



International Symposium on:

The Impact of Genomic Deep Sequencing on Paediatric Research and Clinical Practice

HIGHLIGHTS



**Fondazione
Internazionale
Menarini**



Bologna

19-20 Novembre 2015

HIGHLIGHTS

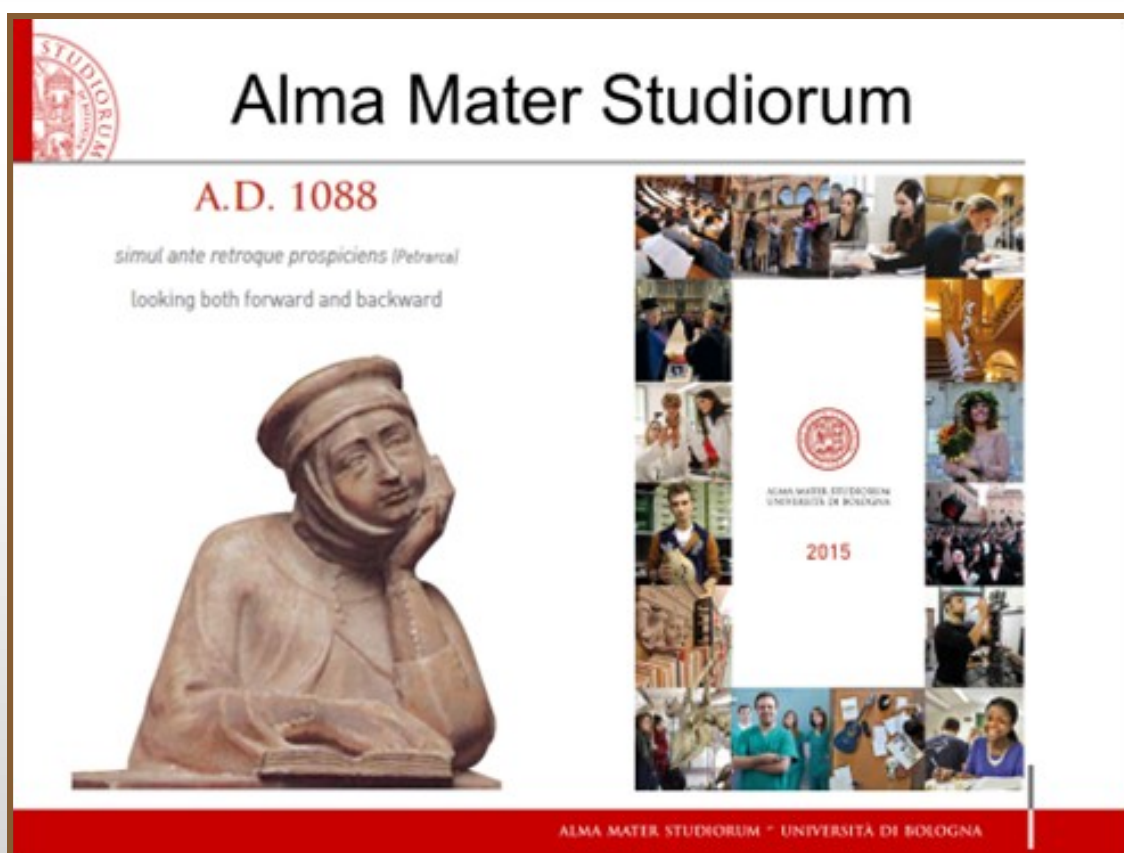
Welcome to Bologna

Il Prof. Pession ha aperto il Convegno ricordando l'importanza che la Scuola Medica bolognese ha avuto nel tempo passato ed ha tutt'ora nel nostro paese.

Il Prof. Pession ha quindi sottolineato come la ricerca medica attuale abbia fatto, in pochissimi anni, passi da gigante grazie allo sviluppo della genomica, una scienza che non può non essere conosciuta da parte della classe medica per il suo impatto sia sulla ricerca ma anche sulla stessa pratica medica.



Andrea Pession
(Bologna, I)



Un nuovo approccio terapeutico: la medicina basata sulla genomica

Il Prof. Hakonarson di Filadelfia ha focalizzato la sua presentazione sulle strategie di sequenziamento con uno specifico impatto sull'identificazione di quei pazienti che, grazie al loro corredo genetico, possono presumibilmente essere trattati con farmaci in grado di modificare vie di azione ben definite e networks genetici. Fra gli approcci terapeutici che avranno un impatto fondamentale sulla cura di specifiche malattie attualmente definite non curabili dobbiamo ricordare la terapia basata sulle cellule staminali e l'utilizzo di cellule T "targetizzate" su specifiche proteine antigeniche di origine neoplastica. La percentuale di pazienti in età pediatrica affetta da patologie croniche o neoplastiche è decisamente alta, sfiora il 15% della popolazione di pari età. A Filadelfia, da anni, è stata imboccata la strada della ricerca basata sullo studio della genomica applicata alla terapia medica al fine di individuare una strategia terapeutica efficace su alcune delle principali malattie debilitanti che colpiscono l'età infantile. Inoltre, attraverso l'implementazione di un network fra tutti i ricercatori che lavorano su simili obiettivi nel mondo, l'intento finale è quello di identificare sia delle terapie efficaci che pazienti sensibili a queste specifiche terapie e, di conseguenza, potenzialmente "curabili". Il Prof. Hakonarson ha quindi presentato dati veramente interessanti su alcune delle principali patologie che colpiscono soggetti in età pediatrica.



Hakon Hakonarson
(Philadelphia, USA)

Impact of Chronic Diseases in Infants and Children

The Genetic Landscape in Complex Disease




- Management of Chronic Diseases in children has become a growing challenge
- About 15% (10M) of US children 0-18 years have special health care needs – most due to RD
- Children with special health care needs account for over 50% of total medical care costs for children in the US
- Rare diseases and cancer are the leading causes of death and disability in childhood
- Treatments options are few or none in many instances and most treat symptoms and are not directed at the disease cause

Genetic variations underlie both disease susceptibility and variability in drug response

The Children's Hospital of Philadelphia

EMERGE Consortium

Goal: Translate genomic information into bedside practice and ultimately improve patient care



The eMERGE Network
electronic Medical Records & Genomics
A Consortium of independent centers to accelerate medical research data for conducting genomic studies

Timeline:
Established: 2007
Expanded: 2011
Pediatric: 2012

The Children's Hospital of Philadelphia

Quali sono le principali tecniche di sequenziamento presentate dal Prof. Hakonarson?
Quali sono le patologie oggetto della presentazione?
Qual è il principale modello farmacogenomico in pazienti affetti da deficit dell'attenzione secondari a stati di iperattività?
Quale relazione esiste fra malattie infiammatorie dell'intestino e genomica?
Quali sono i geni scoperti dai ricercatori di Filadelfia che possono essere coinvolti nell'identificazione di farmaci efficaci?

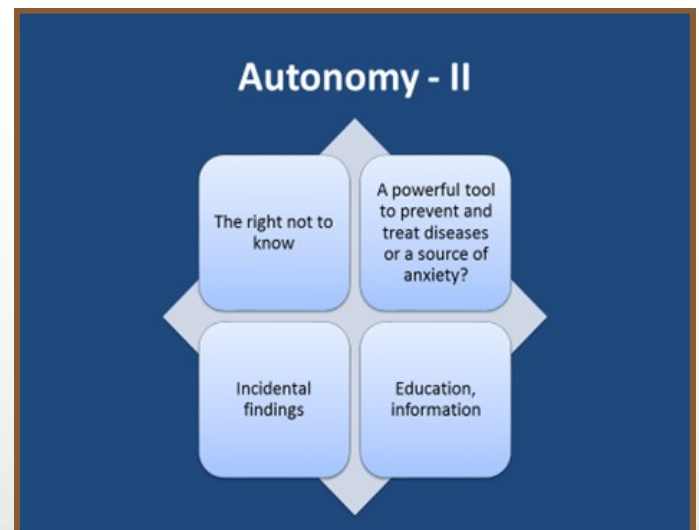


L'impatto della genomica intensiva sulla ricerca in pediatria

Il Prof. Semplici di Roma ha sviluppato la sua relazione sul concetto di medicina di precisione, anche detta medicina personalizzata, adattata ai soggetti in età pediatrica. Dal punto di vista della qualità di vita, l'obiettivo finale è quello di garantire, per le persone di ogni età, efficacia e sicurezza delle terapie sviluppate attraverso l'attività di ricerca clinica oltre ad autonomia, giustizia e responsabilità. Queste vengono definite come le sfide maggiori per il benessere dell'umanità. Ma, in età pediatrica esistono dei problemi: ad oggi sono veramente pochi i farmaci studiati e sviluppati per il trattamento di particolari patologie che colpiscono pazienti pediatrici. I ricercatori spesso evitano di implementare specifiche ricerche cliniche in questi pazienti a causa di standard consolidati che suggeriscono di non coinvolgere pazienti pediatrici in questi studi. Esistono problematiche di origine etica che devono essere tenute presenti e per le quali è necessario trovare una soluzione al fine di poter coinvolgere pazienti di età pediatrica in studi clinici specifici per popolazione ed età. Il Prof. Semplici ha quindi declinato e definito valori quali autonomia, responsabilità, giustizia, uguaglianza, applicati alla ricerca medica che utilizza la genomica in pazienti pediatrici. I test genetici infatti possono, da una parte, aiutare ad identificare precocemente markers di gravi patologie capaci di peggiorare significativamente la qualità di vita dei pazienti fino a metterne a rischio la vita se non trattate in via preventiva, ma dall'altra parte, per le stesse ragioni, possono essere utilizzati in modo tale da mettere a rischio o anche infrangere i diritti dell'umanità riferiti al singolo individuo, alla sua libertà e dignità di essere umano.



Stefano Semplici
(Roma, I)



Quali sono le principali problematiche di tipo etico legate alla ricerca in pediatria e all'applicazione della genomica?

Come declinare il diritto dell'autonomia della persona con la potenzialità dei test genetici?

Come coniugare valori spesso in conflitto fra loro quali eguaglianza da un lato ed accessibilità dei dati genetici dall'altra?



La sequenziazione genomica ripetitiva per la diagnosi di malattie genetiche

La Prof.ssa Saunders di Kansas City, direttore in un centro pediatrico di medicina genomica, ha presentato la sua esperienza di ricercatore e clinico. Le malattie rare ad eziologia genetica, se prese collettivamente, non sono poi così rare: negli Stati Uniti colpiscono 1 bambino ogni 30. Il centro diretto dalla Prof.ssa Saunders attualmente è in grado di eseguire test su più di 570 geni oltre alla sequenziazione genomica globale per scopi di ricerca e per applicazioni cliniche. I test genetici vengono inseriti in un database in cui sono presenti anche i dati clinici dei pazienti. Queste due tipologie di dati vengono incrociate al fine di collegare specifiche anomalie genetiche con altrettante specifiche sindromi cliniche. In particolare sono stati identificati 56 geni responsabili dell'insorgenza di malattie infiammatorie, 8 responsabili di infezioni batteriche e 9 di iperplasia linfoide. Il problema è che questi geni interagiscono fra loro e una selezione troppo stretta dei termini può alterare l'analisi. Questa metodologia di ricerca è in grado di individuare alterazioni genetiche a loro volta suscettibili al trattamento medico e/o chirurgico ed è inoltre decisamente cost/effective se paragonata alla metodologia classica di test genetici.



Carol J. Saunders
(Kansas City, USA)

Center for Pediatric Genomic Medicine
CHILDREN'S MERCY KANSAS CITY

Who we are:

- Established January, 2011
- Board-Certified Laboratory Directors, Genetic counselors, Bioinformaticians, Physician Scientists, Software engineers, Lab personnel, Research Coordinators
- Physicians from each subspecialty given early access to enroll patients in undiagnosed disease program.
- Center for Bioethics

Children's Mercy
HOSPITALS & CLINICS
Kansas City

Genomic medicine enables:

- Rapidly diagnose critically ill patients/ end diagnostic odyssey
- Identify treatable conditions earlier.
- Find a quicker path home for patients.

Provide accurate prognostic information/ recurrence risk for parents

- Enable new or alternate treatment options (n of 1 clinical trials)
- Discover new disease genes

Children's Mercy
HOSPITALS & CLINICS
Kansas City

Quali sono le principali malattie rare identificabili con la sequenziazione genomica ripetitiva?

Quali sono i principali geni identificati?

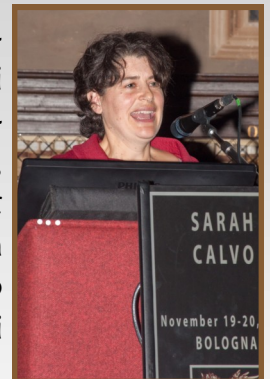
Quali sono i protocolli di studio attualmente in corso presso il centro di Kansas City?

Come cambia la prognosi di queste malattie rare con l'applicazione della sequenziazione genetica ripetitiva?



La diagnosi molecolare della malattia mitocondriale infantile

La Prof.ssa Calvo di Boston ha presentato dei recentissimi dati sulla sequenziatura genomica di nuova generazione applicata alla diagnosi delle sindromi infantili secondarie ad anomalie mitocondriali. Queste sindromi sono caratterizzate da tutta una serie di alterazioni che coinvolgono i principali organi, sono secondarie ad un grave deficit energetico a sua volta causato dal deficit globale di funzionalità mitocondriale. Al momento presente non hanno un trattamento farmacologico che abbia dimostrato una qualche efficacia. Sono inoltre delle sindromi complesse dove più geni possono essere responsabili della stessa manifestazione fenotipica. L'eterogeneità genetica è una caratteristica tipica di queste sindromi. Esistono infatti più di 145 geni e più di 900 alleli monogenici potenzialmente responsabili di queste manifestazioni fenotipiche. La schiacciante maggioranza di questi geni è insita nel DNA nucleare. Sono responsabili della sintesi di più di 1200 proteine alterate a livello mitocondriale che a loro volta determinano più di 130 malattie genetiche nell'85% dei pazienti pediatrici. L'applicazione di questa nuova tecnologia di sequenziatura potenzialmente rende possibile la diagnosi molecolare in almeno il 51% dei casi e questo è un risultato più che incoraggiante se confrontato con lo stato attuale dell'arte. Questa nuova tecnica è tuttavia ancora ad uno stadio iniziale, può potenzialmente presentare delle applicazioni future nel campo diagnostico, terapeutico e dei biomarkers.



Sarah Calvo
(Boston, USA)

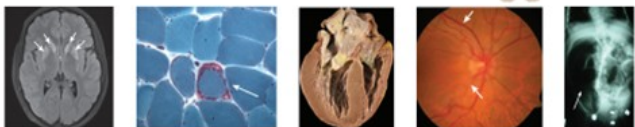
Mitochondrial OXPHOS disease

Prevalence ~1/4300

Involvement of multiple organ systems

Diagnosis is extremely challenging
highly-variable, non-specific symptoms, pleiotropy

No proven therapies



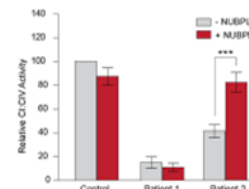
Leigh lesions ragged-red fibre hypertrophic cardiomyopathy swollen optic nerve pseudo-obstruction

New genes/pathways in OXPHOS disease

First 175 cases → 56 potential new monogenic disease genes

How to establish pathogenicity?

- Family segregation (if large family)
- Mutation in same gene in unrelated family with same phenotype
- Cell models:
 - Generate KO cells that phenocopy *specific* patient defect
 - Rescue patient cellular defect by overexpressing WT allele, not patient allele



Elena Turker Alison Compton



Calvo et al. Nat Gen 2010

Quali sono i principali meccanismi che determinano la malattia mitocondriale? Quali sono le sindromi ad essa sottese?

Quali sono i principali criteri clinici che identificano queste sindromi?

Quali sono i possibili sviluppi futuri della sequenziatura di nuova generazione?



L'asma vista dal punto di vista del genetista

Il Prof. Cookson di Londra ha centrato la sua lettura sul legame fra asma e genetica. L'asma è una patologia in aumento significativo nei paesi in via di sviluppo, colpisce 1 nuovo bambino ogni dieci nel mondo occidentale. La sua eziopatogenesi è allergica solo in parte poiché esistono altri meccanismi legati al sistema immunitario, IgE in particolare, o a forme di atopia. Nel 50% dei casi si sviluppa a livello familiare a causa di una trasmissione genetica. Studi di genetica condotti su larga scala hanno individuato una mutazione specifica, definita ORMDL3, che colpisce dal 40% al 50% dei bambini asmatici. È associata a quadri di asma severa, è sensibile al fumo di sigaretta e determina esacerbazione asmatica frequente. Esistono inoltre dei fattori e/o effetti epigenetici responsabili dell'insorgenza di asma nei bambini, il sistema immunitario, ed in particolare le IgE, sono un bersaglio comune di questi fattori. Lo studio di questi effetti epigenetici ha determinato l'identificazione di un numero considerevolmente elevato di nuove variazioni genetiche da 10 a 20 volte superiore. Tutte queste indicazioni attestano l'estrema validità degli studi genetici applicati allo sviluppo di nuovi farmaci antiasmatici. Esistono infine dei fattori protettivi, legati a particolari ambienti soprattutto di tipo rurale quali le fattorie, dovuti almeno in origine a specifici fattori microbici che interagiscono con i meccanismi fisiopatogenetici dell'asma.



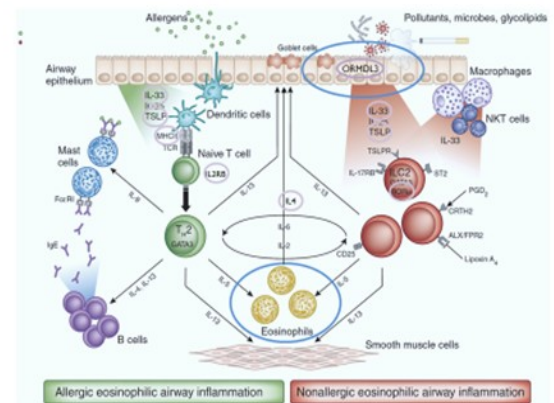
William Cookson
(London, UK)

Asthma

- More than one child in 10 in the developed world
- Alarming increases in the developing world
- 300,000,000 cases worldwide
- Incomplete association with atopy (allergy)
- Immunoglobulin E (IgE) and skin tests
- Atopic mechanisms dominate understanding
- Runs in families (50% genetic)
- Dogs protective
- Older brothers protective
- Strong regional differences
- Rural environment protective
- Cows and pigs
- Un-pasteurised milk protective



Asthma Mechanisms



Brusselle GG et al., Nature Medicine 2013

Quali sono le principali mutazioni presenti nei bambini asmatici?

Quali sono gli effetti dell'epigenetica sul determinismo dell'asma?

Quali sono i fattori protettivi presenti in specifici microbiomi che riducono il rischio di asma?

Ma i polmoni sono tessuti veramente sterili?

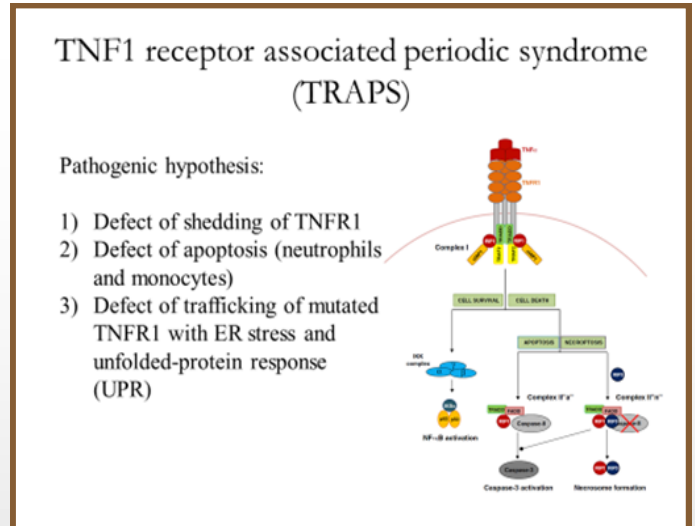
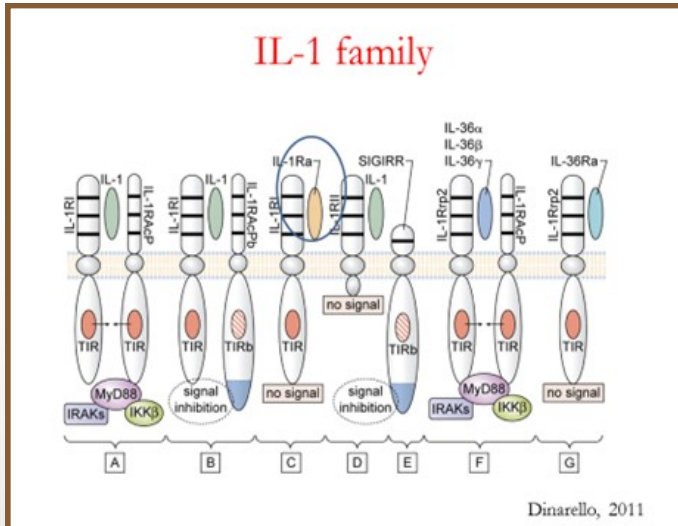


La genetica e le malattie autoinfiammatorie nei bambini

Il Prof. Martini di Genova ha approfondito il rapporto fra genetica e malattie autoinfiammatorie dei bambini. Queste sono spesso malattie ereditarie, secondarie a mutazione di geni coinvolti nella risposta immunitaria cosiddetta innata. Insorgono in età pediatrica e sono caratterizzate da attacchi ricorrenti di forme simil-infiammatorie accompagnate dalla presenza o meno di febbre. In altri casi invece si presentano col quadro di infiammazioni ricorrenti, o anche persistenti, a carico di specifici organi. Il loro studio è molto importante perché contribuisce a evidenziare nuove malattie; l'identificazione dei geni responsabili può a sua volta contribuire alla selezione di una terapia specifica e l'identificazione di nuovi meccanismi fisiopatogenetici può contribuire alla reinterpretazione di altri meccanismi patogenetici comuni a più malattie infiammatorie. Dal 1997 ad oggi sono state identificate le principali mutazioni genetiche legate a innumerevoli malattie autoinfiammatorie. Il Prof. Martini ha in particolare approfondito alcune di queste sindromi quali la sindrome periodica associata alla criopirina e tutte quelle forme legate al deficit del recettore IL1 a livello della membrana cellulare. Altre malattie autoinfiammatorie sono quelle legate ad alterazioni dei recettori TNF1. Il relatore ha inoltre presentato dati sull'effetto di Anakinra, antagonista del recettore IL1 in pazienti portatori di questa alterazione genetica.



Alberto Martini
(Genova, I)



Quali sono le principali malattie autoinfiammatorie identificate dal 1997 ad oggi?
Qual è il principale meccanismo di azione di Anakinra?
Quali sono i principali quadri clinici secondari alle principali alterazioni dei recettori IL1?



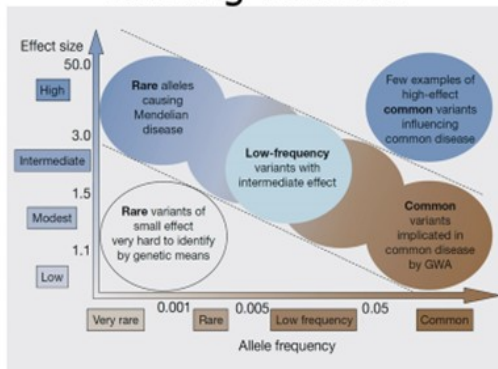
La sequenziazione exomica, le malattie reumatiche ed altre malattie infiammatorie

Il Prof. Schulert di Cincinnati ha presentato dati sull'applicazione della sequenziazione exomica nella definizione dell'etiologia delle malattie reumatiche e di altre malattie infiammatorie quali l'artrite idiopatica giovanile e le sue implicazioni diagnostiche e terapeutiche. L'applicazione è stata condotta secondo il metodo "trio", cioè il confronto dei geni di tre soggetti legati da stretti rapporti di parentela come ad esempio: padre, madre e figlio/a. La tecnica della sequenziazione exomica ha contribuito in maniera fondamentale alla scoperta di varianti che determinano malattie. Questa tecnologia relativamente nuova si è dimostrata efficace anche nella definizione e nell'individuazione di forme giovanili di artrite idiopatica, in particolare in presenza della cosiddetta "sindrome di attivazione macrofagica". Sempre nel campo della artrite idiopatica giovanile, l'applicazione della sequenziazione exomica secondo la metodologia "trio" ha permesso il corretto inquadramento diagnostico della malattia permettendo, di conseguenza, anche l'impostazione di una terapia, la più efficace possibile.



Grant Schulert
(Cincinnati, USA)

WES for detection of disease-causing variants



McCarthy et al (2008)

Expanding WES to define genetics of SJIA

- Genetic determinants of SJIA are largely unknown
 - Likely polygenic
 - GWAS studies show only a small association with HLA regions (Ombrello, Grom et al, in press)
 - Case control studies have identified SNPs in cytokine genes as risk factors including IL-6, IL-10

change the outcome



Quali sono i punti cardine della sequenziazione exomica secondo la tecnica trio?
Quali sono le principali varianti di artrite giovanile idiopatica identificate con l'applicazione di questa metodica?
Quali sono le principali alterazioni genetiche legate alla presenza della sindrome di attivazione macrofagica?

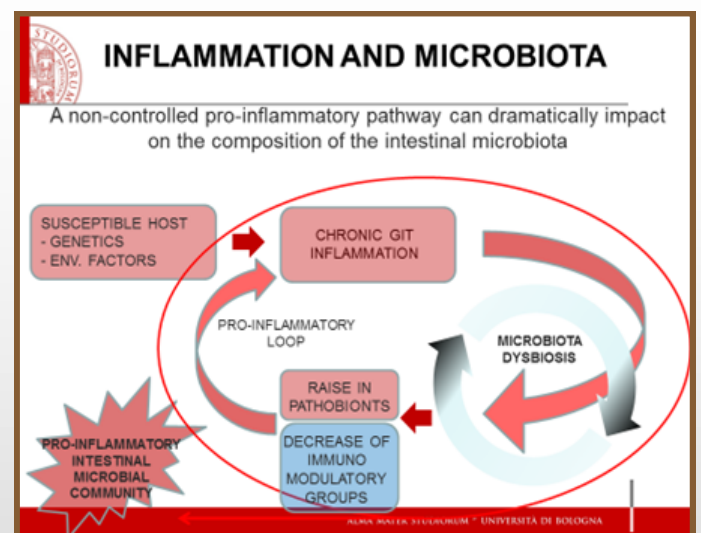
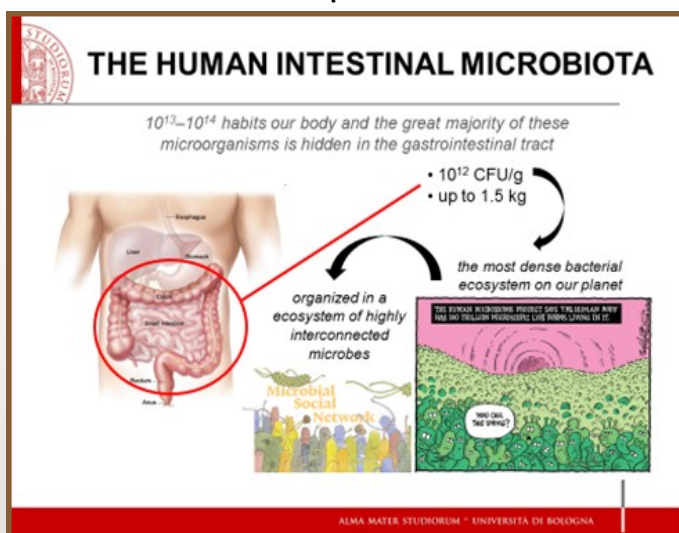


La caratterizzazione del microbioma intestinale mediante la sequenziazione replicativa

La Prof.ssa Brigidi di Bologna ha presentato i dati di una sua ricerca, operata con l'utilizzo della sequenziazione ripetitiva e tutt'ora in corso, sulla caratterizzazione di differenti tipologie di microbioma intestinale influenzate da precisi stati infiammatori. Il nostro intestino è l'habitat naturale di un numero elevatissimo di microorganismi da 10^{13} a 10^{14} . La tecnica di sequenziazione di nuova generazione ha permesso l'individuazione di 10^6 geni di cui solo il 58% sono già noti dal punto di vista funzionale. Nel suo complesso, il microbioma intestinale svolge un ruolo veramente importante, non solo nel controllo delle funzioni intestinali ma anche in quello della funzionalità immunitaria. Agisce inoltre sia sulla modulazione del sistema endocrino che su quella del sistema nervoso centrale. Un altro aspetto sottolineato dalla relatrice è quello legato alle modifiche che l'ambiente esterno esercita sul microbioma intestinale attraverso l'azione di fattori quali la dieta, gli stati infiammatori, l'età biologica, fattori ambientali come il clima, ma anche eventuali trattamenti farmacologici e naturalmente i fattori genetici. Il microbioma intestinale sta in uno stato di equilibrio dinamico mutualistico con l'ospite. La rottura di questo equilibrio compromette il bilanciamento energetico e l'omeostasi del sistema immunitario dell'ospite; determina anche importanti alterazioni della stessa flora batterica intestinale mediante l'instaurarsi di fenomeni infiammatori persistenti. Fra le principali patologie che colpiscono il sistema gastrointestinale il relatore ha citato l'enterocolite necrotizzante, l'infezione da clostridium difficile e quella da h. pilori. L'ultima parte della relazione è stata dedicata al ruolo che il microbioma intestinale gioca nel successo del trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche.



Patrizia Brigidi
(Bologna, I)



Quanti e quali sono i geni coinvolti nella creazione del microbioma intestinale?
Quali sono i fattori che ne influenzano l'equilibrio fisiologico con l'ospite?
Qual è il ruolo del microbioma intestinale nel determinismo del successo o meno del trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche?

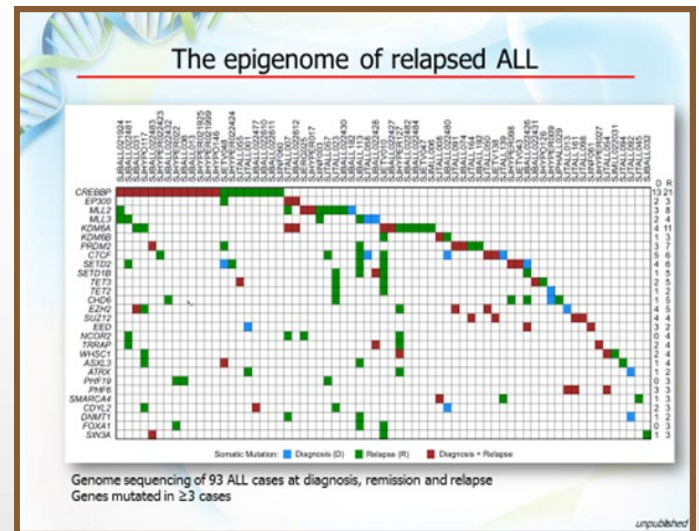
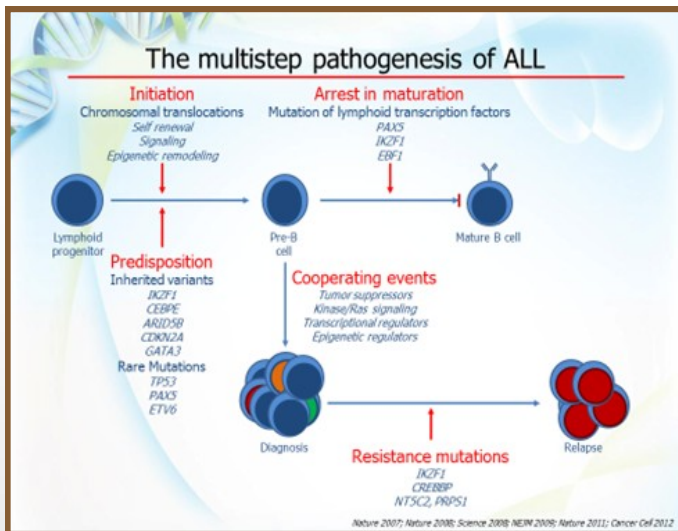


La caratterizzazione genomica della leucemia linfatica acuta del bambino

Il Prof. Mullighan di Memphis ha presentato dati recentissimi che aiutano a inquadrare meglio questa importante patologia neoplastica: la leucemia linfatica acuta del bambino. Questa malattia presenta un quadro genetico complesso non solo per la sua eziologia poligenica ma anche per la possibilità di interazioni con varianti somatiche ereditate. I sottotipi di malattia presentano delle distinte costellazioni di mutazioni, le variazioni genetiche sono comuni, la LLA presenta infine una tipica caratteristica multiclonale che evolve nel tempo. Nella patogenesi di questa malattia, al primo posto, ci sono tutta una serie di mutazioni genetiche facilitanti che assieme a specifiche traslocazioni cromosomali determinano il blocco della maturazione delle cellule B immature in cellule B mature. Questa popolazione cellulare immatura, supportata da fattori facilitanti, determina lo sviluppo della malattia. Le ricadute sono secondarie ad altre alterazioni genetiche, responsabili della resistenza alla terapia, facilitando di fatto la manifestazione delle ricadute. Esistono varie forme di LLA legate in particolare all'età dei pazienti e la loro risposta agli inibitori delle chinasi e alla chemioterapia è differente. Il relatore, a questo punto, ha presentato dei dati sulle principali mutazioni genetiche presenti in queste forme e sul legame fra mutazioni genetiche, alterata risposta alla terapia e ricadute.



Charles Mullighan (Memphis, USA)



- Quali sono i principali geni coinvolti nella genesi della LLA nel bambino?
- Quali sono i principali sottotipi di malattia legati all'età dei pazienti?
- Che tipo di interazione esiste fra inibizione della chinasi e chemioterapia?
- E' possibile identificare precocemente le forme di LLA ad alto rischio di ricaduta?

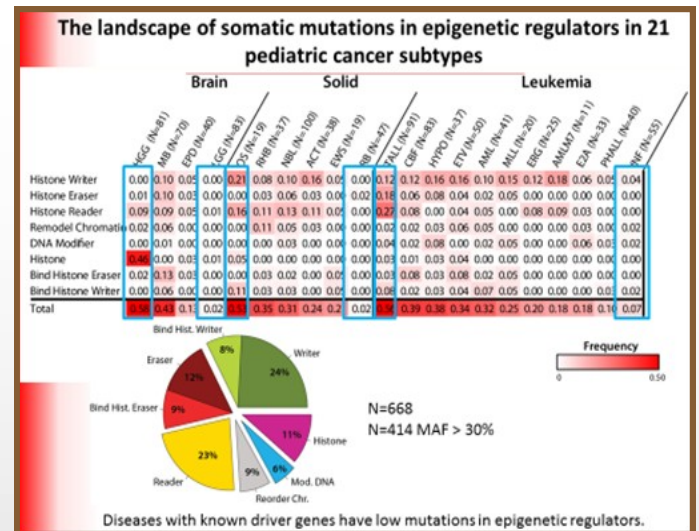
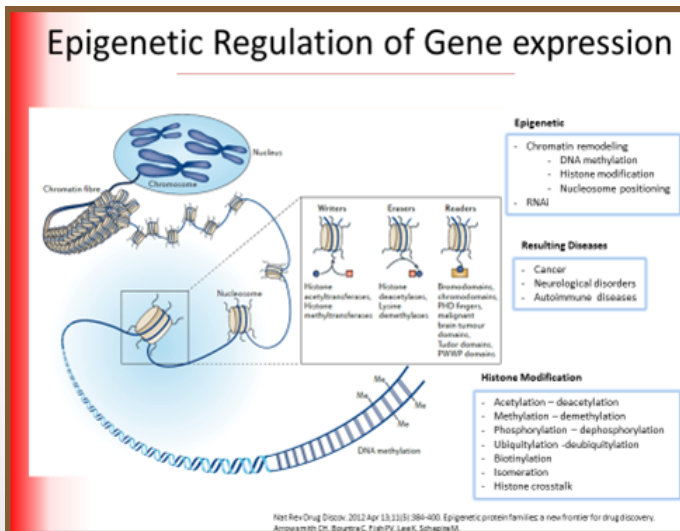


Il panorama delle mutazioni somatiche dei regolatori epigenetici dei genomi delle principali neoplasie maligne pediatriche

Il Prof. Huether di Aliso Viejo ha presentato dei dati recentissimi sulle mutazioni somatiche dei regolatori epigenetici di 1000 genomi in 21 fra le più comuni neoplasie maligne pediatriche. Partendo dalla definizione di regolatore epigenetico dell'espressione genica, il relatore ha presentato tutta una serie di dati sulle variazioni somatiche delle proteine epigenetiche in particolari tipi di neoplasie maligne pediatriche, suddivise per tipologia e localizzazione. In questo modo sono stati selezionati i 15 principali regolatori epigenetici mutati con un particolare interesse sulla NSD2 e sulla USP7, due famiglie di mutati particolarmente attive dal punto di vista enzimatico e per questo promotrici di trasformazione. La famiglia USP7 è nello specifico promotrice di elevata instabilità. Lo sviluppo di queste ricerche e l'identificazione di queste mutazioni conduce all'individuazione di biomarkers, a loro volta fondamentali per caratterizzare la specifica neoplasia in ogni singolo paziente. Questo è il primo passo per mettere a punto una terapia immunitaria individualizzata e per tale motivo intrinsecamente efficace.



Robert Huether
(Aliso Viejo, USA)



Quali sono i 15 regolatori epigenetici mutati più frequenti?

Quali sono le neoplasie maligne in cui le mutazioni NSD2 e USP7 sono particolarmente presenti?

Qual è il significato clinico di queste mutazioni?



HIGHLIGHTS

Queste sono solo alcune delle tematiche trattate durante i lavori congressuali. Per un maggior approfondimento si rimanda al sito della **Fondazione Internazionale Menarini** dove sono presenti le relazioni congressuali in versione integrale.

Vai a questo link: www.fondazione-menarini.it/... e, dopo aver effettuato il login entra nel materiale multimediale.



Fondazione Internazionale Menarini

Centro Direzionale Milanofiori 20089 Rozzano (MI) - Edificio L - Strada 6
Tel. +39 02 55308110 Fax +39 02 55305739 Email: milan@fondazione-menarini.it
www.fondazione-menarini.it - www.facebook.com/fondazionemenarini