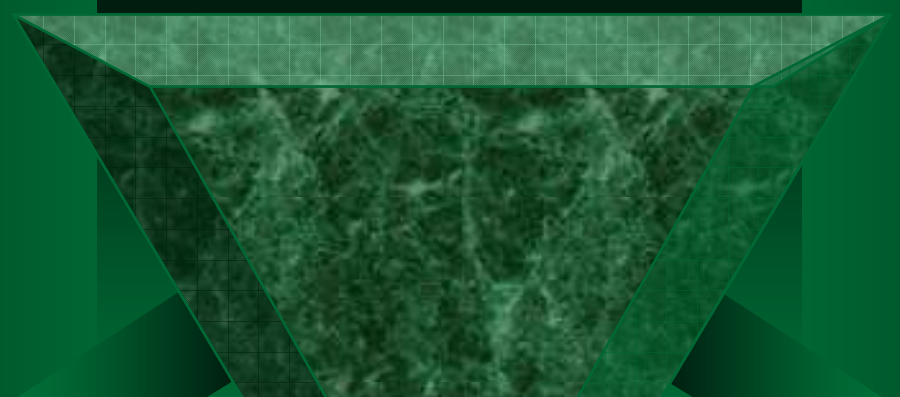


Prof. M. Calipari



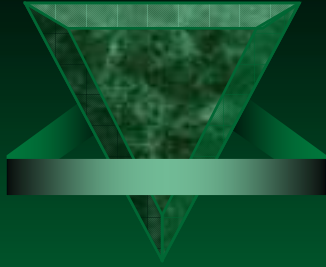
Ingegneria genetica e nuove prospettive terapeutiche

L-19

Facoltà di Scienze della Formazione

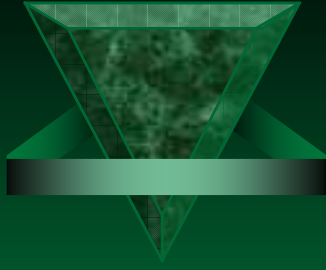
Università degli Studi di Macerata

a.a. 2011-12



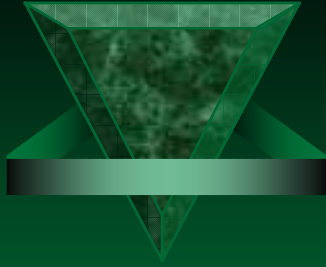
Introduzione

- ✓ le scoperte dell'ingegneria genetica come “provocazione” immediata alla nascita della bioetica
- ✓ incertezza terminologica che ingenera perplessità ed allarme
 - manipolazione genetica ? ingegneria genetica ? terapia genetica (o geneterapia) ?
 - **Ingegneria genetica** : insieme di tecniche dirette a trasferire nella struttura della cellula di un essere vivente alcune informazioni genetiche che altrimenti non avrebbe avuto (*E. Sgreccia, V. Mele*).



Introduzione

- ▼ tendenze ed atteggiamenti contrastanti:
 - ottimismo terapeutico e speranze
 - addetti ai lavori, biologi molecolari, genetisti, ecc.
 - auspicabile assenza di vincoli giuridici ed etici; libertà dei metodi di ricerca (es. sperimentazione embrionale)
 - preoccupazione per possibili deviazioni
 - giuristi e moralisti
 - rischio di cambiamento dello statuto genetico dell'umanità; precisi vincoli normativi sulla ricerca



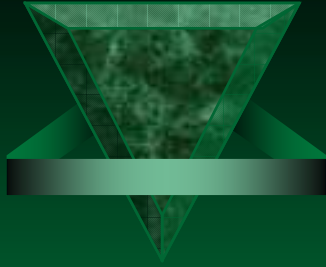
Introduzione

✓ **AUTOPOIESI dell'uomo**

- capacità di far sbocciare la vita in laboratorio e di variarne lo statuto genetico
- nuova tappa del “darwinismo”
 - filogenesi (evoluzione della specie) non più come risultato delle mutazioni genetiche spontanee, sotto l'influsso dell'ambiente, bensì come prodotto della diretta azione dell'uomo secondo le sue direttive

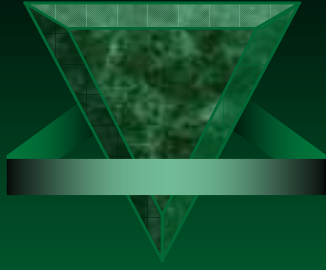
✓ **ruolo cruciale dell'etica**

- analogia con la scoperta e l'uso dell'energia atomica
 - possibilità di orientamento pacifico e costruttivo: nuove applicazioni terapeutiche per debellare malattie resistenti
 - possibilità di orientamento manipolatorio e distruttivo



Genetica e bioetica...

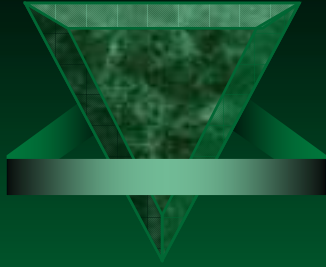
- V.R. Potter: scienza della “sopravvivenza” dell’ecosistema, “ponte” fra due culture
- H. Jonas: il *principio responsabilità*, anche verso le generazioni future
- La genetica entra nei Parlamenti: audizioni di scienziati e ricercatori (lo stesso Watson nel 1971, che illustra gli enzimi di restrizione)
- L’istituzione di Comitati Etici specificamente finalizzati ad esaminare i protocolli di ricerca nel campo della genetica



“Causa prossima” della riflessione etica in genetica

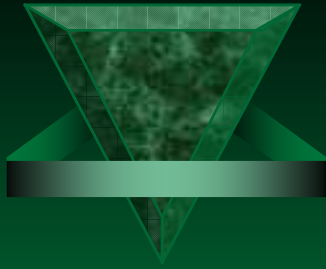
P. Berg e l'esperimento presso la Stanford University: ipotesi di integrare nell'*Escherichia coli* il genoma del virus SV40 (tumori nella scimmia, associato a tumori cerebrali nell'uomo)

- Consapevolezza dei rischi all'ultima ora:
 - se *E. coli*, ospite abituale dell'intestino umano, così modificato fosse sfuggito al controllo?
 - se avesse infettato i ricercatori?
 - se si fossero verificate epidemie di cancro?
- L'esperimento non venne più eseguito!



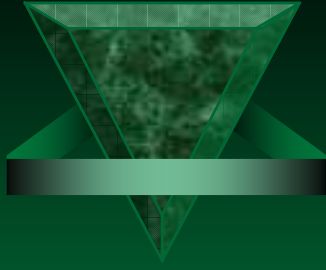
L'esigenza di CE per la genetica

- ✓ 1973: Gordon Conference (nel New Hampshire), prima azione ufficiale presa dagli stessi ricercatori in risposta alle preoccupazioni sulle possibilità della ingegneria genetica
 - Lettera dei Chairmen del Congresso (pubblicata poi su *Science*) alla NAS e al NIM: preoccupazione sulle possibilità, rischi per la salute pubblica, raccomandazione di specifiche azioni e linee-guida
 - La NAS costituisce il primo CE presieduto proprio da P. Berg: elaborazione di raccomandazioni pubblicate sulle autorevoli riviste *Nature* e *Science*



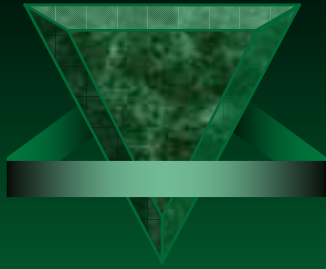
Raccomandazioni del Comitato Berg

- Autoregolamentazione dei ricercatori, sospensione volontaria di esperimenti di I.G. non adeguatamente controllabili, in particolare esperimenti di:
 - diffusione tra i batteri di resistenza agli antibiotici, produzione di tossine pericolose
 - diffusione di oncogeni nelle popolazioni batteriche e quindi agli altri animali e all'uomo
- Richiesta al NIH di costituire un *advisory committee* permanente che elaborasse line-guida per l'uso del DNA ricombinante: 1974, NIHRAC
- Conferenza internazionale per discutere dei rischi: 1975, conferenza di Asilomar (CA), individuazione degli esperimenti pericolosi



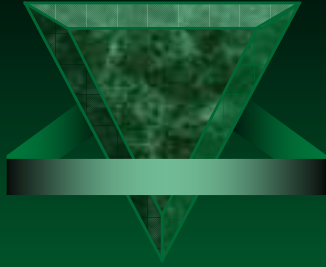
Esperimenti potenzialmente pericolosi individuati nella Conferenza di Asilomar

- ✔ Inserimento di geni codificanti per tossine nei batteri
- ✔ cambiamento dello spettro di ospiti (host range) nei batteri
- ✔ uso di virus animali come vettori
- ✔ clonazione di DNA dai virus animali
- ✔ inserimento nei batteri di geni codificanti per sostanze correlate con i farmaci
- ✔ inserimento nei batteri di plasmidi conferenti resistenza agli antibiotici
- ✔ inserimento a caso di pezzi di DNA da organismi animali superiori a organismi inferiori



USA President's Commission for the study of ethical problems in medicine and biomedical and behavioral research

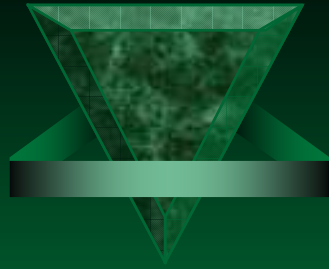
- ✔ Creazione autorizzata dal Congresso nel 1978
- ✔ 11 membri fra scienziati, clinici, teologi, giuristi, eticisti, amministratori sanitari e pubblici
- ✔ Inizio dei lavori nel 1980 prendendo in esame tutti i problemi emergenti della I.G. considerando:
 - la regolamentazione scientifica e federale già esistente
 - le tecniche usate in campo diagnostico, terapeutico, produttivo, ecc.
 - i punti di vista delle varie religioni
 - gli aspetti educativi per il vasto pubblico
 - le obbligazioni sociali
 - le implicazioni medico-legali (responsabilità per i danni, mancanza di consenso, violazione privacy)
 - implicazioni economiche e commerciali



USA President's Commission: *Splicing life, 1982*

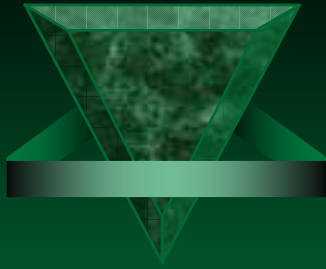
Conclusioni e raccomandazioni

- ✓ Esagerata l'eccessiva paura nei confronti della I.G.
Le nuove conoscenze, frutto della capacità di ricerca e dell'ingegno dell'uomo sono un arricchimento per l'uomo stesso, e i “nuovi poteri” stimolo per esercitare la sua responsabilità
- ✓ Le nuove tecniche rappresentano un valore etico da incoraggiare
Correzione di difetti genetici, alleviano le sofferenze umane: necessità di attenta valutazione da parte degli IRBs dei protocolli di sperimentazione
- ✓ Applicazioni diagnostiche e terapeutiche dell'I.G. sull'uomo non precluse per principio
- ✓ Opportuna educazione per il vasto pubblico
- ✓ Istituzione di CE indipendenti, multidisciplinari



Le quattro grandi proposizioni della Raccomandazione 934/82 del CdE

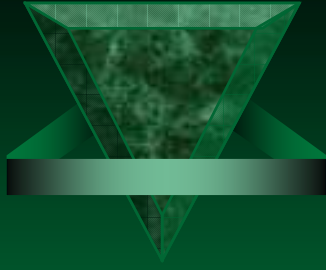
- ✓ Assicurare la protezione dei diritti dell'uomo in questo ambito
 - diritto ad un patrimonio genetico non manipolato
 - diritto alla protezione del segreto circa le informazioni genetiche
- ✓ Redigere lista di malattie gravi suscettibili di essere trattate, con il consenso
- ✓ Preparazione di una Convenzione europea sulle applicazioni lecite della genetica, registro europeo delle ricerche
- ✓ Possibilità di brevettare microrganismi geneticamente modificati



Summit Conference on Bioethics The human genome sequencing: ethical issues (Roma, aprile 1988)

Raccomandazioni

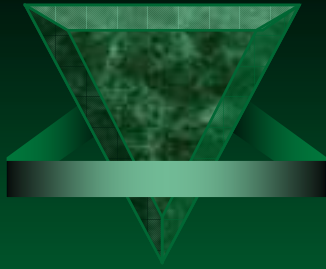
1. No limitazioni intrinseche a conoscenza del genoma; incoraggiare la ricerca
2. Concertazione sforzi nazionali e internazionali per raggiungere al più presto le conoscenze
3. Le informazioni genetiche ottenute devono rispettare diritti e interessi di singoli o gruppi cui appartengono (autodeterminazione, privacy, non-discriminazione)
4. Gene-terapia su cellule somatiche: trattamento sperimentale basato sulla ricerca (prospettive di efficacia e sicurezza, con il consenso, privacy)



Summit Conference on Bioethics The human genome sequencing: ethical issues (Roma, aprile 1988)

Raccomandazioni (segue)

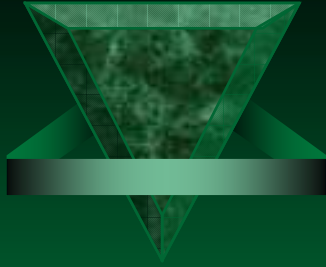
5. Al momento, no indicazioni mediche né giustificazioni etiche per geneterapia su cellule germinali.
6. Educazione sulla genetica sin dall'età scolare e per leader industria, intellettuali, funzionari governativi e altri decisori. Utili commissioni etiche locali, nazionali e internazionali.
7. Ulteriore approfondimento su:
 - a) rischi predizione, screening, diagnosi
 - b) banche di DNA per studi famiglie, popolazioni, malattie
 - c) brevettazione genoma umano



Dichiarazione universale sul genoma umano e i diritti dell'uomo (UNESCO, 11.XI.1997)

Preambolo

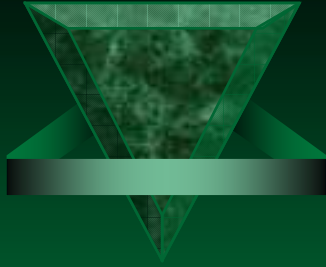
“Le ricerche sul genoma umano e le loro applicazioni aprono immense prospettive di miglioramento della salute degli individui e dell'umanità nel suo insieme”, ma “esse devono nello stesso tempo rispettare pienamente la dignità, la libertà e i diritti dell'uomo, così come l'interdizione di ogni forma di discriminazione fondata sulle caratteristiche genetiche”.



Dichiarazione universale sul genoma umano e i diritti dell'uomo (UNESCO, 11.XI.1997)

A. LA DIGNITA' UMANA ED IL GENOMA UMANO

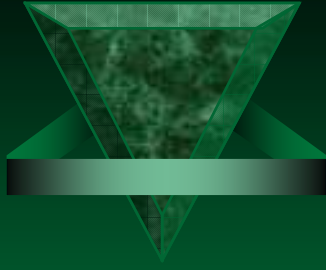
- ✓ In senso simbolico il genoma umano è patrimonio dell'umanità: sottende l'unità fondamentale di tutti i membri della famiglia umana, riconoscimento di intrinseca dignità e diversità (art. 1)
- ✓ Dignità e diritti non dipendono da caratteristiche genetiche individuali (art. 2a)
- ✓ il genoma nel suo stato naturale non può dar luogo a profitti economici (art. 4)



Dichiarazione universale sul genoma umano e i diritti dell'uomo (UNESCO, 11.XI.1997)

B. DIRITTI DELLE PERSONE INTERESSATE

- ✔ tutela legale della persona in caso di ricerca, cura e diagnosi relativa al suo genoma: valutazione rigorosa rischi/vantaggi potenziali (art. 5a)
- ✔ consenso libero e informato dell'interessato (art. 5b)
- ✔ diritto di essere informato o meno dei risultati e delle sue conseguenze (art. 5c)
- ✔ protocolli di ricerca valutati preliminarmente (art. 5d)
- ✔ sull'incapace di consenso solo ricerca con beneficio diretto per la sua salute. Eccezionalità della ricerca che non porti a beneficio diretto (art. 5e)

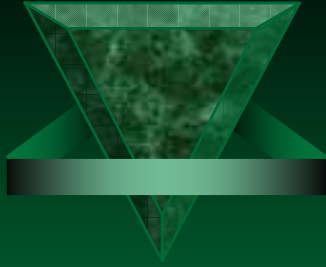


Dichiarazione universale sul genoma umano e i diritti dell'uomo (UNESCO, 11.XI.1997)

B. DIRITTI DELLE PERSONE INTERESSATE

segue ...

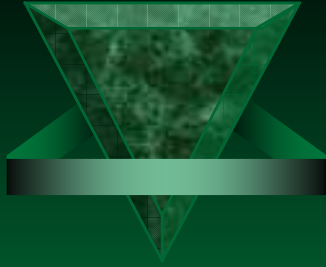
- ✓ divieto di discriminazione sulla base delle caratteristiche genetica (art. 6)
- ✓ la riservatezza sui dati genetici identificabili, conservati o trattati a scopo di ricerca o altro (art. 7)
- ✓ risarcimento danno subito per causa diretta e determinante di intervento sul proprio genoma (art. 8)



Dichiarazione universale sul genoma umano e i diritti dell'uomo (UNESCO, 11.XI.1997)

C. RICERCHE SUL GENOMA UMANO

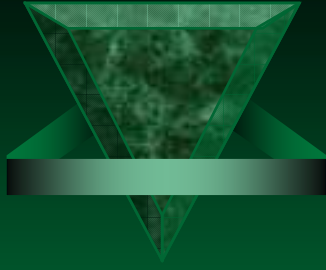
- ✓ il fine della ricerca non può prevalere sul rispetto dei diritti dell'uomo, individuo o gruppo (art. 10)
- ✓ divieto di clonazione a scopo di riproduzione degli esseri umani, contraria alla dignità umana (art. 11)
- ✓ uguale accesso ai risultati della ricerca (art. 12a)
- ✓ libertà di ricerca, come libertà di pensiero, finalizzata a alleviare le sofferenze e migliorare la salute (art. 12b)



Dichiarazione universale sul genoma umano e i diritti dell'uomo (UNESCO, 11.XI.1997)

D. ESERCIZIO DELL'ATTIVITA' SCIENTIFICA

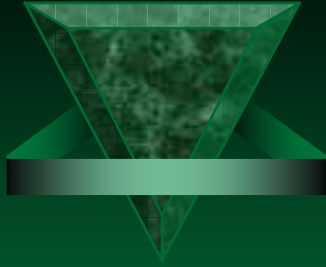
- responsabilità dei ricercatori: rigore, prudenza, onestà intellettuale, integrità nella conduzione della ricerca, nella presentazione e uso dei risultati (art. 13)
- Responsabilità particolari di chi ha funzioni decisionali in materia di politiche scientifiche, sia in ambito pubblico sia privato (art. 13)
- Responsabilità degli Stati: libera attività di ricerca, uso risultati a fini pacifici, creazione di CE (artt. 14-16)



Dichiarazione universale sul genoma umano e i diritti dell'uomo (UNESCO, 11.XI.1997)

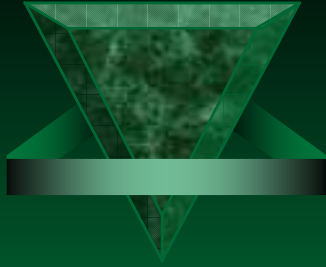
E. SOLIDARIETA' E COOPERAZIONE INT.LE

- ✓ solidarietà con individui/famiglie/gruppi vulnerabili o affetti. Attenzione a malattie rare e endemiche (art. 17)
- ✓ favorire diffusione internazionale della conoscenza scientifica sul genoma, anche verso i paesi in via di sviluppo (art. 18)
- ✓ cooperazione con i Paesi in via di sviluppo: valutare rischi/vantaggi, prevenire abusi, ricerca su problemi specifici, libero scambio delle conoscenze (art. 19)



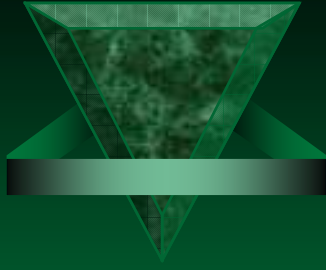
Alcune tappe importanti...

- ✓ 1856-1865: scoperte di Mendel sull'ereditarietà
- ✓ 1953: modello struttura del DNA (doppia elica) ad opera di J. Watson e F. Crick
- ✓ 1956: riscoperta cromosomi umani come struttura portante del materiale genetico
- ✓ 1965: prima cell-fusion (cellule umane e murine); passaggio di geni ai cromosomi umani
 - Hotchkin: prima volta del termine “ingegneria genetica” (*genetic engineering*)
- ✓ 1967: inizio impiego tecniche di diagnosi prenatale in campo genetico
- ✓ 1969: scoperta endonucleasi di restrizione (enzima “bisturi” del DNA)
- ✓ 1970: sintesi primo gene artificiale
- ✓ 1971: DNA ricombinante (batterio come vettore)
- ✓ 1981: nascita primi topini per clonazione



Tecnologie di ingegneria genetica

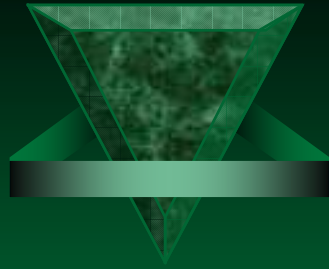
- ✓ **Mappatura** (1973-88, prima del Prog Gen)
 - localizzazione sui cromosomi dei geni di cui si conoscono già i prodotti o gli effetti
 - ibridazione cellulare, “sonde”, ecc.
 - risultati importanti: individuazione geni “codificanti” (es. distrofia muscolare, fibrosi cistica, ecc.)
- ✓ **Isolamento**
 - utilizzo delle endonucleasi di restrizione
- ✓ **Clonaggio**
 - “moltiplicazione biologica” di singoli geni mediante inserimento nel patrimonio genetico di microrganismi (DNA-ricombinante)
- ✓ **Sequenziamento** (1989-2001, Progetto Genoma Umano)
 - Human Genome Organization – HUGO
 - PGU: sequenziazione dei geni, definizione della ordinata successione delle basi di cui sono composti
 - 2001: F. Collins (NHGRI) e C. Venter (Celera Genomics) annunciano la prima bozza della sequenziazione completa (inserita nello Human Genome Data Base)
- ✓ **Annotazione e funzione dei geni** (terzo periodo, ancora in corso)
 - assegnazione ai diversi cromosomi dei singoli geni
 - oggi conosciamo la causa genetica di centinaia di malattie, soprattutto tumori



Tecnologie di ingegneria genetica

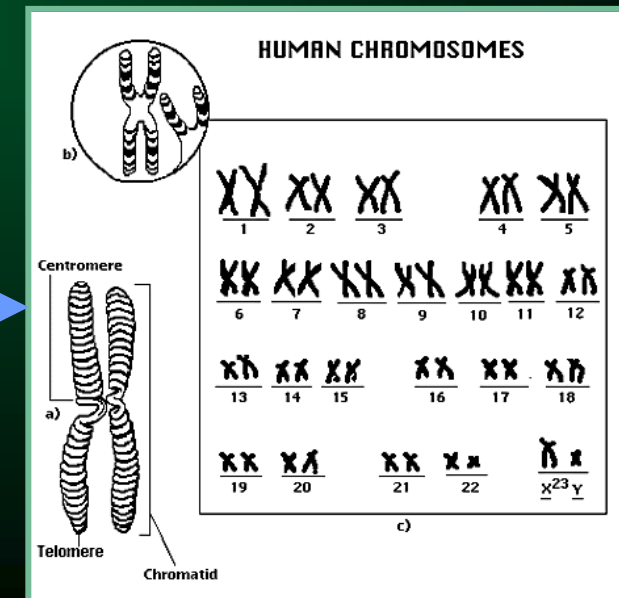
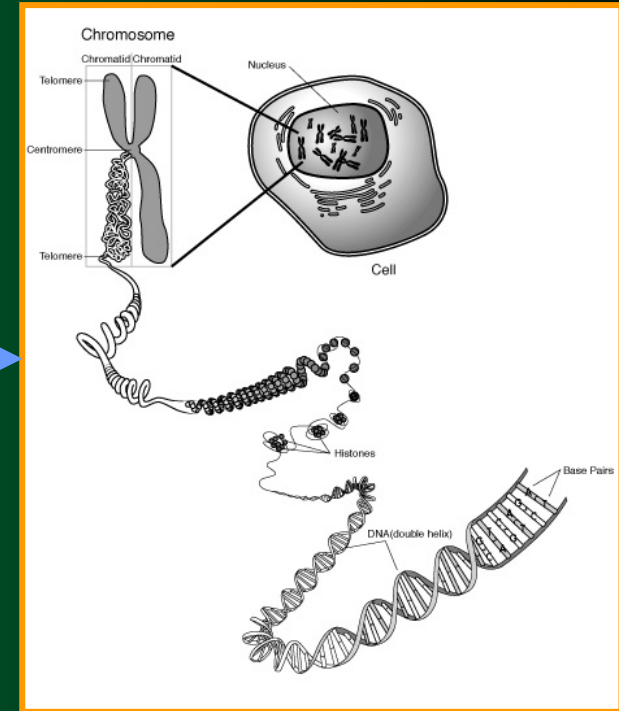
✓ periodo POST- GENOMA:

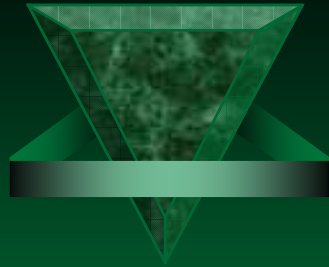
- individuazione e mappatura di tutti i geni
- studio della loro funzione specifica
- analisi delle eventuali mutazioni patogene
- ampliamento delle ulteriori prospettive:
 - a) **PROTEOMICA**: studio delle migliaia di proteine prodotte dall'organismo umano, loro distribuzione e azione
 - b) **GENOMICA FUNZIONALE**: attraverso strumenti bioinformatici (chips genetici), screening simultaneo di un vasto numero di geni, per cogliere le loro interazioni e funzioni globali
 - comprensione delle patologie poligeniche o polifattoriali
 - c) **FARMACOGENETICA** o **FARMACOGENOMICA**: terapie farmacologiche personalizzate, attraverso la conoscenza dei geni implicati nel metabolismo dei farmaci
 - probabile mutamento sostanziale della prassi medica e della terapia farmacologica



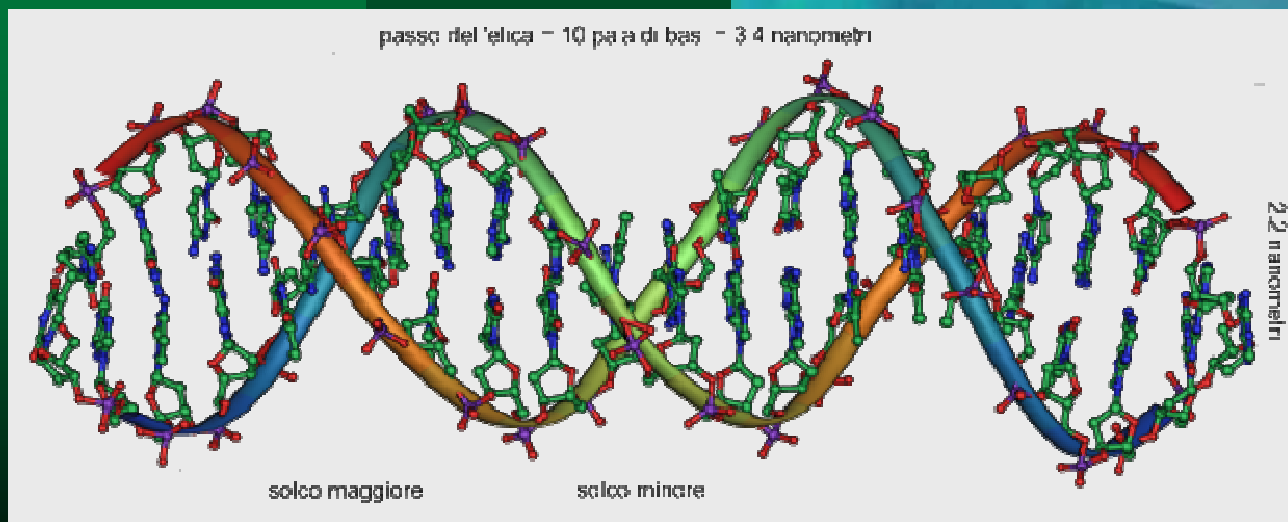
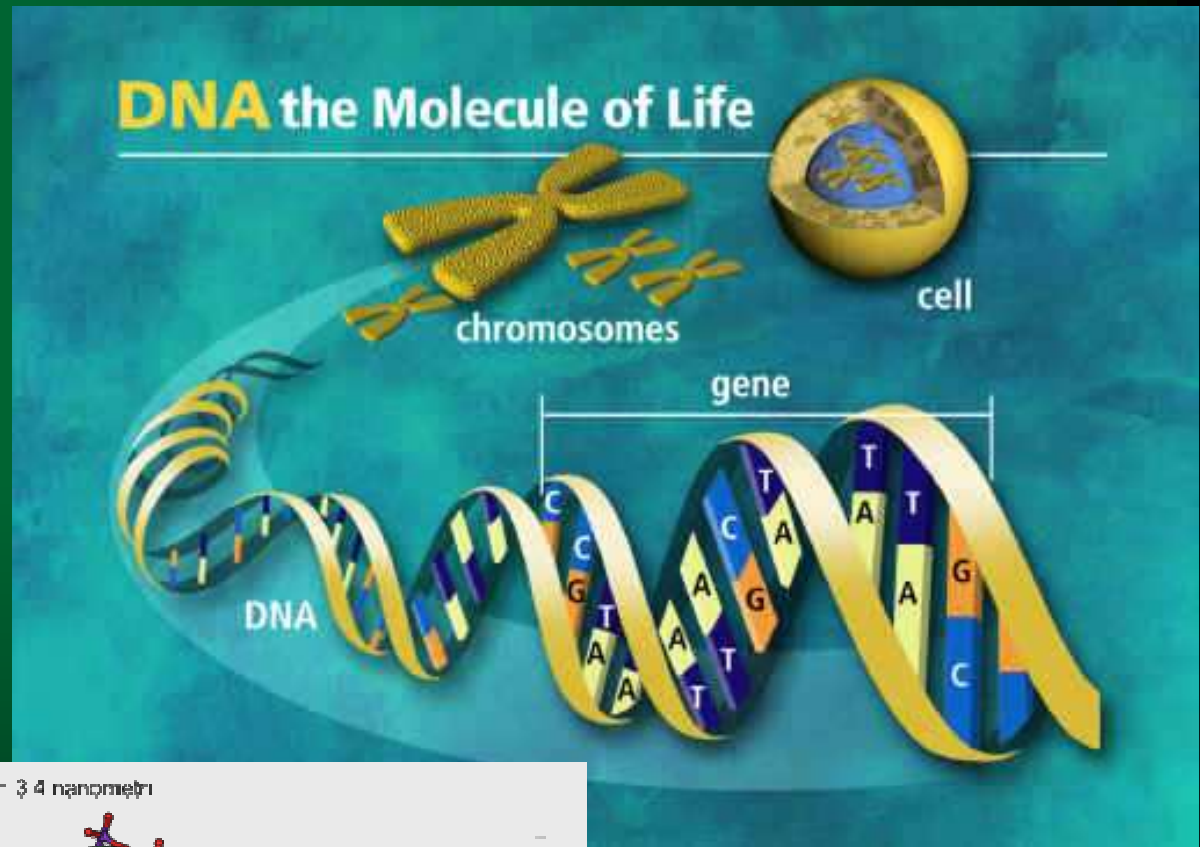
Alcune descrizioni

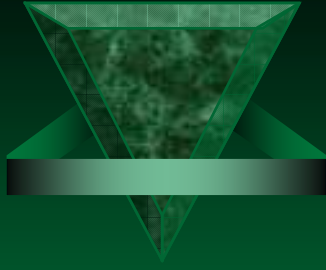
1. Le caratteristiche somatiche dell'organismo vivente sono determinate dal suo codice genetico
2. Il codice genetico di ogni specie è contenuto nei cromosomi presenti nel nucleo di ogni cellula dell'organismo (46 nel caso dell'uomo)



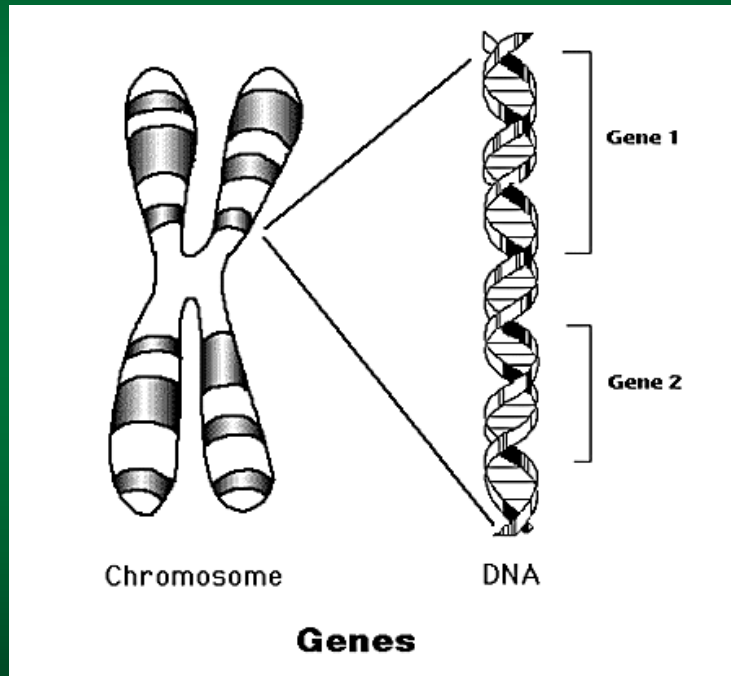


Il DNA umano

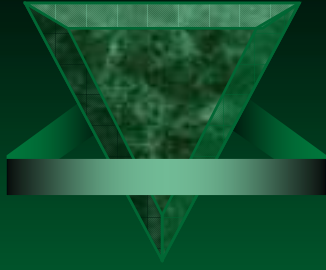




I Geni

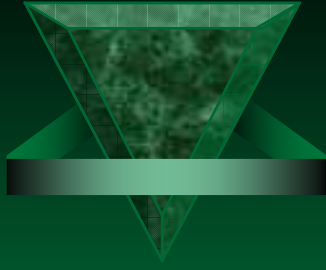


1. I geni sono le parti del DNA destinate alla codificazione di determinate proteine
2. All'interno della stessa specie ogni individuo è caratterizzato dall'insieme dei suoi geni (sequenza genetica)
3. I geni presenti nel DNA umano sono attualmente stimati in circa 24-25.000



Applicazioni e problemi della genetica

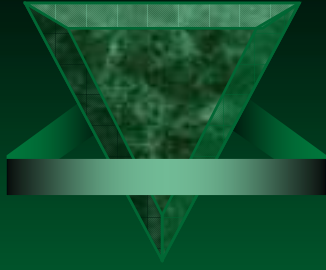
- ✓ ai fini di una corretta valutazione etica, necessario tenere presenti:
 - **livelli di intervento**
 - cellule somatiche
 - cellule germinali
 - embrione precoce
 - **finalità**
 - diagnostiche
 - terapeutiche
 - produttive
 - alterative
 - sperimentali (distruttive)



Applicazioni e problemi della genetica

✓ livelli d'intervento

- cellule somatiche (es. linfociti, midollo osseo)
 - prospettiva terapeutica tra le più promettenti della ricerca genomica
 - ad oggi, migliori risultati da esperimenti di geneterapia in utero su animale
- cellule germinali
 - transfezione genica su ovociti e spermatozoi
 - nell'uomo possibilità remote di successo per l'incapacità di guidare l'inserimento del gene corretto
 - moratoria dovuta al rischio di trasmissione di mutazioni genetiche incontrollabili
- embrione precoce
 - alto rischio di compromettere la vita dell'embrione o il suo avvenire biologico (in senso genetico)
 - sperimentazione vs. terapia

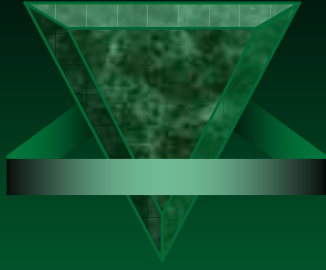


Applicazioni e problemi della genetica

✓ finalità d'intervento

– f. diagnostiche

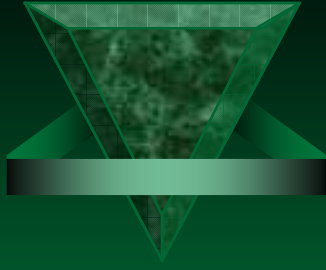
- diagnosi genetica prenatale
- diagnosi post-natale
 - per verificare l'origine di una malattia
 - in fase prematrimoniale e preconcezionale
 - accertamento della paternità
 - in ambito penalistico, identificazione del reo di delitti
- *screening* genetico
 - sulle famiglie
 - donne incinte in popolazioni a rischio
 - medicina del lavoro



Applicazioni e problemi della genetica

✓ f. terapeutiche

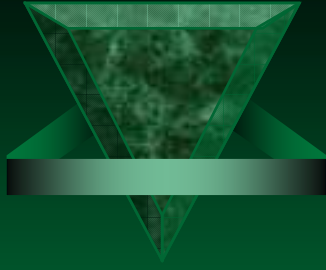
- differenti livelli d'intervento
- la terapeuticità va riferita al soggetto su cui si interviene e non solo ai possibili benefici per gli altri



Applicazioni e problemi della genetica

✓ f. produttive

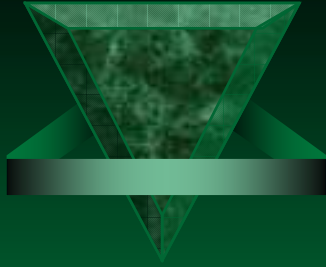
- per la produzione di medicinali
 - ormoni (insulina umana)
 - interferon
 - vaccini batterici, virali e parassitari
 - fattore VIII, carente nell'emofilia A
- biotecnologie vegetali e animali
 - particolarmente nel settore agroalimentare
 - protezione delle produzioni vegetali



Applicazioni e problemi della genetica

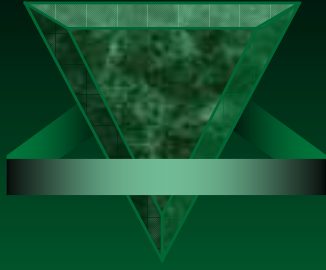
▼ f. alterativa

- alterativa = non terapeutica, ma elettiva e selettiva
 - ipotizzabile in ambito umano, animale, vegetale per la creazione di specie modificate o di classi di individui ingegnerizzati
 - rischi dell'impatto delle biotecnologie sull'ecosistema
- forma attenuata: “miglioramento della specie”
 - ambiguità del concetto
 - chi dovrebbe decidere?
 - con quali criteri?



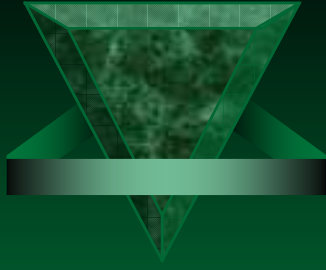
Modelli etici di riferimento

- necessità dell'etica nella prassi genetica
 - non tutto ciò che è tecnicamente possibile, per ciò stesso, è anche moralmente lecito
- orientamenti etici
 - Teleologico
 - Utilitarista
 - Sociobiologico (eugenico)
 - Personalistico
 - il genoma non rappresenta tutta la dignità della persona (NO a discriminazioni su base genetica)
 - tuttavia il genoma influenza tutta la corporeità, nella sua inscindibile unità con lo spirito



Principi etici generali derivati dal *personalismo*

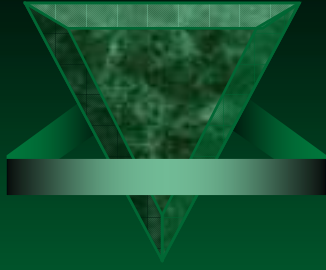
- ✓ la salvaguardia della vita e della identità genetica di ogni essere umano
- ✓ il principio terapeutico (cellule somatiche)
- ✓ la salvaguarda dell'ecosistema e dell'ambiente
- ✓ la differenza ontologica e assiologica tra l'uomo e gli altri esseri viventi
- ✓ la competenza della comunità (legislazione, comitati etici, ecc.)



Norme etiche specifiche

▼ Biotecnologie

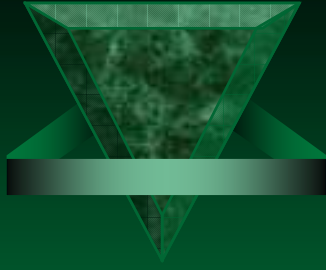
- *definizione* (CNB 1991): ogni tecnica che utilizza organismi viventi o loro parti per fare o modificare prodotti, per migliorare piante o animali o per sviluppare micro-organismi per usi specifici
- linee etiche generali:
 - la difesa della vita e della salute dell'uomo
 - la salvaguardia dell'ambiente



Norme etiche specifiche

▼ **Biotecnologie**

- in ambiente confinato
 - a) tratti genetici, fisiologici, ecologici ed eventuale patogenicità dell'organismo parentale;
 - b) natura delle modificazioni o caratteristiche del DNA ricombinante con cui è stato trasformato
- rilascio di OGM
 - piante
 - animali superiori
 - micro-organismi (batteri e virus)
 - prima condizione di eticità: valutazione del rischio (criteri specifici)

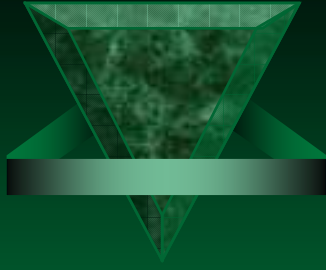


Norme etiche specifiche

✓ Diagnosi e *screening* genetici post-natali

– campi di applicazione

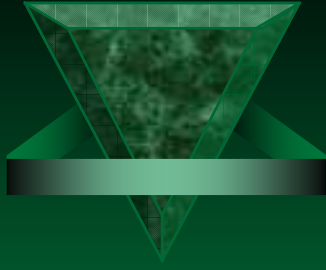
- 1. individuazione cause genetiche di patologie e sintomatologie cliniche conclamate
- 2. diagnosi genetica prematrimoniale e preconcezionale
- 3. esame genetico su lavoratori, per loro tutela in particolari condizioni di ambiente lavorativo
- 4. Progetto Genoma Umano
- 5. applicazioni in campo forense
- 6. esame genetico richiesto dalle assicurazioni



Norme etiche specifiche

▼ Terapia genica

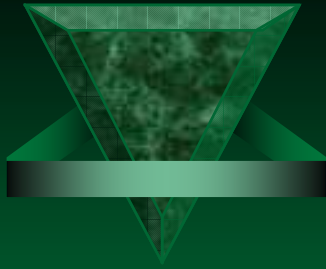
- definizione: introduzione in organismi o cellule umane di un gene, cioè di un frammento di DNA, che ha l'effetto di prevenire e/o curare una condizione patologica
 - principio etico di base: intangibilità del patrimonio genetico di un soggetto, come espressione del diritto al rispetto dell'integrità fisica della persona
 - diritto al mantenimento e recupero dell'integrità ed efficienza della propria dotazione genica (principio terapeutico)
 - lecita la terapia genica somatica e germinale (in linea di principio)
 - *de facto*: eticamente illecita la terapia germinale
 - assenza di metodiche efficaci; rischi incontrollabili
 - deliberata ricerca di modifica della costituzione genetica (contraria al princ. di rispetto della vita e dell'identità biologica; al princ. di uguaglianza tra gli esseri umani)



Norme etiche specifiche

✓ I.g. alterativa e/o amplificativa nell'uomo

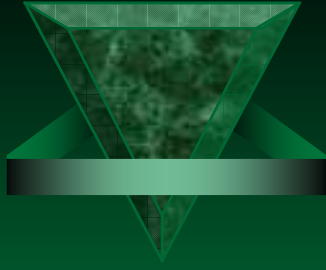
- a determinate condizioni, liceità etica nei vegetali e negli animali
 - presenza di rischi da controllare e dominare
- assenza di finalità direttamente terapeutica (fine di restituire l'integrità genetica)
 - alterativa = produzione di un carattere genetico nuovo
 - amplificativa = potenziamento di un carattere già esistente



Norme etiche specifiche

➤ **I.g. alterativa e/o amplificativa nell'uomo**

- ipotesi per 4 gradi d'intervento (M. Cuyas):
 - 1) colmare una deficienza che lascia il soggetto in condizioni di inferiorità rispetto alla media statistica;
 - forma di terapia
 - 2) migliorare il soggetto in una o più qualità al di sopra di questa media statistica;
 - 3) procurare alla discendenza una superiorità rispetto alla norma nello sfruttamento di certe qualità (altezza, forza, intelligenza, ecc.);
 - 4) dotare l'uomo di qualità che in se stesse o nel loro livello d'intensità sono estranee alla specie umana.



Norme etiche specifiche

- segue...
 - terapia potenziatrice o eugenetica? ingegneria alterativa?
 - questioni etiche
 - impossibilità del consenso del soggetto (solo su adulto consenziente, se fosse possibile)
 - rischio di condizionare l'avvenire del soggetto stesso
 - offesa al princ. di uguaglianza
 - dominio arbitrario del proprio corpo
 - classificazione qualità/difetti dipendente da mode culturali esaltazioni strumentali
- l'ipotesi della "ibridazione"
 - (uomo-uomo, uomo-animale)