

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

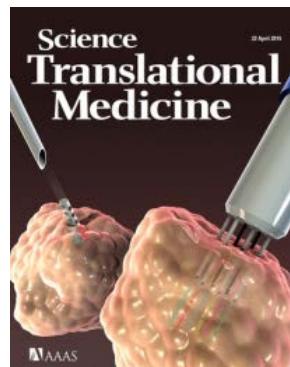
estudar
influencias
na saude da
população

MEDICINA TRANSLACIONAL



**Personalized genomic analyses for
cancer mutation discovery and
interpretation**

Velculescu^{2,*} Science Translational
Medicine 15 Apr 2015:

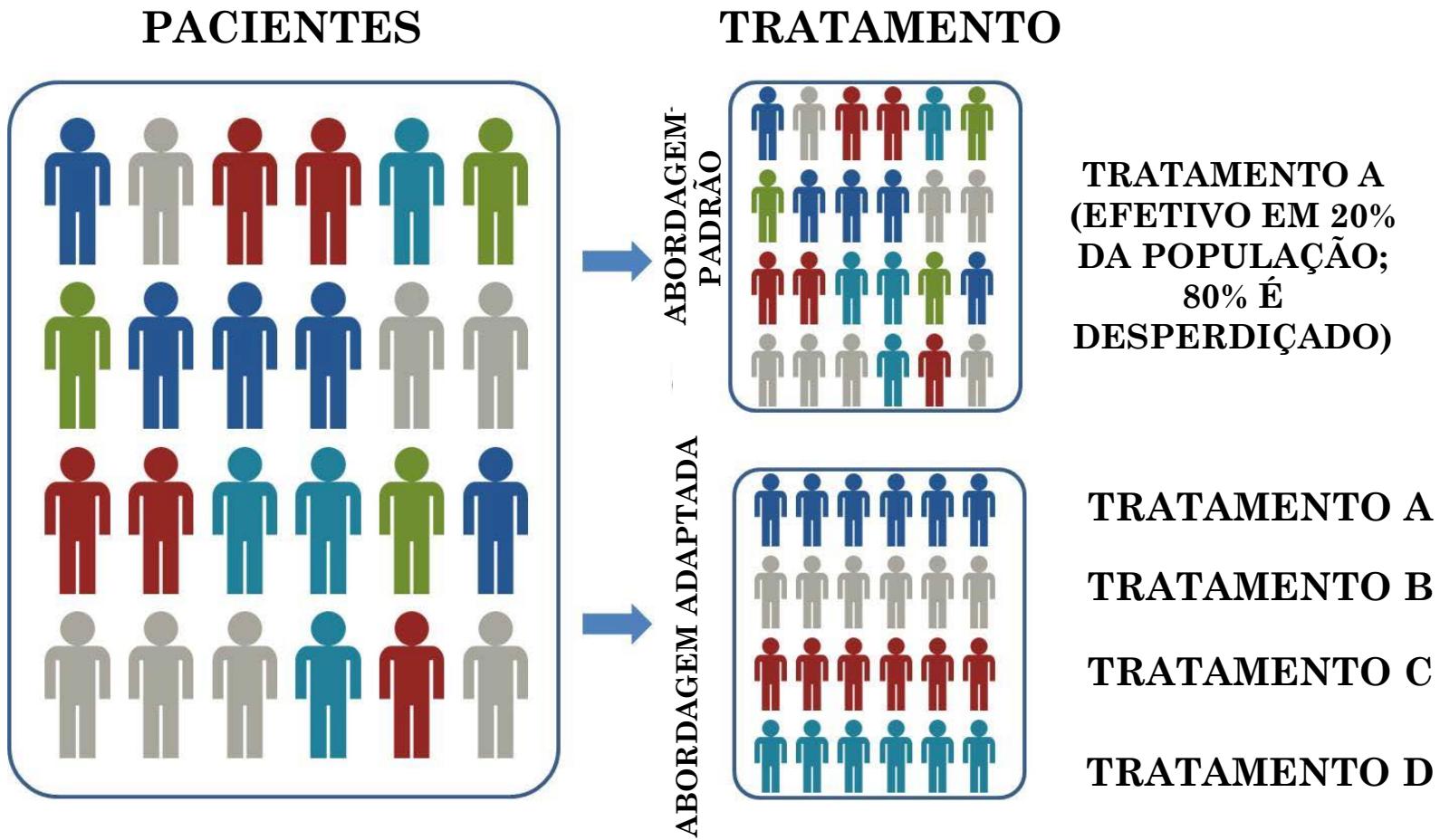


An implantable microdevice to perform high-throughput *in vivo* drug sensitivity testing in tumors
Langer^{1,6,*}
Science Translational Medicine 22 Apr 2015:



On being less tolerant: Enhanced cancer
immunosurveillance enabled by targeting checkpoints
and agonists of T cell activation
Wolchok^{1,2}
Science Translational Medicine 25 Mar 2015:

APLICAÇÃO DESTE NOVO CONCEITO TRATAMENTO PERSONALIZADO



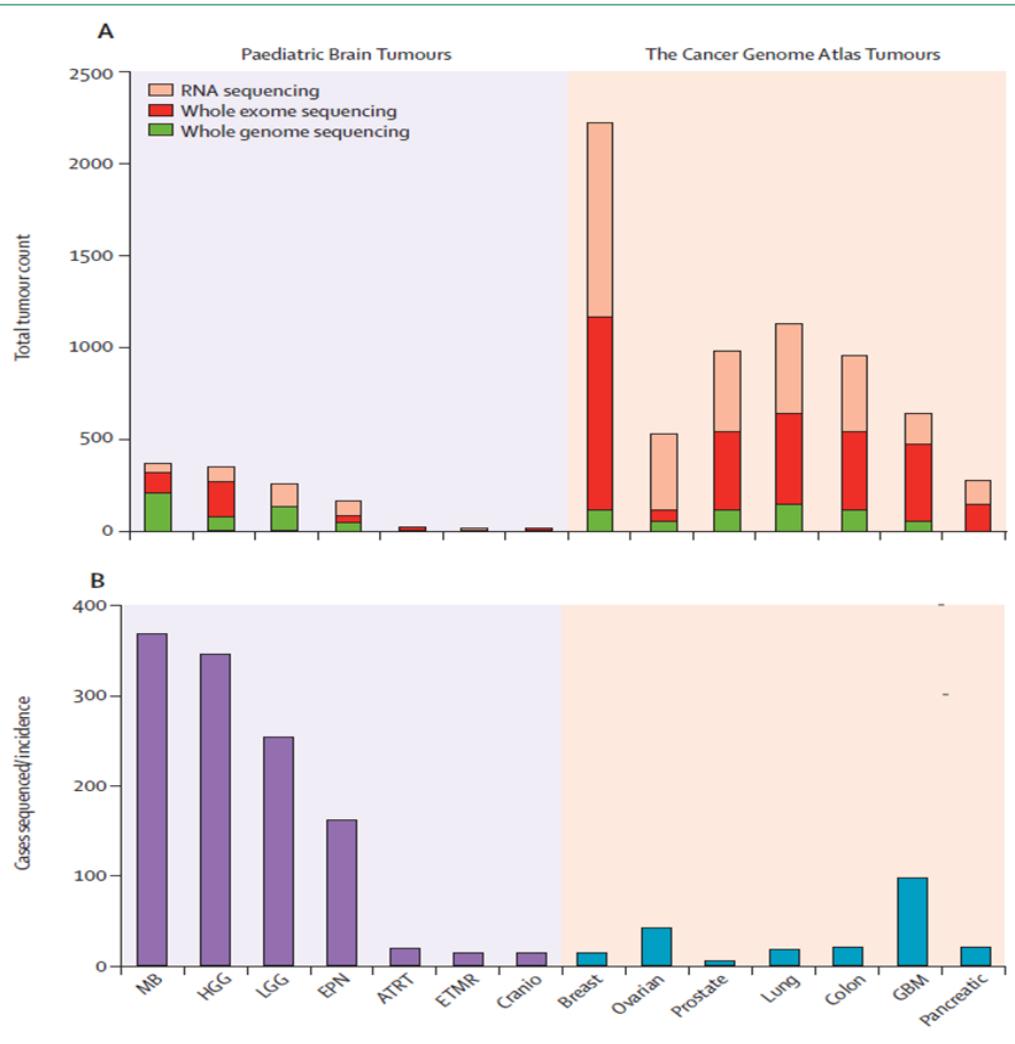


Figure 2: Inventory of published next-generation sequencing data for childhood brain tumours versus common adult cancers

(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.

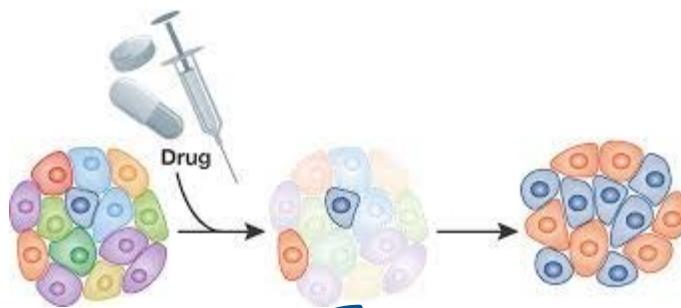
O genoma humano possui cerca de 19.000 genes

Os genes que codificam 12 mil proteínas.

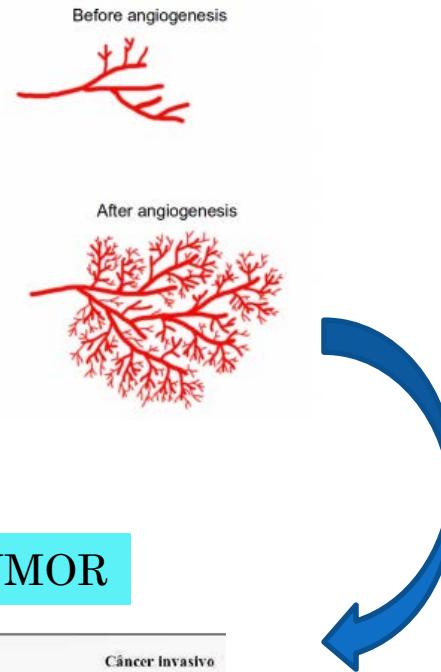
Menos de 60% das sequências de DNA humano até agora são consideradas como sendo genes codificantes.

BIOMARCADORES

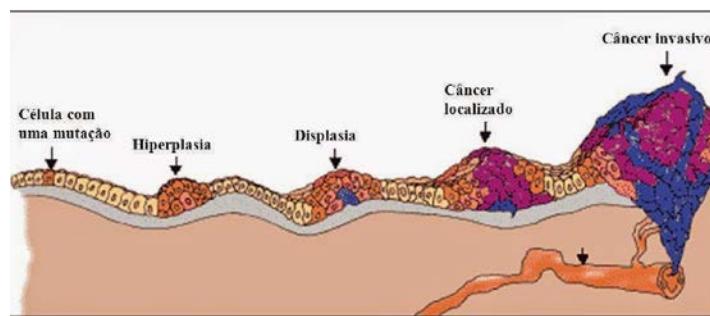
RESISTÊNCIA A DROGAS



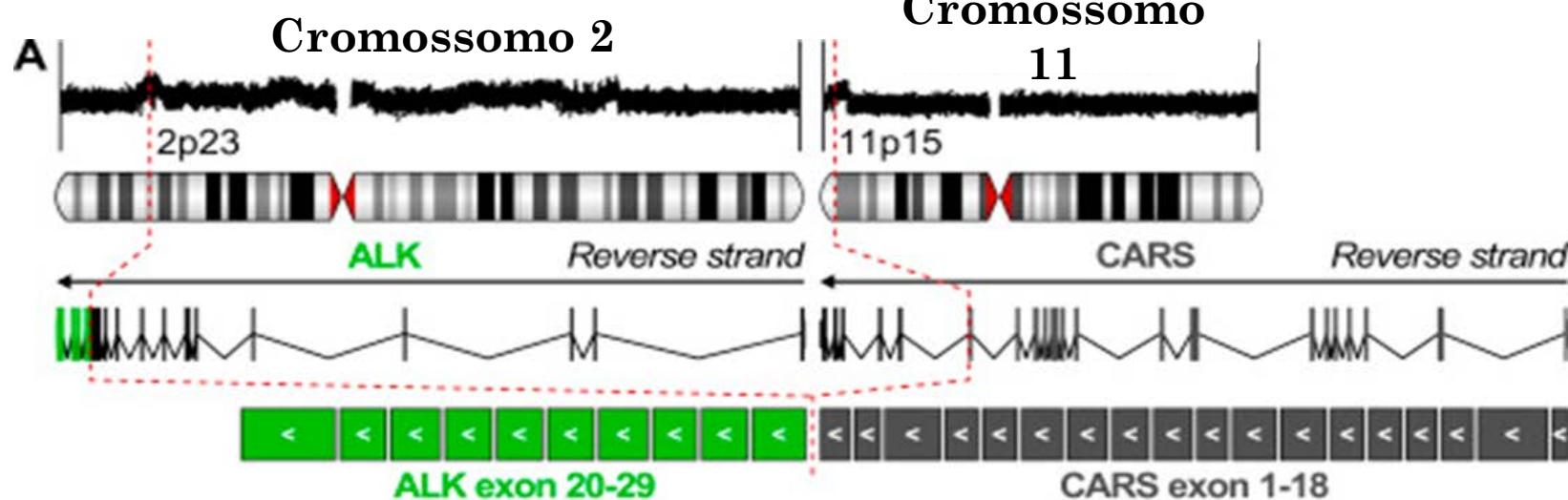
ANGIOGÊNESE



PROGRESSÃO DO TUMOR

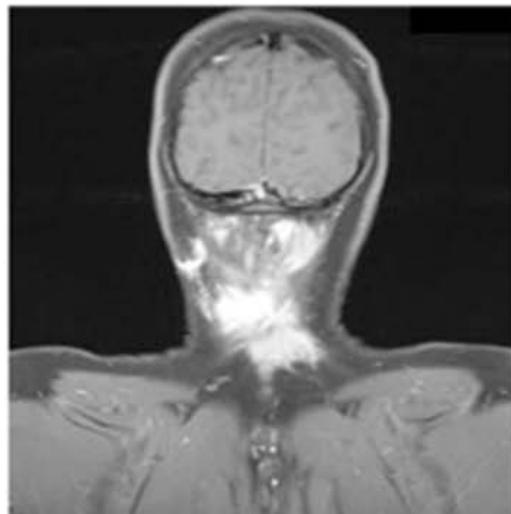


EXEMPLO DE APLICAÇÃO DA PESQUISA-MEDICINA TRANSLACIONAL.

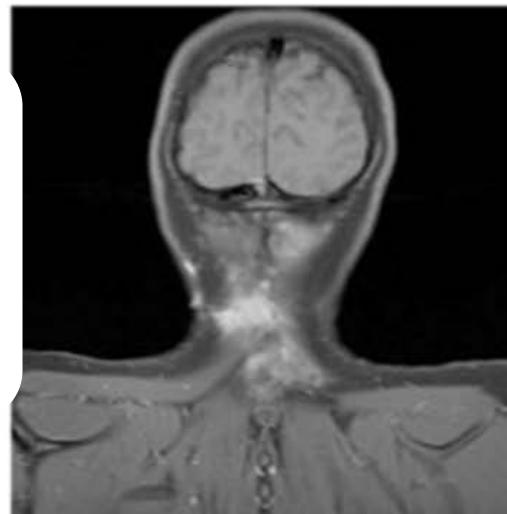


B

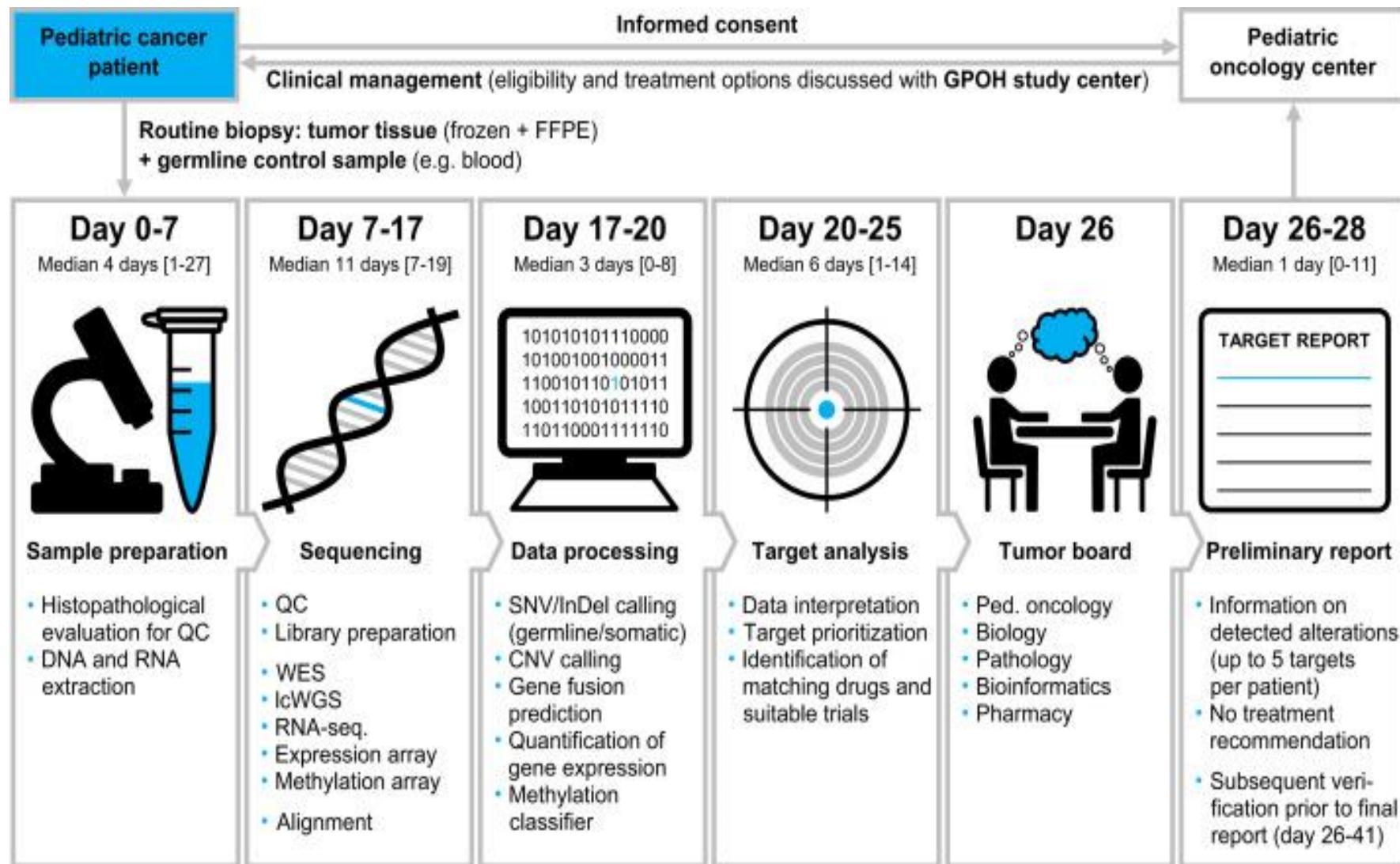
Avaliação
da
doença
primária



Avaliação
da doença
após 6
semanas
de
tratamento
com
inibidor
de ALK



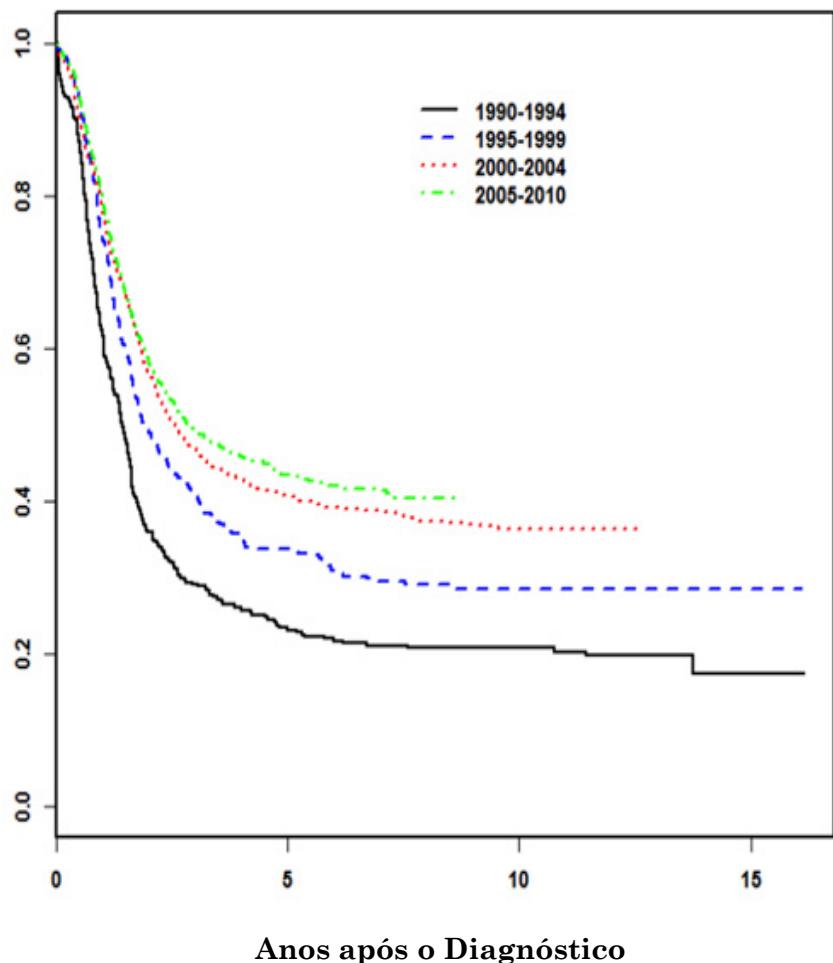
DA BANCADA AO CONSULTORIO - ETAPAS A SEREM SEGUIDAS:



PESQUISA TRANSLACIONAL EM NEUROBLASTOMA

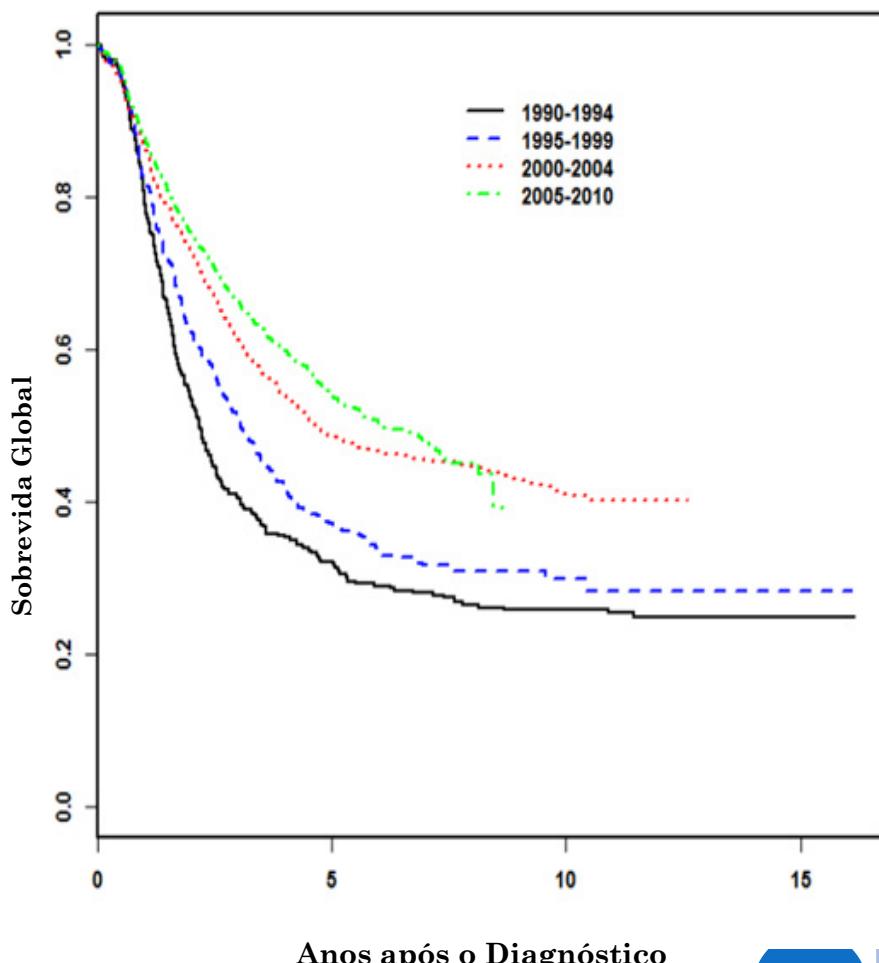
A.

Sobrevida livre de doença



B.

Sobrevida Global



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

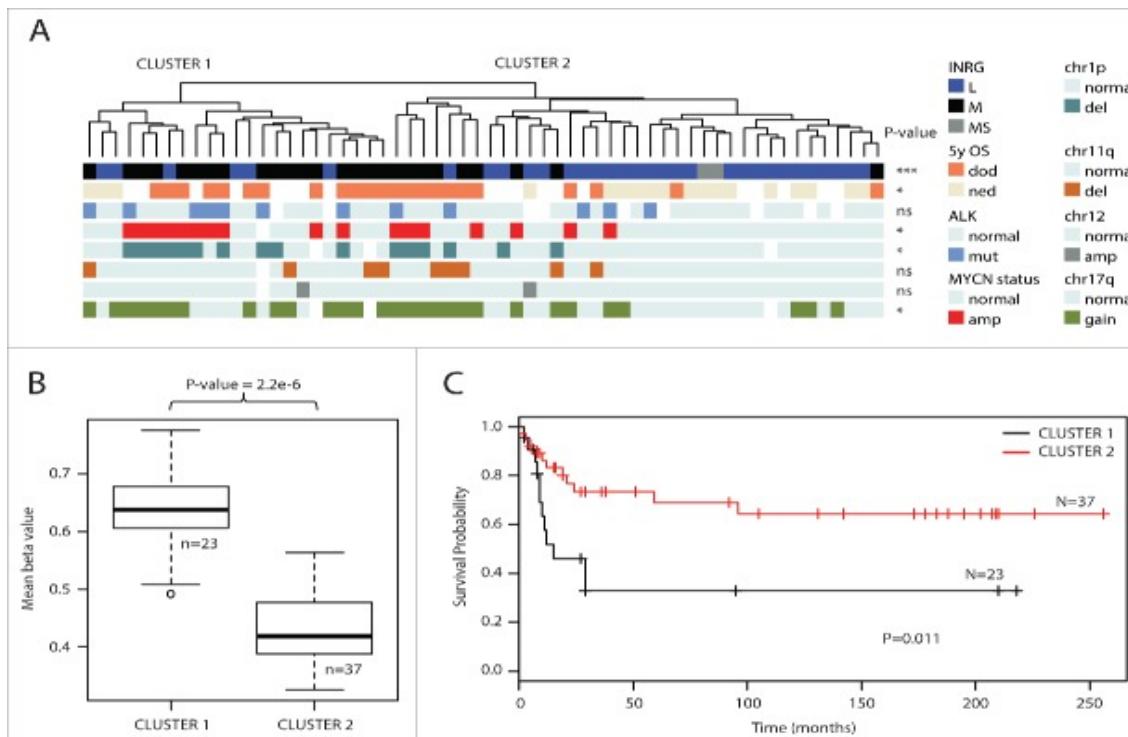
Gene	descrição	mutações	pacientes	locais únicos	missense	perda de função	expresso em neuroblastoma
<i>ALK</i>	tirosina quinase	22	22	7	22	0	sim
<i>PTPN11</i>	proteína tirosina fosfatase	7	7	6	7	0	sim
<i>ATRX</i>	proteína remodeladora de cromatina	6	6	6	3	3	sim
<i>OR5T1</i>	receptor olfatório	3	2	3	3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



Olsson et.al (2016)

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

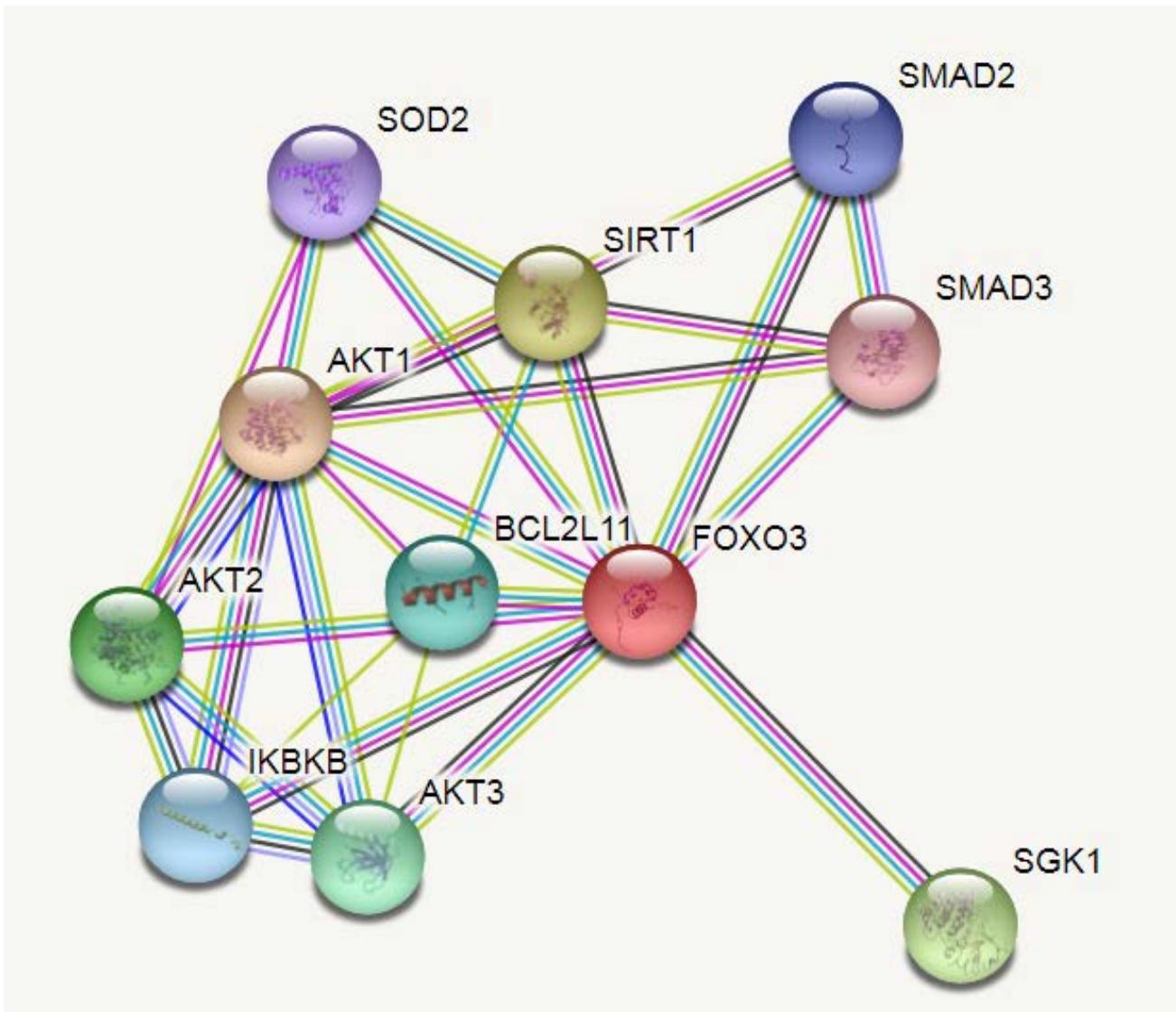
Paciente	Estágio	Idade ao diagnóstico (meses)	Sexo	Risco INS S	MLPA	Tecido	Sobrevida /pós diagnóstico	Evolução pós diagnóstico	Quimioterapia pós diagnóstico	Acompanhamento do status de diagnóstico Resultado / meses
CASO 1	3	17	F	alto	11p-,+17p, +9p	abdominal	36	Progressão – 3ª. recaída	ctx/doxo, neuro 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, genc/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

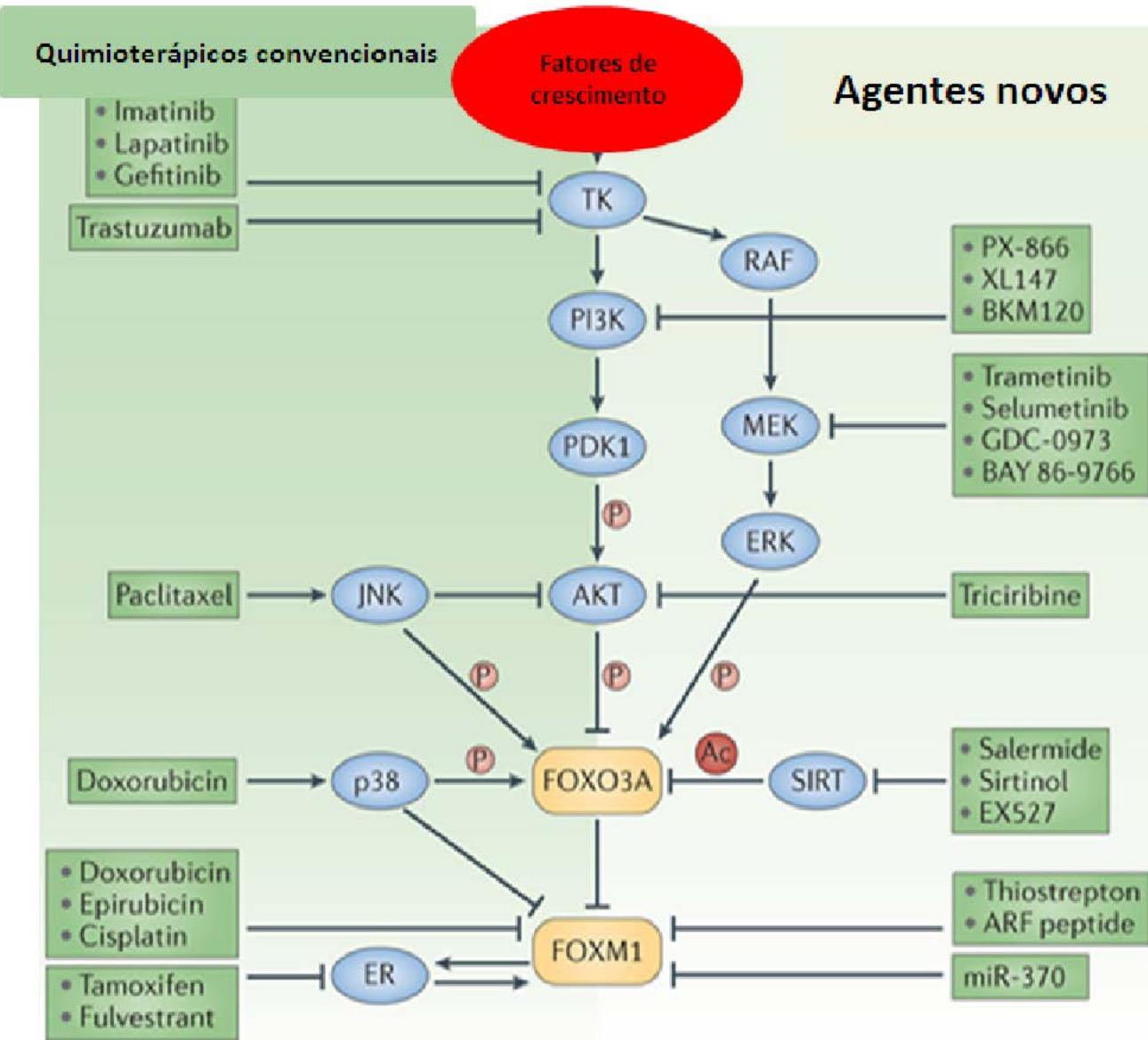
Cromossomo	gene	Função exônica	dbSNP	COSMIC	CLINVAR	Referências
chrX	<i>ATRX</i>	não sinônima SNV	rs3088074	1 –intestino grosso	Outros	Bodian DL, et al. (2014)
chr2	<i>ALK</i>	não sinônima SNV	rs1881421	1 –intestino grosso	Não testado	Richards S, et al. (2015)
chr7	<i>PTK2B</i>	não sinônima SNV	rs751019	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

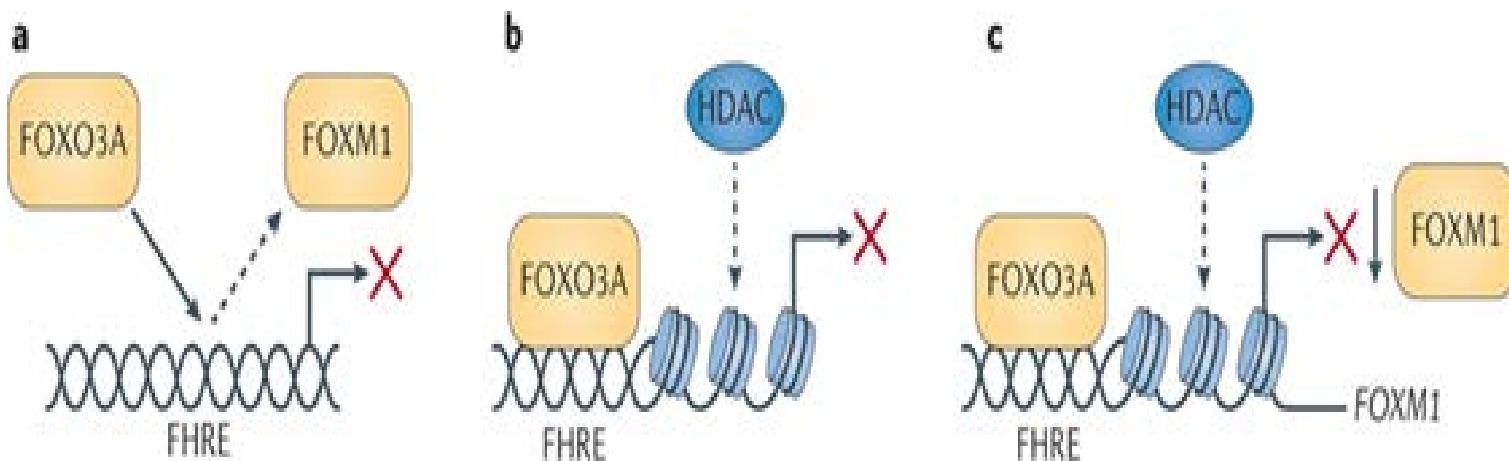
PACIENTE	EXOMA/ DNA TARGET	TRANSCRIPTOMA	Sobrevida /pós diagnóstico	Evolução pós diagnóstico	Acompanhame nto do status de diagnóstico Resultado / meses
CASO 1	<i>ATRX</i> <i>PTK2B</i> <i>HTRA1</i> <i>AHNAK2</i>	<i>NDRG1</i> ↑ <i>CD22</i> ↓	36	Progressão recaída	Em tratamento
CASO 10	<i>BLM</i> <i>FZD1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

REDES GENÔMICAS





MECANISMO REGULATÓRIO DOS GENES FOXO3 E FOXM1



(Fonte: Lam et al. Nature Review/Cancer.2013).

WATSON - IBM

Overview Literature Clinical Trials

Approved for NSCLC

 Afatinib
EGF
Level 1

 Erlotinib
EG
Level 1

Investigational for NSCLC

 BMS-690514
EGFR
Level 3

 BAY846
EGFR
Level 3

Off Label

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 outophosphorylation 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 ofotinib concentrations achieved, at least transiently, in patients. In addition, ofotinib inhibited in vitro proliferation of cell lines overexpressing HER2.

Treatment with ofotinib 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

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 CÁNCER INFANTIL - ITACI

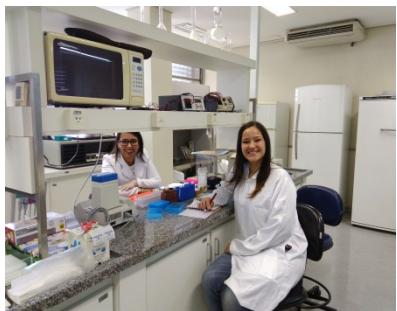
Coordenador: Dr. Vicente Odone Filho



Thamiris Magalhés Gimenez.
Ana Carolina Smuk.



Luciana Bento de Souza



Vanessa Pretes

**Pesquisadores
Clínicos do ITACI**

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

