# Biobanca Genetica per Malattie Rare Scheletriche

Luca Sangiorgi

S.S.D. di Genetica Medica e Malattie Rare Ortopediche, Istituto Ortopedico Rizzoli – Bologna

## Lab di Genetica Molecolare

Routine diagnostica displasie scheletriche

## CLIBI-Clinical Bioinformatics

Sviluppo di strumenti informatici per il settore sanitario e della ricerca medica

# Struttura Semplice Dipartimentale di Genetica Medica e Malattie Rare Ortopediche –

## Genetic Day Clinic

Counseling genetico/riproduttivo (visita congiunta tra genetista e ortopedico) → Raccolta dati clinici ed ortopedici

## Hub & Spoke

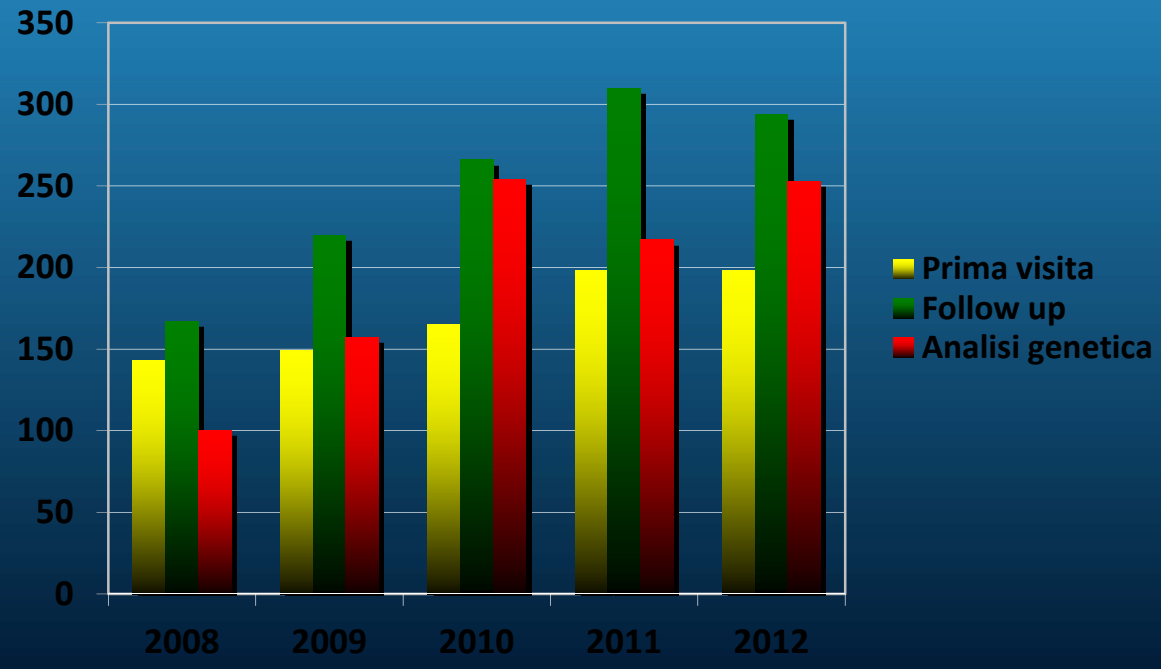
Rete regionale che ha come finalità la diagnosi e il trattamento delle displasie scheletriche

# BIOBANCHE: PERCHE'?

SSD di Genetica Medica si occupa della diagnosi molecolare di Malattie Rare Scheletriche, un gruppo eterogeneo di patologie ereditarie dell'apparato muscoloscheletrico caratterizzate da difficoltà nella diagnosi e da mancanza di trattamenti appropriati ed efficienti

SSD: - dal 2003 è attivo l'Ambulatorio di genetica Medica
- dal 2009 è centro di coordinamento dell'Hub&Spoke regionale per le Malattie Rare Scheletriche.

Numero di campioni biologici raccolto presso la SSD in costante aumento (sangue, DNA e tessuti provenienti dal nostro Istituto e dall'esterno)

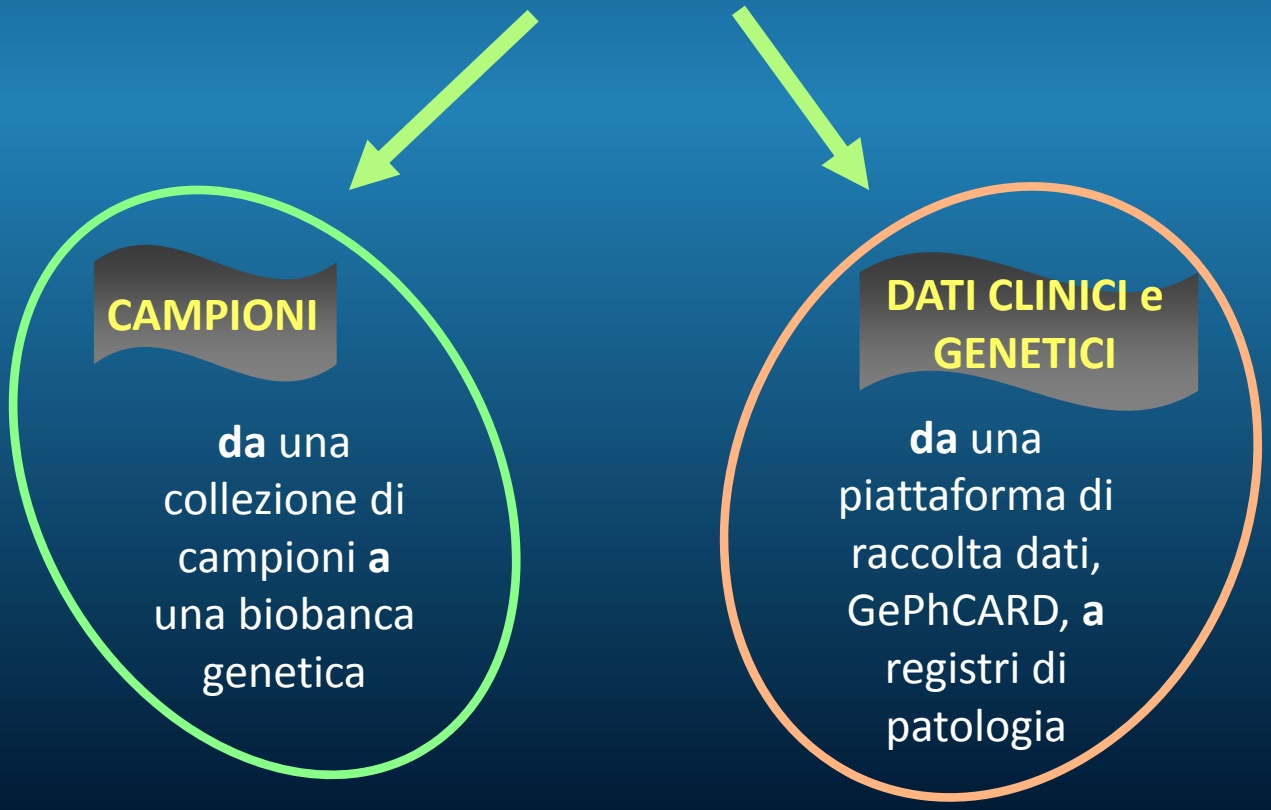


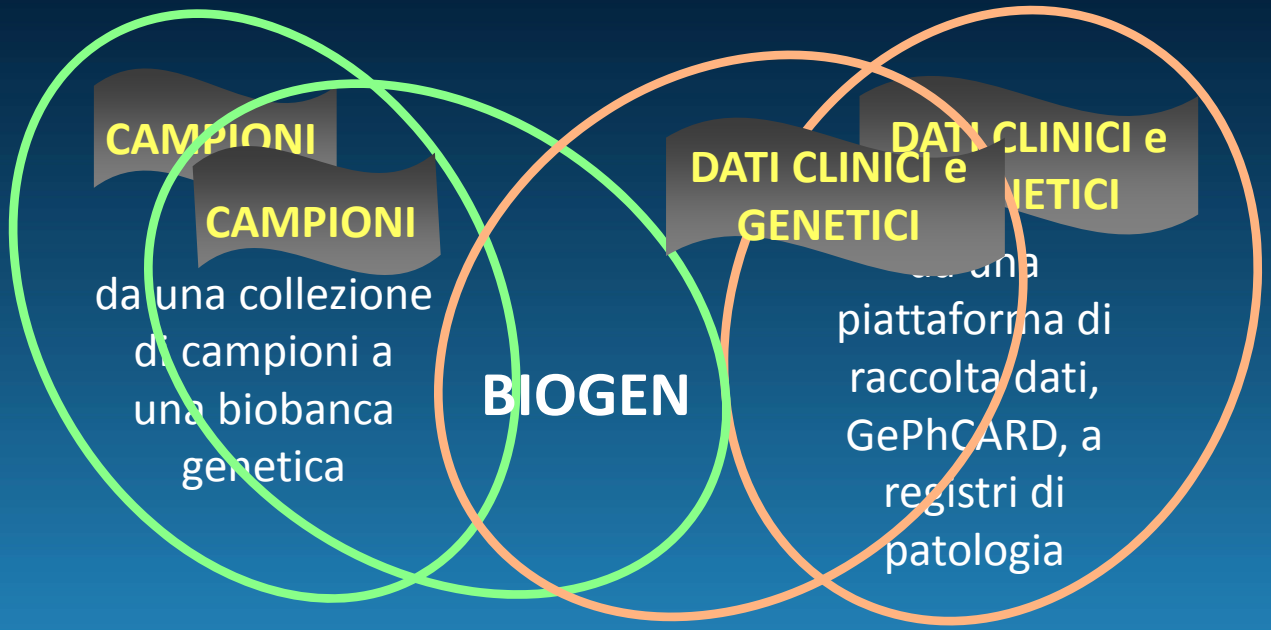



# ...al fine di

- Migliorare la diagnosi e il trattamento per le malattie rare scheletriche
- creare una collezione di campioni biologici di 'alta qualità'
- Data Merging di informazioni cliniche e molecolari

SSD di Genetica Medica ha realizzato BIOGEN (Biobanca Genetica) attraverso due percorsi principali






## Sviluppo di **BIOGEN** nelle malattie rare scheletriche:

✓ raccolta di campioni caratterizzati geneticamente e raggruppati in modo omogeneo che permetterà di comprendere meglio la base genetica delle malattie genetiche rare

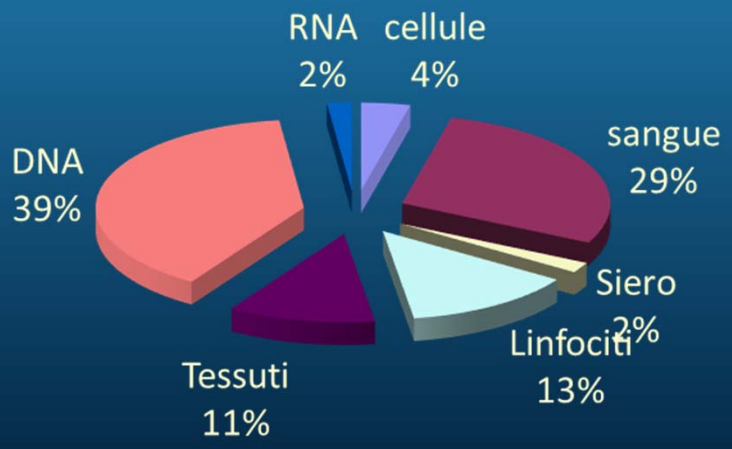
✓ Offrire ai ricercatori un servizio per lo sviluppo dei loro studi e favorire la comunicazione e gli scambi tra i diversi gruppi di scienziati a livello regionale, nazionale ma anche internazionale

# Biobanca Genetica....

- Ha ottenuto il riconoscimento dal Comitato Etico dello IOR
- Fa parte della SSD di Genetica Medica e Malattie Rare Ortopediche, certificate secondo la norma UNI EN ISO 9001:2008 e accreditata a livello regionale.
- dotata di un sistema qualità sviluppato in accordo con la norma UNI EN ISO 9001:2008 : 'Guida alla struttura ‘ , procedure operative, istruzioni operative, interfacce, modulistiche etc.. contenenti gli obiettivi della struttura e descrivono il tipo di materiale conservato, quantità del campione fornito, metodo di stoccaggio, metodo di trasporto dei campioni e tutte le misure necessarie per assicurare la tracciabilitrà dei campioni
- *Piattaforma GePhCARD* per la gestione dei dati clinici molecolari ed associati ai campioni biologici

# Collezione campioni SSD

| campione | SSD | Conservazione |
|---|---|---|
| cellule | **200** | Azoto liquido |
| sangue | **1500** | -20° C/-80° C |
| siero | **100** | -80° C |
| linfociti | **700** | -20° C/-80° C |
| tessuti | **600** | Azoto liquido |
| DNA | **2050** | -20° C |
| RNA | **100** | -80° C |



# Collezione campioni SSD

| campione | SSD | Conservazione |
|---|---|---|
| cellule | **200** | Azoto liquido |
| sangue | **1500** | -20° C/-80° C |
| siero | **100** | -80° C |
| linfociti | **700** | -20° C/-80° C |
| tessuti | **600** | Azoto liquido |
| DNA | **2050** | -20° C |
| RNA | **100** | -80° C |



| *Patologia* | N° campioni | N° pazienti caratterizzati clinicamemnte e geneticamente |
|---|---|---|
| Osteocondromi multipli | ~ 1200 | ~ 950 |
| Osteogenesi imperfecta | ~ 580 | ~ 300 |
| Sindrome di Ehlers–Danlos | ~ 209 | ~ 150 |

# Registri di Patologia 1

Il registro di patologia è una collezione di dati personali, clinici e genetici dei pazienti

Terminologia standard di riferimento & piattaforma compatibile con standard HL7 (GephCARD)

miglioramento delle conoscenze sulla storia naturale, epidemiologia e patogenesi molecolare

Miglioramento nella cura del paziente e miglioramento nella qualità della vita

# Registri di patologia 2

## SSD

**Multiple Osteochondromas Registry - REM**
**(più di 1000 pazienti)**

**Osteogenesis Imperfecta Registry – ROI**
**(più di 500 pazienti)**

- semplificare la **condivisione** di dati
- aumentare l'**interoperabilità** tra istituzioni
- aumentare i dati sulla **storia naturale**
- favorire l'organizzazione di **sottoinsiemi omogenei di pazienti**
- migliorare l'accuratezza delle **analisi epidemiologiche**

# Registri di patologia 3

Campioni biologici +

Dati personali +

Dati clinici +

Dati genetici =

**BIOGEN**
**Valore aggiunto**

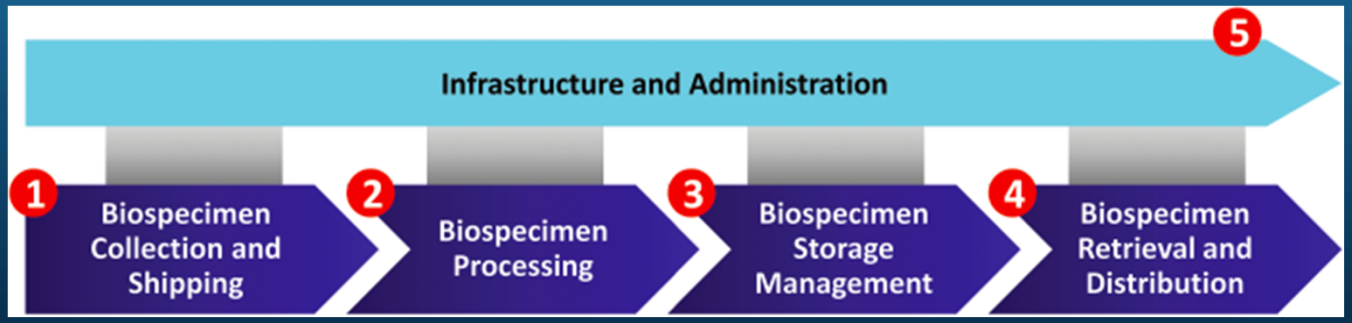
# Total Life Cycle of Ownership

Biobanche richiedono personale dedicato, nonché infrastrutture ben mantenute per conservare in modo adeguato le collezioni di campioni e per garantire la qualità

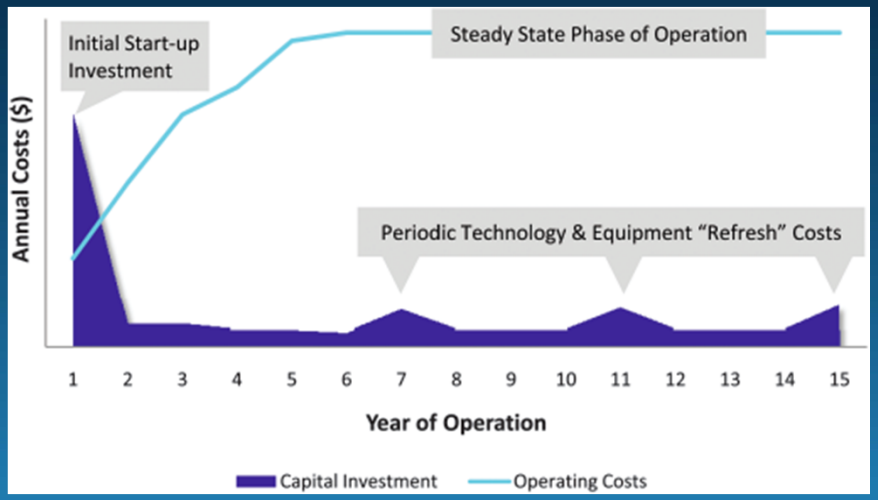
## Sostenibilità a lungo termine

Stimare tutti i costi derivanti dalla

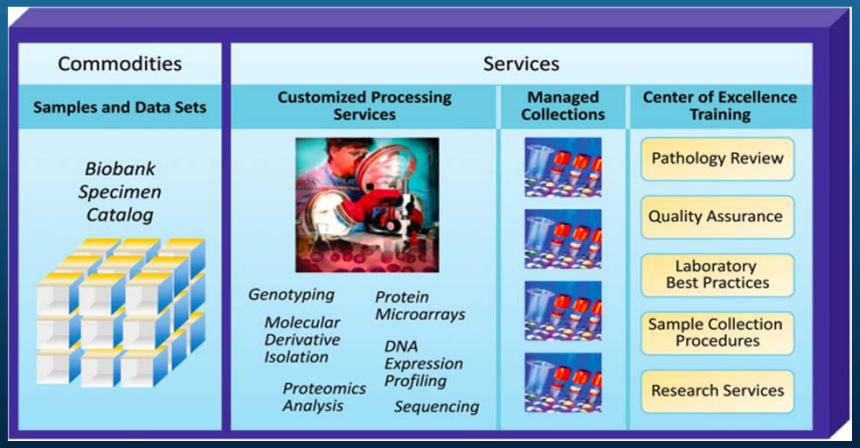
Owning Operating Manteining



# Total Life Cycle of Ownership

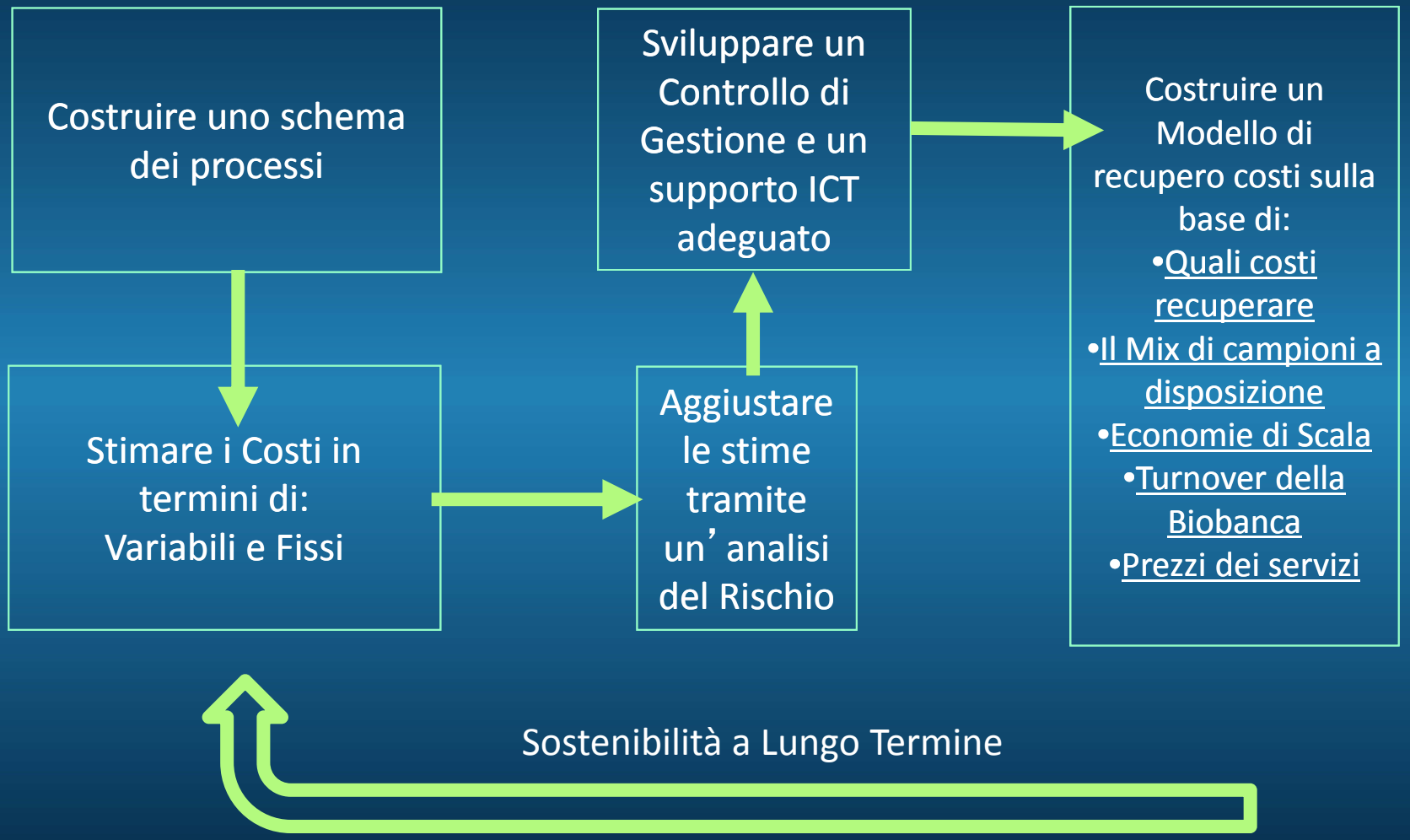



Questo approccio permetterà di comprendere meglio i costi fissi e variabili della biobanca e di costruire un appropriato programma di recupero costi basato su services per utenti terzi.




*J. Vaught et al. Journal of the National Cancer Institute Monographs, No. 42, 2011*

# COME…….


Costruire uno schema dei processi
Stimare i Costi in termini di: Variabili e Fissi
Aggiustare le stime tramite un' analisi del Rischio
Sviluppare un Controllo di Gestione e un supporto ICT adeguato
Costruire un Modello di recupero costi sulla base di:
•Quali costi recuperare
•Il Mix di campioni a disposizione
•Economie di Scala
•Turnover della Biobanca
•Prezzi dei servizi
Sostenibilità a Lungo Termine

# *Ricadute di BIOGEN*

## *MO: esiste una correlazione Genotipo-fenotipo?*

STUDI DI CORRELAZIONE
GENOTIPO-GENOTIPO

Genotype-Phenotype Correlation Study in 529 Patients with Multiple Hereditary Exostoses: Identification of "Protective" and "Risk" Factors

Elena Pedrini, PhD, Ivy Jennes, PhD, Morena Tremosini, RN, Annamaria Milanesi, PhD, Marina Mordenti, PhD, Alessandro Parra, PhD, Federica Sgariglia, PhD, Monia Zuntini, MS, Laura Campanacci, MD, PhD, Nicola Fabbri, MD, Elettra Pignotti, PhD, Wim Wuyts, PhD, and Luca Sangiorgi, MD, PhD

THE JOURNAL OF BONE & JOINT SURGERY · JBJS.ORG
VOLUME 93-A · NUMBER 24 · DECEMBER 21, 2011

## CLASSIFICAZIONE CLINICA

**TABLE I Clinical Classification**

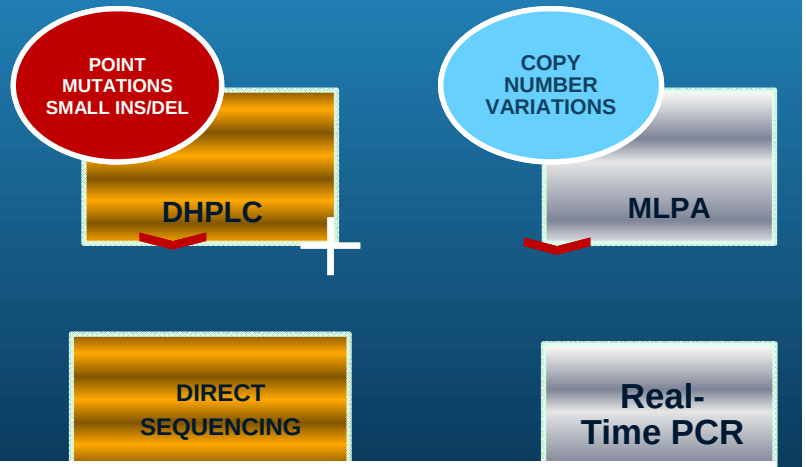
| Class | Features |
|---|---|
| I | No deformities and no functional limitations |
| IA | ≤5 sites with exostoses |
| IB | >5 sites with exostoses |
| II | Deformities and no functional limitations |
| IIA | ≤5 sites with deformities |
| IIB | >5 sites with deformities |
| III | Deformities and functional limitations |
| IIIA | Functional limitation of 1 site |
| IIIB | Functional limitation of >1 site |

Am J Med Genet A. 2013 Mar;161(3):556-60. doi: 10.1002/ajmg.a.35819. Epub 2013 Feb 8.

**Validation of a new multiple osteochondromas classification through Switching Neural Networks.**

Mordenti M, Ferrari E, Pedrini E, Fabbri N, Campanacci L, Muselli M, Sangiorgi L.
Medical Genetic Department, Rizzoli Orthopaedic Institute (IOR), Bologna, Italy.

## SCREENING MUTAZIONALE EXT1/2




Hum Mutat. 2005 Sep;26(3):280.

**Novel EXT1 and EXT2 mutations identified by DHPLC in Italian patients with multiple osteochondromas.**

Pedrini E, De Luca A, Valente EM, Maini V, Capponcelli S, Mordenti M, Mingarelli R, Sangiorgi L, Dallapiccola B.
Modulo di Familiarità e Genetica, Lab. Ricerca Oncologica, Istituti Ortopedici Rizzoli, Bologna, Italy.

J Mol Diagn. 2008 Jan;10(1):85-92. doi: 10.2353/jmoldx.2008.070086. Epub 2007 Dec 28.

**Mutation screening of EXT1 and EXT2 by denaturing high-performance liquid chromatography, direct sequencing analysis, fluorescence in situ hybridization, and a new multiplex ligation-dependent probe amplification probe set in patients with multiple osteochondromas.**

Jennes I, Entius MM, Van Hul E, Parra A, Sangiorgi L, Wuyts W.
Department of Medical Genetics, University and University Hospital of Antwerp, Antwerp, Belgium.

# CASE STUDY

**TABLE II Summary of Clinical and Genetic Data for Patients with Multiple Hereditary Exostoses from Institution 1, Institution 2, and Both Institutions Combined**

| | Institution 1 (N = 405) | Institution 2 (N = 124) | All 529 Patients |
|---|---|---|---|
| Clinical class | | | |
| I | 177 (43.7%) | 25 (20.2%) | 201 (38%) |
| II | 146 (36%) | 49 (39.5%) | 196 (37%) |
| III | 82 (20.3%) | 50 (40.3%) | 132 (25%) |
| Gene | | | |
| EXT1 | 260 (64.2%) | 84 (67.7%) | 344 (65%) |
| EXT2 | 110 (27.2%) | 24 (19.4%) | 134 (25.3%) |
| No EXT1/EXT2 mutation | 35 (8.6%) | 16 (12.9%) | 51 (9.7%) |
| Skeletal sites with exostoses* | | | |
| <5 | 49 (13.4%) | 42 (34.4%) | 91 (18.7%) |
| 5-20 | 224 (61.4%) | 80 (65.6%) | 304 (62.4%) |
| >20 | 92 (25.2%) | – | 92 (18.9%) |
| Familial or sporadic origin† | | | |
| Sporadic | 105 (27.2%) | 42 (35.9%) | 147 (29.2%) |
| Familial | 281 (72.8%) | 75 (64.1%) | 356 (70.8%) |
| Gender | | | |
| Male | 210 (51.9%) | 58 (46.8%) | 268 (50.7%) |
| Female | 195 (48.1%) | 66 (53.2%) | 261 (49.3%) |
| Mutation type† | | | |
| Missense | 53 (14.3%) | 22 (20.4%) | 75 (15.7%) |
| Nonsense | 119 (32.2%) | 20 (18.5%) | 139 (29.1%) |
| Frameshift | 143 (38.6%) | 35 (31.4%) | 178 (37.3%) |
| Splice-site | 43 (11.6%) | 24 (22.2%) | 67 (14%) |
| Big deletion or duplication | 12 (3.2%) | 7 (6.5%) | 19 (4%) |
| Malignant degeneration | 23 (5.7%) | 3 (2.4%) | 26 (5%) |

# RISULTATI

- Nessuna specifica correlazione genotipo-fenotipo identificata
- Percentuale consistente di pazienti affetti da MO (10%) senza mutazioni rilevabili nei geni EXT
- Identificazione di fattori protettivi e di fattori di rischio:

  fattori di rischio (relativa a un fenotipo grave): - genere maschile
  - mutazione germinale in EXT1
  - >20 siti con osteocondromi

  fattori protettivi (relativa a un fenotipo leggero): - genere femminile
  - mutazione germinale in EXT2
  - assenza di mutazioni germinali in EXT
  - <5 siti con osteocondromi
- Identificazione di gruppi di pazienti clinicamente e geneticamente omogenei
- Trasformazione maligna: non correlata in modo significativo a mutazioni germinali in EXT, al genere o alla classe clinica. Più comune in casi familiari vs sporadici (20/26) →assenza di qualsiasi fattore prognostico

TRASFORMAZIONE MALIGNA

## Condrosarcoma Secondario Periferico in MO: cosa sappiamo?

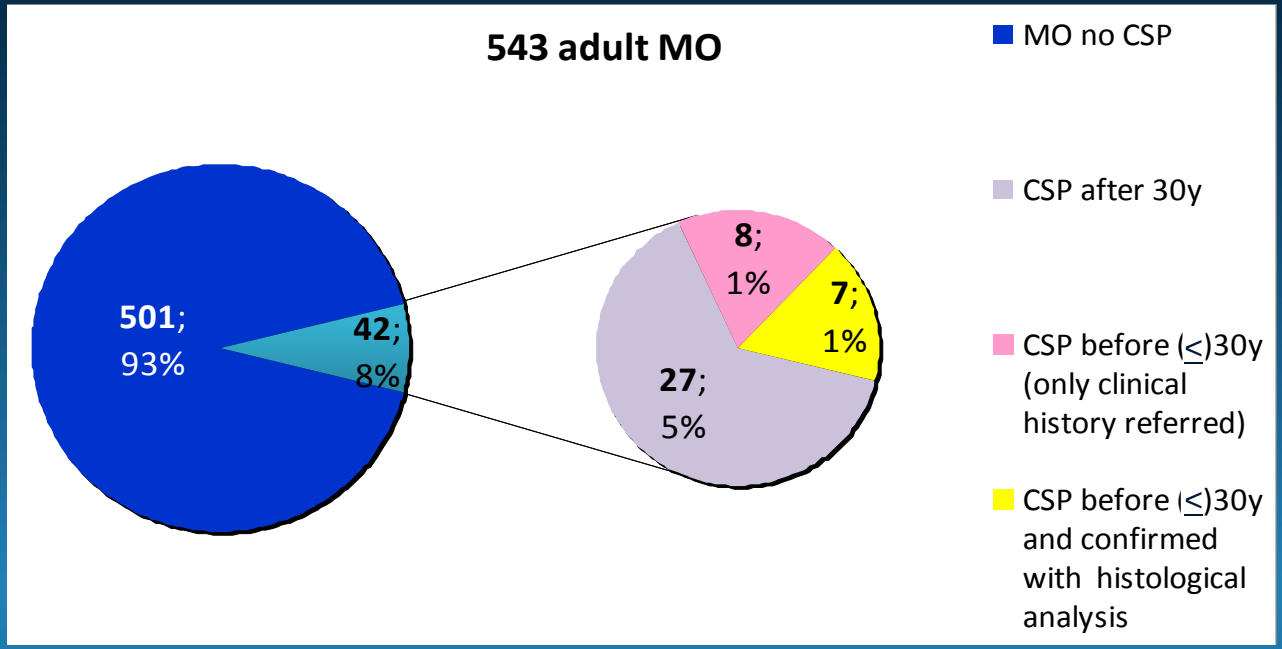
- Trasformazione maligna riportata nel 0.5–5% dei pazienti
- Aumentata frequenza in vecchie raccolte dovuta: errori di selezione e casistiche di pazienti troppo piccole.
- La maggioranza dei CSP in MO si verifica dalla terza alla quinta decade di vita e la comparsa della trasformazione maligna compare spesso prima del decimo o dopo il cinquantesimo anno (Hennekam et al 1991)

- Valutazione dell'incidenza di CSP in una casistica più ampia
- Stima dell'età media di comparsa e range di età a rischio più elevato
- Identificazione di potenziali fattori (genetici o no) di rischio

## Diagnosi di CSP in MO:

- Sospetto di Condrosarcoma Secondario: massa in crescita dopo la pubertà
- Chiave per una diagnosi accurata: integrazione di esami radiologici ed istologici

# La nostra casistica




- ✓ La Prevalenza di CSP nella nostra casistica è 8% (42/543 Pazienti con MO adulti )
- ✓ Rivalutazione dei campioni istologici disponibili di casi pecedenti → distinzione tra lesioni benigne e maligne effettuata da specialisti
- ✓ L'età di comparsa nella nostra casistica è variabile, ma in 15 su 42 dei nostri pazienti la diagnosi arriva prima dei 30 anni
- ✓ Supponiamo che l'età media di comparsa della degenerazione maligna si verifichi prima di quanto ci si aspettasse, ma sono necessari ulteriori studi

# Sviluppi futuri....

- ✓ Definizione della logistica e di locali dedicati
- ✓ Implementazione della piattaforma GephCARD
- ✓ Consenso Informato specifico per lo storage e l'utilizzo nella ricerca dei campioni biologici all'interno e all'esterno dell'Istituto
- ✓ formazione di personale qualificato e dedicato
- ✓ miglioramento del trattamento dei campioni utilizzando procedure operative standard (SOP) e condivise ed accettate a livello internazionale
- ✓ Sviluppo di un piano di sostenibilità della Biobanca

# RINGRAZIAMENTI

SSD di Genetica Medica e Malattie Rare Ortopediche,
Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna:

