

Malattie genetiche: recenti acquisizioni scientifiche e problemi sanitari ed etici

Domenica TARUSCIO (a) e Giuliano D'AGNOLO (b)

(a) *Laboratorio di Ultrastrutture*, (b) *Laboratorio di Biologia Cellulare*,
Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto. - Pur nella loro rarità come condizioni singole, nel loro insieme le malattie genetiche sono molto numerose e pertanto rappresentano una significativa porzione delle patologie nella popolazione. I progressi delle tecniche di genetica molecolare hanno portato ad un grande incremento della possibilità di diagnosticare le malattie genetiche sia nei soggetti sintomatici che presintomatici e nei portatori sani; tuttavia ciò ha creato spesso un divario tra la capacità diagnostica e la capacità terapeutica. Inoltre, lo sviluppo dei test genetici ha sollevato numerose domande di natura etica, legale e sociale. Per definire principi generali indirizzati sia alla gestione ed esecuzione dei test genetici che alla programmazione e promozione di questo settore all'interno della sanità pubblica, sono state elaborate nel 1998 le *Linee guida italiane per i test genetici* (disponibili sul sito Internet dell'Istituto Superiore di Sanità: <http://www.iss.it>). In accordo con le raccomandazioni internazionali (WHO, EU), questo documento dà particolare rilievo ai criteri per garantire un uso appropriato di test genetici sicuri ed efficaci, la loro esecuzione in laboratori con elevati standard di qualità, ed una loro gestione che garantisca all'utente autonomia decisionale, adeguata assistenza psicologica e sociale ed attenzione ai problemi etici e di riservatezza.

Parole chiave: malattie genetiche, test genetici, assicurazione di qualità, bioetica, privacy.

Summary (*Genetic diseases: recent scientific progress and problems concerning public health and ethics*).

- Genetic diseases are very numerous, even though rare as single conditions: therefore, overall they represent a significant portion of morbidity at population level. The improvement of molecular genetic techniques has brought a great increase in the diagnostic potential toward genetic diseases, concerning either symptomatic or pre-symptomatic individuals and healthy carriers. However, this has frequently unforeseen consequences, such as a discrepancy between diagnostic and therapeutic potentials. Moreover, the development of genetic tests has raised a number of questions regarding ethical, legal and social problems. The *Italian guidelines for genetic tests* (available on the Internet site of Istituto Superiore di Sanità: <http://www.iss.it>) have been elaborated in 1998 to define general principles for performing and managing genetic tests as well as for programming and promoting genetic testing within the public health system. In accordance with recommendations by international bodies (WHO, EU), the Guidelines give emphasis to the appropriate use of both safe and efficacious tests, the performance in laboratories with high quality standards. A further crucial point is the relationship between the health system and individuals: autonomy of decision, psychological and social assistance, as well as adequate attention to ethical and privacy problems should be guaranteed.

Key words: genetic diseases, genetic tests, quality assurance, bioethics, privacy.

Introduzione

I progressi delle tecniche di genetica molecolare, unitamente agli studi compiuti nell'ambito del Progetto Genoma Umano condotto su scala mondiale, hanno avuto un grande impatto sulla possibilità di diagnosticare con sempre maggior precisione le malattie genetiche. Negli ultimi anni infatti, sono stati identificati i geni responsabili di diverse centinaia delle circa 5000 malattie genetiche catalogate in OMIM (online Mendelian inheritance in man) (<http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim>). Una volta identificato uno specifico gene-malattia, vi è la possibilità di effettuare, mediante i test genetici, la diagnosi di una determinata patologia in un

soggetto sintomatico, oppure di identificare un portatore sano (eterozigote), o infine di predire il rischio di una malattia ad esordio tardivo in un soggetto ancora asintomatico. Pertanto, per molte malattie l'identificazione molecolare del difetto genetico consente di individuare soggetti affetti o portatori sani anche in fase prenatale o presintomatica e dà la possibilità di prevedere lo stato o il rischio di malattia nel singolo soggetto e in nuclei familiari.

Pur nella loro rarità come condizioni singole, nel loro insieme le malattie genetiche sono molto numerose e pertanto rappresentano una significativa porzione delle patologie nella popolazione; inoltre, la loro complessità rende necessario l'apporto integrato di competenze speci-

fiche per poter effettuare un corretto percorso diagnostico-assistenziale.

Il miglioramento della qualità della vita, grazie al notevolissimo calo della mortalità e morbilità infantili dovute a infezioni e malnutrizione, ha portato le malattie genetiche nel loro insieme a rappresentare una delle principali patologie in età pediatrica (con percentuali valutate fra il 30 e il 50% del totale dei casi di ricovero o di morte); inoltre, le predisposizioni genetiche a patologie multifattoriali contribuiscono ad una larga parte (almeno il 20%) della morbilità nella popolazione adulta [1]. Va infine considerato che talune malattie sono presenti in maniera significativamente più elevata in specifiche aree geografiche o popolazioni; alcuni esempi ben noti sono la talassemia nei paesi del Mediterraneo, la falcemia nei neri americani ed africani, in particolare nelle regioni dell'Africa centrale e la malattia di Tay-Sachs fra gli ebrei Ashkenazi [1].

Le malattie genetiche sono patologie in cui alterazioni (mutazioni) del patrimonio genetico di un individuo sono coinvolte come fattore causale o come fattore di suscettibilità (predisposizione). Tali mutazioni, che possono verificarsi a carico delle cellule germinali (malattie ereditarie) oppure delle cellule somatiche (malattie non trasmissibili alla prole), possono consistere in anomalie cromosomiche cariotipicamente evidenziabili oppure in anomalie non identificabili con il semplice studio dei cromosomi ma mediante tecniche di genetica molecolare.

Brevemente, le malattie genetiche vengono suddivise in monogeniche (dovute all'alterazione di un singolo gene); cromosomiche (causate dall'alterazione del numero o della struttura dei cromosomi); multifattoriali (dovute all'effetto combinato dell'interazione fra più geni e l'ambiente). Un ulteriore gruppo è rappresentato dalle malattie mitocondriali.

Le malattie genetiche

Malattie monogeniche

Nel loro complesso sono molto numerose (se ne conoscono alcune migliaia) anche se, nella maggior parte dei casi, la prevalenza delle singole malattie è bassa [2]. La loro trasmissione può essere autosomica (dominante o recessiva) o legata al cromosoma X (dominante o recessiva). Esiste anche un'eredità legata al cromosoma Y, di rilievo pratico molto specialistico, in quanto questo cromosoma contiene pochi geni ed è importante quasi solo per l'informazione correlata allo sviluppo sessuale maschile. Alcuni esempi di importanti malattie monogeniche sono la fibrosi cistica, la talassemia, la malattia di Duchenne, la malattia di Martin Bell (X-fragile), la corea di Huntington [1, 2].

Malattie cromosomiche

Queste patologie, causate da anomalie cromosomiche, numeriche o strutturali, sono importanti cause di morte prenatale, di difetti congeniti e soprattutto di ritardo mentale. Tra le più frequenti ed importanti citiamo la sindrome di Down, la sindrome di Klinefelter e la sindrome di Turner [1, 2].

Malattie multifattoriali

Rappresentano uno dei settori della genetica medica più ricchi di potenziali sviluppi. Infatti, la maggior parte dei caratteri umani è determinata dall'intervento di più geni che spesso interagiscono tra loro e con l'ambiente. Molti difetti congeniti e malattie dell'adulto sono il risultato dell'interazione tra fattori genetici, spesso multipli, e fattori ambientali e vengono trasmessi secondo modalità diverse da quelle mendeliane classiche [1]. Alcuni esempi includono, tra le malformazioni congenite: i difetti del tubo neurale, la labio-palatoschisi, la stenosi ipertrofica del piloro, le cardiopatie congenite; mentre tra le malattie che si manifestano soprattutto nella vita adulta numerose hanno una riconosciuta componente genetica tra cui le patologie cardiovascolari, l'obesità, il diabete mellito, la maggior parte delle neoplasie, ecc. La stima del rischio (alla nascita o in funzione dell'età) per le malattie multifattoriali dipende sia dalla distribuzione combinata di fattori genetici di predisposizione alle specifiche patologie nelle varie popolazioni, sia dall'esposizione ai fattori di rischio ambientale. Conseguentemente, il rischio di malattia dei singoli individui, ognuno caratterizzato da una specifica costellazione di caratteristiche genetiche e di esposizione a vari fattori ambientali, segue complesse relazioni di tipo probabilistico, sulle quali è tuttora necessario un miglioramento delle conoscenze.

Malattie mitocondriali

Il DNA mitocondriale, organizzato in un piccolo cromosoma circolare, è suscettibile all'insorgenza di mutazioni. Poiché i mitocondri sono solo parzialmente autonomi ed in parte dipendono dal genoma nucleare, si distinguono tre gruppi di malattie mitocondriali geneticamente determinate dovute: a difetti del DNA nucleare; a difetti del DNA mitocondriale ed infine a difetti di comunicazione fra i due genomi. Le malattie mitocondriali sono rare e di prevalente interesse neuromuscolare [1].

Alcuni esempi di malattie genetiche

Per una completa trattazione delle singole patologie si rimanda a testi specifici [1-3], tuttavia in questo contesto vengono illustrati alcuni esempi di importanti ma-

lattie genetiche, che possono mettere a fuoco problemi di interesse sanitario più generale.

La fibrosi cistica (MIM 219700)

E' una delle più comuni fra le malattie autosomiche recessive gravi in Europa, dove l'incidenza è di circa 1 su 2500 nati vivi e la frequenza degli eterozigoti è di 1 su 25 individui, sebbene vi siano notevoli differenze regionali [4-7]; negli USA l'incidenza è di 1:2500 nati vivi nella popolazione bianca e in 1:15000-17000 in quella nera [8, 9]. La malattia è dovuta a mutazioni del gene CF regolatore transmembrana (CFTR), situato sul braccio lungo del cromosoma 7 (7q31.2) [10-12] con conseguente alterazione della sua normale funzione di pompa molecolare [13]. Sebbene siano state descritte più di 600 mutazioni (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cfr>) [14], la più frequente è la delezione dei tre nucleotidi che costituiscono il codone 508 corrispondente alla delezione della fenilalanina in posizione 508 della catena polipeptidica [15]. La fibrosi cistica è una malattia polisistemica, la cui patogenesi deriva da una disfunzione delle ghiandole esocrine; tra i sintomi, numerosi e variabili, i principali sono l'ostruzione cronica e l'infezione delle vie aeree, i disturbi gastrointestinali e pancreatici [8]. La maggior parte dei pazienti presenta i primi sintomi della malattia nell'infanzia, in particolare circa il 17% dei neonati affetti dalla malattia manifesta l'ileo da meconio entro le prime 24 ore di vita [8]. La malattia è progressiva e la speranza di vita è fortemente ridotta [16]. In Italia, la diagnosi e la prevenzione della fibrosi cistica sono regolate da due leggi (leggi 104/92 e 548/93) e lo screening neonatale viene effettuato in alcune regioni italiane. La diagnosi prenatale è possibile nelle coppie a rischio, ma vi è in questi casi l'assoluta necessità di un adeguato supporto di consulenza genetica [17]. In generale, i criteri per la diagnosi di fibrosi cistica, includono la presenza di sintomi, l'anamnesi familiare positiva, lo screening neonatale positivo, il test del sudore e l'identificazione di mutazioni a carico del gene CFTR [18]. L'analisi mutazionale viene utilizzata sia come test genetico diagnostico che per identificare i portatori [19]. Come precedentemente accennato, dai membri del Consorzio per l'analisi genetica della fibrosi cistica [14] sono state descritte più di 600 mutazioni identificate mediante svariati metodi [15]. Appare pertanto evidente che il controllo di qualità dei laboratori, che effettuano analisi di mutazione del gene CFTR, è un punto molto importante. Questo problema è sentito anche a livello europeo, infatti nel 1994 è stato effettuato il primo controllo di qualità in questo settore che ha rivelato nei 40 laboratori europei partecipanti, oltre ad una grande eterogeneità di metodi utilizzati per effettuare i test, soprattutto un elevato numero di errori nei risultati [20]. Un secondo controllo di qualità è stato effettuato nell'ambito dell'Azione concertata europea sulla fibrosi

cistica (Biomed-2) [19] e ha visto la partecipazione di 135 laboratori europei, inclusi 18 italiani. I risultati di questo studio evidenziano che il 35% dei laboratori hanno una percentuale di errore inaccettabile in un test diagnostico di routine. Come raccomandazione generale, da questi risultati emerge la necessità di dare un forte impulso, dapprima allo sviluppo di sistemi di assicurazione di qualità a livello dei singoli paesi, per poter successivamente ottenere una migliore standardizzazione a livello europeo.

La distrofia muscolare di Duchenne (DMD; MIM 310200)

E' la più comune malattia neuromuscolare ereditaria che colpisce tutti i gruppi etnici. La sua incidenza è di 1:3600 maschi nati vivi [8]. La malattia, con esordio nella prima infanzia e decorso progressivo, è dovuta a mutazioni (per i due terzi delezioni) del gene distrofina, localizzato sul braccio corto del cromosoma X (Xp21.2) (MIM 310200). Duchenne ha fornito sin dal 1861 la prima descrizione dettagliata in cui ha riconosciuto molti degli aspetti clinici caratteristici della malattia: la proliferazione di tessuto connettivo nel muscolo, la pseudoipertrofia dei polpacci, l'astenia progressiva ed il deterioramento intellettuale. Le manifestazioni cliniche, i cui prodromi si osservano sin dalla prima infanzia dei maschi affetti, comprendono scarso controllo del capo, debolezza del cingolo pelvico con difficoltà di deambulazione, fino alla perdita della stessa. Il coinvolgimento dei muscoli respiratori si manifesta con tosse, inefficace per l'espettorazione, ed infezioni polmonari recidivanti. La cardiomiopatia rappresenta un aspetto costante di questa malattia ed è causa di morte precoce in alcuni pazienti ancora in grado di deambulare. Il deterioramento intellettuale è costante ma nella maggioranza dei casi è di grado moderato.

Soltanto con trattamenti adeguati (monitoraggio cardiologico, assistenza respiratoria) si riesce a prolungare la sopravvivenza degli affetti oltre la seconda decade, molto raramente oltre la terza [21].

La diagnosi di DMD, oltre all'anamnesi familiare positiva, al quadro clinico tipico e alla presenza di elevate concentrazioni plasmatiche di creatin-chinasi (CK), include la biopsia muscolare che mostra alterazioni caratteristiche [8].

La patogenesi della DMD è dovuta a mutazioni del gene distrofina. Si tratta di un gene enorme (oltre 2 milioni di nucleotidi) e molto mutabile; infatti la madre non è portatrice nel 30% circa dei casi, i quali quindi sono probabilmente dovuti a mutazioni *de novo* [8]. Le tecniche di genetica molecolare disponibili nei laboratori diagnostici permettono oggi di individuare circa il 70% delle mutazioni; teoricamente, mediante sequenziamento del cDNA, qualsiasi mutazione potrebbe essere individuata, tuttavia ciò comporterebbe costi molto

elevati. L'individuazione della mutazione consente di rintracciare eventuali eterozigoti nella famiglia e di effettuare diagnosi prenatali mediante villocentesi. Ciò può realizzare una riduzione dell'incidenza di nuovi casi nella popolazione, purché esistano adeguate strutture di diagnosi clinica, di consulenza genetica, di diagnostica molecolare e di diagnosi prenatale [22]. Un progetto pilota di consulenza genetica è stato avviato nel 1974 nella regione Veneto. Ciò ha consentito di raggiungere rapidamente la maggior parte delle famiglie con casi di DMD, di informare le persone interessate sui rischi di ricorrenza della malattia e di eseguire in molti casi analisi biochimiche (livello di CK serico a riposo e 6 ore dopo sforzo muscolare) per identificare le donne eterozigoti. Nonostante ciò avvenisse prima dell'introduzione dei metodi di genetica molecolare e che la consulenza genetica fosse non-direttiva, si sono ottenuti risultati molto soddisfacenti. Partendo da una incidenza di 28 su 100 000 nati vivi maschi, si è giunti ad una significativa riduzione dell'incidenza di casi DMD. Il nuovo tasso di incidenza (attualmente 16,5 su 100 000 nati vivi maschi) risulta stabilizzato nel tempo, come probabile risultato della disponibilità della diagnosi prenatale. Ciò che appare modificata è la strategia riproduttiva delle coppie a rischio DMD: mentre un tempo sceglievano la contraccezione, oggi affrontano anche gravidanze a rischio, data la prospettiva di un'eventuale interruzione della gravidanza, qualora la diagnosi prenatale riveli la presenza di una mutazione DMD.

A causa dell'elevato tasso di mutazione e della mobilità della popolazione, non sarà facile giungere ad una ulteriore riduzione dell'incidenza della malattia nella regione Veneto. Tuttavia, in linea teorica si potrebbe giungere ad una incidenza di circa 10 su 100 000 nati vivi maschi. L'introduzione dell'analisi della CK nel siero in bambini con ritardo nella deambulazione potrebbe consentire una anticipazione della diagnosi e quindi la prevenzione di casi secondari nelle situazioni in cui la madre non appartenga ad una famiglia con ricorrenza di casi DMD [22].

La malattia di Huntington (MH; MIM 143100)

È una malattia ereditaria autosomica dominante che porta ad una progressiva, selettiva e localizzata morte dei neuroni dei nuclei grigi centrali e della corteccia cerebrale; clinicamente si caratterizza per lo sviluppo progressivo, nel soggetto adulto, di movimenti coreici e di un deterioramento delle funzioni superiori. La malattia, descritta per la prima volta nel 1872 da George Huntington [23, 24], è rara, ma di notevole impatto sociale per le sue manifestazioni motorie e psichiche gravemente invalidanti, di difficile accettazione sul piano individuale, come testimonia l'elevata frequenza dei suicidi tra i pazienti, e non suscettibile a terapie che non siano sintomatiche.

La malattia di Huntington è stata una dei primi disordini genetici per le quali la localizzazione del gene e l'analisi di linkage hanno reso disponibile un test predittivo [25, 26]. Nell'ambito della diagnosi precoce, una posizione particolare è riservata ai test predittivi per malattie genetiche che insorgono tardivamente, quando cioè la riproduzione e quindi la trasmissione della mutazione alla generazione successiva è già avvenuta. Si tratta spesso di malattie neurodegenerative gravemente invalidanti per le quali la malattia di Huntington costituisce una sorta di esempio paradigmatico [27].

Le preoccupazioni circa l'impatto che la "predizione" di una simile malattia avrebbero potuto avere sui soggetti a rischio hanno condotto rapidamente la comunità scientifica internazionale ad emanare le prime Linee guida per la esecuzione di un test genetico [28, 29]. La loro applicazione ha profondamente modificato le prassi seguite nella consulenza genetica, introducendo nuovi principi a garanzia dei potenziali utenti del test.

Oggi, a distanza di circa 15 anni dalla localizzazione del gene IT-15, si sa che la MH è dovuta ad una espansione instabile della sequenza di (CAG) n presente nel 1° esone del gene IT-15 [30-32], il quale codifica per una proteina dalla funzione ancora non completamente nota. Recenti studi su topi transgenici [33-36] e su cellule *in vitro* [37] hanno messo in evidenza il ruolo patogenetico della sequenza (CAG) n espansa, che induce in specifici neuroni la formazione di inclusioni fibrillari endonucleari simili a quelle osservate nella malattia di Alzheimer [38-41]. La MH è una delle prime malattie conosciute del gruppo attualmente definito disordini delle sequenze (CAG) n espandibili per le quali è possibile una analisi diretta del gene; questi disordini includono ad esempio l'ataxia spinocerebellare tipo 1, 2, 3 a 6; la malattia di Kennedy [42].

Il test predittivo (presintomatico o prenatale) per la MH è oggi basato prevalentemente sull'analisi genomica del numero di ripetizioni della sequenza (CAG) n e possiede una elevata sensibilità e specificità [25]. Tuttavia, la necessità di standardizzare i metodi, la terminologia e la interpretazione dei risultati di questo test genetico ha portato alla recente elaborazione di *Linee guida per test genetici* per la malattia di Huntington [42].

L'innocuità ed utilità di questo test genetico, strettamente dipendenti dall'autonomia decisionale dei potenziali utenti e dall'uso di un complesso protocollo di assistenza pre e post-test, è risultata evidente in numerosi studi [43, 44]. Gli effetti dannosi del test (suicidi attuati o tentati, gravi turbe psichiatriche) sono risultati ad una indagine collaborativa internazionale estremamente rari (0,7%) [44] e probabilmente con una frequenza non significativamente diversa da quella della popolazione generale. I benefici del test sono invece valutabili in termini di scelte esistenziali (lavorative, matrimoniali, riproduttive, ecc.) e di sollievo dal disagio psicologico, talora profondo, creato dall'incertezza riguardo alla

malattia [45]. Tuttavia, la MH rimane un esempio di dilemma sanitario ed etico creato dai progressi delle tecniche diagnostiche in assenza di adeguati strumenti per ridurre il rischio futuro di malattia. Infatti, una volta individuato un portatore della mutazione in fase presintomatica non vi è, al momento, alcuna possibilità né di prevenire né di ridurre il danno determinato dalla malattia [45].

Diagnosi delle malattie genetiche e test genetici: elaborazione di linee guida

La diagnosi delle malattie genetiche si basa sull'accurata valutazione clinica e sull'anamnesi familiare che hanno un ruolo primario nel percorso diagnostico. Inoltre, l'esame clinico richiede spesso di essere approfondito e completato con indagini di laboratorio. A seconda del tipo di malattia genetica, queste analisi di laboratorio possono includere: indagini biochimiche (dosaggi enzimatici), indagini citogenetiche (analisi dei cromosomi); analisi molecolari (analisi del DNA, dell'RNA e delle proteine).

L'ampia diffusione nella pratica medica dei test genetici ha profondamente modificato il panorama della diagnostica e della clinica. Le attuali potenzialità della ricerca molecolare consentono infatti di rivelare, ad esempio, la presenza di geni mutati associati a malattia molto prima della conoscenza della patogenesi e soprattutto prima dello sviluppo di terapie adeguate; ciò contribuisce ovviamente a creare un divario tra la capacità diagnostica e la capacità terapeutica. Questi ed altri problemi connessi con il rapido sviluppo in questo settore della medicina hanno sollevato numerose domande di natura etica, legale e sociale, con particolare riferimento alla possibile discriminazione genetica e alla riservatezza dei dati personali.

Pertanto, analogamente ad altri paesi (es. USA, Gran Bretagna) [46, 47], anche in Italia si è assistito ad un intenso dibattito che si è accentuato negli ultimi anni e che tuttora coinvolge ricercatori, operatori sanitari, sociologi, storici, filosofi e giuristi sui grandi temi della ricerca biomedica fra i quali sono inclusi i potenziali rischi e benefici socio-sanitari dei test genetici [48-50].

Per rispondere a questi problemi, nel 1997 la Presidenza del Consiglio dei Ministri, tramite il Comitato Nazionale per la Biosicurezza e le Biotecnologie e l'Istituto Superiore di Sanità, ha incaricato un gruppo di esperti di elaborare le *Linee guida per test genetici*. Il documento è stato completato e approvato nel maggio 1998 dall'Istituto Superiore di Sanità e dal Comitato Nazionale per la Biosicurezza e le Biotecnologie [51]. Il documento completo è disponibile sul sito Internet dell'Istituto Superiore di Sanità (<http://www.iss.it-selezionare> Pubblicazioni e documenti tecnici e successivamente Linee guida).

Lo scopo primario delle *Linee guida per test genetici* è la definizione di alcuni principi generali indirizzati sia alla gestione ed esecuzione dei test genetici da parte degli operatori sanitari che alla programmazione e promozione di questo settore da parte dei responsabili della sanità pubblica.

In particolare, in questo documento vengono illustrati i principi generali che rappresentano la base per garantire: 1) un uso appropriato di test genetici sicuri ed efficaci; 2) un'esecuzione di test genetici in laboratori con elevati standard di qualità; 3) una gestione dei test genetici che garantisca all'utente una reale autonomia decisionale, un'adeguata assistenza psicologica e sociale ed una particolare attenzione ai problemi etici e di riservatezza.

Peculiarità dei test genetici rispetto ad altre analisi biomediche

Secondo le *Linee guida per test genetici*, la definizione di test genetico include l'analisi a scopo clinico di DNA, RNA, cromosomi, proteine, metaboliti o altri prodotti genici per evidenziare genotipi, mutazioni, fenotipi o cariotipi correlati o meno con patologie ereditabili umane. Questa definizione include gli screening prenatali, neonatali e dei portatori, così pure i test sulle famiglie a rischio.

I test genetici possono essere effettuati in epoca prenatale e post-natale; vengono classificati in base alle loro finalità (es. test diagnostico, prognostico, test per la valutazione della suscettibilità genetica, ecc.) e pertanto ne vengono individuati i campi di applicazione (es. diagnosi e prognosi di malattie ereditarie, predizione del rischio-malattia, identificazione dei portatori sani, identificazione individuale per motivi medico-legali, ecc.).

A differenza di altri esami di laboratorio, i test genetici presentano alcune peculiarità che li rendono "unici" tra le indagini cliniche, in quanto i risultati coinvolgono l'identità biologico-personale non solo del singolo ma anche della sua famiglia di origine e della sua discendenza. Per tali motivi i loro risultati hanno numerose implicazioni sul piano psicologico, sociale e riproduttivo. La decifrazione e la circolazione dell'informazione genetica possono assumere, più di altre informazioni biologiche, aspetti di minaccia e di violazione del sé oltre che esporre a potenziali discriminazioni sociali.

I test genetici possono predire i rischi di future patologie prima della comparsa dei sintomi clinici; molto raramente però questa predizione raggiunge la certezza. Inoltre, non sempre la predizione di un test genetico può essere avvalorata dal riscontro a breve termine di segni clinici o strumentali indipendenti. In mancanza di questi segni, una conferma potrà venire solo dalla comparsa a medio-lungo termine della malattia. Infine, poiché i genotipi responsabili di malattia possono essere diversi

per tipo e frequenza nelle diverse popolazioni, spesso è necessario considerare il gruppo etnico a cui appartiene il soggetto analizzato sia per decidere l'effettuazione dei test sia per interpretarne i risultati. Queste caratteristiche richiedono particolari cautele e competenze sia nella validazione clinica dei test genetici sia nell'interpretazione dei risultati.

In molte malattie genetiche non vi sono terapie efficaci e risolutive, ma solo cure palliative in grado di alleviare alcune complicanze. In altre malattie vengono sperimentate terapie, la cui efficacia e sicurezza non sono ancora dimostrate. Tuttavia il risultato di un test genetico può comunque influire sulle decisioni riproduttive e sull'eventuale prevenzione della malattia nella successiva generazione, nonché sulla pianificazione familiare, sull'organizzazione della vita del soggetto, sulle decisioni da prendere in tema di lavoro, ecc. L'utilità di un test genetico non va dunque valutata solo sulla base delle sue implicazioni mediche, ma anche considerando le ricadute più ampie nella vita dell'utente, il quale dovrà perciò ricevere informazioni complete sul significato delle indagini ed avere la possibilità di una autonoma valutazione. Pertanto, devono essere considerati parti integranti di un test genetico la comunicazione con l'utente, l'interpretazione dei risultati e la consulenza sulle loro possibili implicazioni; scopo primario della consulenza genetica è di promuovere l'autonomia decisionale dell'utente mediante una informazione esauriente e comprensibile. Inoltre, un elemento fondamentale nella regolamentazione dei test genetici è il rispetto della confidenzialità e della riservatezza, dal punto di vista sia del segreto professionale che della normativa vigente sulla "privacy" (suppl. ord. alla *Gazzetta Ufficiale* n. 5 dell'8 gennaio 1996 e successive integrazioni).

L'assicurazione di qualità nei test genetici

L'introduzione di test genetici nella pratica medica richiede cautela e verifiche sperimentali perché i test spesso derivano da ricerche recenti, non direttamente mirate a finalità cliniche. Pertanto le numerose varianti metodologiche riportate in letteratura devono essere sottoposte ad un'attenta validazione inter-laboratorio, allo scopo di individuare i protocolli più affidabili e più efficienti. Inoltre, occorre che i metodi selezionati siano resi più idonei all'uso clinico attraverso protocolli standardizzati, che ne siano valutati il valore predittivo e i criteri di applicazione e che vengano definiti - così come accade in altre indagini analitiche - i criteri per la realizzazione di un sistema di assicurazione di qualità [52].

Tale problema è stato già posto a livello di Unione Europea (UE) attraverso lo sviluppo di azioni concertate nell'ambito del progetto Biomed-2 e del Research and Technological Development Framework Programme. Da tali studi è emersa l'esistenza di una grande eterogeneità

di situazioni tra gli stati membri o al loro interno. Come precedentemente specificato, studi collaborativi europei sulla diagnostica molecolare di una malattia genetica quale la fibrosi cistica indicavano l'esistenza di discrepanze analitiche non accettabili, per superare le quali è stato suggerito di creare centri per la standardizzazione e l'assicurazione di qualità a livello nazionale in modo da pervenire, attraverso sperimentazioni collegiali, all'armonizzazione prima nei singoli paesi e, successivamente con il raccordo comunitario, all'interno dell'UE [19]. L'esigenza di una armonizzazione degli standard e della regolamentazione dei test genetici a livello europeo e le iniziative in atto per giungere a questo obiettivo sono state recentemente discusse in un Simposio Internazionale tenutosi a Vienna, nell'ottobre 1998 [53].

Il piano sanitario nazionale 1998-2000 nell'obiettivo V "Portare la sanità italiana in Europa" pone l'accento sulla necessità di interventi finalizzati all'adeguamento della rete dei laboratori diagnostici ai principi di qualità, efficacia ed efficienza. Al momento, in Italia esiste un profondo divario a livello nazionale, fra i laboratori che eseguono test genetici; di questi solo alcuni presentano caratteristiche di elevato standard di qualità. Tale divario potrebbe ulteriormente accentuarsi nel tempo, anche per il continuo e veloce sviluppo delle tecnologie, generando profonde differenze fra le regioni rispetto alla disponibilità di test sicuri ed efficaci. A questo si aggiunge la distribuzione non omogenea dei laboratori sul territorio nazionale e quindi la diversa possibilità di accesso da parte di utenti di regioni differenti [54].

Le *Linee guida per test genetici* danno un rilievo prioritario ai principi e criteri per la standardizzazione e l'assicurazione di qualità per i test genetici. Una particolare attenzione viene attribuita a punti critici quali ad esempio: l'introduzione dei test genetici nella pratica clinica, compresa la commercializzazione di kit diagnostici, le caratteristiche dei laboratori autorizzati all'esecuzione dei test genetici. Un punto fondamentale è la formazione degli operatori sanitari coinvolti nell'offerta e nella gestione di un test genetico; essi sono responsabili di eventuali carenze o scorrettezze nella gestione del test; devono quindi conoscere in modo esauriente le caratteristiche del test, i criteri di eleggibilità dei/delle potenziali utenti, i benefici e i rischi nonché le implicazioni non mediche che possono derivare dal suo risultato. I laboratori che eseguono i test genetici devono essere assoggettati ad un programma di accreditamento specifico, i cui punti principali dovranno riguardare: 1) la definizione di standard ulteriori rispetto a quelli definiti dalla normativa vigente, cui il laboratorio deve aderire, con il proposito di garantire l'accuratezza dell'esecuzione dei test; 2) la qualificazione e aggiornamento professionale del personale; 3) i controlli interni di qualità; 4) la partecipazione a programmi nazionali di controlli esterni della qualità; 5) le procedure per l'archiviazione dei dati; 6) le procedure per la refertazione; 7) le procedure per l'introduzione di nuovi test genetici nel laboratorio.

Il raggiungimento degli obiettivi indicati sia dall'UE che dal Piano Sanitario Nazionale 1998-2000, nonché i parametri e le priorità indicati dalle *Linee guida per test genetici* nell'ambito della qualità, hanno imposto di creare un centro di raccordo nazionale che permetta il confronto fra le diverse esperienze maturate in Italia nel settore dei test genetici. L'Istituto Superiore di Sanità per il suo ruolo all'interno del SSN rappresenta la sede istituzionale per costituire tale centro di raccordo.

A questo scopo è in atto il primo studio relativo all'assicurazione di qualità dei test genetici, effettuato su larga scala a livello nazionale in Italia, realizzato mediante il "Progetto nazionale per la standardizzazione e l'assicurazione di qualità dei test genetici" inserito nell'ambito del programma per la ricerca finalizzata 1998, art. 12 DL 502/92 (Responsabile scientifico: Dr.ssa Domenica Taruscio); a questa iniziativa partecipano numerosi laboratori diagnostici (in totale 50), distribuiti in quasi tutte le regioni italiane. Il progetto si propone, in una prima fase, di realizzare uno studio-pilota, centrato principalmente sul controllo esterno di qualità. I risultati ricavati dallo studio-pilota saranno utilizzabili per elaborare un programma permanente di assicurazione di qualità dei test genetici che dovrà necessariamente estendersi a punti quali la formazione del personale e le strutture dei laboratori [55]. In particolare, si dovrà provvedere alla diffusione di un'informazione tecnica adeguata, alla disponibilità di standard idonei e all'armonizzazione dei metodi utilizzati nei laboratori diffusi sul territorio nazionale [56].

Problemi psicologici, sociali ed etici connessi ai test genetici

I test genetici sono fonte di complessi problemi psicologici, sociali ed etici. I soggetti che hanno ricevuto il risultato di un test genetico possono andare incontro a stress psicologici di vario genere. Frequente è, ad esempio, l'autosvalutazione in caso di risultato sfavorevole in quanto il soggetto si percepisce come "imperferito" e/o "dannoso" nei confronti della prole.

In conseguenza dei risultati dei test genetici possono inoltre verificarsi discriminazioni sociali, difficoltà di inserimento nel lavoro o nella vita di relazione o nell'erogazione di beni o servizi (ad es. assicurazioni). Inoltre, il risultato di un test genetico può avere implicazioni nella pianificazione familiare. Le coppie con prole a rischio hanno di fronte a sé scelte riproduttive che vanno dalla decisione di correre il rischio di un figlio affetto, alla inibizione generalizzata della riproduzione, alla diagnosi prenatale, all'interruzione di gravidanza, fino alle tecniche di fecondazione medicalmente assistita. Molte di queste opzioni possono essere in contrasto con il credo religioso della coppia o con i suoi principi etici. Infine, i risultati di un test genetico posso-

no rivelare informazioni importanti per la salute futura di parenti i quali potrebbero non voler sapere o far sapere tali informazioni, ponendo così numerosi problemi etici e di riservatezza. Affrontare problemi così differenziati richiede particolare cautela, sia nell'offerta di un test genetico che nella comunicazione del risultato, che devono essere parte integrante della consulenza genetica

La consulenza genetica, il consenso informato e la comunicazione del risultato

La consulenza genetica è stata definita [57] come "processo di comunicazione che riguarda i problemi umani legati all'insorgenza, o al rischio di ricorrenza, di una patologia genetica in una famiglia". Durante tale processo l'individuo o la famiglia vengono aiutati da una o più figure professionali adeguatamente preparate: 1) a comprendere le informazioni mediche che includono la diagnosi, il probabile decorso della malattia e le forme di assistenza disponibili; 2) a valutare il modo in cui l'ereditarietà contribuisce al verificarsi della malattia e il rischio di ricorrenza esistente per taluni familiari; 3) a capire tutte le opzioni esistenti nell'affrontare il rischio di malattia; 4) a compiere le scelte che essi riterranno più adeguate, tenuto conto sia del rischio che delle aspirazioni dei familiari, e ad agire coerentemente rispetto alle scelte compiute; 5) a realizzare il miglior adattamento possibile alla malattia del familiare affetto e/o al rischio di ricorrenza della malattia stessa.

Tale definizione, per molti versi ancor oggi valida, pone l'accento sul processo di comunicazione che, proprio per la valenza emotiva dei temi trattati - salute, malattia, procreazione, morte, ecc. - ha una forte connotazione psicologica e deve quindi essere modulato secondo i molteplici significati che questi temi assumono per l'individuo.

La consulenza genetica è altresì il momento di processi decisionali complessi, riguardanti molteplici aspetti legati alla malattia genetica tra i quali particolare rilievo assumono sia le scelte riproduttive in situazione di rischio, sia la scelta fra conoscere o meno la propria costituzione genetica e quindi il proprio rischio di malattia. Si tratta di decisioni che, per le loro risonanze profonde, non possono essere delegate ad alcuna figura professionale e richiedono la piena autonomia decisionale dell'utente, come condizione essenziale perché l'esito di tali scelte - quale che sia - venga integrato in modo non distruttivo nel mondo psicologico ed etico dell'individuo o della coppia.

Sulla consulenza genetica le *Linee guida per test genetici* evidenziano alcuni punti miranti a garantire l'autonomia decisionale dell'utente: a) chi si sottopone al test dovrà essere informato delle modalità con le quali gli/le verrà comunicato il risultato prima che il test ven-

ga eseguito; b) chi gestisce il test avrà l'obbligo di comunicare al soggetto sia un risultato negativo che positivo; c) chiunque si sottoponga ad un test, dopo consenso informato, dovrà essere lasciato libero di non conoscere il risultato, anche se il test è già stato eseguito.

Test genetici e diritti: "privacy" ed accesso ai test

Il risultato di un test genetico potrà essere comunicato solo a chi sia stato esplicitamente indicato dall'utente per iscritto al momento del consenso informato o successivamente. In nessun caso il risultato deve essere comunicato a terze persone, siano essi familiari, datori di lavoro, compagnie di assicurazione, o altri enti, senza il consenso scritto del soggetto in questione.

Coloro che sono coinvolti nella gestione di un test genetico in tutte le sue fasi, compreso il personale di laboratorio che lo esegue, sono tenuti al segreto professionale e al rispetto sulla normativa vigente sulla "privacy".

E' essenziale, a fronte di una adeguata educazione della popolazione, garantire l'accesso ai test genetici e alle successive fasi di follow-up a tutti gli aventi diritto. I test genetici scientificamente validati e di provata utilità clinica dovranno essere accessibili a tutti coloro per i quali vi è una indicazione, indipendentemente dalla possibilità di sostenerne le spese e dalla copertura assicurativa.

Educazione sanitaria della popolazione

Molti dei nuovi sviluppi applicativi della medicina, ed in particolare quelli relativi alla genetica umana, pongono ai potenziali utenti problemi decisionali complessi che richiedono una piena conoscenza e consapevolezza dei rischi, dei benefici e delle implicazioni non mediche delle diverse opzioni esistenti. Talora le barriere culturali rendono difficile al/la potenziale utente la reale comprensione delle informazioni ricevute nel corso della fase consultoriale, anche la più accurata. Per una corretta gestione dei test genetici, oltre che per un reale esercizio dell'autonomia decisionale dell'utente nel campo della salute, si rende necessario accrescere il livello delle conoscenze medico-scientifiche della popolazione generale. Perciò è auspicabile che alcuni principi base della genetica vengano inclusi nei programmi della scuola dell'obbligo e che vengano promossi programmi di educazione sanitaria indirizzati a tutta la popolazione. Bisogna infine considerare che la crescente presenza di immigrati nel nostro paese riverbererà i suoi effetti anche in campo sanitario. Il medico si trova a confronto non solo con patologie per lui nuove ma anche, e soprattutto, con modi profondamente diversi di

intendere la salute e le malattie. E' perciò necessario avviare programmi interculturali (rispettosi delle varie culture) e transculturali (al di sopra delle differenze culturali) che offrano strumenti di conoscenza delle diverse comunità etniche presenti nel nostro paese e che consentano di formare operatori socio-sanitari sensibili alle diversità etno-culturali. L'incremento della partecipazione di appartenenti a varie minoranze etniche ai corsi per operatori sanitari potrebbe contribuire a facilitare la fruizione della consulenza genetica da parte di utenti con appartenenze culturali, religiose e sociali molto diverse. Infine, particolare importanza deve essere data alla collaborazione fra i servizi sanitari, le associazioni scientifiche e le associazioni dei pazienti e delle famiglie; in particolare queste ultime possono fornire preziosi stimoli e contributi basati sulla esperienza diretta della convivenza con la malattia.

Conclusioni

In aggiunta alle raccomandazioni precedentemente esposte, alcune principi generali sono stati accettati ed elaborati anche da organismi internazionali quali WHO [58-60]: a) le applicazioni mediche dei test genetici devono garantire adeguata informazione ed autonomia decisionale; b) ogni test deve essere preceduto da un'adeguata informazione circa gli scopi e possibili risultati; c) dato che un individuo eredita il proprio patrimonio genetico dai propri ascendenti, lo trasmette alla propria discendenza e ne condivide una parte con i propri consanguinei, ogni informazione derivante dai test genetici riguarda in realtà più persone, oltre all'utente; d) un test post-natale, in particolare sui minori, dovrebbe essere effettuato solo se c'è la possibilità di recare un reale beneficio all'utente con interventi preventivi o terapeutici; e) i dati genetici non devono essere rivelati alle istituzioni pubbliche e private senza previo consenso informato del soggetto coinvolto (ad esempio, enti governativi, datori di lavoro, assicurazioni, ecc.); f) la consulenza genetica implica fornire una informazione completa ed accurata che garantisca l'autonomia decisionale degli utenti, è essenziale prima di effettuare qualunque test genetico e deve continuare successivamente qualora i risultati richiedano scelte da parte degli utenti; g) la genetica ha un crescente importanza nella pratica medica e vi è contemporaneamente una notevole preoccupazione sui possibili usi impropri di queste conoscenze; pertanto, deve essere promossa l'educazione sanitaria della popolazione, tenendo conto delle differenze culturali.

Queste raccomandazioni non esauriscono ovviamente i problemi connessi con la gestione dei test genetici. Fra questi è importante la regolamentazione della pubblicità dei test genetici, che dovrebbe essere analoga a quella per farmaci (cfr. art. 201 RD 27 luglio 1934 n. 1265,

DM 19 marzo 1980 e successive modifiche ed integrazioni). La pubblicità non deve prevedere asserzioni non veritiere, ingannevoli, imprecise o non controllabili, e non deve comunque arrecare pregiudizio alla sanità pubblica, né indurre una pressione sociale che vada ad inficiare l'autonomia decisionale del soggetto (ingenerando ad es. false aspettative nella popolazione o una domanda inappropriata di prestazioni).

Ancora, particolare attenzione va data allo sviluppo e al coordinamento dei servizi sanitari attraverso l'identificazione e l'organizzazione delle risorse esistenti, la raccolta di infomazioni epidemiologiche, la formazione e l'aggiornamento degli operatori sanitari.

Infine, va ricordato che per una parte importante delle malattie genetiche, le patologie multifattoriali, si può effettuare una efficace prevenzione primaria mediante la riduzione dei fattori di rischio ambientali e/o la diffusione di stili di vita che producano salute.

Lavoro presentato su invito.

Accettato il 15 marzo 1999.

BIBLIOGRAFIA

- GELEHRTER, T.D. & COLLINS, F.S. 1993. *Manuale di genetica medica*. Masson, Milano.
- MCKUSIK, V. 1996. *Mendelian inheritance in man*. John Hopkins University Press, Baltimora, USA.
- CURTONI, E.S., DALLAPICCOLA, B., DE MARCHI, M., MOMIGLIANO RICHIARDI, P. & PIAZZA, A. 1997. *Genetica*. UTET, Torino.
- EUROPEAN WORKING GROUP ON CF GENETICS (EWGCFG). 1990. Gradient of distribution in Europe of the major CF mutation and its associated haplotype. *Hum. Genet.* **85**: 436-445.
- WELSH, M.J., TSUI, L.C., BOAT, T.F. & BEAUDET, A.L. 1995. Cystic fibrosis. In: *The metabolic basis and molecular bases of inherited disease*. C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly & D. Valle (Eds). 7th ed. vol. III. McGraw-Hill Health Professions Division, New York. p. 3799-3876.
- CASTALDO, G., RIPPA, E., SEBASTIO, G. *et al.* 1996. Molecular epidemiology of cystic fibrosis mutations and haplotypes in southern Italy evaluated with an improved semiautomated robotic procedure. *J. Med. Genet.* **33**: 475-479.
- ESTIVILL, X., BANCELLS, C., RAMOS, C. & THE BIOMED CF MUTATION ANALYSIS CONSORTIUM. 1997. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. *Hum. Mut.* **10**: 135-154.
- BEHRMAN, R.E. 1992. *Nelson. Textbook of pediatrics*. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania.
- FRIEDMAN, K.J., LEIGH, M.W., CZARNECKI, I. & FELDMAN, G.L. 1998. Cystic fibrosis transmembrane-conductance regulator mutations among African Americans. *Am. J. Hum. Genet.* **62**: 195-196.
- KEREM, B., ROMMENS, J.M., BUCHANAN, J.A. *et al.* 1989. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* **245**: 1073-1080.
- RIORDAN, J. R., ROMMENS, J. M., KEREM, B. *et al.* 1989. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterisation of complementary DNA. *Science* **245**: 1066-1073.
- ROMMENS, J. M., IANNUZZI, M. C., KEREM, B. *et al.* 1989. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* **245**: 1059-1065.
- FANEN, P., GHANEM, N., VIDAUD, M., BESMOND, C., MARTIN, J., COSTES, B., PLASSA, F. & GOOSSENS, M. 1992. Molecular characterization of cystic fibrosis: 16 novel mutations identified by analysis of the whole cystic fibrosis conductance transmembrane regulator (CFTR) coding regions and splice site junctions. *Genomics* **13**: 770-776.
- THE CYSTIC FIBROSIS MUTATION DATA BASE. 1997. <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr>.
- SCHWARZ, M. & MALONE, G. 1996. Methods for testing in cystic fibrosis. In: *Molecular diagnosis of genetic diseases*. E. Rob (Ed.). Humana Press, Totowa. p. 99-119.
- FITZSIMMONS, S.C. 1993. The changing epidemiology of cystic fibrosis. *J. Pediatr.* **122**: 1-10.
- PIGNATTI, P.F. 1997. Modelli per la diagnosi la prevenzione delle malattie genetiche: fibrosi cistica. In: Atti del I Workshop "Diagnosi precoce di malattie genetiche e della suscettibilità ereditaria allo sviluppo di neoplasie: proposte per una programmazione sanitaria", Istituto Superiore di Sanità, 18-19 dicembre.
- STERN, R.C. 1997. The diagnosis of cystic fibrosis. *New Eng. J. Med.* **336**: 487-491.
- DEQUEKER, E. & CASSIMAN, J.J. 1998. Evaluation of CFTR gene mutation testing methods in 136 diagnostic laboratories: report of a large European external quality assessment. *Eur. J. Hum. Genet.* **6**: 165-175.
- CUPPENS, H. & CASSIMAN, J.J. 1995. A quality control study of CFTR mutations screening in 40 different European laboratories. The European concerted action on cystic fibrosis. *Eur. J. Hum. Genet.* **3**: 235-245.
- BOLAND, B.J., SILBERT, P.L., GROOVER, R.V., WOLLAN, P.C. & SILVERSTEIN, M.D. 1996. Skeletal, cardiac, and smooth muscle failure in Duchenne muscular dystrophy. *Pediatr. Neurol.* **14**: 7-12.
- DANIELI, G.A. 1997. Prevenzione dei casi di distrofia muscolare di Duchenne. In: Atti del I Workshop "Diagnosi precoce di malattie genetiche e della suscettibilità ereditaria allo sviluppo di neoplasie: proposte per una programmazione sanitaria", Istituto Superiore di Sanità, 18-19 dicembre.
- HUNTINGTON, G. 1872. On chorea. *Med. Surg. Reporter* **26**: 317-321.
- DURBACH, N. & HAYDEN, M.R. 1993. George Huntington: the man behind the eponym. *J. Med. Genet.* **30**: 406-409.
- HUNTINGTON DISEASE COLLABORATIVE RESEARCH GROUP. 1993. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on huntington's disease chromosomes. *Cell* **72**: 971-983.

26. GUSELLA, J.F., McNEIL, S., PERSICHETTI, F., SRINIDHI, J., NOVELLETTO, A., BIRD, E., FABER, P., VONSATTEL, J.-P., MYERS, R.H. & MacDONALD, M.E. 1996. Huntington's disease. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **61**: 615-626.
27. FRONTALI, M. 1997. Malattia di Huntington. In: Atti del I Workshop "Diagnosi precoce di malattie genetiche e della suscettibilità ereditaria allo sviluppo di neoplasie: proposte per una programmazione sanitaria". Istituto Superiore di Sanità, 18-19 dicembre.
28. INTERNATIONAL HUNTINGTON ASSOCIATION. WORLD FEDERATION OF NEUROLOGY RESEARCH GROUP. 1994. Guidelines for the molecular genetics predictive test in Huntington's disease. *Neurology* **44**: 1533-1536.
29. MORRIS, M.J., TYLER, A., LAZAROU, L., MEREDITH, L. & HARPER, P. 1989. Problems in genetic prediction for Huntington's disease. *Lancet* **II**: 601-603.
30. ANDREW, S.E., GOLDBERG, Y.P., KREMER, B., TELENUS, H., THEILMANN, J., ADAM, S., STARR, E. *et al.* 1993. The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease. *Nat. Genet.* **4**: 398-403.
31. DUYAO, M., AMBROSE, C., MYERS, R., NOVELLETTO, A., PERSICHETTI, F., FRONTALI, M., FOLSTEIN, S., ROSS, C., FRANZ, M., ABBOTT, M., GRAY, J., CONNEALLY, P. *et al.* 1993. Trinucleotide repeat length instability and age of onset in Huntington's disease. *Nat. Genet.* **4**: 387-392.
32. ILLARIOSHKIN, S.N., IGARASHI, S., ONODERA, O., MARKOVA, E.D., NIKOLSKAYA, N.N., TANAKA, H., CHABRASHWILI, T.Z., INSAROVA, N.G., ENDO, K., IVANOVA-SMOLENSKAYA, I.A. & TSUJI, S. 1994. Trinucleotide repeat length and rate of progression of Huntington's disease. *Ann. Neurol.* **36**: 630-635.
33. MANGIARINI, L., SATHASIVAM, K., SELLER, M., COZEN, B., HARPER, A., HETHERINGTON, C., LAWTON, M., TROTTIER, Y., LEHRACH, H., DAVIES, S.W. & BATES, G.P. 1996. Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice. *Cell* **87**: 493-506.
34. BATES, G.P., VALDES, J., HUMMERICH, H., BAXENDALE, S., LE PASLIER, D.L., MONACO, A.P., TAGLE, D., MacDONALD, M.E., ALTHERR, M., ROSS, M., BROWNSTEIN, B.H., BENTLEY, D., WASMUTH, J.J., GUSELLA, J.F., COHEN, D., COLLINS, F. & LEHRACH, H. 1992. Characterization of a yeast artificial chromosome contig spanning the Huntington's disease gene candidate region. *Nature Genet.* **1**: 180-187.
35. MANGIARINI, L., SATHASIVAM, K., MAHAL, A., MOTT, R., SELLER, M. & BATES, G.P. 1997. Instability of highly expanded CAG repeats in mice transgenic for the Huntington's disease mutation. *Nature Genet.* **15**: 197-200.
36. REDDY, P.H., WILLIAMS, M., CHARLES, V. & GARRETT, L. 1998. Behavioral abnormalities and selective neuronal loss in HD transgenic mice expressing mutated full-length HD cDNA. *Nature Genet.* **20**: 198-202.
37. LUKES, A. & MANDEL, J.-L. 1998. A cellular model that recapitulates major pathogenic steps of Huntington's disease. *Hum. Molec. Genet.* **7**: 1355-1361.
38. LI, X.-J., LI, S.-H., SHARP, A.H., NUCIFORA, F.C. Jr., SCHILLING, G., LANAHAN, A., WORLEY, P., SNYDER, S.H. & ROSS, C.A. 1995. A Huntington-associated protein enriched in brain and implications for pathology. *Nature* **378**: 398-402.
39. DAVIES, S.W., TURMAINE, M., COZEN, B., DiFIGLIA, M., SHARP, A.H., ROSS, C.A., SCHERZINGER, E., WANKER, E.E., MANGIARINI, L. & BATES, G.P. 1997. Formation of neuronal intranuclear inclusion underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. *Cell* **90**: 537-548.
40. DiFIGLIA, M., SAPP, E., CHASE, K.O., DAVIES, S.W., BATES, G.P., VONSATTEL, J.P. & ARONIN, N. 1997. Aggregation of Huntington in neuronal intranuclear inclusion and dystrophic neurites in brain. *Science* **277**: 1990-1993.
41. FABER, P.W., BARNES, G.T., SRINIDHI, J., CHEN, J., GUSELLA, J.F. & MacDONALD, M.E. 1998. Huntington interacts with a family of WW domain proteins. *Hum. Molec. Genet.* **7**: 1463-1474.
42. ACMG/ASHG STATEMENT. THE AMERICAN COLLEGE OF MEDICAL GENETICS/AMERICAN SOCIETY OF HUMAN GENETICS HUNTINGTON DISEASE GENETIC TESTING WORKING GROUP. 1998. Laboratory guidelines for Huntington disease genetic testing. *Am. J. Hum. Genet.* **62**: 1243-1247.
43. WIGGINS, S., WHYTE, P., HUGGINS, M., ADAM, S., THEILMANN, J., BLOCH, M., SHEPS, S.B., SCHECHTER, M.T. & HAYDEN, M.R. 1992. The psychological consequences of predictive testing for Huntington's disease. *New Eng. J. Med.* **327**: 1401-1405.
44. JACOPINI, G. 1998. Il test predittivo nella malattia di Huntington. In: *Riproduzione a rischio*. Bollati Boringhieri ed, Torino.
45. FRONTALI, M. & JACOPINI, A.G. 1998. Medicina predittiva: una sfida etica per la pratica medica. *Ann. Ist. Super. Sanità* **34**(2): 237-243.
46. HOLTZMAN, N.A. & WATSON, M.S. 1997. *Promoting safe and effective genetic testing in the United States*. The task force on genetic testing. (Final report) (<http://www.nhgri.nih.gov/ELSI/TFGT-final/>).
47. HARPER, P.S. 1997. What do we mean by genetic testing? *J. Med. Genet.* **34**: 749-752.
48. RODOTÀ, S. 1995. *Tecnologie e diritti*. Il Mulino, Bologna.
49. RODOTÀ, S. 1997. *Questioni di bioetica*. Biblioteca Universale Laterza, Bari.
50. DEL TACCA, M. 1997. *L'etica nella ricerca biomedica*. La Nuova Italia Scientifica, Roma.
51. TARUSCIO, D. & D'AGNOLO, G. 1998. Linee guida per test genetici. *Not. Ist. Super. Sanità* **II**(9): 1-7.
52. IRVINE, D. & IRVINE, S. 1996. *The practice of quality*. Radcliffe Medical Press, Abingdon, Oxon, UK.
53. TARUSCIO, D. & D'AGNOLO G. 1998. Italian national guidelines on genetic testing. In: *Proceedings of genetic testing in Europe: harmonisation of standards and regulations*. Vienna, 30/10/1998.
54. DAGNABRICARELLI, F., DALLAPICCOLA, B., PROVEDEL, R. & ROMEO, G. 1997. Genetic services in Italy. *Eur. J. Hum. Genet.* **5**(suppl.): 112-115.

55. NEUMAIER, M., BRAUN, A. & CHRISTOPH, W. 1998. Fundamentals of quality assessment of molecular amplification methods in clinical diagnostics. *Clin. Chem.* **44**: 12-26.
56. EUCROMIC QUALITY ASSESSMENT GROUP. 1997. Quality guidelines and standards for genetic laboratories/clinics in prenatal diagnosis on fetal samples obtained by invasive procedures. *Eur. J. Hum. Genet.* **5**: 342-350.
57. AD HOC COMMITTEE ON GENETIC COUNSELLING. 1975. Report to the American Society of Human Genetics. *Am. J. Hum. Genet.* **27**: 240-242.
58. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1996. *Control of hereditary diseases*. WHO, Geneva. (WHO Technical report series, 865).
59. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1998. *Proposed international guidelines on ethical issues in medical genetics and genetic services*. Report of a WHO meeting on ethical issues in medical genetics. Geneva, 15-18 December 1997. WHO, Geneva.
60. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1999. *Human genetics and noncommunicable diseases*. WHO, Geneva. (Fact sheet, 209).