmasıyla sonuçlanmaktadır



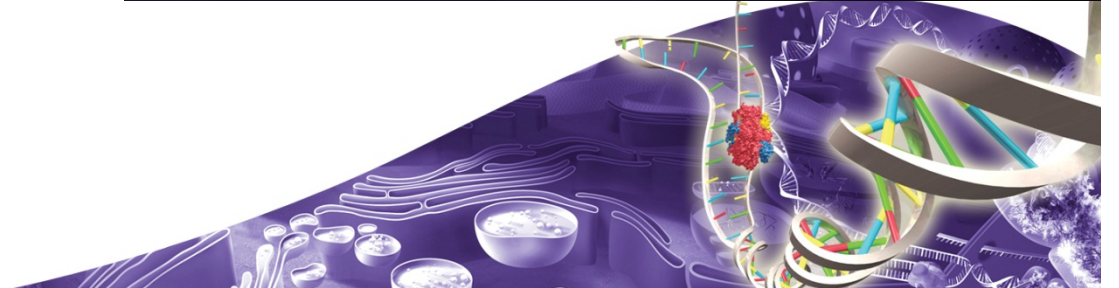
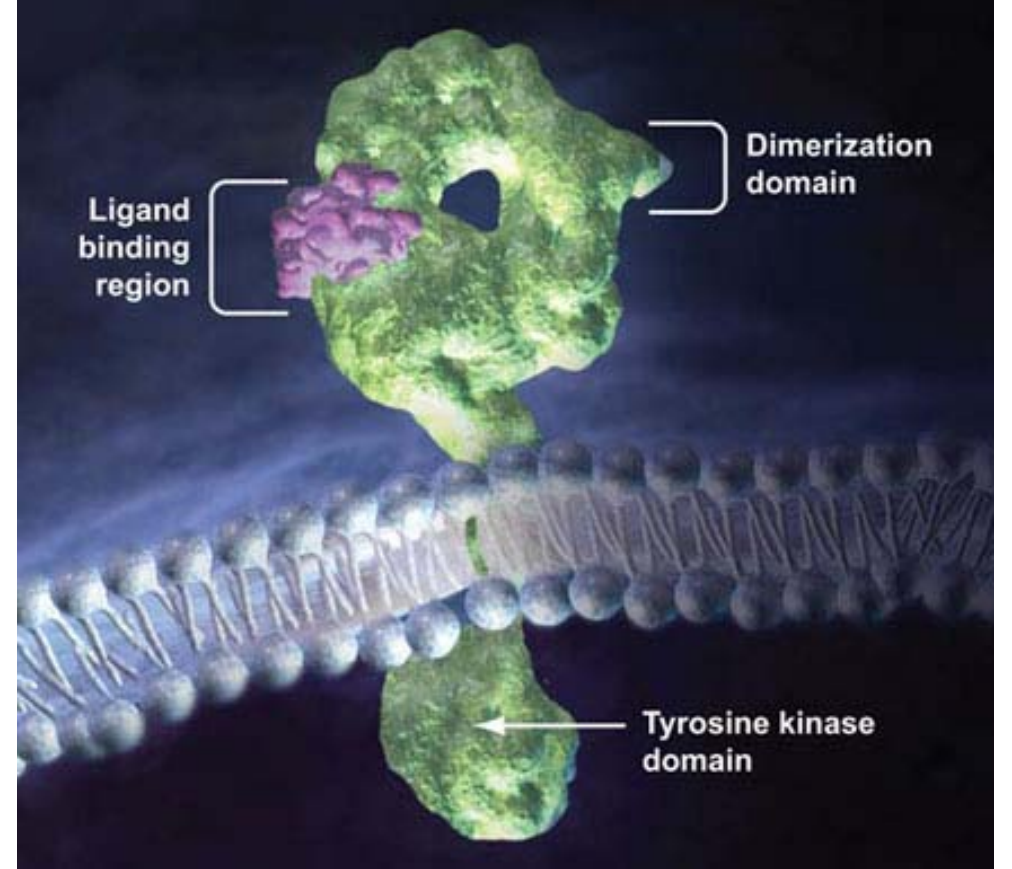
HER ailesi reseptör yapısı

- Reseptör;
 - Hücre yüzeyinde ekstrasellüler domain
 - Transmembran domain
 - İntrasellüler domain
- Reseptörlerinin domainlerinin herbiri HER sinyal yolunda farklı yönlerden sorumludurlar



HER Ailesi Reseptörlerinin Yapısı

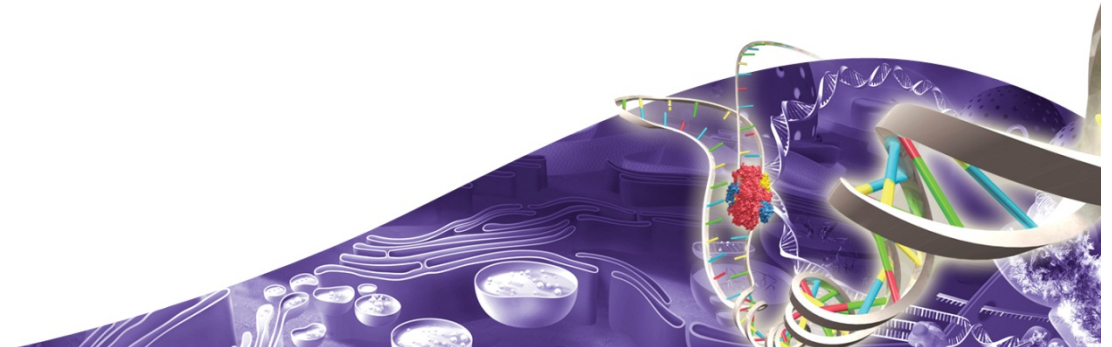
- HER ailesi reseptörleri hücre yüzeyinde lokalizedir. Her reseptör ekstrasellüler ve intrasellüler domaine sahiptir
 - Ekstrasellüler domain ligand bağlamakta
 - İntrasellüler domain ise tirozin kinaz aktivitesine sahip ve downstream sinyal yolunu aktive etmektedir



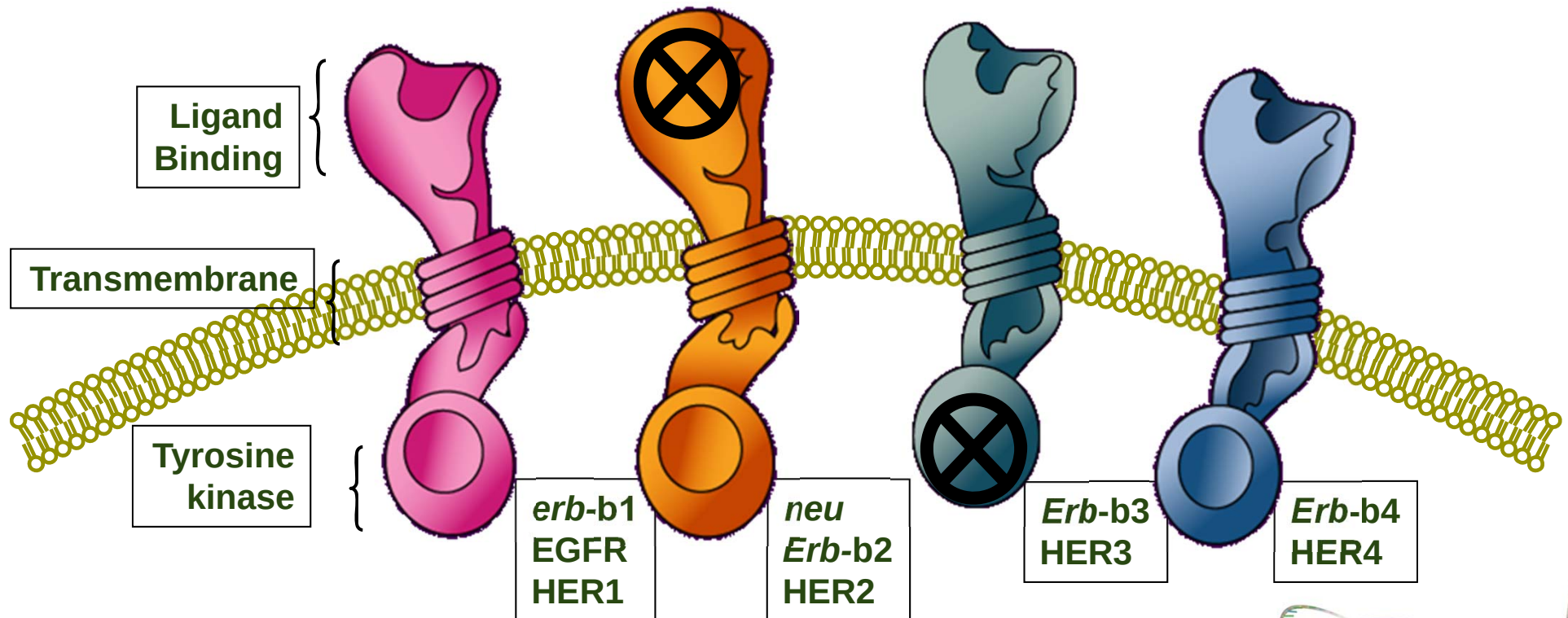


HER ailesi reseptörlerin üyeleri

- Birbirleriyle birkaç şekilde etkileşen HER ailesi sellüler reseptörleri yapısal olarak 4 sınıfa ayrılmaktadır;
- HER1: epidermal growth faktör reseptör (EGFR) veya Erb-b1
- HER2: Erb-b2
- HER3: Erb-b3
- HER4: Erb-b4



HER ailesi üyeleri



Ligand Nedir?

- Genel olarak küçük bir molekül olup, belirli büyük bir moleküle bağlanarak biyolojik etki oluşturan moleküllere “**ligand**” denir
- HER sinyal yolunda ligand hücre dışındaki bir proteindir ve HER ailesi reseptörlerinin ekstrasellüler domainine bağlanmaktadır
- Bütün ligandlar HER reseptör ailesine bağlanmaz
 - HER2’nin ligandı yoktur
 - HER1/EGFR, HER3 ve HER4’ün spesifik ligandlar ile birleşmektedir





- Normal olarak ligandlar ihtiyaç duyulduğunda (Ör, embriyonik gelişim esnasında) sentez edilmekte ve büyümeyi stimüle etmektedir
- Growth faktörü gibi ligandlar tümör hücrelerinin büyümelerini ve yayılmalarını sağlamak için hücreleri tarafından da sentez edilmektedir





HER Ligandları

- I.grup EGFR

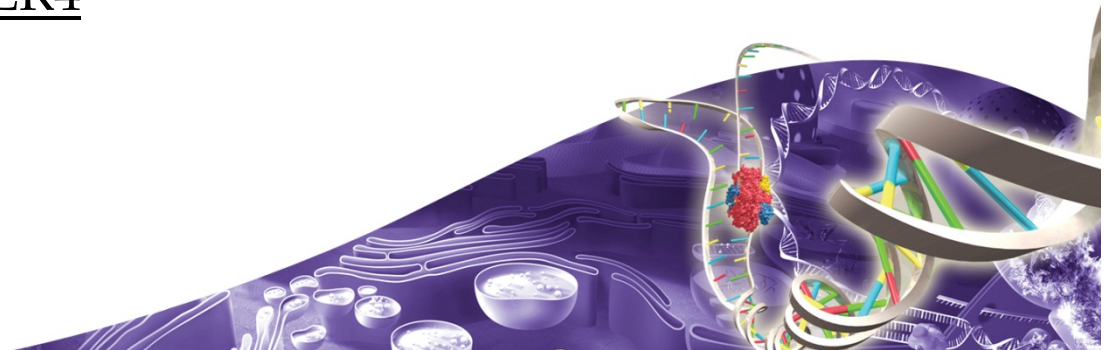
- EGF,
- Transforming Growth Faktör (TGF- α),
- Amphiregulin,

- II.grup EGFR ve HER4

- Betacellulin.
- Heparin-binding EGF
- Epiregulin (NRG)
- Heregulin

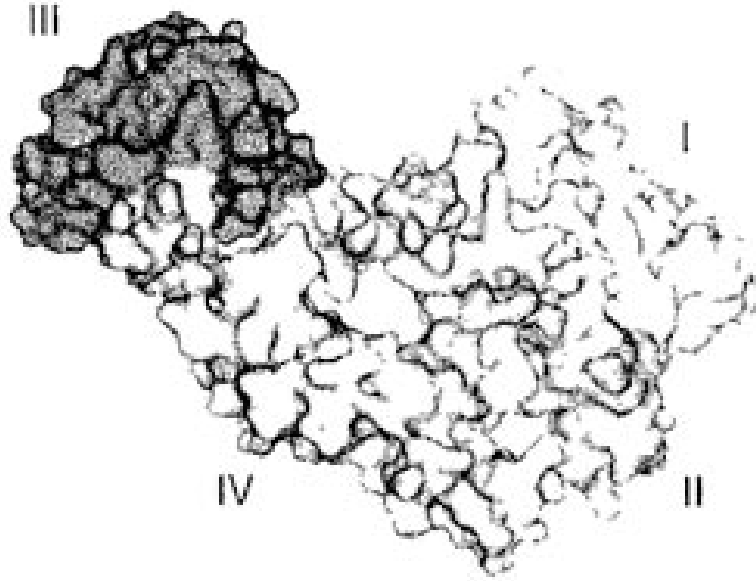
- III.grup HER3/HER4

- Tomoregulin
- Neuregulin

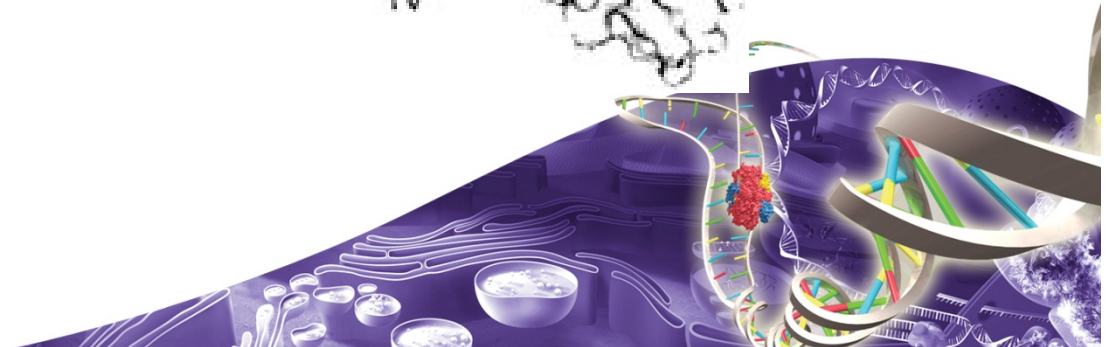
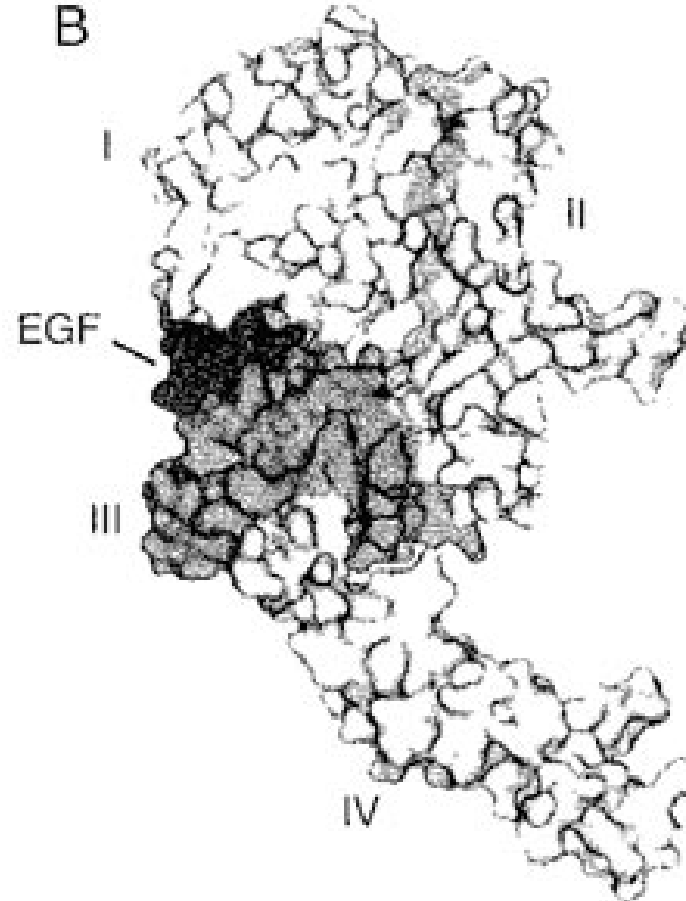


HER Ailesi Reseptörleri ve Ligand Bağlanması

A



B



Ligand bağlanmasının nasıl bir etkisi vardır?

- HER reseptörüne bir ligandın bağlanması HER sinyal yolunda ilk basamağı oluşturmaktadır
- Ligandın bağlanmasıyla HER reseptör ailesinde konformasyonel değişiklik meydana gelmektedir
- Reseptördeki bu değişim dimerizasyon olarak adlandırılan başka bir HER aile reseptörü ile birleşmesi ile sonuçlanmaktadır

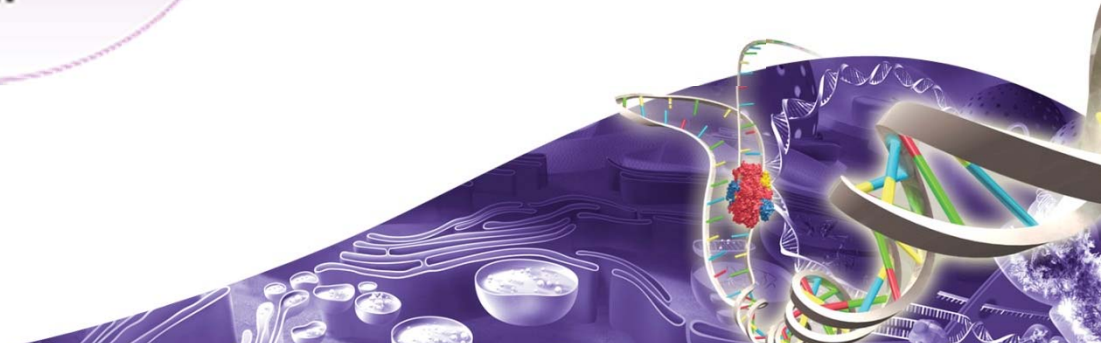
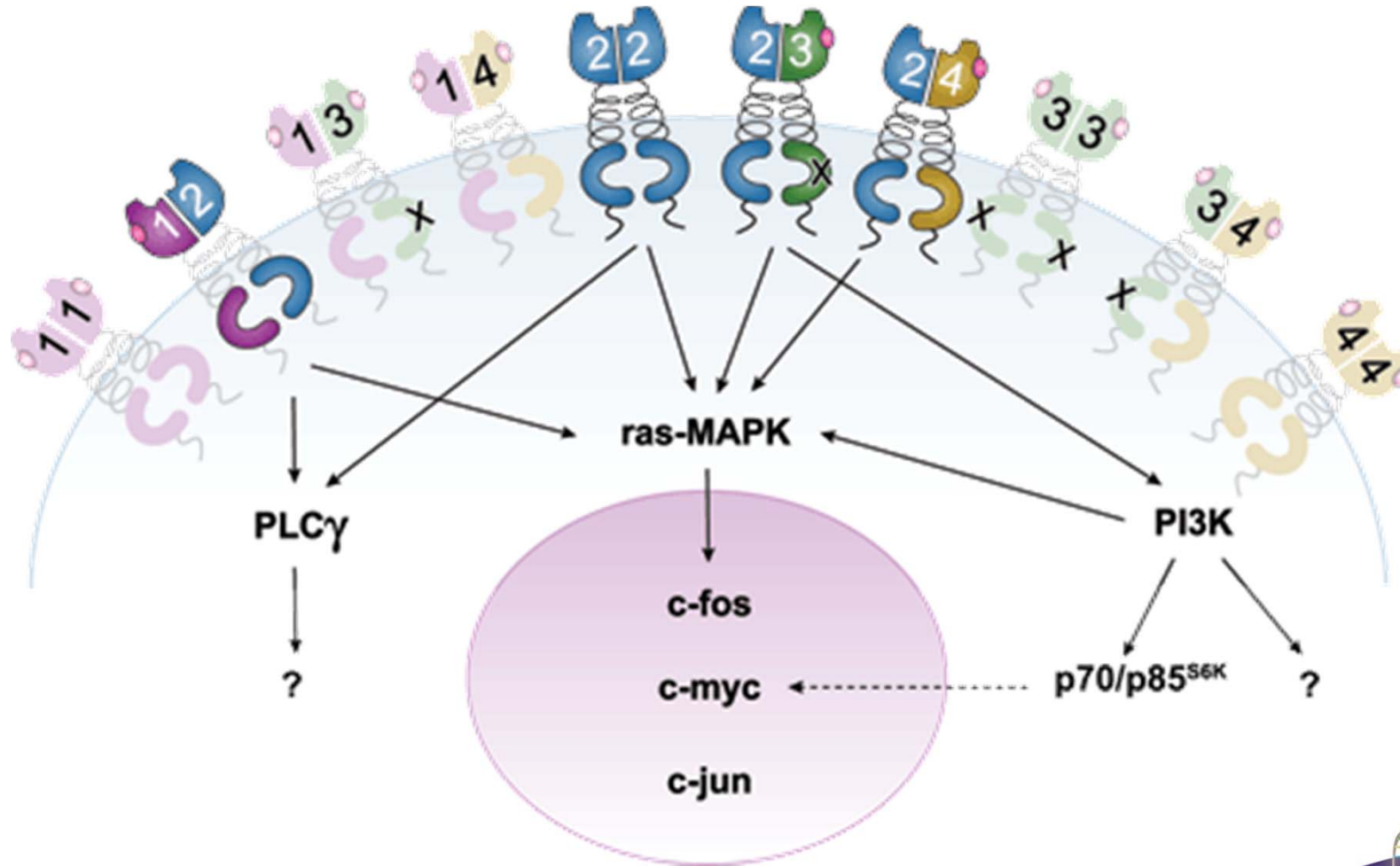




- Daha sonra dimerize resptörlerin intrasellüler tirozin kinaz domainleri transfosforilasyon ile aktive olmaktadır
- Tirozin kinaz domainlerinin aktivasyonu multiple downstream sellüler sinyali indüklemektedir
- Downstream sellüler sinyal oluşumu birçok hücresel etki oluşturmaktadır



Reseptör Aktivasyon Prosesi





Reseptör aktivasyonu komplekstir ve birçok prosessten oluşmaktadır

- Ekstrasellüler sinyalin intrasellüler sinyale dönüşümü için HER aile reseptörlerinin aktive olması gerekir. Bu proses birçok basamaktan oluşmaktadır:

1. Bir HER aile reseptörüne onun ligandı bağlanır
2. Ligand bağlandıktan sonra reseptörün konformasyonu açık pozisyonundan kapalı pozisyona geçmektedir
 - Ligand bağlamayan HER2 reseptörü açık konformasyonda bulunmaktadır





- Açık konformasyondaki bir HER aile reseptörü dimerizasyon için veya başka bir HER aile reseptörü ile heterodimerizasyona hazırdır
 - Reseptör dimerizasyonu downstream sinyal yolunun aktivasyonu için gereklidir
 - HER2 açık konformasyonda bulunmasından dolayı her zaman dimerizasyon için hazırdır

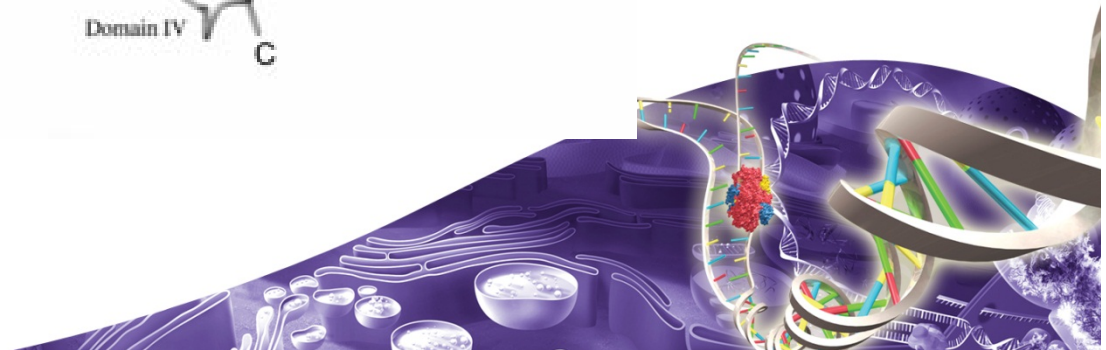
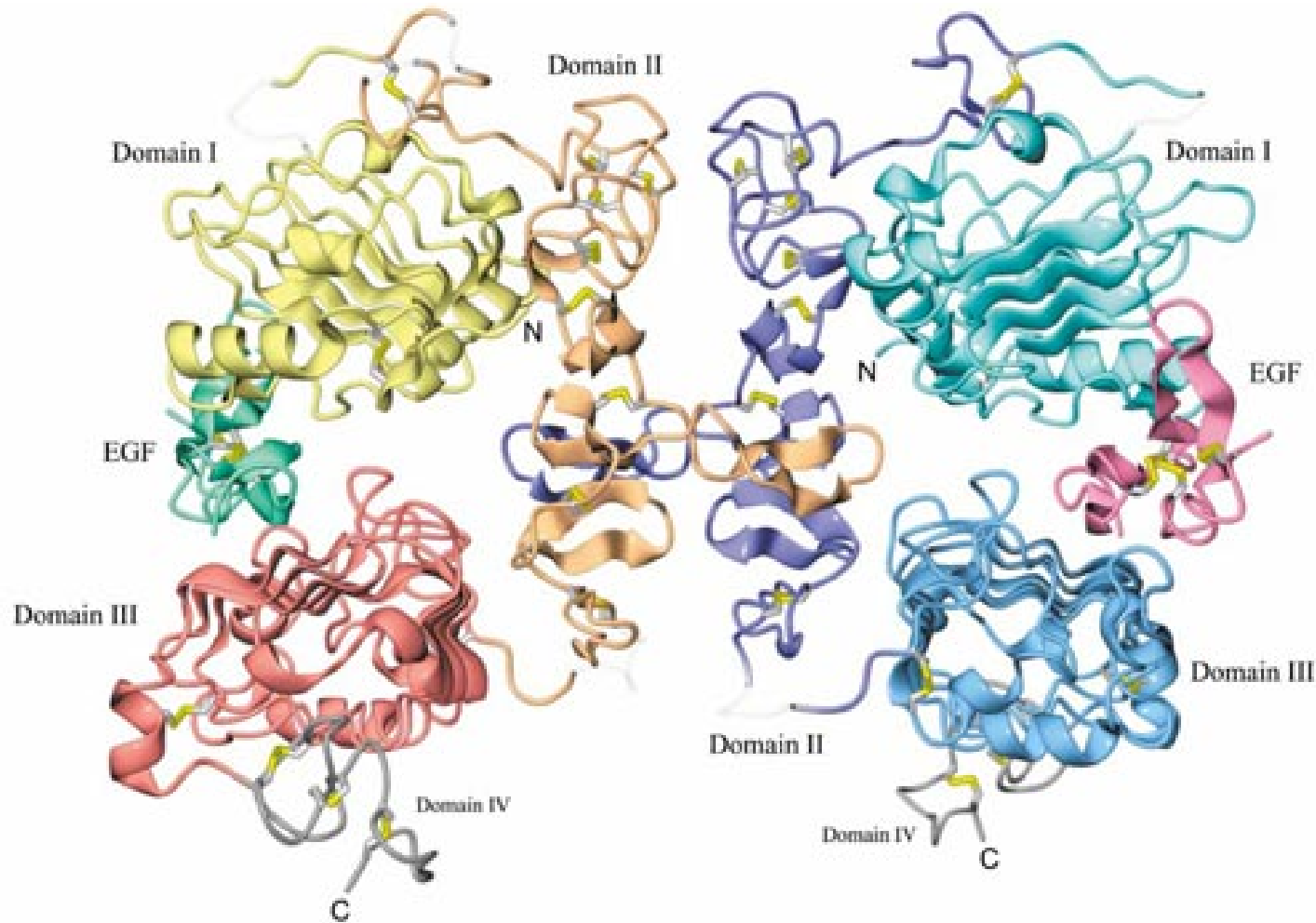




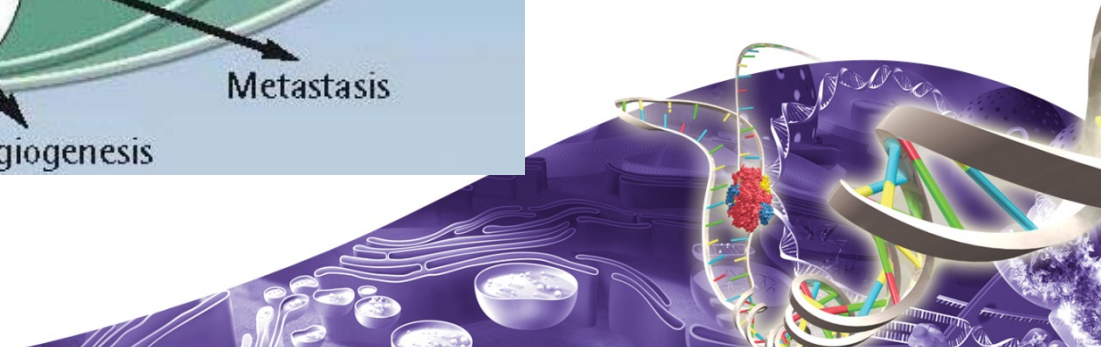
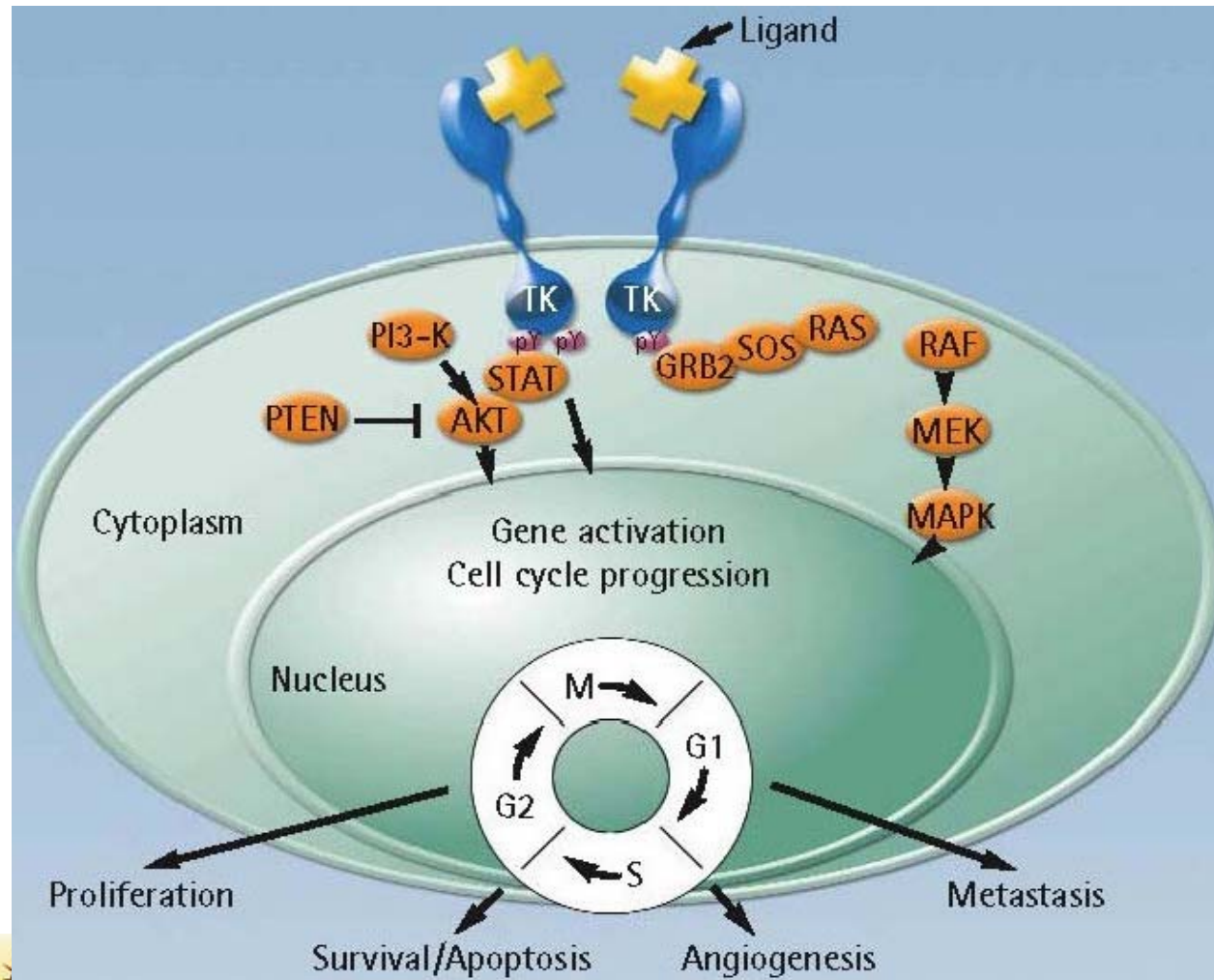
- Dimerizasyondan sonra reseptörler biri diğerine yakınlaştığından kolaylıkla birbirlerini transaktive edebilirler
 - Transaktivasyonda 2 reseptörün intrasellüler TK domainleri fosforlanmaktadır
- Transaktivasyon diğer proteinlerin bağlanmasını indüklemekte ve downstream sellüler sinyal proteinlerin aktive etmektedir



Dimerize reseptör kompleksinin yapısı



EGFR sinyal sistemi



LA22

- The EGFR is a transmembrane receptor with an extracellular ligand-binding domain and an intracellular protein tyrosine kinase domain. A number of ligands can activate EGFR, including the endogenous ligands epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor- α (TGF- α), amphiregulin, heparin-binding EGF and betacellulin.[1,2]
- Ligand binding induces receptors to dimerize with either another EGFR (homodimers) or another member of the EGFR family (heterodimers).[3] Compared with homodimer formation, heterodimerization induces a signal that differs in both qualitative and quantitative terms.[4] Dimerization activates the intrinsic protein kinase via intermolecular autophosphorylation and this is followed by binding of cytoplasmic messenger proteins at the phosphorylated site, resulting in the initiation of the different signal cascades, including those mediated by mitogen-activated protein kinase (MAPK), phosphatidylinositol-3-kinase (PI3-K) and AKT (also known as protein kinase B) from the cytoplasm to the nucleus and eventually the activation of gene transcription.[3,5]
- This in turn results in a variety of cellular responses including proliferation, survival, angiogenesis and metastasis.[1,2]
- The EGFR signal is inactivated by internalization and then either degradation or recycling of the receptor.[5]

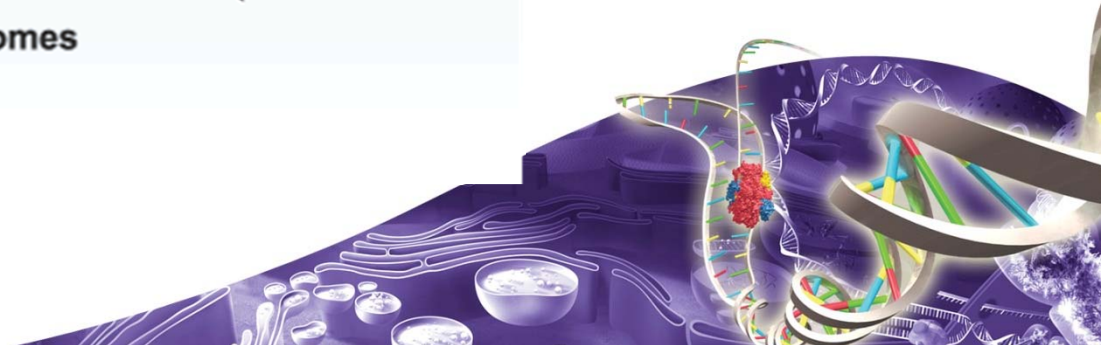
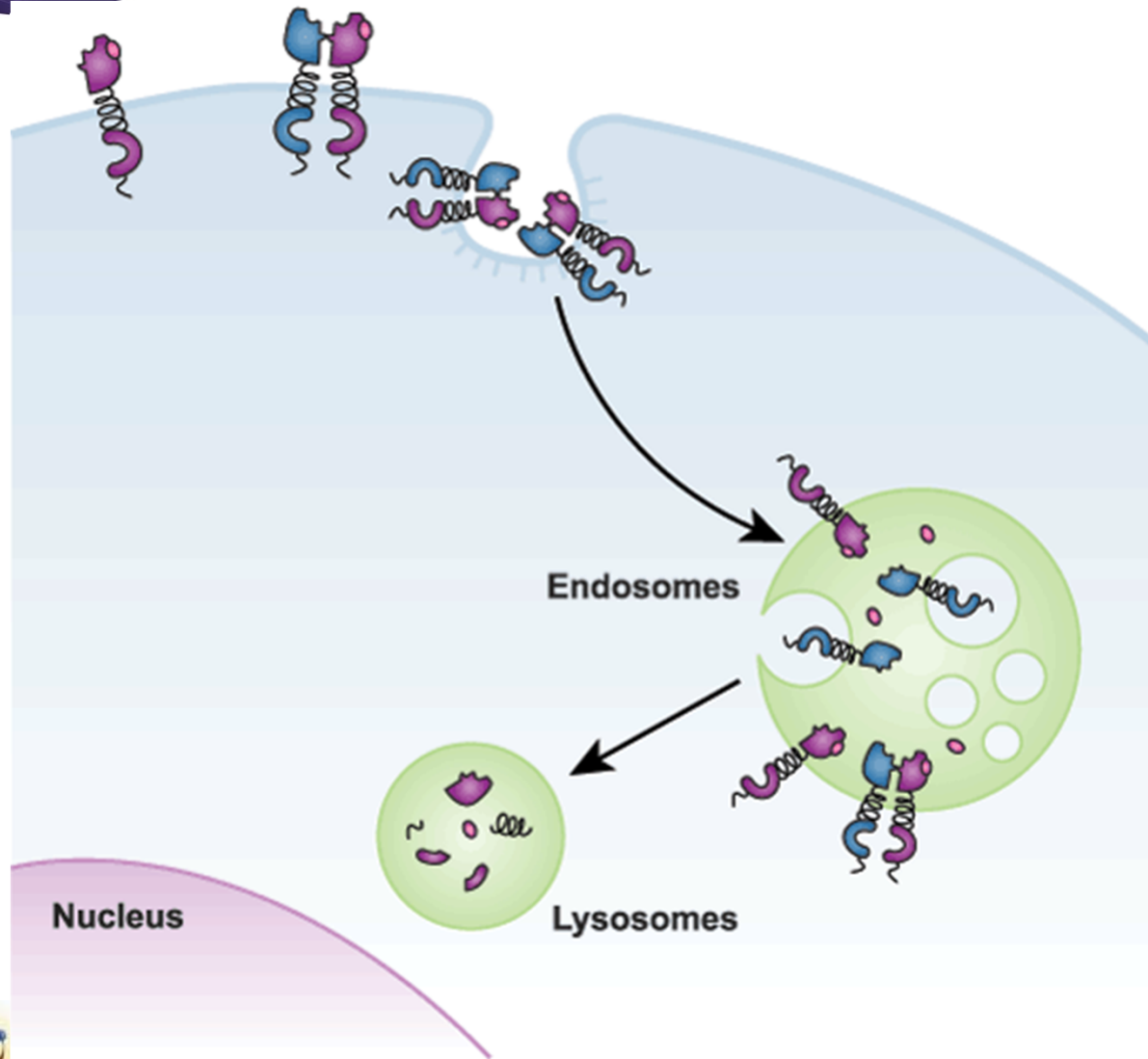
LA; 18.11.2008

İnternalizasyon boyunca reseptör regülasyonu

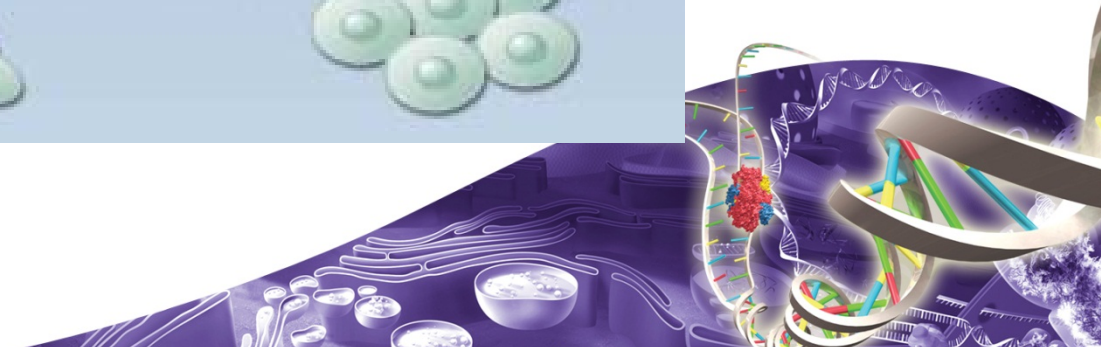
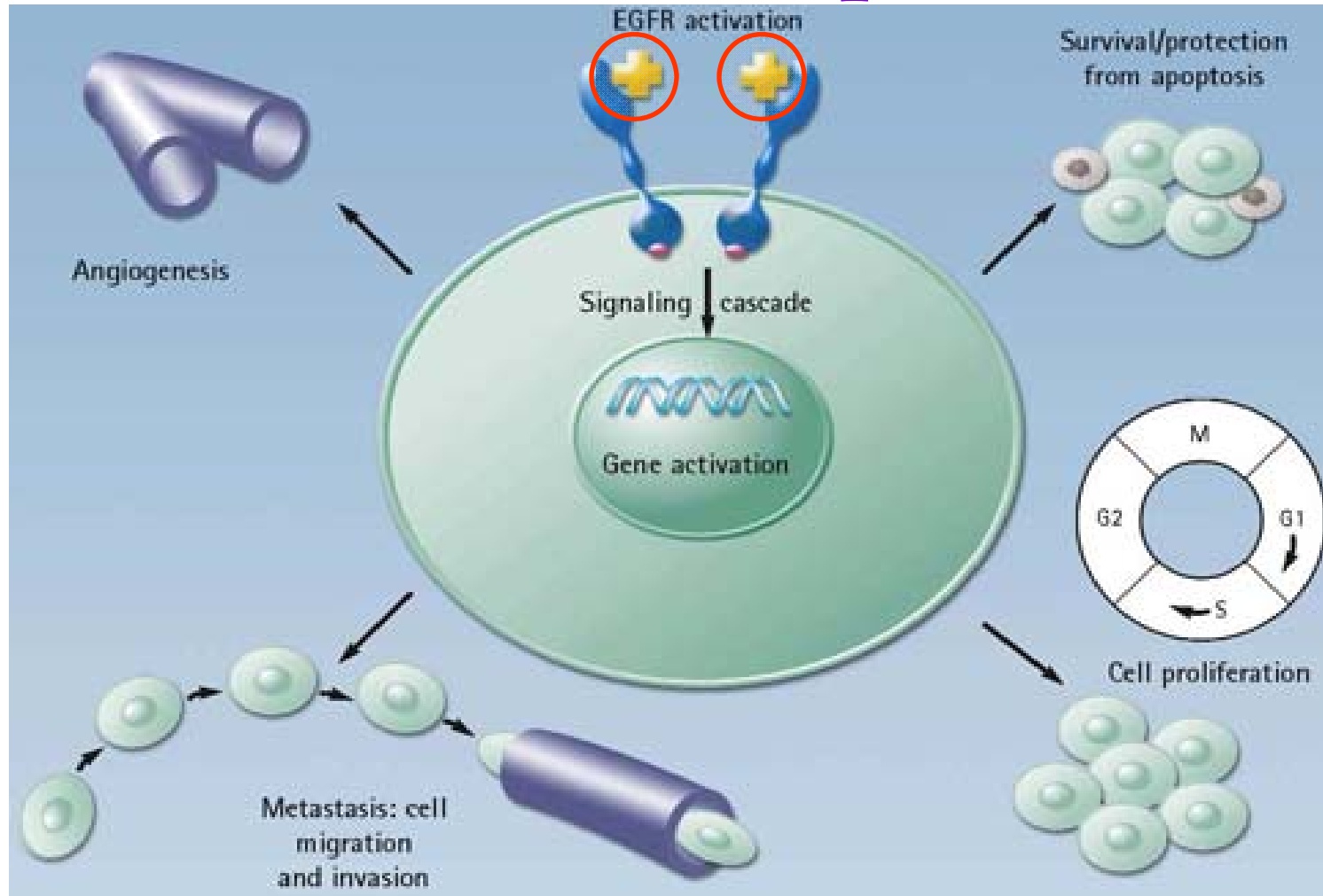
- Uzamış HER sinyal yolu hücrelerde zararlı etkiler oluşturmaktadır. İhtiyaç duyulduğunda sinyal yolunun kapatılması kompleks sistem gerektirmektedir. Reseptör internalizasyonu anahtar komponenttir:
- Ligand-reseptör kompleksi oluştuğu zaman, hücre yüzeyinde kümelenmektedir
- Bu kümelenme oyuk oluşturarak endozom içine geçmektedir
- Endozom içinde;
 1. Ligand HER aile reseptöründen ayrılarak hücre yüzeyine tekrar geçebilir
 2. Reseptör yıkım için hedef olabilir bu yüzden sinyal kesilmektedir



Reseptör internalizasyonu



Tm Hücrelerinde HER reseptör dimeri



Slayt 22

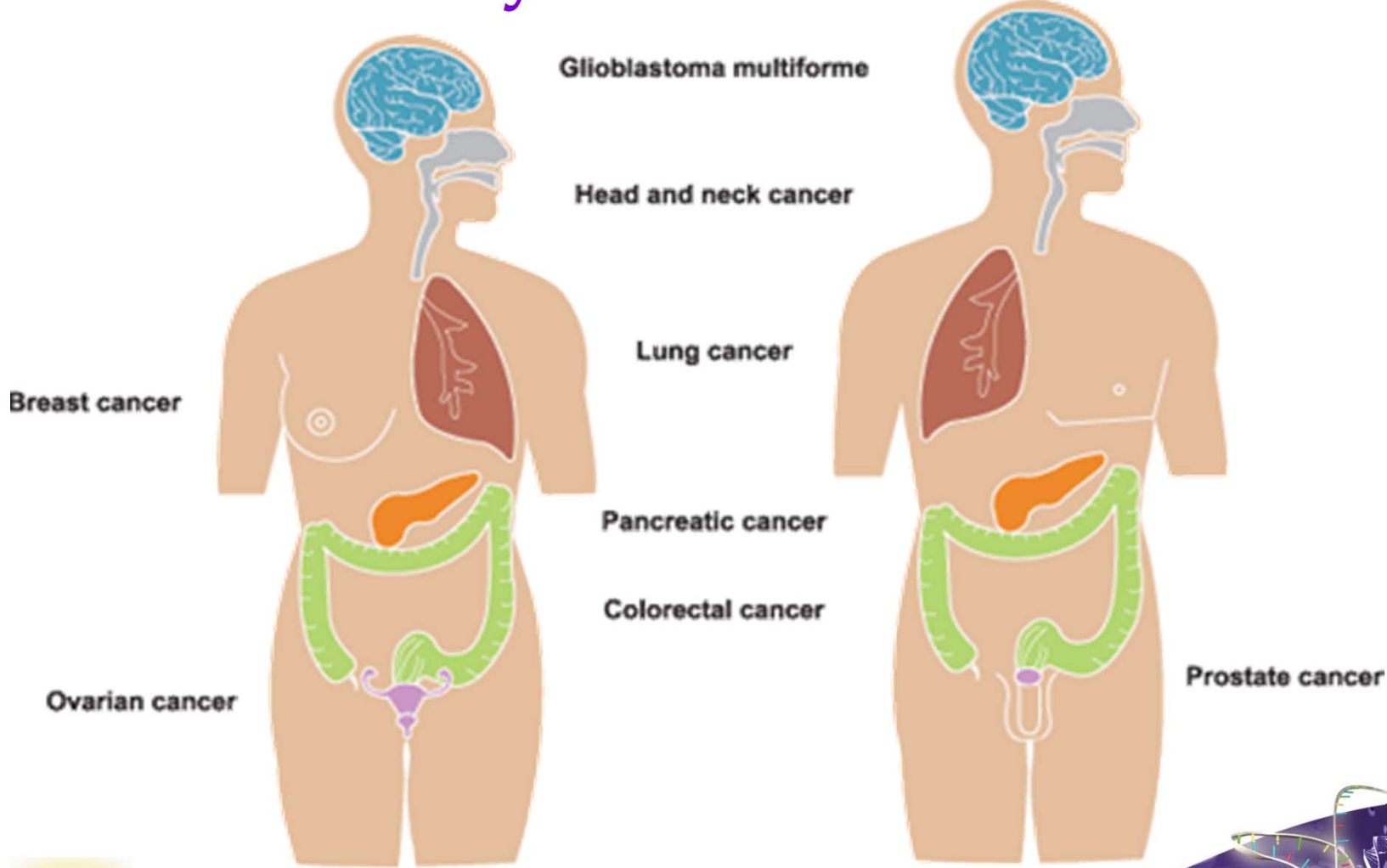
LA2

The EGFR intracellular signaling cascade stimulates cell proliferation, angiogenesis, cell migration and metastasis formation and also provides protection from apoptosis and prevents the loss of differentiation (ie all the key processes involved in tumorigenesis).[1]

- EGFR is expressed in a high proportion of solid tumors, in particular head and neck, lung and CRC.[2] Expression has been correlated with disease progression[3] and many studies have shown that EGFR expression can be an adverse prognostic factor.[2]

LA; 18.11.2008

Birkaç tümör tipi HER sinyal yolu tarafından etkilenmektedir



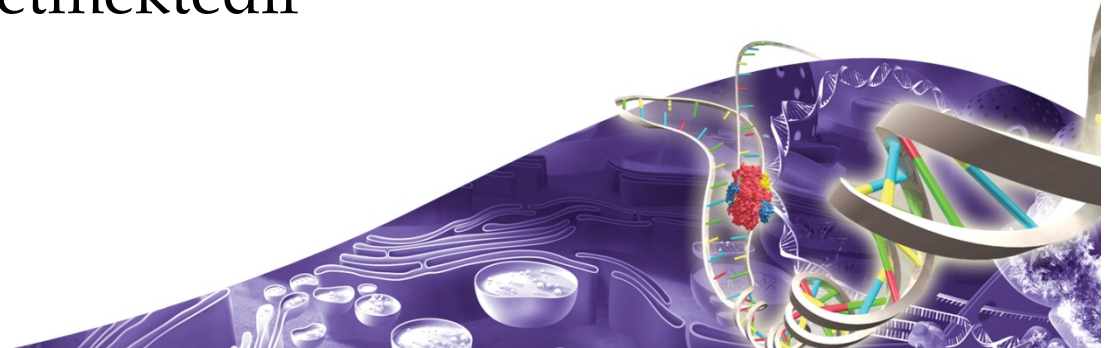
HER aile reseptörü kanserde kontrolsüz aktive olabilir

- Normal hücrelerde aktivasyon prosesi sıkı şekilde kontrol edilmektedir (reseptör internalizasyonu gibi) ve böylece hücre büyümesi kontrol altında tutulmaktadır
- Kanserde HER reseptörleri kontrolsüz aktive olmakta, böylece kontrol edilemeyen hücre büyümesi ve tümör hücrelerinin yayılımı gerçekleşmektedir
- HER reseptörlerinin ekspresyonu veya hücre yüzeyinde fazla reseptörün varlığı sinyalleri artırmaya neden olmaktadır





- Genetik mutasyonlarda HER reseptör üretimine yol açabilir ve hatta ligand bağlanmaksızın aktive edebilir
- Tümörler HER aile reseptörünü ve onlarla birleşecek ligandlarını ekspresse ettikleri zaman tümör kendi büyümesini stimüle etmektedir

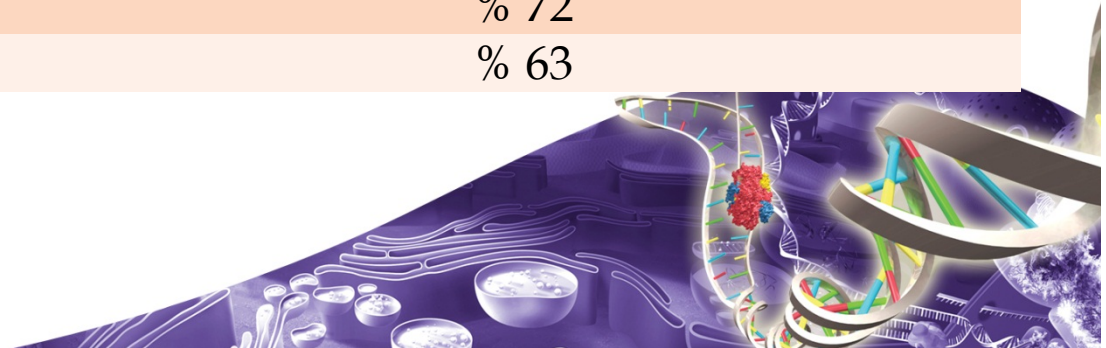




HER sinyal yolu bozukluğu birçok tümör tipi ile birleşmiştir

Tümör EGFR bulunan tümör yüzdesi

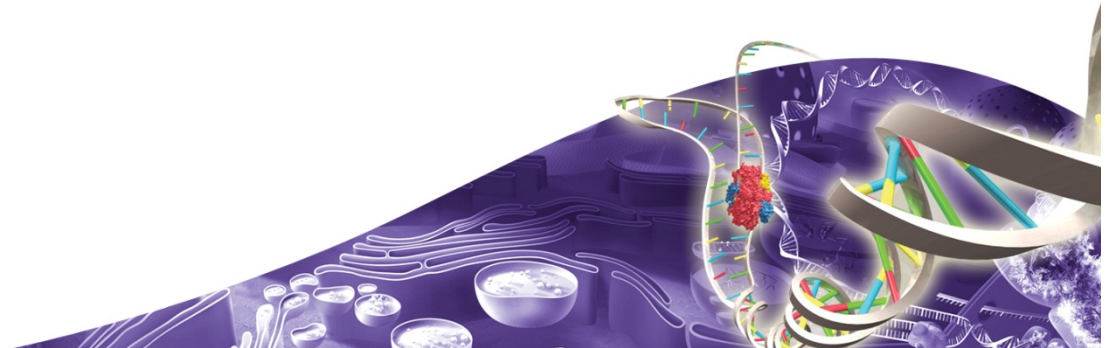
Baş ve boyun	% 90 - 100
Kolon	% 75 - 89
Prostat	%100
Pankreatik	% 95
Meme	% 91
Renal	% 90
Serviks	% 82
Küçük hücreli olmayan akciğer	% 80
Over	% 77
Mesane	% 72
Primer glioblastom	% 63





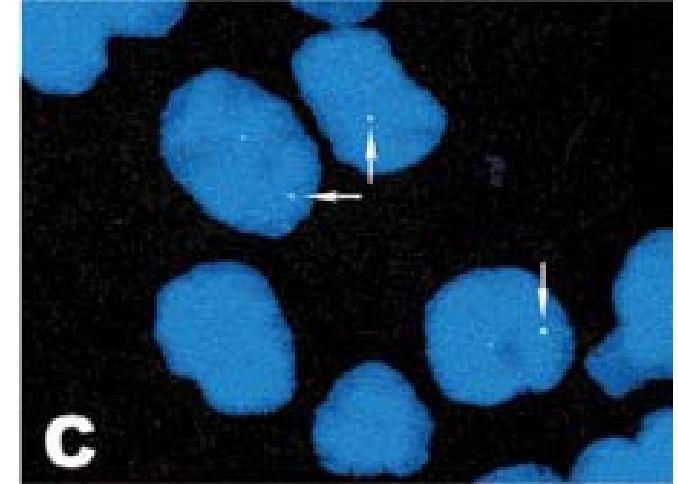
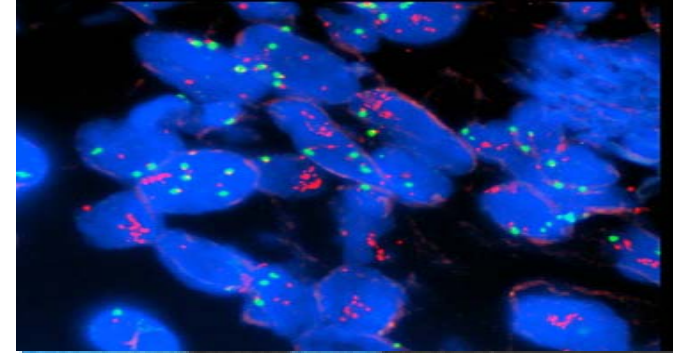
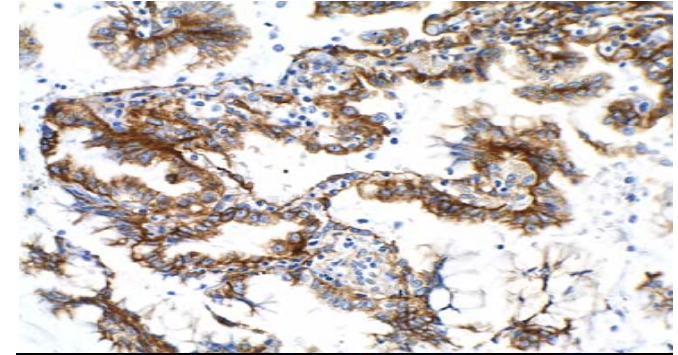
EGFR varlığı kötü prognozla ilişkilidir

- Hastalıksız sağkalım ↓
- Toplam sağkalım ↓
- Metastaz/invazyon ↑



Tümörlerde EGFR saptanması

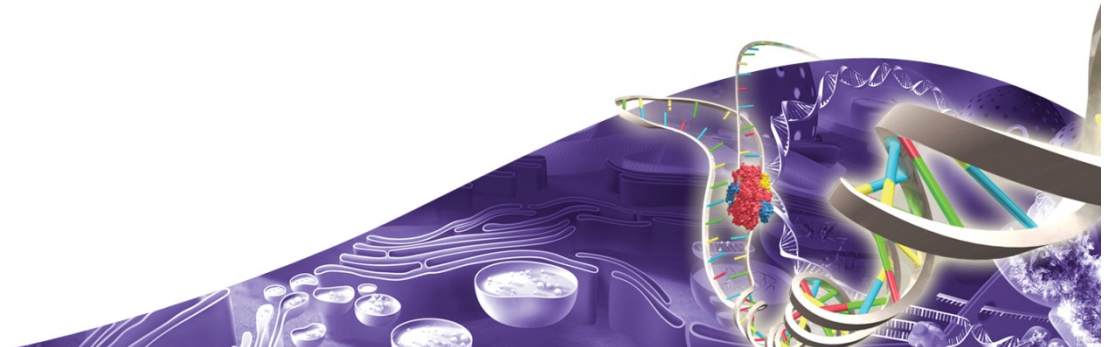
- Protein tayini:
 - İmmünohistokimyasal (IHC)
 - Western blot
 - Enzime bağlı immünosorbent tayini (ELISA)
 - Floresan aktivasyonlu hücre sınıflama (FACS)
 - Ligand-bağlama assay
- Gen amplifikasyon tayini:
 - Polimeraz zinciri reaksiyonu (PCR)
 - Southern blot
 - Floresan in situ hibridizasyon (FISH)



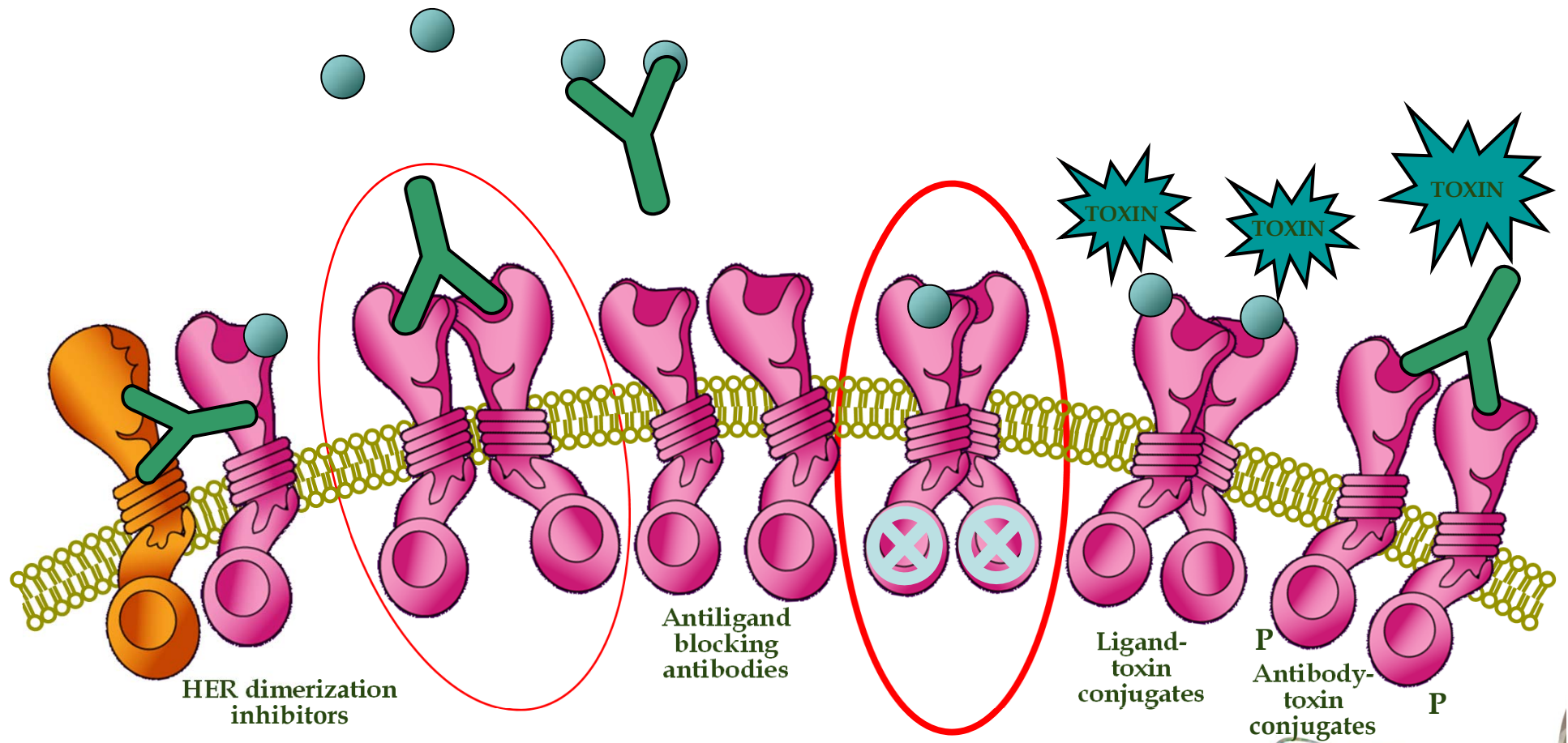


HER sinyal yolunun terapötik potansiyeli

- Bazı tümörlerde sık EGFR ekspresse edilmekte
- Tümör hücre replikasyonu, proliferasyonu ve neovaskülarizasyon rolünden dolayı EGFR'nin inhibisyonu EGFR-ekspresse eden **tümör hücrelerin progressiyonu ve büyümelerini inhibe etmesi** açısından terapötik potansiyeli vardır.



Tyrosine Kinase inhibitors



Anti-HER
blocking
antibodies



LA7

There are a number of approaches to target HER1 dysregulation.

Antibodies against ligand block ligand binding.

However, neither approach will work if there is constitutive tyrosine kinase activity such as that found in some mutations of HER1 (eg, EGFR vIII).

Using a small molecule that specifically targets and either reversibly or irreversibly inhibits the tyrosine kinase activity is an approach that can block signaling by all active HER1 forms, including those receptors with mutated or deleted extracellular domains.

Conjugates of a ligand and a cytotoxic agent or an antibody and a cytotoxic agent is another approach that can have the advantage of killing the cell after internalization, in addition to inhibiting tyrosine kinase activity.

Anti-EGFR antibodies - the antibody binds to the cell surface EGFR, preventing ligand binding and signal transduction, and resulting in internalization and degradation of the receptor-antibody complex.

Tyrosine kinase (TK) inhibitors - inhibitors bind to EGFR TK intracellularly, inhibiting kinase activity and blocking signal transduction.

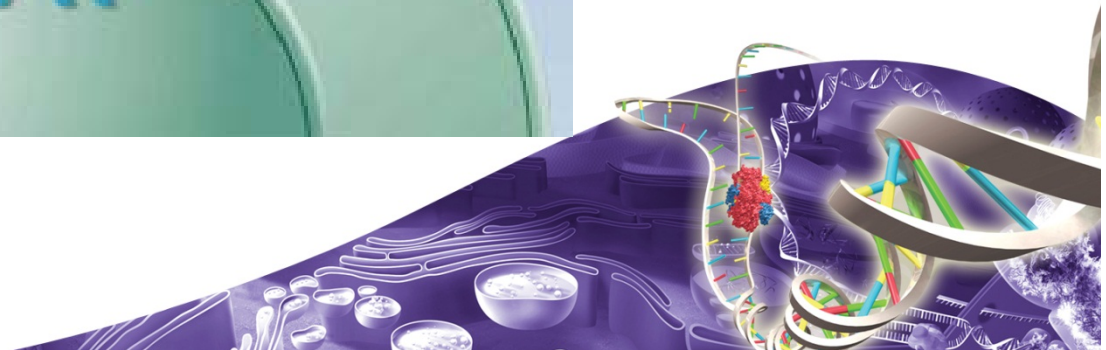
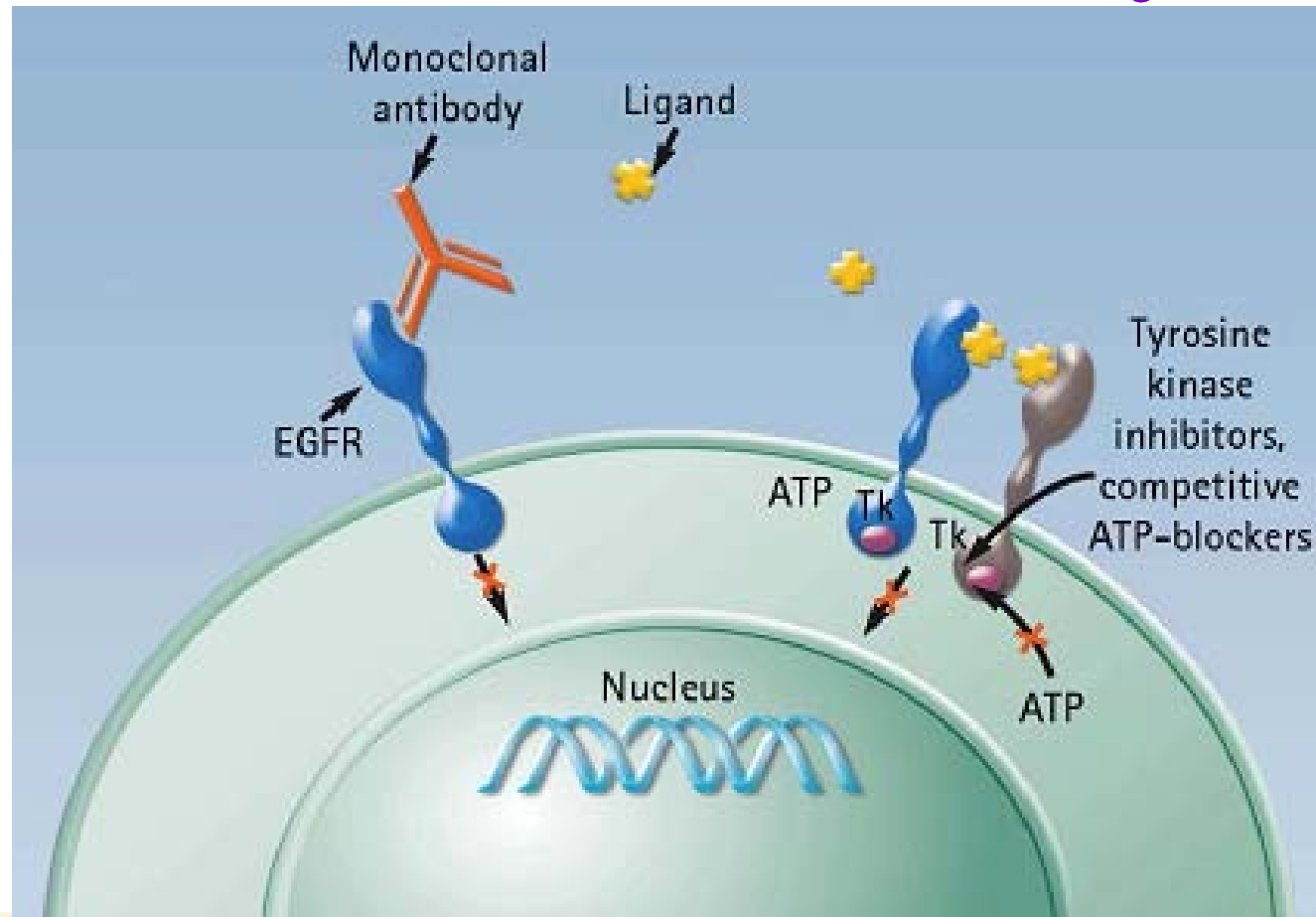
Ligand-toxin and immunotoxin conjugates - ligand-toxin conjugates comprise an EGFR ligand conjugated with toxin, and internalization of the complex results in the inhibition of protein synthesis and cell death. Immunoconjugates comprise anti-EGFR antibody conjugated to toxin

Antisense oligonucleotides - EGFR or TGF- α antisense oligonucleotides are targeted to DNA or RNA, and ultimately prevent protein synthesis and promote cell death.

EGFR/ligand-directed vaccines - stimulate the production of antibodies that bind EGFR/ligand and enhance the systemic immune response.

LA; 19.11.2008

EGFR hedefli inhibisyon

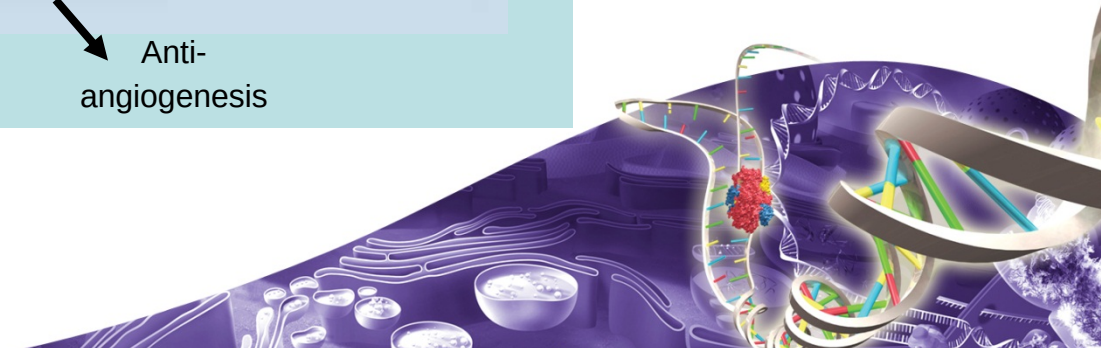
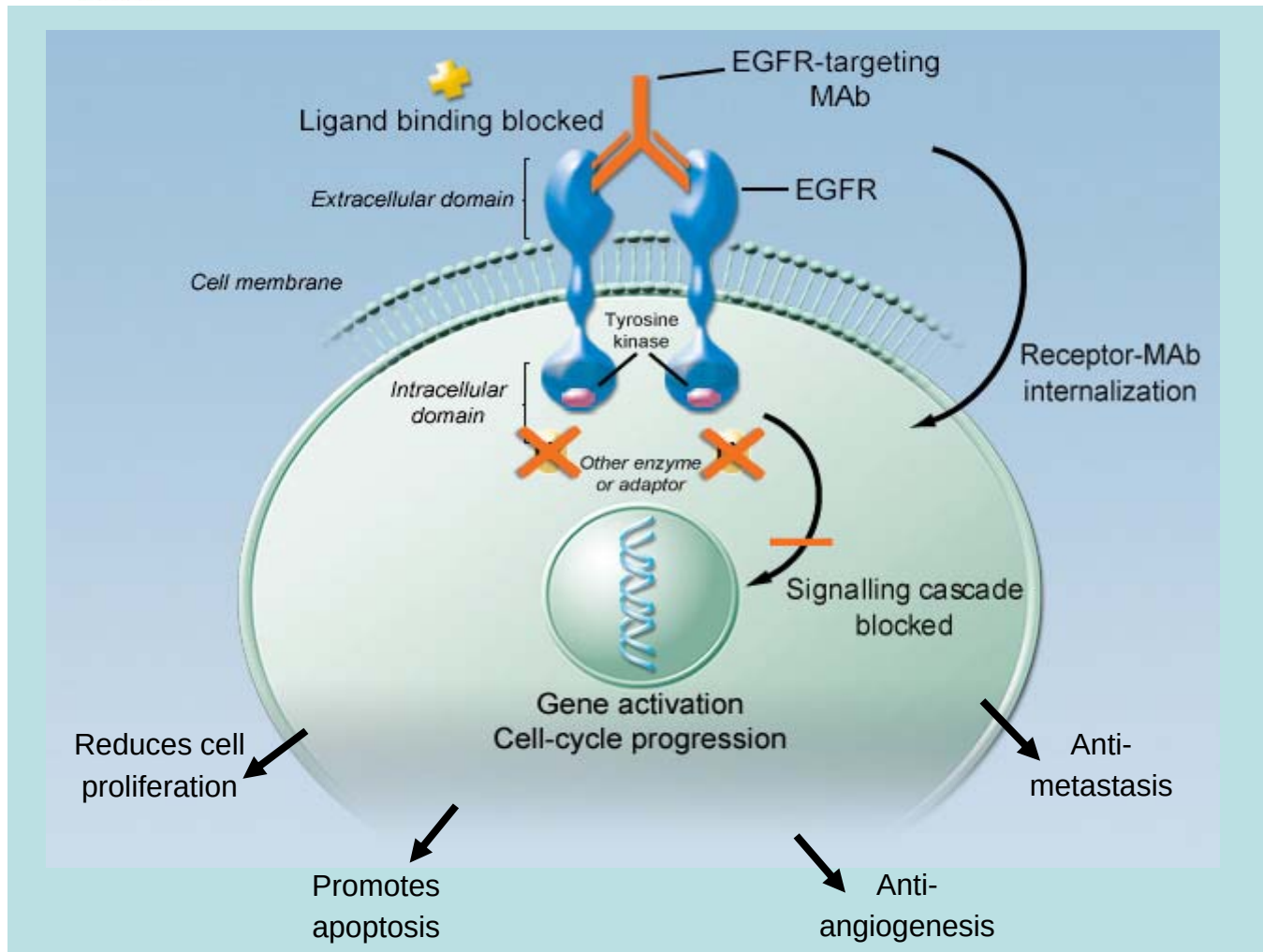


LA21

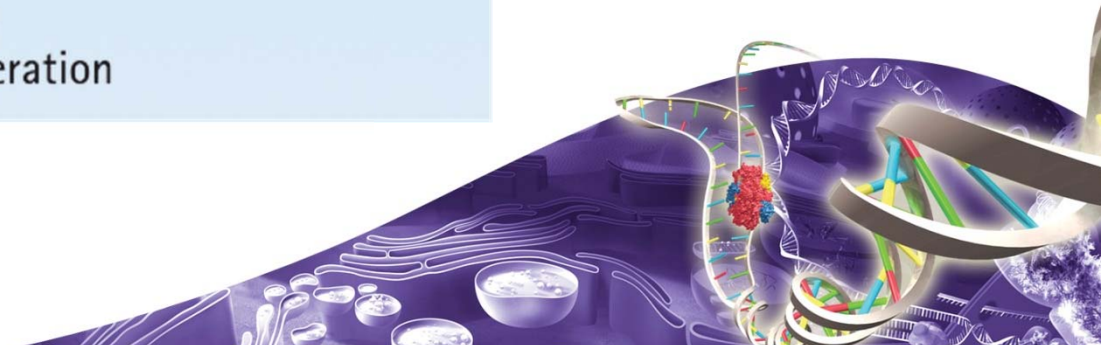
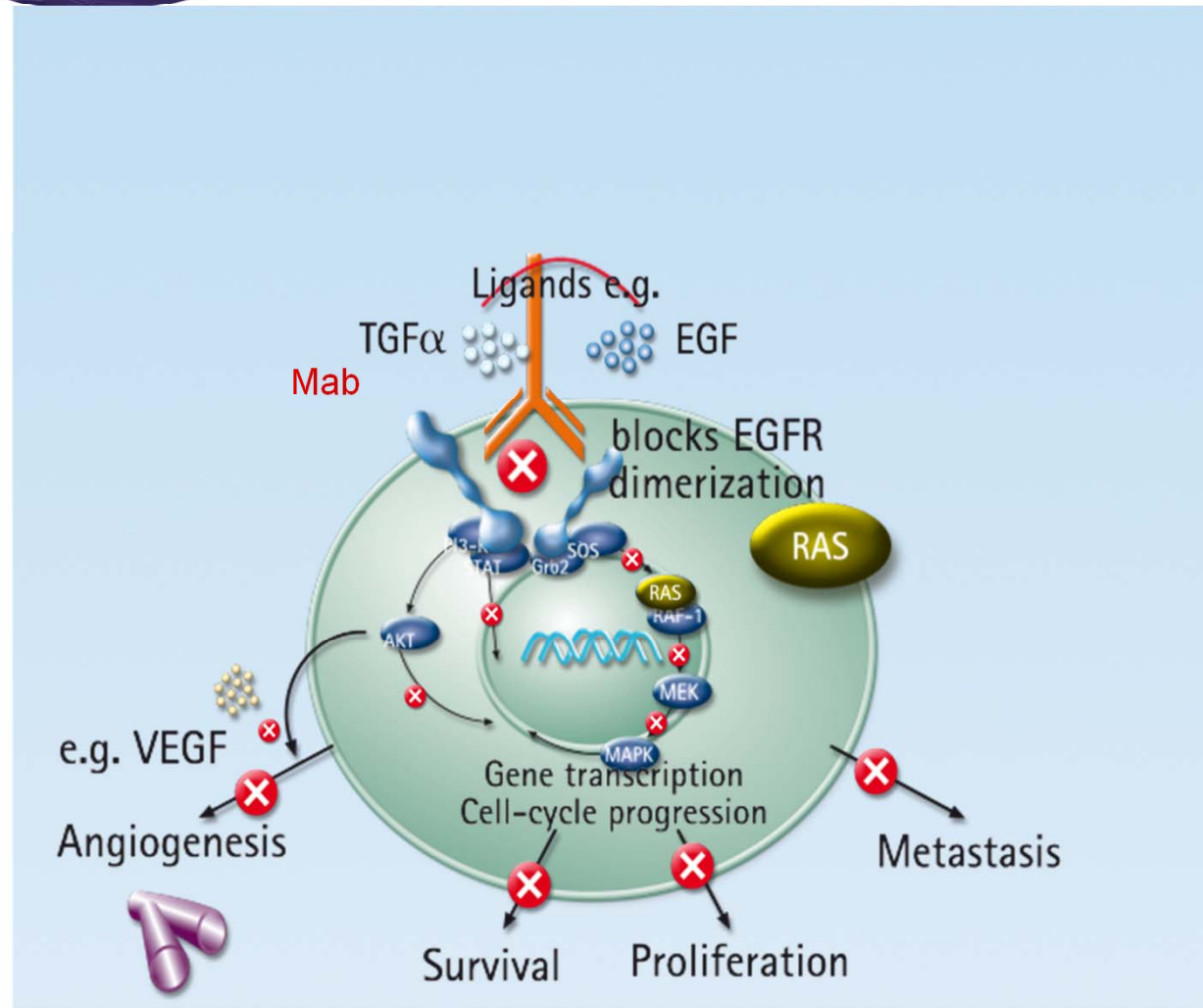
- There are currently two main classes of agents that block EGFR signaling.
- EGFR-targeting antibodies are designed to bind to the extracellular ligand-binding domain of the EGFR, to block endogenous ligand binding (eg: EGF, TGF-alpha) and the subsequent signal transduction mediated via the receptor-associated tyrosine kinase, preventing phosphorylation of the EGFR and other downstream proteins in the signal transduction cascade.[1-3]
- MAbs are designed to be highly specific for the EGFR, to bind and inhibit the function of the EGFR.[1,3]
- The receptor-antibody complex is then internalized and degraded, resulting in receptor cell surface downregulation.[3,4]
- Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) act on the adenosine triphosphate (ATP) site of the intracellular domain by inhibiting EGFR autophosphorylation. Depending on the nature of the TKI, EGFR inhibition can be reversible or irreversible.[5]
- Treatment with such antibodies and TKIs has been shown to inhibit the growth of some EGFR-expressing tumor cells and human tumor xenografts. In vitro studies have shown this occurs by promoting apoptosis and cell cycle interruption.[6-10]

LA; 18.11.2008

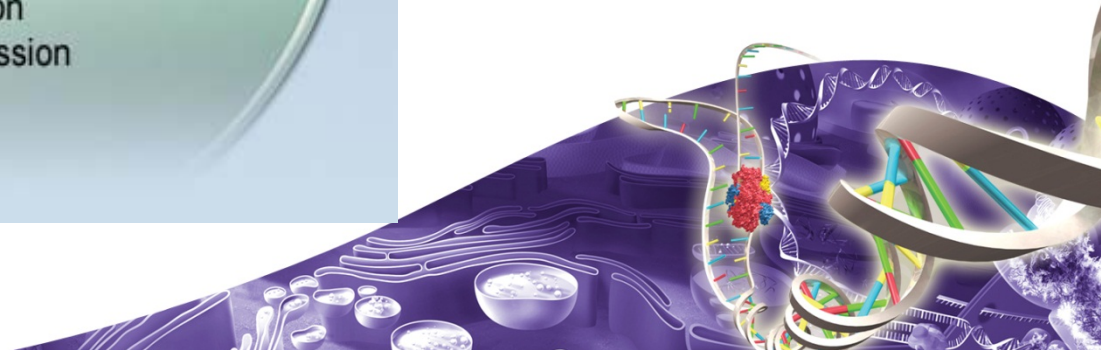
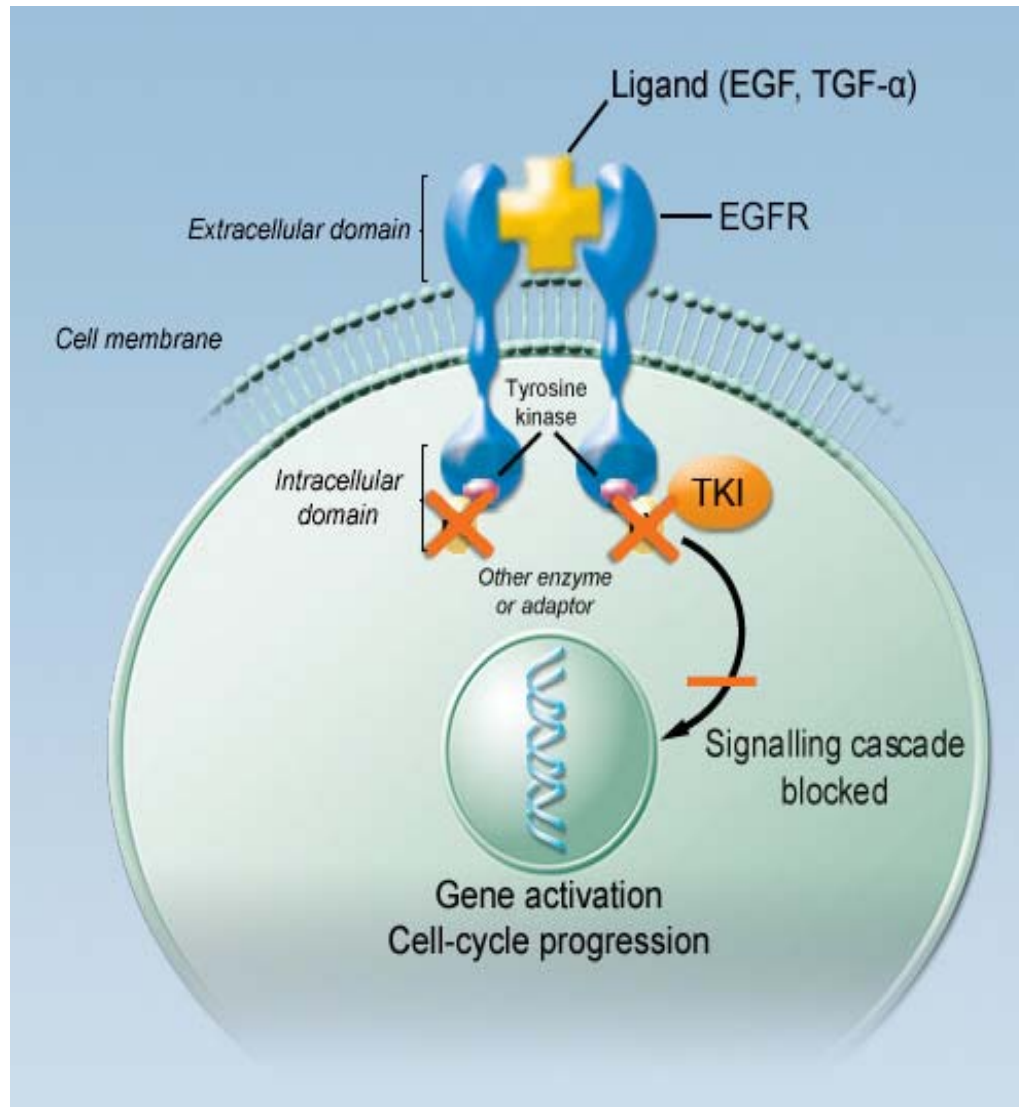
MAb EGFR inhibisyonu



EGFR ve KRAS

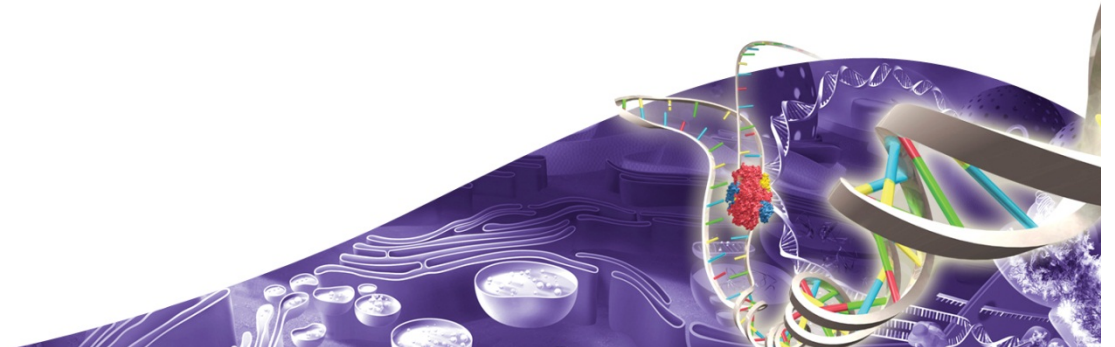


TK İnhibitörleri ile İnhibisyon

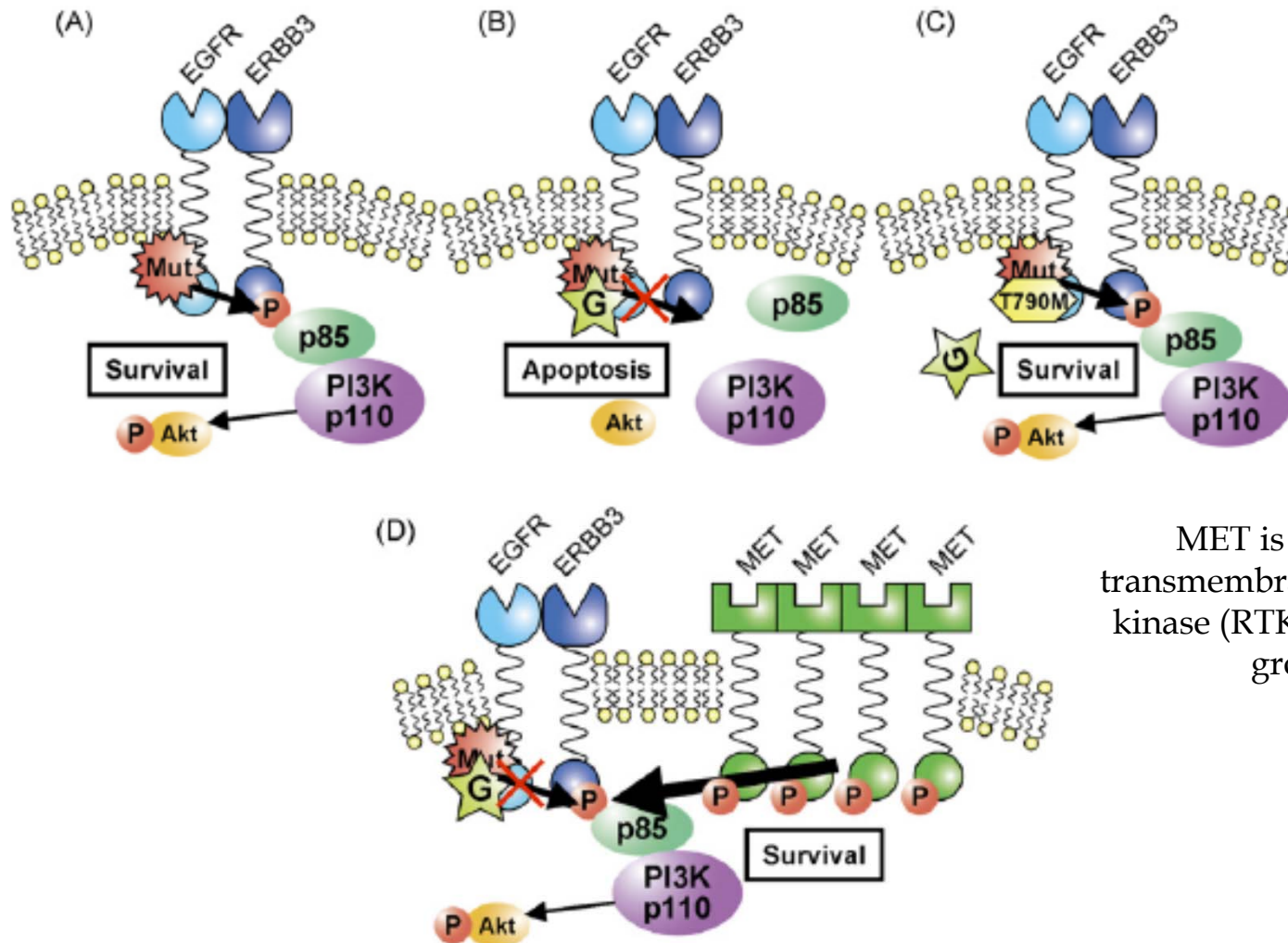




- EGFR’de bazı mutasyonlar ligandsız işlev görmekte ve selektif olarak Akt ve STAT sinyal yolunu aktive etmektedir (hücre sağkalımı artırmakta)
- İn vitro model sistemlerle yapılan deneylerde EGFR’nin mutant formları [G719S (ekzon18), L858R (ekzon21), ekzon 19 delesyon ve ekzon 20’de insersiyon) transforming aktivitelerinin olduğunu tespit etmişlerdir



TKI Direnç



MET is a heterodimeric transmembrane receptor tyrosine kinase (RTK) for the hepatocyte growth factor



O4

Mechanisms of acquired resistance to EGFR-TKIs. (A) Activating mutations of the EGFR gene (red star) result in constitutive activation of tyrosine kinase without ligand binding. This then turns on survival signal through pathways including the PI3K/Akt pathway. Phosphorylated tyrosine residues of ERBB3 are the main binding sites for p85, a regulatory subunit of PI3K. (B) When gefitinib (G) is administered, EGFR tyrosine kinase is specifically inhibited and survival signal is shut down leading to apoptosis of cancer cells. (C) When secondary threonine-to-methionine mutation at codon 790 of the EGFR gene (T790M) is acquired, bulkier methionine residue prevents gefitinib from binding EGFR-TK. (D) Alternatively, when MET is activated by amplification, ERBB3 is phosphorylated by MET. Even when EGFR-TKI is inhibited by gefitinib, activation of the PI3K/Akt pathway is maintained through ERBB3 phosphorylation. In this case, co-administration of EGFR-TKI and MET inhibitor can block survival signal.

OrtAk; 20.11.2008

Teşekkür ederim

