

AMPLITUDE GENÉTICA DA AVALIAÇÃO DOS NEUROBLASTOMAS: O QUE NOS CONTA?

Thamiris Magalhães Gimenez



PESQUISA TRANSLACIONAL

T0

Definir
mecanismos
base da
doença

T1

testar os
achados
básicos da
pesquisa
para efeitos
clínicos

T2

testar novas
intervenções
sob
ambientes
controlados

T2

testar novas
intervenções
sob
ambientes
controlados

T3

explorar
formas de
aplicar
diretrizes em
práticas
gerais

T4

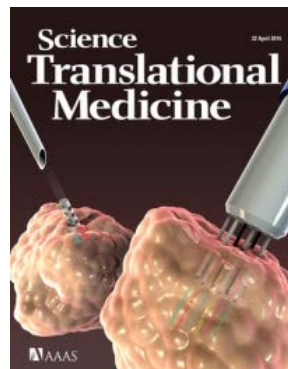
estudar
influencias
na saude da
população

MEDICINA TRANSLACIONAL



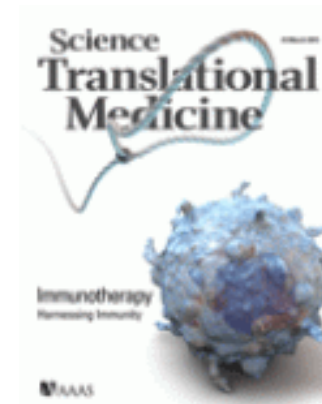
Personalized genomic analyses for cancer mutation discovery and interpretation

Velculescu2,*Science Translational Medicine 15 Apr 2015:



An implantable microdevice to perform high-throughput in vivo drug sensitivity testing in tumors Langer1,6,*

Science Translational Medicine 22 Apr 2015:



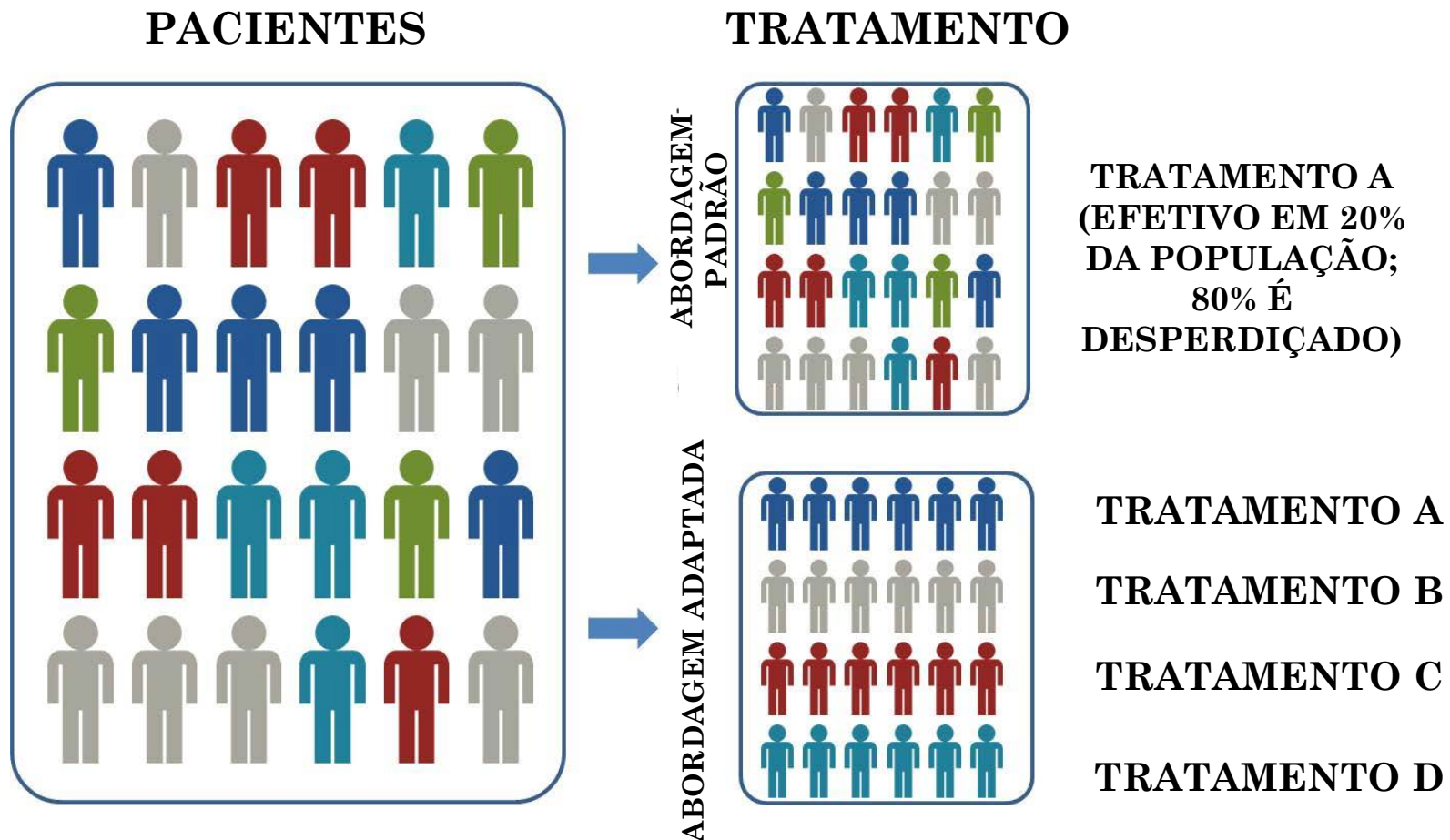
On being less tolerant: Enhanced cancer immunosurveillance enabled by targeting checkpoints and agonists of T cell activation Wolchok1,2

Science Translational Medicine 25 Mar 2015:



APLICAÇÃO DESTE NOVO CONCEITO

TRATAMENTO PERSONALIZADO



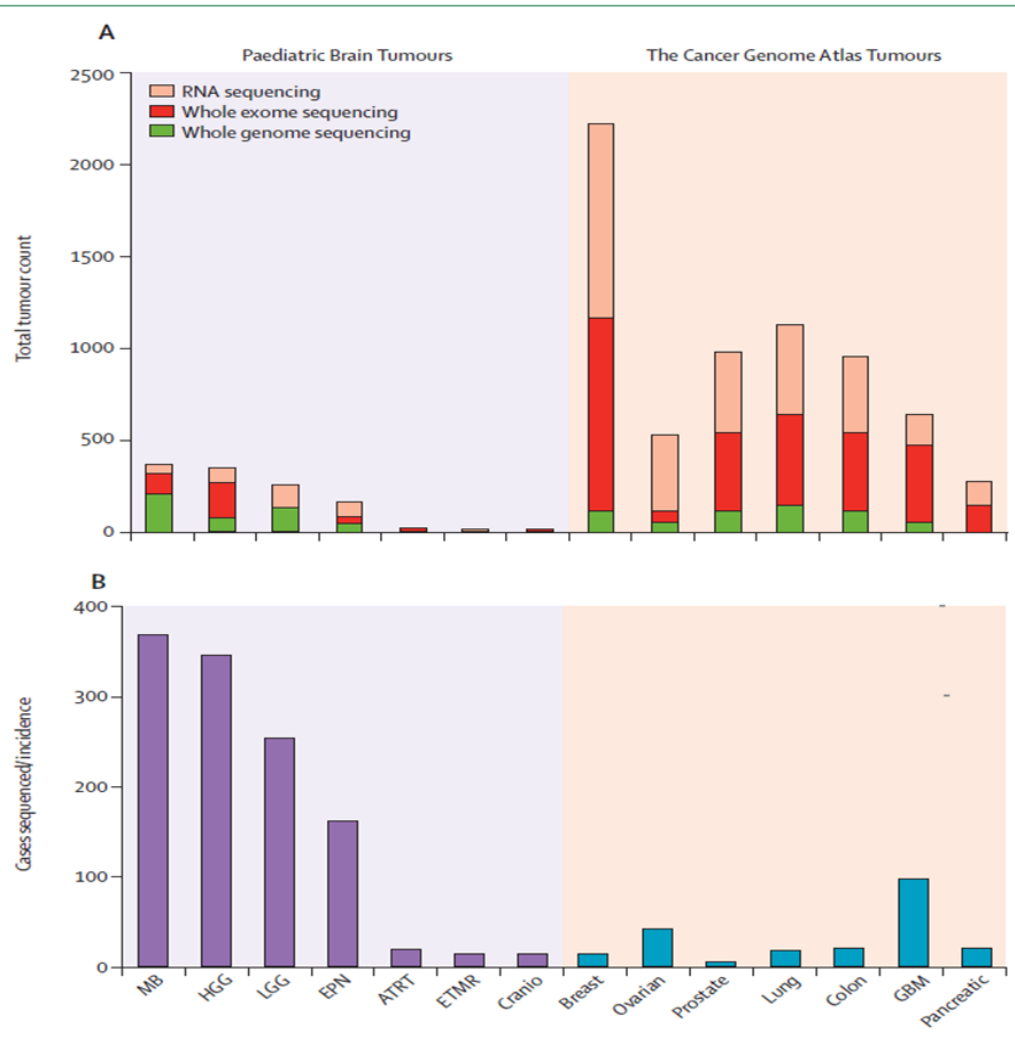


Figure 2: Inventory of published next-generation sequencing data for childhood brain tumours versus common adult cancers
 (A) Cumulative summary of published next-generation sequencing (whole genome sequencing, whole exome sequencing, and RNA-seq) data generated for childhood brain tumours compared to commonly diagnosed adult cancers studied by the Cancer Genome Atlas, to July 2014. (B) Summary of the published next-generation sequencing data shown in (A), normalised according to the approximate incidence (US) of each tumour type. MB=medulloblastoma. HGG=high grade glioma. LGG=low grade glioma. EPN=ependymoma. ATRT=atypical teratoid rhabdoid tumour. ETMR=embryonal tumour with multi-layered rosettes. GBM=glioblastoma multiforme.

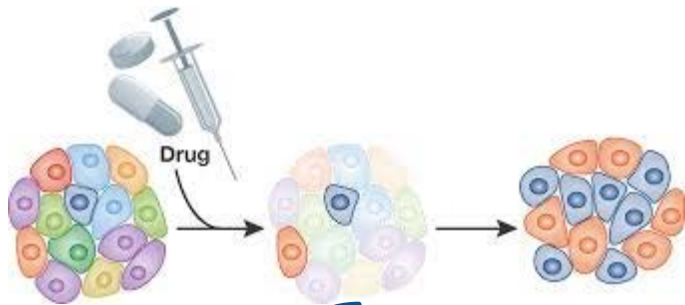
O genoma humano possui cerca de 19.000 genes

Os genes que codificam 12 mil proteínas.

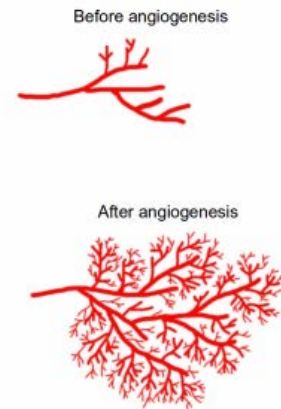
Menos de 60% das sequências de DNA humano até agora são consideradas como sendo genes codificantes.

BIOMARCADORES

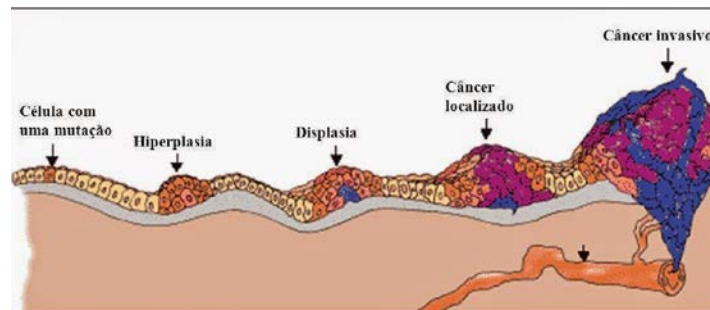
RESISTÊNCIA A DROGAS



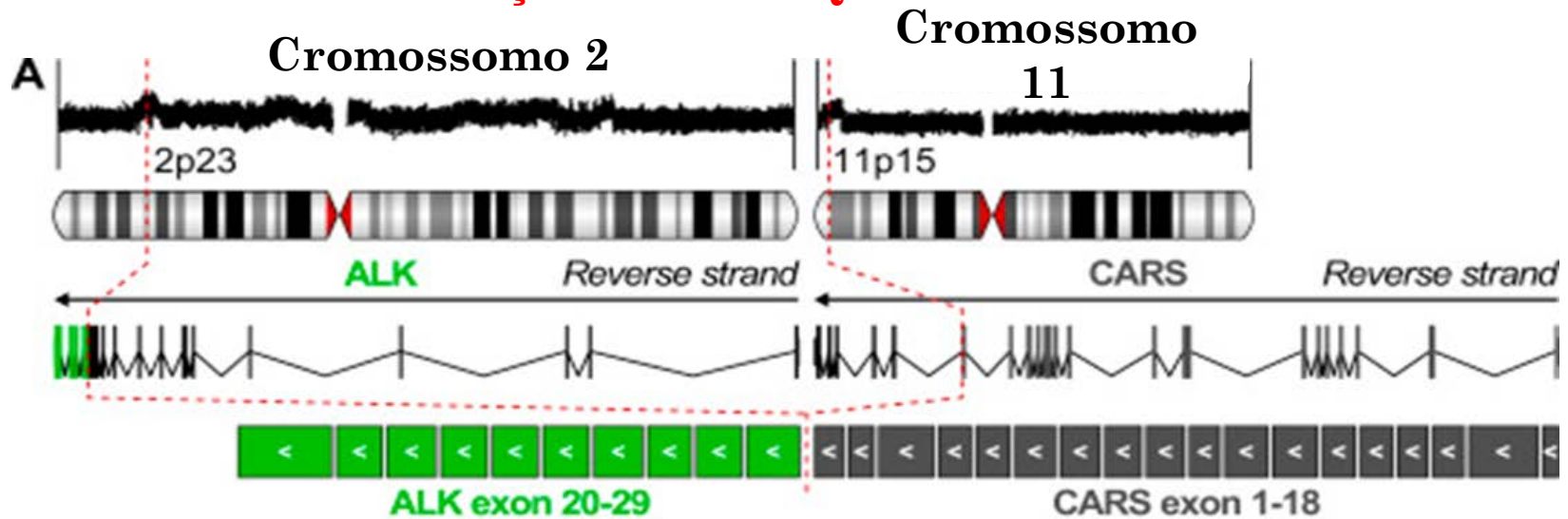
ANGIOGÊNESE



PROGRESSÃO DO TUMOR

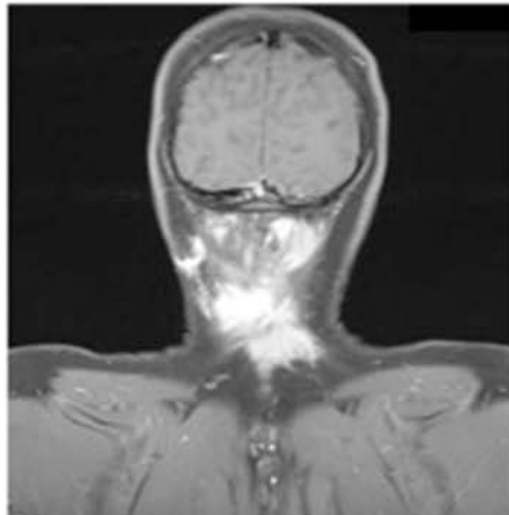


EXEMPLO DE APLICAÇÃO DA PESQUISA-MEDICINA TRANSLACIONAL.

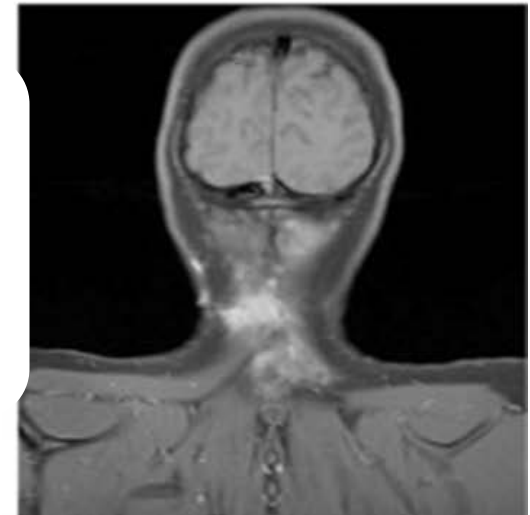


B

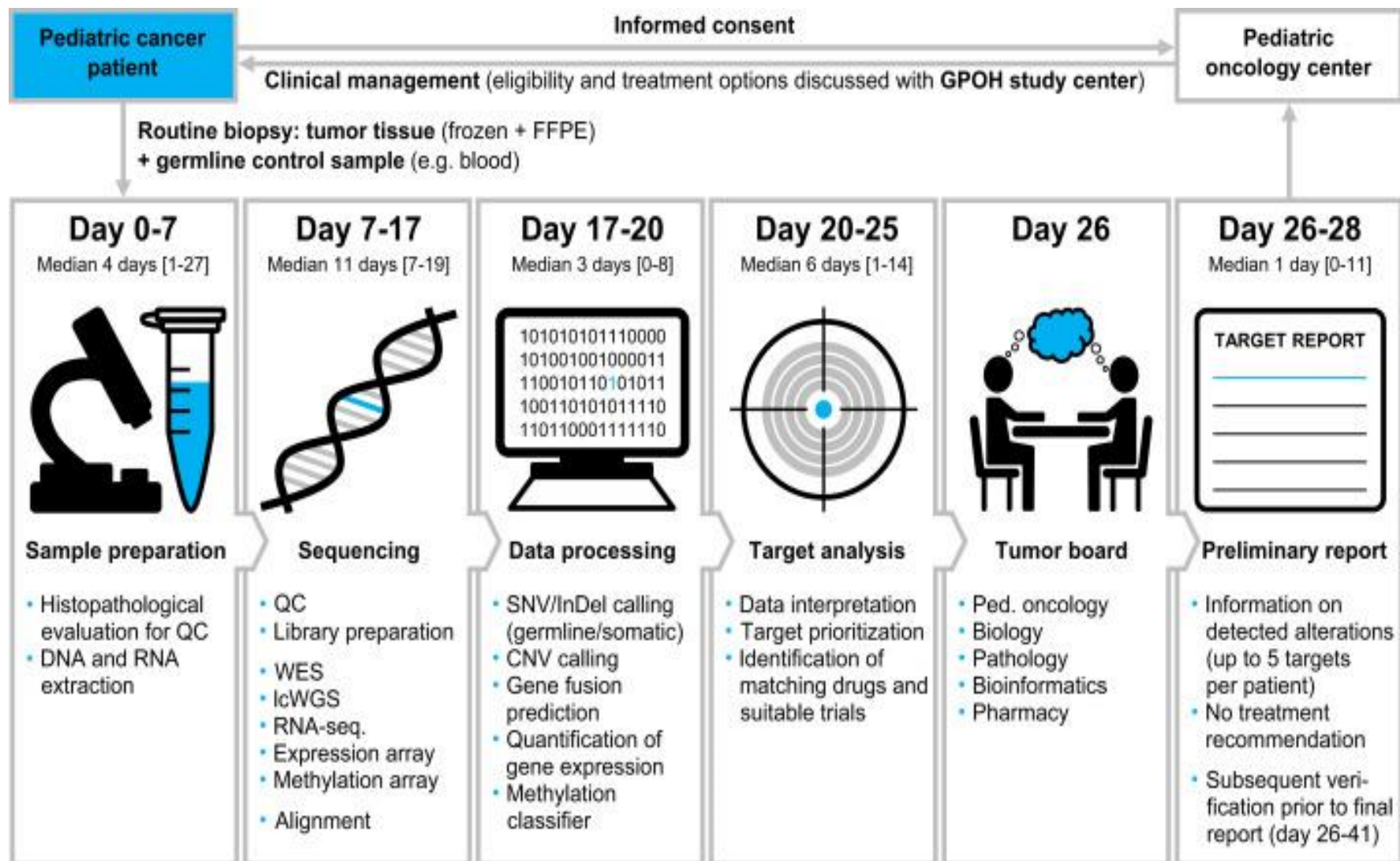
Avaliação
da
doença
primária



Avaliação
da doença
após 6
semanas
de
tratament
o com
inibidor
de ALK

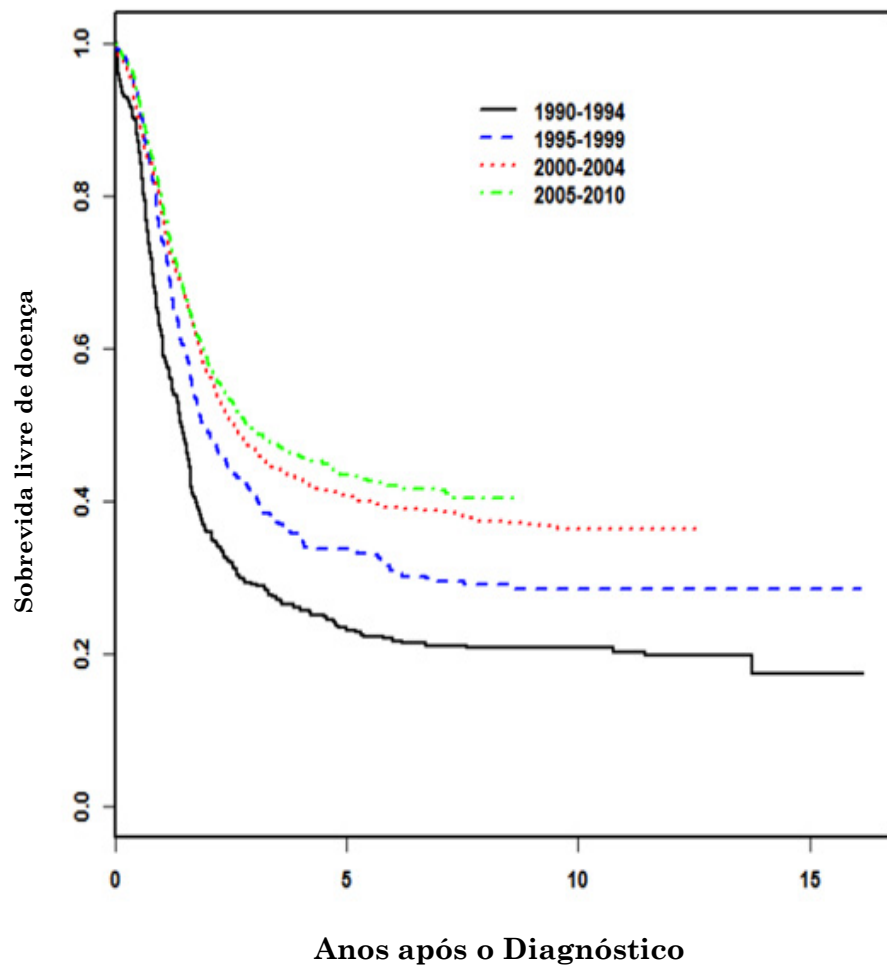


DA BANCADA AO CONSULTORIO - ETAPAS A SEREM SEGUIDAS:

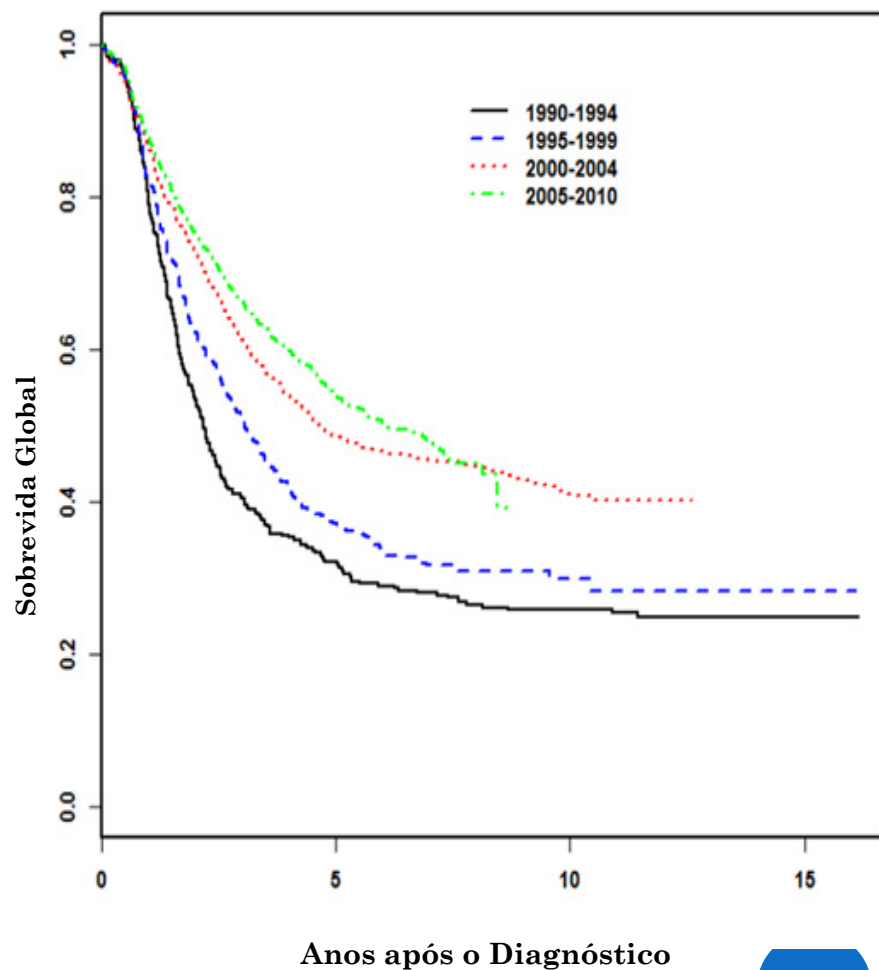


PESQUISA TRANSLACIONAL EM NEUROBLASTOMA

A.



B.



Variantes germinativas patogênicas candidatas em 222 casos de neuroblastoma - WES.

Gene	posição genômica	troca cDNA	troca proteína
<i>ALK</i>	chr2:29432664	c.3824G>A	p.Arg1275Gln
<i>CHEK2</i>	chr22:29121242	c.433C>T	p.Arg145Tro
<i>CHEK2</i>	chr22:29121015	c.542G>A	p.Arg181His
<i>CHEK2</i>	chr22:29121018	c.539G>A	p.Arg180His
<i>PINK1</i>	chr1:20972133	c.1040T>C	p.Leu437Pro
<i>PINK1</i>	chr1:20971042	c.836G>A	p.Arg279His
<i>BARD1</i>	chr2:21567051	c.334C>T	p.Arg112*
<i>BARD1</i>	chr2:215595215	c.1921C>T	p.Arg641*
<i>TP53</i>	chr17:7578194	c.655C>T	p.Pro219Ser
<i>PALB2</i>	chr16:23646182	c.1684+1C>A	Splice no p.Gly562

GENES COM FREQUENCIA SIGNIFICANTE DE MUTAÇÕES SOMÁTICAS DENTRE 240 TUMORES DE NEUROBLASTOMAS

Gene	descrição	mutações	pacientes	locais únicos	missense	perda de função	expresso em neuroblasto ma
<i>ALK</i>	tirosina quinase	22	22	7	22	0	sim
<i>PTPN11</i>	proteína tirosina fosfatase	7	7	6	7	0	sim
<i>ATRX</i>	proteína remodeladora de cromatina	6	6	6	3	3	sim
<i>OR5T1</i>	receptor olfatório	3	2	3	3	0	não
<i>PDE6G</i>	fosfodiesterase	2	2	2	2	0	não
<i>NRAS</i>	GTPase	2	2	2	2	0	sim



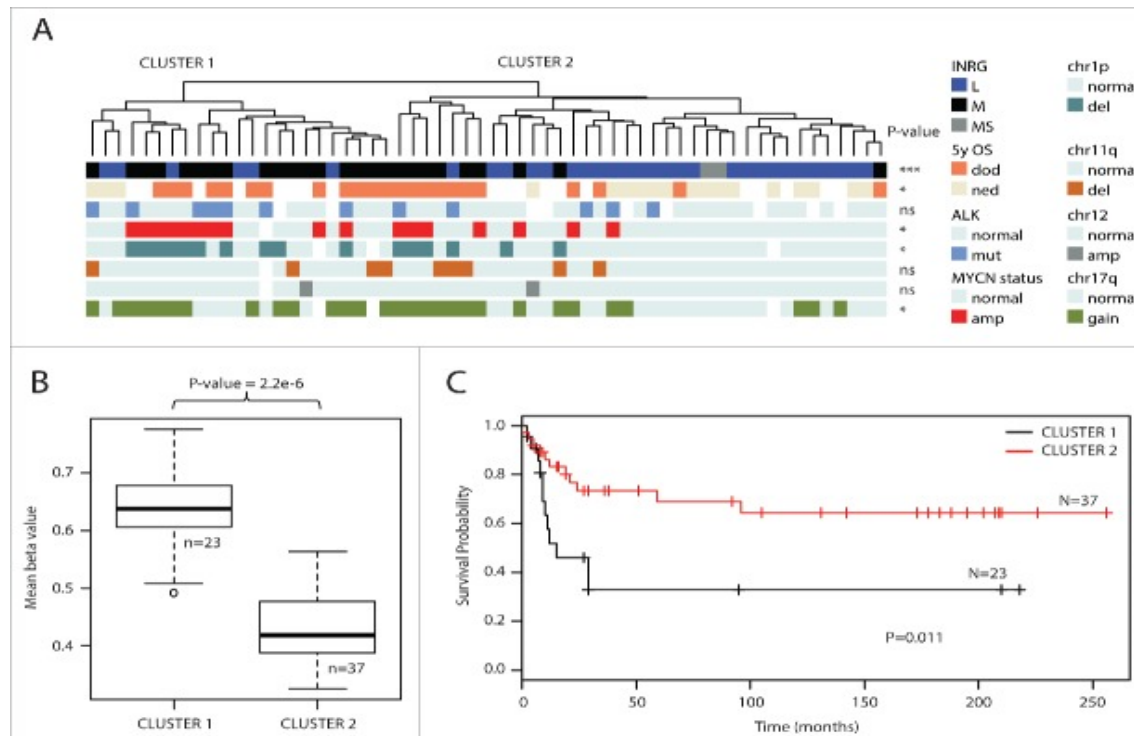
Classificação de funções de genes candidatos relacionados a neuroblastoma

VIAS E FUNÇÕES	GENES
Rede de via de sinalização comum a muitas RTK e outras quinases intracelulares	<i>BRAF, PTPN11, PDGFRA, HRAS, KRAS, NRAS, NF1, KIT, TIAM1, MDM2, PIK3CA, ERBB2, FGFR4, TP53, EGFR, PTEN, NTRK1, CDKN2A/B, CDKN1C, PTPRD, MYCN, ALK, CDK4/6, CHEK2, RB1, RBMS3, CCND1, BARD1, BCOR, PINK, BRCA2, FANCA, PALB2</i>
Multiplicação e Apoptose	<i>PTPN11, ALK, CDK4/6, CHEK2, RB1, PTEN, CDKN2A/B, PTPRD, CDKN1C, MYCN, RBMS3</i>
Reparo de DNA	<i>BRCA2, FANCA, CHEK2, PALB2</i>
Transferencia de célula de câncer e angiogenese	<i>TIAM1, RBMS3</i>
Via de sinalização relacionada ao desenvolvimento embrionário	<i>APC AXIN2, CTNNB1, FBXW7, PHOX2B, OS9, GLI1, PTCH1, LMO1</i>
Sinalização por WNT	<i>APC, AXIN2, CTNNB1</i>
Sinalização por NOTCH	<i>PHOX2B, FBXW7, TP53, CCND1</i>
Sinalização por Hedgehog	<i>PTCH1, OS9, GLI1</i>
Genes possivelmente relacionados com MYCN	<i>ALK, LIN28, ODC1, CDK4, MDM2, DDX1, NAG e outras moléculas reguladoras de MYCN nas vias de sinalização relacionadas a MYCN</i>
Remodelamento da cromatina	<i>ARID1A/B, ATRX</i>



PADRÃO DE METILAÇÃO - genes diferencialmente expressos comparando estágio L e estágio M

gene	função
<i>TERT</i>	telomerase
<i>TRIM36</i>	diferenciação, proliferação e crescimento celular
<i>PIRT</i>	migração
<i>KRT9</i>	apoptose



N - PACIENTES - ESTUDO ITACI

	grupo 1 n=15	grupo 2 n=15	grupo 3 n=15	grupo 4 n=15	grupo 5 n=15	grupo 6 n=15
estágio	3 e 4	3 e 4	3 e 4	3 e 4	1 e 2	1 e 2
MYCN	positivo	positivo	negativo	negativo	negativo	negativo
idade	< 18 meses	> 18 meses	<18 meses	> 18 meses	< 18 meses	> 18 meses



Paciente	Estágio	Idade ao diagnóstico (meses)	Sexo	Risco INS	MLPA	Tecido	Sobrevida /pós diagnóstico	Evolução pós diagnóstico	Quimioterapia pós diagnóstico	Acompanhamento do status de diagnóstico Resultado / meses
CASO 1	3	17	F	alto	11p-,+17p,+9p	abdominal	36	Progressão – 3ª. recaída	ctx/doxo, neuro 2010, temodal/irino, gem/taxotere	Em tratamento
CASO 2	3	48	M	alto	+3p, 11q-, +17p, +9p	abdominal	45	tumor irressecável, estável. Completou tratamento	neuro 2000, temodal irino, genc/taxoterealive	Em tratamento
CASO 3	3	14	F	alto	+2p, +17q.MNA	abdominal	9		NEURO 2010	Em tratamento
CASO 4	4	36	M	alto	+2p, +9p, 11q+, +17q.MNA	abdominal	156			Óbito
CASO 5	3	13	M	alto	1p-,+2p, +3p, +17q.MNA	abdominal	4	doença refratária e óbito em 12/07/2015	neuro 2010, temodal/irino, gemc/taxot	Óbito
CASO 6	3	17	M	alto	1q - , 11p - , +17q	abdominal	13		NEURO 2010	Em tratamento
CASO 7	4	20	F	alto	11q-,+9p	abdominal	47			Em tratamento
CASO 8	3	30	F	alto	1q - , 11p - , +11q, +17q	abdominal	10			Em tratamento
CASO 9	4	15	F	alto	+3p, +11q, +17p	abdominal	3		NEURO 2010	Em tratamento
CASO 10	4	24	M	alto	1q - , +3p, 11p - , +17p	abdominal	60	Progressão e óbito em 13/12/2012	neuro 2000 e temodal/irino	Óbito

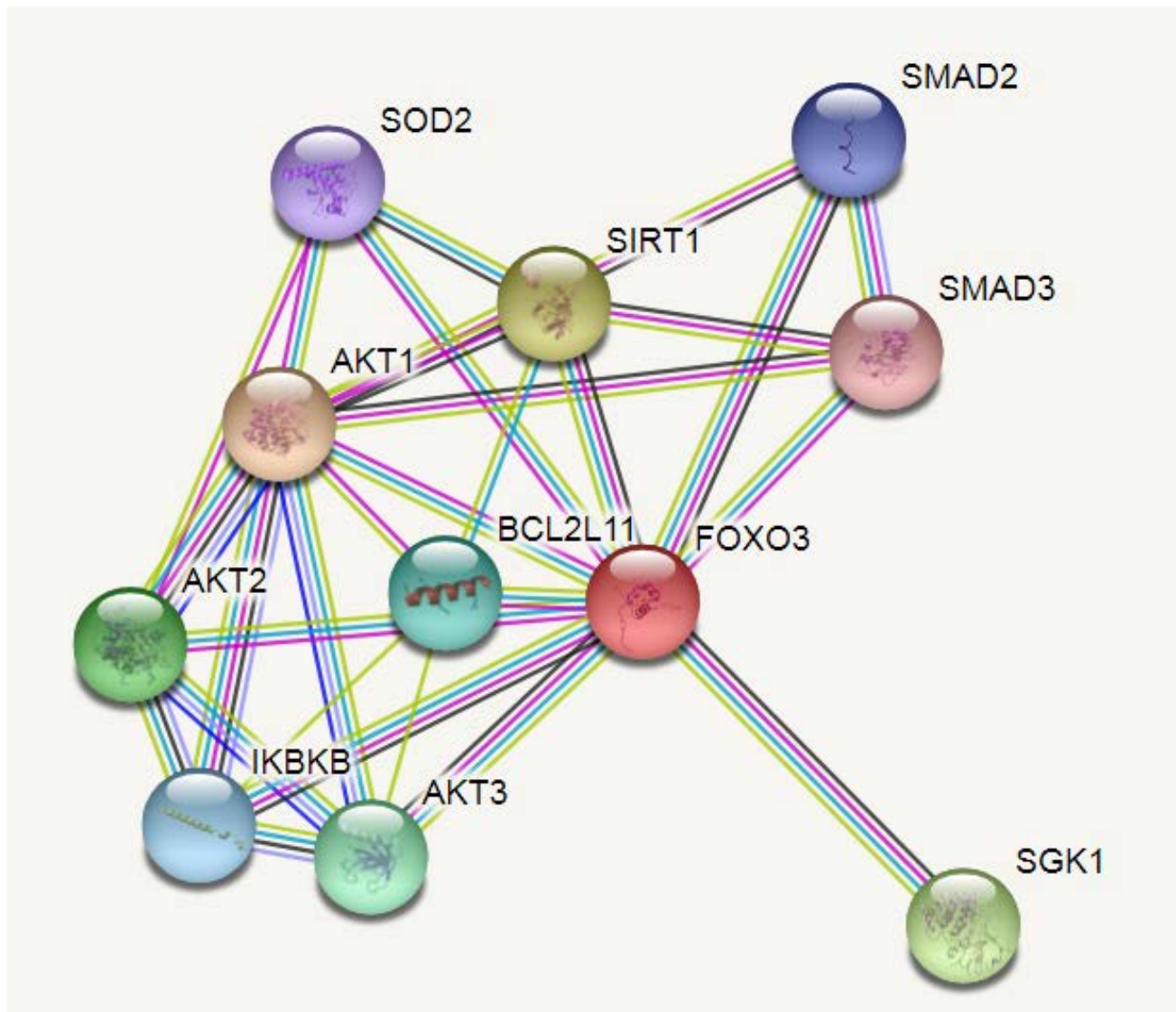
Cromossomo	gene	Função exônica	dbSNP	COSMIC	CLINVAR	Referências
chrX	<i>ATRX</i>	não sinônima SNV	rs3088074	1 –intestino grosso	Outros	Bodian DL, et al. (2014)
chr2	<i>ALK</i>	não sinônima SNV	rs1881421	1 –intestino grosso	Não testado	Richards S, et al. (2015)
chr7	<i>PTK2B</i>	não sinônima SNV	rs751019	0	0	Griffioen M, van Bergen CA, Falkenburg JH. (2016)
chr14	<i>VASH-1</i>	Não sinônima	rs 867108481	0	Não testado	
chr15	<i>BLM</i>	não sinônima SNV	rs2227933	0	0	Novak E, et al. (2016)

PACIENTES COM NEUROBLASTOMA

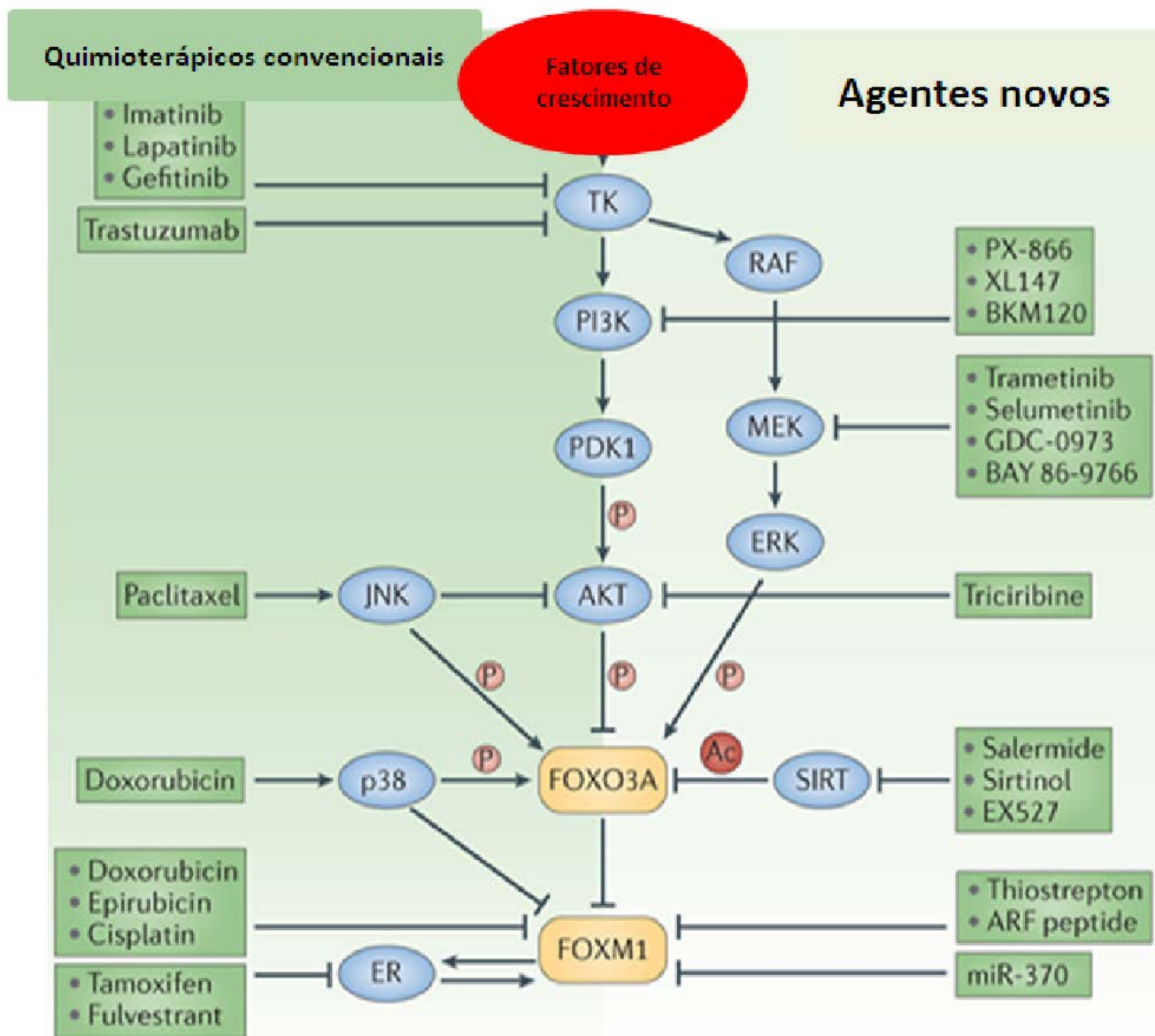
PACIENTE	EXOMA/ DNA TARGET	TRANSCRIPTOMA	Sobrevida /pós diagnóstico	Evolução pós diagnóstico	Acompanhame nto do status de diagnóstico Resultado / meses
CASO 1	<i>ATRX</i> <i>PTK2B</i> <i>HTRA1</i> <i>AHNAK2</i>	<i>NDRG1</i> ↑ <i>CD22</i> ↓	36	Progressão recaída	Em tratamento
CASO 10	<i>BLM</i> <i>FZD1</i> <i>ALK</i> <i>FOXK2</i>	<i>FOXM1</i> ↑ <i>FOXO3</i> ↓	60	Progressão e óbito em 13/12/2012	óbito



REDES GENÔMICAS

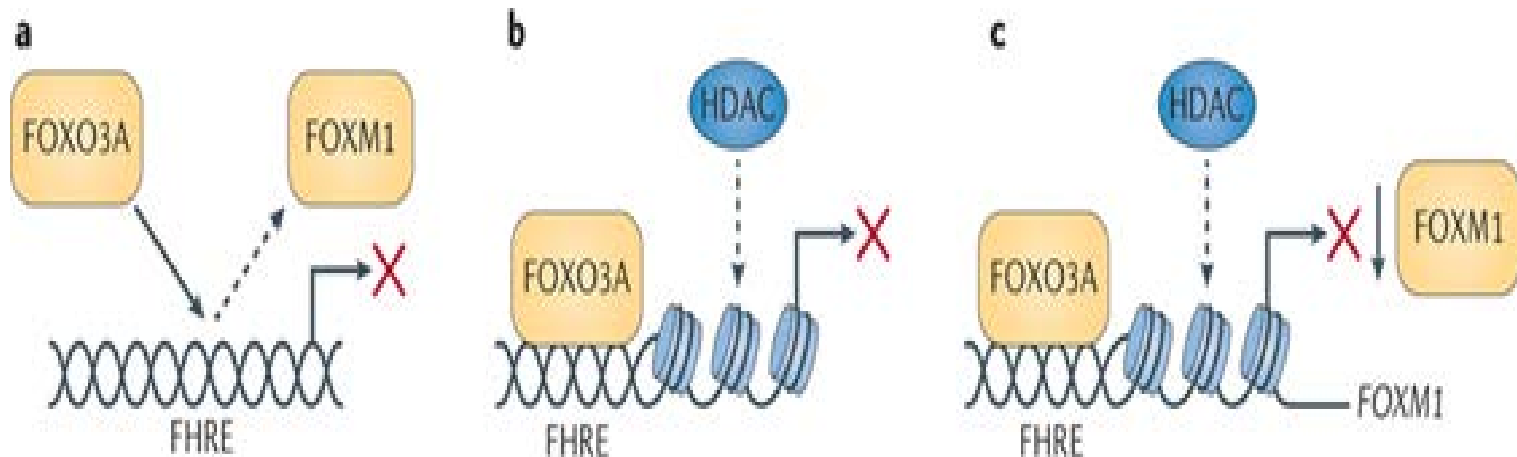


STRING: functional protein association networks .<http://string-db.org/cgi/network.pl>







(Adaptado Lam et al.2013 Nature Review/Cancer)

MECANISMO REGULATÓRIO DOS GENES FOXO3 E FOXM1



WATSON - IBM


Approved for NSCLC		
<input type="checkbox"/>		Afatinib EGF Level 1
<input type="checkbox"/>		Erlotinib EG Level 1
Investigational for NSCLC		
<input type="checkbox"/>		BMS-690514 EGFR Level 3
<input type="checkbox"/>		BAY846 EGFR Level 3
Off Label		

Overview

Literature

Clinical Trials

Afatinib



Target:

EGFR

Relationship to Driver Gene

is Driver Gene

Description

Approved for first line treatment of metastatic NSCLC with EGFR exon 19 deletions and exon 21 L858R alterations.

Drug Sensitivity

EGFR exon 19 deletions

Summary Blurb

Evidence

Drug Resistance

EGFR T790M

Summary Blurb

Evidence

EGFR exon 21 L858R substitutions

Summary Blurb

Evidence

Mechanism of action

Afatinib demonstrated inhibition of autophosphorylation and in vitro proliferation of cell lines expressing wild-type EGFR or those expressing selected EGFR exon 19 deletion mutations or exon 21 L858R mutations, including some with a secondary T790M mutation, at afatinib concentrations achieved, at least transiently, in patients. In addition, afatinib inhibited in vitro proliferation of cell lines overexpressing HER2.

Treatment with afatinib resulted in inhibition of tumor growth in nude mice implanted with tumors either overexpressing wild type EGFR or HER2 or in on EGFR L858R/T790M double mutant model.

Os desafios enfrentados pela medicina personalizada:

1. Identificação e entendimento do genes alvos do crescimento do tumor
2. Identificação de drogas que possam atingir esses genes alvo
3. Encontrar novos caminhos para superar a resistencia a drogas
4. Desenvolver testes clínicos melhores para testar novas drogas

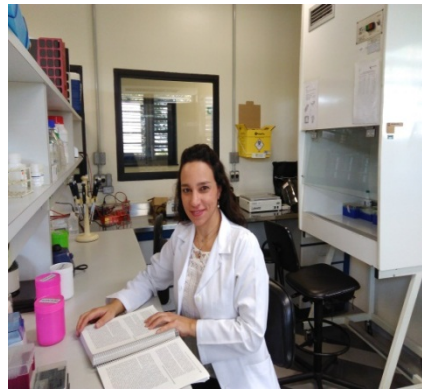


LABORATÓRIO DE PESQUISA TRANSLACIONAL DO INSTITUTO DO TRATAMENTO DO CANCER INFANTIL - ITACI

Coordenador: Dr. Vicente Odone Filho



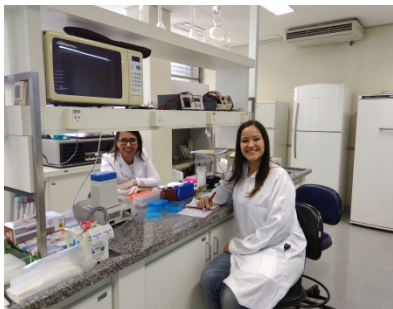
Thamiris Magalhes Gimenez.
Ana Carolina Smuk.



Luciana Bento de Souza



**Pesquisadores
Clínicos do ITACI**



Vanessa Pretes

Pesquisadora—Colaboradora: Dra Estela Maria Novak



COLABORADORES



Departamento de Genética e Biologia Evolutiva

Dra Ana Krepischi
Silvia Costa



-Laboratório Investigação Médica- Pediatria - Lim 36

Dra. Andreia Rangel



Centro Internacional de Pesquisa-CIPE

Dr. Fabio A. Marchi



Instituto de Biociências

Dr. Marco Lopez



AGRADECIMENTOS

