

Etica nella diagnostica genomica e proteomica

P. Arslan

*Dipartimento di Scienze Diagnostiche e Terapie Speciali
Università degli Studi di Padova*

Introduzione

Parlare di DNA non significa solo parlare di sperimentazione e di come si può proteggere la privacy delle informazioni in esso contenute ma soprattutto di una molecola che governa tutta la vita biologica dell'uomo e che ne contiene tutti i segreti passati, presenti e futuri. Man mano che gli scienziati completano la mappa dell'immenso universo genetico, noi confidiamo in nuove cure per le malattie, nella soluzione di misteri, come quelli legati ai delitti, alla paternità e all'evoluzione dell'uomo. Nel 2001 l'intera sequenza del genoma umana è stata rivelata con non poche sorprese: i geni non sarebbero più di 30-40mila (contro i supposti 100.000) e ben 200 geni sono condivisi con i batteri.

Ma siamo davvero pronti per l'era del gene e della postgenomica?

Alcuni maialini per esempio sono stati modificati geneticamente nell'Istituto di ingegneria farmaceutica di Virginia Tech e le femmine adulte sono in grado di produrre un latte che contiene il fattore VIII, proteina che consente ai pazienti emofilici di tipo A di mantenere il loro regime terapeutico solo bevendo latte.

Quali comportamenti e malattie sono ereditarie? Lo studio dei gemelli monozigoti che riescono anche a distanza a pensare all'unisono ma possono soffrire di malattie ereditarie diverse potrebbe rispondere a queste domande.

Circa il 15% dei pazienti affetti da Alzheimer soffre di una forma cosiddetta precoce che colpisce prima dei 65 anni, sicuramente familiare. Al morbo di Alzheimer sono collegati finora almeno 8 geni e probabilmente altri se ne collegheranno in futuro. La diagnosi è a tutt'oggi solo presuntiva e i test genetici non saranno disponibili per anni. Stabilito che la malattia è sicuramente ereditaria e quando i test genetici saranno disponibili, i figli degli Alzheimer

precoci cosa faranno? E in sistemi sanitari dove le cure sanitarie sono tutte a carico delle assicurazioni, queste ultime pagheranno le spese di questi tipi di malattie?

Ashanti De Silva è stata la prima al mondo a ricevere una terapia genica per una rara malattia immunitaria. La terapia, pur ancora difettosa, le consente una vita quasi normale, ma la costringe a essere costantemente in terapia e a vivere sotto costante controllo medico.

La fibrosi cistica (chiamata con un acronimo FC) è una patologia caratterizzata da un eccesso di muco in svariati organi e la sua evoluzione è spesso mortale, una persona su 30 è portatore del gene *Fc*, ma il prodotto del concepimento per ammalarsi deve ereditare da ambedue i genitori il gene *Fc*. Al giorno d'oggi non solo la FC è una patologia che si presta in modo particolare alla sperimentazione con terapia genica, ma con le possibilità che offre la fecondazione assistita si presta a una diagnosi a livello dell'ovulo da fecondare.

Un difetto in uno dei cento geni correlati alla sordità destina i bambini a una vita di relazione senza l'aiuto dell'udito. Trovare le cause genetiche della sordità aiuterebbe, in alcune regioni di Israele, una persona su dieci.

I marines americani lasciano un campione del loro sangue che viene conservato nel caso sia necessaria, in guerra o in incidenti, l'identificazione.

Anche a distanza di anni l'analisi del DNA mitocondriale che si eredita solo da parte materna consente di risalire dal DNA di resti umani (un dente conserva il DNA per migliaia di anni) alle ascendenze femminili. Questo non solo consente l'identificazione di vittime di stragi anche dopo molto tempo, ma consente studi fino a poco tempo inconcepibili sulle popolazioni umane, sulle loro grandi migrazioni, sul popolamento dei continenti. Per fare un esempio, dai dati che si ricavano da questi studi si è

scoperto che gli indiani di America derivano da un nucleo originale africano che si è poi diversificato in molti gruppi etnici differenti.

Dice Myers, vicepresidente per le ricerche informatiche della Celera Genomics, Rockville, Maryland, “per i prossimi tre anni la quantità di informazioni che si ricaveranno dalla bioinformatica – connubio tra la scienza dei calcolatori e la biologia – sarà così fenomenale tra travolgimenti tutti...e scatenerà una competizione accanita per sfruttare un settore di risorse così ricco”. La bioinformatica potrebbe divenire un’industria da oltre due miliardi di dollari.

Nel 1962 G. Montalenti scriveva un articolo di natura divulgativo sul DNA dove, a 9 anni di distanza dalla scoperta della sua struttura tridimensionale (1953) a “doppia elica”, pur conoscendo nei dettagli la sua struttura chimica, dava non per sicuro, ma solo probabile, che il DNA contenesse tutte le informazioni “biologiche” e concludeva che “il nuovo indirizzo -che gli esperimenti che la scoperta di Watson e Crick avevano avviato- cui era stato dato l’appellativo di “biologia molecolare” è destinato ad avere almeno altrettanta importanza quanta ne ebbe la dottrina cellulare”.

Ora che nel 2003 tutto il DNA che codifica per un essere umano è stato sequenziato, la sfida per il futuro è capire cosa farne: i primi risultati avviano un nuovo settore, la proteomica. Questa nuova disciplina assieme al nuovo settore della trascrittomica cercano di determinare quando e dove i geni sono attivi e di identificare le proteine codificate dai geni. Perché tante tantissime industrie farmaceutiche sono così interessate a questi nuovi settori? Innanzitutto perché delle oltre 6000 proteine identificate in una cellula di un tumore mammario, 277 sono altamente specifiche del tumore. Farmaci che abbiano come bersaglio le proteine prodotte da questi geni potrebbero essere ottimi antitumorali. Inoltre nel caso che i 100.000 o quasi geni umani si rivelino in grado di produrre oltre un milione di proteine, i potenziali bersagli contro cui fabbricare nuovi farmaci sono davvero tanti.

Le industrie farmaceutiche dovranno prendere in considerazione, nel prossimo futuro, fino a 10.000 proteine umane contro cui dirigere i nuovi farmaci, contro le 400 prese finora in considerazione.

Randall W. Scott, direttore scientifico della Incyte Genomics di Palo Alto, in California afferma: “... si tratta di riuscire a osservare non solo un gene e la sua modalità di espressione, ma la forma della proteina stessa”.

Conoscere l’esatta conformazione strutturale delle proteine nel proteoma umano dovrebbe, in teoria, aiutare coloro che mettono a punto nuovi farmaci. Questa nuova “ricerca razionale” dei farmaci, non ha avuto finora molto successo, ma ricordiamo che sono conosciute solo l’1% di tutte le proteine umane. Il futuro quindi, una volta messa a punto la conoscenza del genoma, sarà tutto rivolto al proteoma

umano, da cui potrebbero derivare infinite prospettive per una nuova farmacologia. Non sono al momento attuale neppure immaginabili i futuri sviluppi della sperimentazione clinica che deriveranno dalla catalogazione dell’intero proteoma umano.

Ma quali problemi etici impone l’uso del genoma umano?

Costruire una Banca del DNA

DNA banking: (synonym: DNA storage) The process through which DNA is extracted from any of a number of possible cell sources and stored indefinitely by freezing or refrigerating for future testing; done when a specific test is not presently available or when the decision to have testing has not been made.

Related Terms: DNA-based testing; informed consent; molecular genetic testing.

Questa definizione tratta dal più aggiornato sito web “geneclinics” –www.geneclinics.org- mostra con chiarezza come qualsiasi freezer di laboratorio che contenga cellule umane sia da considerarsi una banca del DNA. L’illusione che gli eventuali dati ottenuti, se mantengono la possibilità di collegarsi all’identità del paziente, non vengano resi “pubblici” è sempre stata la chiave del vero problema etico dell’uso del DNA umano.

Nell’innocenza, quindi, di una corretta conservazione di materiale umano, e i laboratori in questo senso ne sono l’esempio più importante -e in particolare i laboratori di analisi cliniche- giace la possibilità di trasgredire alle più elementari regole del rispetto della privacy e di incorrere in possibili guai di natura legale.

Basti immaginare a questo proposito la “curiosità” che potrebbero avere in un domani le assicurazioni per la vita e per la salute (già prima menzionate a proposito dell’Alzheimer) e agli interrogativi che impone il problema dell’appartenenza del DNA.

Se in un domani, non peraltro tanto lontano, le industrie farmaceutiche, sperimentassero con successo un farmaco contro un determinato gene, i donatori del DNA potrebbero rivendicare i diritti del business derivati dal DNA di loro appartenenza?

E se dal DNA deriva l’identificazione di nuove proteine, di nuovi farmaci, di nuovi kit diagnostici a chi appartengono i profitti?

La problematica che si apre è talmente ampia e talmente discussa che merita ulteriori approfondimenti.

La Farmacogenomica

Sotto tale nome si apre uno dei capitoli più importanti e interessanti dell’era postgenomica, anche per gli enormi problemi etici che comporta.

The screenshot shows a Microsoft Internet Explorer window displaying a page from GeneReviews. The page title is "GeneTests-GeneClinics Glossary - Learn More". The main content is a definition of DNA banking: "DNA banking: (synonym: DNA storage) The process through which DNA is extracted from any of a number of possible cell sources and stored indefinitely by freezing or refrigerating for future testing; done when a specific test is not presently available or when the decision to have testing has not been made." Below the text is a diagram illustrating the process: "Cell source (i.e., blood, skin, liver, etc.)" leads to "DNA extracted from the nuclei of cells", which is then "DNA frozen or refrigerated for future testing". The page also includes "Related Terms: DNA-based testing; informed consent; molecular genetic testing", a "Posted: 10-1-02" date, and buttons for "Case Example", "Full Glossary", and "Instructions". At the bottom, there is a note: "Return to definition in Full Glossary by using browser Back button or to a Review by closing this window or clicking in Review window". The browser's taskbar shows several open windows, including "DNA", "DNA1 - Microsoft W...", "GeneReviews Full G...", and "GeneTests-Gene...".

La farmacogenetica nasce intorno agli anni '50, quando si fa strada l'idea che la diversa risposta degli individui ai farmaci fosse regolata dai geni. Come ogni risposta cellulare anche il metabolismo, il trasporto all'interno della cellula e la escrezione dei farmaci deve essere regolata da specifiche proteine e quindi da geni specifici.

20 famiglie di geni sono stati finora identificate e questi geni sono certamente coinvolti nel metabolismo dei farmaci che regolano non solo la loro efficacia ma anche la loro capacità di dare effetti tossici del farmaco stesso, una delle maggiori cause di morte.

Sembrerebbe, alla luce dei dati più recenti, che non avrebbe molta importanza conoscerne la funzione, quanto la correlazione tra profili genetici individuali e le risposte individuali ai farmaci più comunemente somministrati. Ne è l'esempio più importante la risposta nel topo alla somministrazione di iperico, il cui principio attivo, iperforina, attiva il recettore Pregnane X Receptor (PXR che ha il suo omologo nell'uomo sotto il nome SXR) che a sua volta attiva l'enzima CYP3A. Il recettore SXR sarebbe l'elemento attraverso il quale il fegato esplica la sua azione detossificante e neutralizzante nei confronti delle sostanze tossiche.

E' noto da tempo che dopo i primi cicli di chemioterapia i pazienti si dividono in "responders" e non-responders", quest'ultimi circa il 25%. Infiniti studi sono stati condotti sulla resistenza agli antitumorali e sono tuttora in corso, allo scopo di superare la resistenza e di avviare alla sperimentazione clinica della corretta terapia.

Ma finora, purtroppo, il tentativo di superare la resistenza agli antitumorali aumentandone le dosi, ha

provocato solo l'accelerare dell'exitus per tossicità farmacologica. Il poter determinare anticipatamente la resistenza a un farmaco, e non importa se di un antitumorale o di un altro farmaco, apre inimmaginabili possibilità terapeutiche, ma anche inimmaginabili problemi etici.

Le alternative alla chemioterapia sono molte e reali nella ricerca odierna, ma nell'immaginario popolare la chemioterapia rimane l'unica vera ancora di salvezza, come comunicare che non si può fare? O che non si dovrebbe fare? E, nelle incertezze attuali è giusto non farla?

Ovviamente la farmacogenetica (erroneamente spesso confusa con la farmacogenomica) non si ferma solo a queste prospettive. La possibilità del dosaggio del farmaco in dipendenza dalla risposta genetica dell'individuo e della sua suscettibilità genetica alla terapia è già nel prossimo futuro e lo testimoniano i molti trials clinici in avanzato stadio di sperimentazione clinica.

Non pochi, d'altro canto sono i problemi etici che anche la farmacogenetica pone, come ad esempio, la comunicazione al paziente. Pur con le enormi prospettive che l'applicazione della farmacogenetica apre, la comunicazione al paziente rimane sempre il punto più delicato, anche perché un counseling, degno di tale nome, ancora non esiste, se non eccezionalmente, neppure nei punti nevralgici della nostra sanità: pediatria e genetica medica.

La comunicazione

Nella comunicazione al paziente, come già precedentemente accennato, giace il vero, irrisolto proble-

ma dell'uso del genoma umano. Nel rendere edotto il paziente del suo destino legato ai dati che si possono ricavare, quanto vivrà, di cosa si ammalerà, non consegnano al paziente un "libretto delle istruzioni" con più di 3 miliardi di lettere, bensì ipotesi, non sempre suffragate da dati sperimentali. In medicina infatti si eseguono a scopo diagnostico per persone già malate o con il dubbio di esserlo, a scopo predittivo per testare la resistenza o la sensibilità una certa patologia, e infine per analisi prenatale. Queste ultime crescono di circa il 70% all'anno. Ma in assenza di fattori di rischio specifico, a detta degli esperti, non ha senso effettuare analisi genetiche dettagliate (e costose) che non sempre danno indicazioni chiare, ma che soprattutto non esitano in indicazioni terapeutiche valide. Ma ancor più contestabili sono gli esami presintomatici, per accertare fattori di rischio a determinate patologie, come per esempio ricerca di un gene di malattie ereditarie presenti in famiglia. E' utile ricordare che un esito positivo indica un rischio e non la sicurezza di contrarre la malattia, se non in rari casi. E' ancor più utile ricordare, inoltre, che sull'espressione di un gene giocano fattori ambientali, solo in parte determinati e abitudini di vita. A riprova fratelli gemelli monocoriali, esempio di clonazione naturale, possono soffrire di patologie differenti, anche se cresciuti e vissuti nel medesimo ambiente.

La comunicazione quindi si muove oggi su due piani differenti: con e senza consenso informato. A questo proposito si aprono due ipotesi: nella prima il soggetto ha firmato il consenso informato e nel consenso il soggetto ha dichiarato che desidera ricevere tutte le informazioni circa i suoi dati genetici. In tal caso viene autorizzato il trattamento e la comunicazione dei dati genetici, naturalmente limitatamente alle analisi che formano l'oggetto del consenso stesso. In tal caso il soggetto ha diritto alla conservazione dei suoi dati, e a rivendicarne la proprietà anche nel futuro. Anche in questo caso però si aprono numerosi problemi di natura etica: ad esempio il soggetto non desidera che altri familiari siano informati della presenza di un determinato gene (o rischio di contrarre una patologia di natura ereditaria), ma se i dati riguardano la salute, l'incolumità e/o la prevenzione, è giusto che non ne siano informati? La non informazione non potrebbe dare adito a futuri problemi anche di natura legale? Oppure dai dati emergono problemi che riguardano aspetti del tutto differenti dall'oggetto del consenso: per esempio la non paternità. Come comportarsi in quest'ultimo caso: comunicare o non comunicare? E se la comunicazione sconvolge campi come l'affettività, i rapporti familiari e quant'altro?

Nell'altra ipotesi il soggetto non dà il suo consenso: il trattamento o la comunicazione dei dati genetici non è consentita, ma il DNA ricavato dal prelievo può essere usato a scopo di ricerca? In linea teorica

se ogni possibilità di risalire dai dati all'identità del paziente è andata distrutta l'uso del DNA a scopo esclusivo di ricerca è possibile, come sembrerebbe possibile ottenere il DNA a scopo di ricerca sotto forma di "donazione" da parte del paziente, cosciente che, nel futuro, non gli sarà più possibile conoscere i suoi dati.

Esistono anche forme intermedie tra le due ipotesi, come la conservazione dei dati ricollegabili all'identità del paziente per un periodo di tempo (per es. 5 anni) e poi la distruzione dei codici di riconoscimento, oppure la loro conservazione di dati e codici solo da pochissime (meglio se una sola) persone.

Clonazione: ultima spiaggia

La ricerca dei rapporti tra nucleo e citoplasma data da almeno vent'anni e non portava davvero alla clonazione ma tendeva ad approfondire la ricerca dei complessi rapporti e interconnessioni tra "ambiente citoplasmatico" e nucleo. Tale ricerca, però, ha comportato il trasferimento di un nucleo da una cellula somatica a una cellula germinale privata del suo nucleo originale, dopo infiniti fallimenti tale esperimento ha confermato che una cellula germinale così trattata non solo può sopravvivere ma anche dare origine a un embrione in grado di sviluppo completo. E' stato l'inizio della "clonazione": siamo cioè in grado di clonare come una fotocopia mammiferi (la pecora Dolly) e perfino l'uomo. Fin dagli anni 50-70 erano stati ottenuti cloni di rana e di rospo africano *Xenopus laevis*, ma la buona sopravvivenza dei cloni di rana e di rospo era funzione dell'età di sviluppo della cellula donatrice del nucleo. All'inizio infatti si ottenevano girini che non raggiungevano l'età adulta, ma quando si sono usate le cellule di girino, il clone raggiungeva l'età adulta e fertile. Gli esperimenti di allora tendevano ad esplorare se i geni di una cellula adulta sono spenti per sempre all'acquisto di una specifica funzione da parte della cellula oppure se sono semplicemente "spenti" e in grado di "riaccendersi" se stimolati in maniera adatta. Dolly ha dimostrato che essi possono essere riattivati anche dopo la differenziazione cellulare, infatti l'introduzione di un nucleo di cellula adulta, spento per quanto riguarda i geni che non sono implicati nella sua specifica funzione, può avviare nella cellula uovo di un altro individuo il programma di embriogenesi. Che questo comporti l'esatta duplicazione dell'individuo donatore della cellula adulta rimane ancora da dimostrare, infatti il "copycat" ha dimostrato, sempre che l'esperimento sia stato correttamente condotto, che il clone femmina della gattina era fenotipicamente diversa dalla gatta donatrice della cellula adulta. E questo è ancora tutto da dimostrare. Ma ancora più intrigante è il fatto che, al di là delle promesse della "Clonaid" che promette clonazioni alle coppie sterili, o omosessuali, o siero-

positive, (setta dei raeliani), la clonazione vera ha un successo che non supera il 2-3% e peggio ancora i prodotti della clonazione sono spesso malformati, portatori di difetti di vario tipo e quelli apparentemente sani, potrebbero avere difetti ancora tutti da scoprire. A questo livello non è pensabile applicare la clonazione alla specie umana, mentre è pensabile clonare topi allo scopo di produrre animali da esperimento.

Molto più percorribile, perlomeno a scopo terapeutico l'inserimento di un gene su una cellula uovo allo scopo di far produrre elementi essenziali alla terapia (ad esempio il fattore IX della coagulazione) nel latte degli animali da allevamento. Oppure allevare maialini con organi modificati per poter usare gli organi modificati per il trapianto negli uomini.

Ma una nuova tecnica si affaccia con prepotenza negli ultimi anni, impropriamente detta "clonazione terapeutica": essa si basa sul trasferimento del nucleo di una cellula del malato su una cellula uovo, l'esatta tecnica che si usa per la clonazione, di modo da ottenere dai primissimi stadi di sviluppo dell'embrione cellule staminali riconosciute come "proprie" (e quindi non rigettate) dal malato. Le leggi vigenti sulla clonazione impediscono al momento attuale di proseguire questa via terapeutica, probabilmente pregna di futuri sviluppi, ma che finora ha dato, purtroppo, risultati solo deludenti.

I rischi di contrarre patologie: come individuarli con la genetica

Da 10 anni, grazie al Progetto Genoma Umano, arrivato al termine in questi giorni, i genetisti stanno iniziando a dipanare l'enorme matassa di cause genetiche e ambientali che caratterizzano le malattie multifattoriali. Con un metodo chiamato *linkage* i genetisti cercano di individuare i marcatori comuni ai familiari malati, analizzando il DNA dei componenti di intere famiglie che mostrano una frequenza anomala di determinate patologie. Dato che le regioni del DNA vicine tendono ad essere ereditate insieme, i ricercatori sanno che vicino ai marcatori deve esserci un gene comune a tutti gli individui malati. Centinaia di geni sono stati identificati coinvolti nell'etiopatogenesi di malattie multifattoriali come l'ipertensione, l'asma, il diabete, l'autismo e molte altre. Ad esempio una variante del gene dell'ipertensinogeno conferisce al 35% dei caucasici un aumentato rischio di ipertensione e di infarto (fino a tre volte sopra la media). Questo 35% è anche più sensibile a diete povere di sodio e agli ACE inibitori.

Ma fino a che punto vale la pena di conoscere questo rischio? Se il rischio è chiaro, univoco e se esiste una precisa precauzione da adottare, il conoscerlo può determinare il limite tra la vita e la morte e ogni test di suscettibilità non solo diviene importan-

te, ma proporlo con relativa informazione è quasi doveroso. Ma se non conosciamo alcuna prevenzione né terapia il conoscerlo può rovinare la qualità della vita o indurre mutilazioni preventive (asportazione del seno, dell'ovaio, dell'utero, di tratti di intestino etc.). Non solo, ma se i dati relativi alla nostra suscettibilità a determinate malattie finiscono nelle mani sbagliate potremmo rischiare di perdere il lavoro, l'assicurazione sulla vita, sulla salute o di vederne i relativi premi assicurativi arrivare a prezzi proibitivi. Senza contare che analisi a tappeto sul nostro DNA potrebbero riservare sgradevoli sorprese in campi squisitamente privati, come la paternità, la non consanguineità, la necessità di rivelare possibilità di rischi e pericoli alla progenie.

In ogni caso assistiamo attualmente ad una vera e propria "esplosione" di quei test di suscettibilità la cui utilità è limitata ma non francamente dannosa, come l'identificazione dei geni *BRCA1* e *BRCA2* o *MLH1* e *MSH2* per l'alto rischio di tumore al seno, o *BRCA* per quello alle ovaie, o *MLH* e *MSH* per il tumore al colon. A parte la relativa rarità di questi tumori la grande delusione giace nella percentuale degli individui portatori di geni specifici di sviluppare il tumore che non supera il 20%, contravvenendo il dogma che vigeva fino a poco tempo fa, che un test predittivo si deve effettuare, con relativa comunicazione al paziente, solo se il rischio di sviluppare la malattia è alto e se esiste la possibilità concreta di prevenzione. Né d'altro canto è pensabile che la sola presenza del gene sia determinante per l'insorgenza di una complessa patologia come il tumore, né è pensabile che si ripeta il caso del gene *RET* la cui mutazione determina l'insorgenza del tumore alla tiroide nella quasi totalità dei pazienti che si sono stati sottoposti al test. A conferma che i fattori ambientali hanno un'importanza fondamentale nel determinare l'insorgenza di una patologia, gli studi sui gemelli monocoriali, esempio naturale di "clonazione", dimostrano che l'identità genetica non significa soffrire delle stesse patologie.

Bibliografia

1. Finocchiaro G, Guarinello R, Lenti L, Piazza A, Pierotti M, Sismondi P, Vineis P. *Genetica e Società*. Milano: Bioetica, Zadig ed.; 2003. p. 649-720.
2. Kevin D. *Il Codice della Vita*. Milano: Mondadori ed.; 2002.
3. Chakravarti A, Little P. Nature, nurture and human disease. *Nature* 2003; 421:412-4.
4. Bell JI. The double helix in clinical practice. *Nature* 2003; 421:414-6
5. Vezzoni P, Frattini A, Faranda S, Dulbecco R. *Le Scienze dossier-Scientific American* 2003; 15:32-44.
6. Corbellini G. *Le Scienze dossier-Scientific American* 200; 15: 84-88.