

# LA DIAGNOSI IN PROVETTA

Ha visto il fratello morire per un cancro farmacologicamente incurabile. Per un oncologo di fama mondiale era ora di passare al “piano B”.

**Antonio Regalado**

**L**e risposte che Bert Vogelstein paventava, ma di cui aveva un disperato bisogno, erano nascoste in un campione di sangue. Vogelstein è uno degli scienziati più citati al mondo. Negli anni Ottanta si disse che era riuscito a «penetrare nel quadro di comando del cancro», poiché insieme ai suoi colleghi della Johns Hopkins University aveva compreso per la prima volta come una serie di mutazioni del DNA, accumulandosi in modo latente per anni, potevano trasformare una cellula in una cellula tumorale. Vogelstein contribuì a dimostrare che le mutazioni del DNA erano la vera causa del cancro.

Ora immaginatevi di intercettare queste mutazioni – di vedere il cancro in faccia – dentro a una semplice provetta di sangue. Quasi tutti i tipi di tumore rilasciano tracce di DNA nel flusso sanguigno e il laboratorio di Vogelstein alla Johns Hopkins ha sviluppato una tecnica, chiamata “biopsia liquida”, in grado di scoprire questo materiale genetico rivelatore.

La tecnologia viene resa possibile da strumenti che procedono speditamente a sequenziare il DNA contenuto in un campione di sangue, consentendo ai ricercatori di individuare il DNA tumorale anche quando è presente solo in tracce. Operando con i medici che curano i pazienti del principale centro oncologico di Baltimora, gli scienziati della Hopkins hanno analizzato il sangue di oltre un migliaio di persone. Ora sostengono che la biopsia liquida è in grado di rilevare il cancro con largo anticipo sull'insorgenza dei sintomi della malattia.

Tra tutti i prelievi effettuati, uno in particolare era molto personale: veniva dal fratello di Vogelstein, un chirurgo ortopedico di un anno più giovane. Combatteva contro il cancro e la malattia si stava già diffondendo.

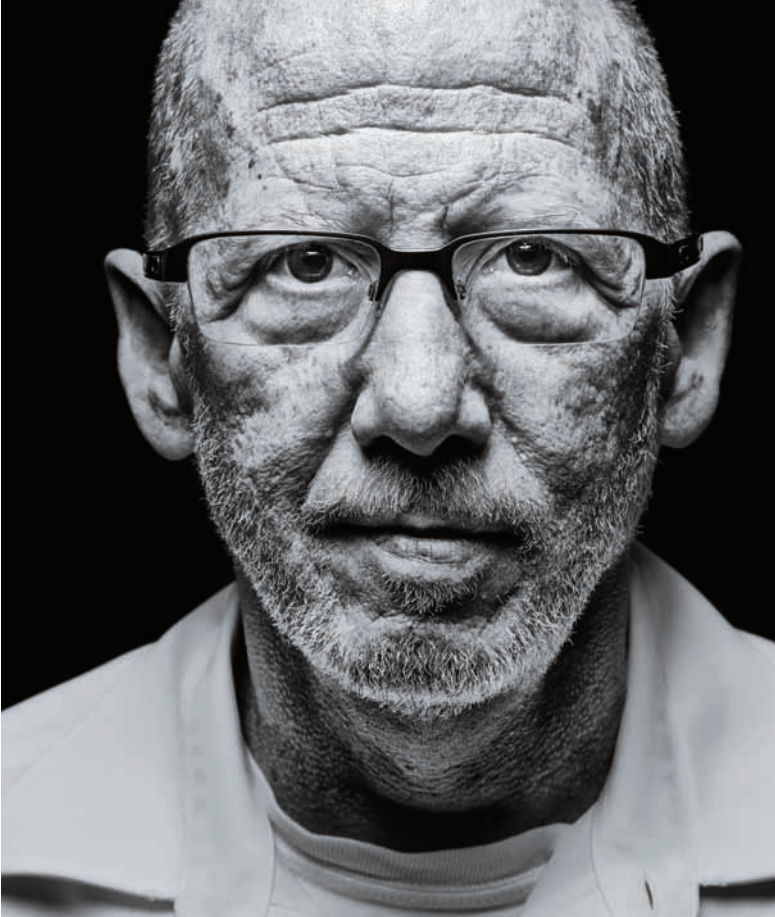
La speranza dei medici riguardava un nuovo tipo di farmaco, che però provocava forti rigonfiamenti, rendendo difficoltoso verificare attraverso i raggi X e la RMN il grado di dissolvimento del tumore. Vogelstein decise allora di applicare la sua nuova tecnologia. Se il sangue non avesse più mostrato tracce di cancro, avrebbe potuto festeggiare. In caso contrario, forse sarebbe stato ancora possibile un ultimo tentativo di cura. «Cercammo in qualche modo di pilotare il trattamento e avevamo ancora qualche speranza», racconta Vogelstein. Ma la voce si spezza, lo scienziato non dice altro. Il necrologio di Barry Vogelstein, di Baltimora, venne pubblicato il 3 luglio del 2013.

Non stiamo ancora vincendo la battaglia contro il cancro e la morte del fratello di Vogelstein ne spiega il perché: troppe volte i tumori vengono scoperti quando sono diventati ormai incurabili. Ogni anno nel mondo si spendono 91 miliardi di dollari in farmaci antitumorali, ma il più delle volte le medicine vengono somministrate quando è troppo tardi. I trattamenti più recenti, sviluppati a costi esorbitanti, arrivano a costare 10mila dollari al mese e spesso riescono ad allungare la vita di poche settimane. Le case farmaceutiche sviluppano e sperimentano più farmaci mirati ai tumori in ultimo stadio che per ogni altra malattia.

«Opinione pubblica e scienziati sono come ipnotizzati dall'idea di curare tumori ormai in stato avanzato», afferma Vogelstein. «È il “piano A” adottato dalla nostra società. Io sono convinto che non debba essere per forza così». Ci sono altri modi per ridurre il numero di decessi per cancro: portare gli occhiali da sole, non fumare, sottoporsi a screening precoce. Proprio perché ricevono scarsa attenzione e pochi finanziamenti, per Vogelstein tutte queste misure preventive rappresentano il “piano B”. Eppure, quando funziona, la prevenzione fa ottenere risultati migliori di qualsiasi farmaco. Negli Stati Uniti la probabilità di morire di tumore al colon retto è scesa del 40 per cento rispetto al 1975, una diminuzione dovuta principalmente alla diagnosi precoce effettuata in colonscopia. Anche un tumore della pelle come il melanoma è chirurgicamente trattabile se viene preso in tempo. «Pensiamo che quello che oggi è il “piano B” debba diventare il “piano A”», ribadisce Vogelstein.

I nuovi test del sangue potrebbero renderlo possibile. Per la prima volta, dicono i ricercatori della Hopkins, abbiamo a portata di mano uno strumento diagnostico per realizzare screening su larga scala – per esempio in occasione degli annuali checkup – alla ricerca di tracce molecolari di tumore in individui privi di sintomi. «Riteniamo di aver risolto il problema della diagnosi precoce», afferma Victor Velculescu, scienziato della Johns Hopkins, che lavora nel laboratorio accanto a quello di Vogelstein.

La vera sfida sarà riuscire a fare in modo che questo screening possa diventare una prassi di routine della medicina. Uno dei problemi è che, se il test riuscisse a individuare la presenza di DNA tumorale nell'organismo, lo specialista non sarebbe ancora in grado di dire dove sia localizzato il cancro, quanto sia pericoloso e se valga la pena intervenire. «Dobbiamo avere molta cautela nel



Bert Vogelstein dirige un laboratorio che mette a punto nuovi sistemi di diagnosi precoce dei tumori. Fotografia di Joseph Victor Stefanchik.

discutere di queste cose», riconosce Daniel Haber, direttore del centro oncologico del Massachusetts General Hospital. La sua opinione è che i test del DNA nel sangue «sono tutt'altro che pronti» e che occorreranno studi molto estesi per dimostrarne l'utilità: «Abbiamo ancora grossi ostacoli da superare».

Malgrado lo scetticismo, la tecnologia sta calamitando una certa attenzione. Tony Dickherber, responsabile del programma per le Tecnologie di analisi molecolare innovative presso il National Cancer Institute, sostiene che solo tre anni fa l'idea di analizzare il sangue alla ricerca di tumori veniva considerata "marginale". Oggi invece laboratori e aziende dalla California a Londra si stanno muovendo rapidamente, dando luogo a continui miglioramenti della tecnologia e nuovi dati a supporto. «Alcuni stanno cominciando a pensare che Vogelstein abbia ragione e che questo possa essere il metodo più indicato per una diagnosi precoce», dice Dickherber. «Può venire eseguita su base molto più estesa di ogni altra tecnologia di screening di cui disponiamo ed è compatibile con un'incredibile varietà di tumori».

Nel febbraio scorso, i medici della Johns Hopkins e di 23 altre istituzioni hanno reso noto lo studio più esteso finora prodotto sui risultati acquisiti. Le analisi hanno riguardato 846 pazienti affetti da una quindicina di tipi di tumore. Gli scienziati hanno rilevato nel sangue la presenza di DNA tumorale nell'80 per cento di pazienti in stadio avanzato della malattia, quello metastatico, e in circa il 47 per cento di coloro in cui il cancro era ancora localizzato e in fase iniziale. Nel caso del tumore avanzato al colon retto, il DNA era presente nel cento per cento dei casi. A prima vista un test che sbaglia una volta su due potrebbe non sembrare un risultato straordinario. Il van-

taggio del test, secondo Velculescu, sta nell'essere «incredibilmente specifico.» A quanto sembra al momento, chi scopre di avere DNA tumorale nel sangue ha effettivamente un cancro. Ciò potrebbe dare allo screening del DNA una marcia in più rispetto ai test per i tumori della prostata e al seno, che spesso producono falsi positivi. «È normale avere del DNA nel sangue; non è normale che questo DNA corrisponda a quello di un tumore», spiega Stefanie Jeffrey, responsabile della ricerca in chirurgia oncologica presso la Stanford University.

Per Vogelstein un test antitumorale del sangue consentirebbe di individuare il cancro nelle sue prime fasi e di intervenire chirurgicamente. «Se ci fosse un farmaco capace di curare la metà dei tumori, farebbero una parata con le stelle filanti a New York», osserva.

### Uno sguardo al passato

Fu il presidente Nixon, nel 1971, a dichiarare ufficialmente guerra al cancro. Allora Vogelstein era ancora studente alla facoltà di medicina. Seguirono anni di frustrazioni, a fronte dello scarso impatto che i farmaci riuscivano ad avere sul numero di decessi. Il principale cambiamento è che oggi conosciamo le cause della malattia. Le ricerche che Vogelstein portò avanti negli anni Ottanta insieme a Kenneth Kinzler, hanno contribuito a dimostrare il ruolo cruciale dei geni mutanti in questa patologia. Gli scienziati hanno messo a punto un elenco di oltre 150 geni considerati gli agenti fondamentali. Per quanto complesso possa essere il panorama genetico del cancro, tutte le mutazioni del DNA producono un unico risultato: consentono che alcune cellule possano continuare a riprodursi quando una cellula normale si limiterebbe a morire. L'esito di questo scompensamento si chiama cancro.

Per le Case farmaceutiche, questa scoperta, insieme all'elenco dei geni coinvolti, sono stati il punto di partenza di uno sforzo costato miliardi di dollari e mirato a sviluppare nuove sostanze per la cura dei tumori in fase avanzata. Ma secondo Vogelstein, la consapevolezza che il cancro sia causato dalla mutazione del DNA, ha sempre significato qualcosa di diverso: che fosse cioè possibile scorgere in anticipo i segnali del cambiamento, prima che la malattia potesse venire diagnosticata. In oncologia è quasi una ovvietà: prima ti accorgi di avere un tumore e migliori sono le tue chance di sopravvivenza.

Prendiamo per esempio il cancro al colon retto, la tipologia di tumore più studiata da Vogelstein. La malattia parte da una singola mutazione di un gene denominato APC. Ciononostante, occorrono in media altri 30 anni da quel momento affinché le cellule acquisiscano svariate altre mutazioni del DNA necessarie a che il cancro proliferi. Ogni anno muoiono circa 600mila persone di cancro al colon retto. «Quasi tutte muoiono solo perché il loro tumore non è stato diagnosticato nei primi 27 anni di esistenza del tumore stesso», spiega Vogelstein. «Una finestra di tempo lunghissima, in cui si sarebbe potuto intervenire».

Tuttavia, fino alla scoperta dei test del DNA nel sangue, non c'era un modo pratico per osservare questi mutamenti. È dall'inizio degli anni Novanta che Vogelstein lavora sui sistemi di diagnosi precoce, partendo dalle urine e dalle feci e utilizzando le laboriose procedure allora disponibili. La sua opinione è che alla prevenzione e alla diagnosi precoce si continua a prestare poca atten-

zione e ciò le relega a una «assoluta minoranza» di ricercatori. In base alle sue stime, sullo sviluppo di nuovi farmaci si spendono somme cento volte superiori a quanto si spende in prevenzione.

Si può capire perché, malgrado la sua preminenza scientifica, Vogelstein resti un personaggio controverso. Il gruppo di lavoro della Hopkins, in cui si trovano altri noti ricercatori, pubblica frequentemente nuove idee, ma spesso e volentieri si sforza anche di confutare concetti scientifici altrove considerati molto trendy. Le attività riguardanti il test del DNA nel sangue sono state coordinate da Luis Diaz, un oncologo allievo di Vogelstein. La sua idea di focalizzarsi sul DNA nel sangue risale al 2005, nel corso di una ricerca che riguardava la possibilità di servirsi di batteri necrotizzanti per eradicare i tumori. Il lavoro consisteva nell'impianare cellule cancerose umane nei topi e Diaz dovette «escogitare un modo per monitorare questi tumori nel topo, senza provocarne la morte». Insieme ai suoi colleghi decise che forse il monitoraggio si sarebbe potuto effettuare attraverso un prelievo del sangue. In breve tempo i ricercatori furono in grado di osservare i livelli di DNA umano alzarsi e abbassarsi in funzione dell'efficacia del trattamento. Se era possibile misurare il DNA di un tumore di origine umana nel sangue del topo, perché la cosa non avrebbe dovuto funzionare direttamente nell'uomo?

L'idea non era del tutto nuova: sappiamo fino dal 1948 che nelle nostre vene e arterie circolano, in sospensione, frammenti di DNA. Normalmente si tratta di prodotti di scarto di cellule ormai morte. Ma anche i tumori rilasciano DNA nel sangue. La percentuale di DNA proveniente da cellule malate può essere addirittura dell'87 per cento nei pazienti terminali di cancro, ma spesso i volumi sono quasi trascurabili.

Nel momento in cui Diaz cominciava a studiare la questione, tutto ciò rappresentava solo una vaga possibilità. Per sviluppare la tecnica della biopsia liquida gli scienziati della Hopkins hanno prima dovuto inventarsi un modo per distinguere il DNA tumorale dal segnale di fondo rappresentato dal DNA integro. Lavorando sul sangue donato dai pazienti affetti da tumore al colon retto in trattamento a Baltimora, inizialmente i ricercatori riuscirono a tracciare solo quattro geni patologici. Poterono però rilevare che il DNA tumorale spariva dal sangue rapidamente, anche nel giro di pochi giorni, dopo che i pazienti avevano subito un intervento o un trattamento farmacologico. I soggetti sani che fungevano da campione di controllo non risultavano mai positivi al test. «Ci rendemmo conto che questo test poteva fornire una risposta alla domanda: "Ho il cancro?"», racconta Diaz.

La Johns Hopkins ritiene che il suo test possa essere più sensibile di ogni altro strumento oggi a disposizione dei medici, almeno per tumori troppo piccoli per venire individuati attraverso una delle varie tecniche di imaging. Secondo le stime di Vogelstein, un tumore deve contenere almeno dieci milioni di cellule e raggiungere la dimensione di una capocchia di spillo, per produrre un volume di DNA osservabile. Per risultare visibile in una risonanza magnetica nucleare, al confronto, il tumore deve occupare un volume cento volte più grande e contenere almeno un miliardo di cellule.

I medici della Hopkins hanno iniziato a servirsi del test del DNA nel sangue con l'ambizione di rilevare la presenza di cellule maligne anche in seguito alla rimozione chirurgica dei tumori nei pazienti.

Collaborando con Peter Gibbs, oncologo australiano, i medici hanno analizzato campioni di sangue estratti da 250 pazienti che



Luis Diaz si serve di prelievi di sangue per certificare la guarigione dei malati di cancro. Fotografia di Joseph Victor Stefanchik.

erano stati operati per tumore al colon retto in fase iniziale. La massima parte di questi individui risulta guarita, ma per una percentuale fino al 30 per cento è prevedibile una recidiva perché non tutte le cellule cancerose sono state rimosse. Il problema è che per i medici è impossibile dire quali pazienti soffriranno di recidiva. «Il chirurgo potrebbe avere detto: "Non si preoccupi, ho asportato tutto", precisa Diaz, «ed è frustrante dire a questi pazienti che invece la guarigione non può venire data per certa». Il paziente si trova così prigioniero in una sorta di limbo, senza sapere se la sua malattia tornerà, magari in forma ancora più maligna. E la situazione può trascinarsi per anni.

L'analisi dei potenziali livelli di DNA tumorale nei pazienti australiani viene effettuata sei settimane dopo l'intervento chirurgico. Finora, affermano i ricercatori, è stata correttamente individuata la metà dei pazienti con successiva recidiva. In futuro, sostiene Vogelstein, questi pazienti potranno venire sottoposti a chemioterapia, con la prospettiva di salvare almeno un terzo di loro. Ma il limite di questo test risulta evidente, considerando il fatto che metà dei pazienti che tornano ad ammalarsi di cancro non viene riconosciuta.

Diaz ritiene che questo margine di errore sia dovuto al fatto che le cellule cancerose eventualmente rimaste non rilasciano sufficienti livelli di DNA nel sangue.

Tali livelli potrebbero però aumentare nel corso del tempo, e basterebbe forse sottoporre i pazienti a nuovi test per rilevarli. Anche se le analisi in corso alla Hopkins sono ancora sperimentali, Diaz si dice talmente fiducioso della loro efficacia da sentirsi autorizzato a comunicare a determinati pazienti che la loro malattia è ancora in corso, mentre ad altri può annunciare una probabile guarigione.

### Screening di massa

Vogelstein sostiene che il suo obiettivo finale è fare sì che il test del sangue diventi un modo per diagnosticare il cancro in tutta la popolazione. I ricercatori alla Hopkins ritengono di avere già pronta una versione del test in grado di realizzare questo sogno. Invece di tracciare la presenza di pochi geni tumorali, si procede

al sequenziamento dell'intero genoma del DNA estratto dal sangue, contando la frequenza con cui segmenti di materiale genetico risultano dislocati o appaiono alterati. Un elevato volume di DNA "rimescolato" può essere un effetto collaterale a livello molecolare osservabile solo nei cromosomi delle cellule tumorali: un forte indizio di presenza di cancro. Il sequenziamento dell'intero genoma, tuttavia, è ancora una procedura molto costosa. «Se un paziente è affetto da cancro, saremmo disposti a spendere anche 5mila dollari in un esame del DNA. Ma non puoi sottoporli una volta all'anno a un test che costa mille dollari», osserva Vogelstein. «Il traguardo è un metodo a buon mercato, che possa venire utilizzato nelle campagne di screening».

Ciò potrebbe richiedere parecchio tempo. Il costo del sequenziamento del DNA è andato diminuendo molto rapidamente, ma un livello di 100 dollari a genoma potrebbe richiedere altri 10 anni. Nel frattempo, la Hopkins ha avviato diversi studi, principalmente rivolti a individui con predisposizione verso il tumore, per verificare se queste tecniche siano davvero in grado di individuare il cancro in individui sani. Uno di questi esperimenti riguarda 800 persone a rischio per tumore pancreatico. In questi casi non frequenti, il pancreas dei soggetti presenta delle cisti che a volte degenerano in tumore. I test clinici sono partiti nel 2012 e i ricercatori avranno i primi risultati alla fine di quest'anno. Il tumore pancreatico è un valido caso di studio per la prevenzione precoce. Non è un cancro molto frequente, ma è la quarta principale causa di morte tra le malattie tumorali negli Stati Uniti, perché viene curato solamente nel 4 per cento dei casi. Il fondatore di Apple Computer, Steve Jobs, è morto a 56 anni a causa di un diverso tipo di cancro al pancreas, chiamato tumore neuroendocrino. Se individuato per tempo, prima che cominci a diffondersi, il tasso di sopravvivenza raggiunge il 25 per cento.

Estendere a tutti il test del DNA costituirebbe un enorme balzo in avanti. Haber, l'oncologo del Massachusetts General, afferma che, come è concepita attualmente, la tecnologia potrebbe rivelare la presenza di un tumore, ma, a differenza di una risonanza magnetica o di una biopsia, lascerebbe aperta la questione della localizzazione del tumore. Ciò spaventerebbe i pazienti, lasciando il medico nella totale incertezza sulle azioni da intraprendere. «L'idea di effettuare uno screening su persone sane dicendo loro: "OK, da qualche parte hai un cancro, ma non sappiamo dove", manderebbe tutto a rotoli», avverte Haber.

In medicina ci sono diversi precedenti di test predittivi applicati in modo superficiale. Prendiamo per esempio il test del PSA, che individua la proteina legata al carcinoma alla prostata. Non solo il test produce nella maggior parte dei casi dei falsi positivi, ma alcuni dei tumori rilevati hanno una crescita talmente lenta, che non varrebbe neppure la pena trattarli. Secondo una stima, sarebbe stato evitato un solo tumore ogni 47 pazienti ai quali è stata rimossa la prostata. Gli studi effettuati dal Dartmouth College indicano che anche le mammografie risultano spesso eccessivamente pessimiste, attivando trattamenti non necessari. Circa il 25 per cento di tumori al seno diagnosticati, e trattati, forse non avrebbero provocato alcun sintomo. «Estendendo i test diagnostici a chiunque, si finirebbe spesso per curare malattie che non avrebbero avuto particolari effetti, sia perché non avrebbero potuto svilupparsi, sia sarebbe intervenuto un decesso per altre cause», ammonisce Jonathan Skinner,

economista della sanità del Dartmouth. Velculescu ribatte tuttavia di confidare che lo screening di massa del DNA possa diventare una realtà. «Se il test non facesse alcuna differenza, forse sarebbe meglio restare nell'ignoranza», riconosce. «Ma non riesco a immaginare che conoscere l'esistenza di un cancro non possa essere d'aiuto ai pazienti. Forse eviteremmo di agire con estrema urgenza su ogni minima informazione. O addirittura non faremo nulla. Ma potremmo continuare a fare prelievi controllando gli eventi».

Finora l'industria farmaceutica non si è mossa granché in materia di screening antitumorale su vasta scala. Al momento, Personal Genome Diagnostics, la start-up fondata da Diaz e Velculescu, e diversi altri concorrenti, come Boreal Genomics e Guardant Health, commercializzano test per la biopsia liquida in pazienti che lottano contro il cancro in stadi già avanzati. In questi pazienti, i test possono aiutare a capire se le cure stiano funzionando con un margine di tempo sufficiente a cercare eventuali trattamenti alternativi. La tecnologia potrebbe venire utilizzata con profitto anche per tracciare specifiche mutazioni del DNA tra quelle che hanno determinato lo sviluppo del tumore. Considerando che molti degli attuali farmaci oncologici sono "mirati" su determinati meccanismi molecolari, vengono somministrati solo ai pazienti che soffrono di un tumore classificato tra quelli che possono rispondere alla cura. I medici possono già servirsi di test sul DNA su campioni di tessuto tumorale raccolti tramite biopsia. Ma un test del sangue non invasivo sarebbe molto più pratico e sicuro, consentendo monitoraggi più frequenti. Dato che il DNA delle cellule tumorali muta costantemente, ciò consentirebbe di passare rapidamente a farmaci più appropriati.

Per Helmy Eltoukhy, CEO di Guardant, le biopsie liquide sono «un'idea fantastica» con molte possibili applicazioni. Per ragioni commerciali e mediche, la sua azienda finora si limita a vendere i test diagnostici ai malati di cancro. Ma i piani aziendali prevedono anche i test per la diagnosi precoce: «Abbiamo a che fare con un Santo Graal. Noi ci stiamo lavorando».

Al 65enne Vogelstein e a Velculescu, che di anni ne ha 44, ho chiesto se si sono mai sottoposti alla prova. Entrambi hanno risposto di no. Eppure nel complesso gli individui maschi negli Stati Uniti hanno il 40 per cento di possibilità di sviluppare un tumore e le possibilità aumentano con l'età. Se due ricercatori come loro hanno evitato lo screening, c'è da dubitare che un pubblico più vasto possa sentirsi motivato a farlo. Affinché lo screening possa diventare una prassi generalizzata come misura di politica sanitaria, è necessaria la partecipazione dell'intera comunità medica e per arrivarci dovrà trascorrere un sacco di tempo.

Vogelstein non è un ingenuo. Ci sarà comunque bisogno di nuovi farmaci per curare i malati di cancro. Ma resta convinto che il modo migliore per sconfiggere un tumore in stadio avanzato sia prevenirne l'insorgenza: «Stiamo lavorando proprio a questo scopo. Tra cento anni, quando tumori e morti di cancro saranno assai meno frequenti, buona parte del merito toccherà alla diagnostica precoce, non al fatto che saremo in grado di curare un organismo ormai invaso dal tumore». ■

*Antonio Regalado è caporedattore di MIT Technology Review USA.*