

BIOBANCA INTEGRATA TESSUTO-GENOMICA

CARATTERISTICHE GENERALI

Le bio-banche o Centri per le Risorse Biologiche sono parte essenziale delle infrastrutture su cui si fondano scienza e biotecnologie, in quanto svolgono servizi a favore di terzi richiedenti e sono depositari di cellule viventi, genomi di organismi e informazioni concernenti l'eredità e le funzioni dei sistemi biologici.

Un tempo, per predire il decorso della malattia o indirizzare la terapia, furono usati tradizionalmente decorso clinico e i fattori istomorfologici. I nuovi concetti di terapia personalizzata richiedono l'identificazione di biomarcatori per associare prognosi e trattamento al paziente. Grazie agli sviluppi della genomica e proteomica, la pratica clinica può avvalersi di insiemi ("signatures") di biomarcatori al posto di singoli marcatori. Lo scenario di biomarcatori multipli richiede nuove metodologie e strategie per la valutazione simultanea di marcatori "omici" che diano garanzie di riproducibilità, di validazione e di condivisione tra istituti scientifici ed ospedali.

La creazione di una biobanca integrata tessuto-genomica (BIT) è indispensabile per garantire gli standard necessari per la conservazione, la distribuzione e l'analisi di tessuti normali e patologici per derivare biomarcatori multipli e permettere la transizione ad una medicina personalizzata.

Le biobanche contenenti oltre al materiale biologico anche la sua caratterizzazione e le informazioni cliniche del donatore, danno un'informazione essenziale sulle alterazioni genetiche ed epigenetiche, sulla grande variabilità delle manifestazioni della malattia umana, sulla risposta individuale al trattamento medico e sono il primo passo verso la medicina personalizzata. All'interno di un tessuto patologico sono preservate le informazioni sulle alterazioni epigenetiche quali cambiamenti di espressione genica, modificazioni postraslazionali di prodotti genici ed accumulo di metaboliti. Utilizzando nuove tecnologie "omiche" queste alterazioni possono essere identificate e possono dare informazioni non solo sull'aspetto genetico ma anche su quello acquisito quali fattori ambientali (infettivi, tossici, allergici, etc.), cause di malattie sistemiche e localizzate.

DEFINIZIONE E BENEFICI

La biobanca integrata di tessuto rappresenta una struttura in cui il materiale biologico viene analizzato, processato e caratterizzato in base a criteri morfologici ed istochimici associati ad informazioni "omiche" quali il CGH array che dà informazioni sulla struttura del DNA e il cDNA microarray che fotografa il profilo di espressione genica del tessuto.

Questo tipo di biobanca ha un grande valore aggiunto per il paziente che è beneficiario da un continuo aggiornamento dello stato di salute, indicazioni prognostiche, terapia farmacologica in funzione delle più recenti acquisizioni scientifiche, che analizzano continuamente le informazioni presenti nella biobanca integrata in funzione degli sviluppi scientifici e della condivisione di informazioni a livello mondiale.

La BIT genererà un database in cui vengono raccolti i dati clinici, anatomo-patologici e molecolari dei tessuti. L'analisi dei dati associata alla stratificazione dei pazienti permetterà di identificare alterazioni di espressione genica e di struttura del DNA di valore diagnostico e prognostico. Queste banche dati saranno interfacciate con quelle esistenti in letteratura per stabilire la validità generale delle osservazioni. Questo processo implica lo sviluppo di nuovi algoritmi per gestire una notevole mole di informazione e sarà quindi associato a nuovi strumenti bioinformatici di interesse clinico e di ricerca di base.

ORGANIZZAZIONE

La BIT è organizzata in modo da assicurare diversi aspetti:

- la privacy del soggetto donatore;
- la qualità del campione;
- la conservazione del campione per il maggior tempo possibile;
- il corretto utilizzo e la distribuzione del campione.

Per garantire tali servizi si devono seguire procedure specifiche sia per gli aspetti tecnici come registrazione, gestione, conservazione del campione e controlli di qualità, sia per quelli relativi all'archiviazione dei dati clinici, anagrafici e genealogici.

REQUISITI STRUTTURALI E TECNOLOGICI

La BIT raccoglie materiale proveniente dalla struttura in cui ha sede, e da altre esterne.

Trova collocazione nell'ambito di laboratori specializzati con locali idonei e dedicati. Seguono le norme previste per il Sistema Sanitario Nazionale, per l'Università e per le strutture private convenzionate per quanto riguarda il personale sanitario, la strumentazione e l'organizzazione. In particolare il laboratorio delle biobanche è allestito secondo le norme di sicurezza e possiede strumentazioni in esclusiva.

L'unità di anatomia patologica è responsabile della collezione, del frazionamento e dello stoccaggio iniziale del campione oltre che della caratterizzazione istopatologica del tessuto. I campioni sono conservati con un sistema di criopreservazione in azoto liquido servoassistito. Di ogni campione operatorio di cui il patologo responsabile di settore ritiene opportuno, compatibilmente con quantità di tessuto e caratteristiche clinico-patologiche, si esegue un campionamento per la banca.

I dati sono archiviati in un database, in modo che sia sempre immediatamente riconoscibile da parte degli operatori autorizzati il soggetto da cui esso proviene, per ogni possibile futura utilizzazione.

Parte del campione biologico viene trasferito presso il laboratorio di Biologia Molecolare dove vengono estratti DNA, RNA e proteine, seguendo i protocolli standard e le metodiche internazionali. Viene valutata la qualità dei derivati genomici e viene criopreservata in apposito ambiente controllato. Ogni campione di materiale biologico viene conservato in aliquote e mantenuto secondo i parametri ambientali che assicurino la stabilità delle sue proprietà e in modo da assicurarne la riproducibilità. Ogni campione di acido nucleico è valutato nella sua integrità attraverso analisi spettrofotometrica ed analisi di elettroforesi capillare. Il DNA verrà sottoposto ad analisi mediante CGH Array, metodica con un alto livello di risoluzione che misura la variazione del numero di copie di geni simultaneamente in molteplici loci cromosomici. I "microarray di espressione" (piattaforma Affymetrix) sono usati per esaminare contemporaneamente il profilo d'espressione di migliaia di geni in cellule e tessuti. I risultati riguardanti le vie metaboliche di specifico interesse o i biomarcatori di importanza clinica verranno validati utilizzando microarray dedicati, "low density chips", prodotti "home-made" da una struttura necessariamente fornita di strumentazioni e conoscenze adeguate nel campo della biologia e della bioinformatica(????).

PERSONALE

L'archiviazione del materiale viene effettuata in accordo a metodologie standard, atte a garantire l'impossibilità di risalire al nome del paziente da parte di persone non autorizzate e comunque, in conformità alla vigente normativa inerente la Privacy. La tutela dei diritti della persona e in particolare della riservatezza di ogni individuo è uno degli aspetti più delicati nella gestione di una biobanca, quindi risulta notevolmente necessario un programma informatico di gestione dati che accordi la rintracciabilità e la riservatezza dei soggetti coinvolti. Una particolare attenzione alla tracciabilità delle operazioni e alla protezione da intrusioni e interruzioni del sistema.

L'accesso alle informazioni è limitato al responsabile della biobanca, dirigente biologo o medico con i requisiti equipollenti ai sensi di legge, come previsto per le strutture del Sistema

Sanitario Nazionale e per quelle convenzionate; al personale sanitario dedicato esclusivamente alle attività della biobanca e al personale amministrativo a supporto della gestione dei dati.

Il programma informatico è realizzato tenendo conto di diversi livelli di responsabilità nella gestione della biobanca stessa.

Il numero delle persone che operano nella biobanca varia in rapporto al volume di attività di cui deve essere sempre garantita la continuità. Inoltre il personale operante nella struttura deve essere qualificato, aggiornato e addestrato adeguatamente.

DISTRIBUZIONE

La BIT sarà responsabile di distribuire il materiale in base alla disponibilità ed all'importanza del progetto di ricerca associato alla richiesta. Le informazioni del patologo verranno interfacciate con il profilo genomico e con i dati clinici. Tale database sarà costantemente aggiornata per includere tutte le informazioni riguardanti il soggetto. Specificamente, verrà richiesto che i risultati di ogni analisi eseguita sul materiale conservato nella BIT vengano aggiunti alla database e resi accessibili alla comunità medica.

STRUTTURAZIONE

I prodotti della BIT rappresentano una risorsa indispensabile per lo studio delle patologie per l'identificazione di nuovi biomarcatori della malattia, e per la scoperta di nuovi bersagli terapeutici. Il database associato alla BIT è una sorgente continua di informazione che si aggiorna nel tempo e che serve da guida e supporto per il disegno di una terapia sempre più mirata e personalizzata. I dati contenuti nella BIT sono di guida per la terapia in molte patologie ed assicurano la potenzialità di eseguire determinazioni critiche per il trattamento del paziente. La BIT è uno strumento indispensabile per conservare materiale umano, rispettando il malato, ed in accordo con le disposizioni ministeriali e le direttive Europee.

La BIT è articolata in modo da comprendere:

1. Blocco di inclusione in paraffina del campione tumorale per analisi istologiche. L'analisi istologica rappresenta un passaggio essenziale per la classificazione del tessuto ed è il cardine su cui si basa lo sviluppo genomico. L'istochimica viene utilizzata anche per validare a livello di tessuto i dati ottenuti con gli approcci "omici".
2. Campione speculare di tessuto conservato in biobanca in azoto liquido.
3. Campioni di DNA, RNA e proteine.
4. CGH array e profilo di espressione genica.
5. Database integrata che include tutti i risultati delle varie tipologie di indagini effettuate, le informazioni cliniche, la possibilità di aggiungere in tempo reale le ulteriori informazioni del paziente.
6. Interfaccia con le altre istituzioni di ricerca e cura italiane ed estere. Questo risultato richiede lo sviluppo di reti informatiche ed algoritmi di analisi di espressione genica sviluppati specificamente.