

ANIMALI TRANSGENICI

Aspetti scientifico-tecnici, etici e giuridici

ENNIO BROVEDANI
di « Aggiornamenti Sociali »

Sono trascorsi poco più di dieci anni dalla realizzazione in laboratorio dei primi **animali transgenici**. Si tratta di animali nel cui patrimonio genetico (genoma) è stato inserito un gene esogeno, ossia un gene proveniente da una specie biologica diversa (« transgene »). La loro « creazione » risale al 1982, quando, negli Stati Uniti, due gruppi di ricercatori diretti da Ralph Brinster dell'Università di Pennsylvania e Richard Palmiter dell'Università di Washington (Seattle), dopo aver microiniettato in cellule uovo fecondate di topo il gene dell'ormone della crescita del ratto, ottennero dei topi « giganti », dalle dimensioni quasi doppie rispetto alla grandezza normale della loro specie (1). Tale esperimento, allora ancora rudimentale rispetto alle procedure attualmente utilizzate e agli stessi risultati ottenuti, segnava l'inizio di una nuova e importante fase nella ricerca e sperimentazione genetiche. Per la prima volta, infatti, dopo poco meno di un decennio dall'ideazione delle tecniche di ingegneria genetica (DNA ricombinante) — tecniche che consentivano di intervenire direttamente nel DNA degli organismi viventi (limitatamente, però, agli organismi unicellulari, quali, ad esempio, batteri e cellule di lievito) — diveniva possibile l'inserzione e l'attivazione di un gene esogeno in un organismo superiore (mammifero), con conseguente alterazione « indotta » del patrimonio genetico originario. Nel caso dei topi in questione, il « transgene » si era poi integrato e trasmesso nella generazione filiale successiva, ma solo in parte, per una serie di difficoltà di ordine tecnico e teorico.

(1) Alcuni tentativi, parzialmente riusciti, erano stati compiuti negli anni '70. Cfr. R.D. PALMITER, R.L. BRINSTER, R.E. HAMMER et al., *Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein - growth hormone fusion genes*, in « Nature », 300, 1982, pp. 611-615 ; R.D. PALMITER, R.E. NORSTED, R.E. GELINAS et al., *Metallothionein - human GH fusion genes stimulate growth of mice*, in « Science », 222, 1983, pp. 809-814 ; R.D. PALMITER and R.L. BRINSTER, *Transgenic mice*, in « Cell », 1985, 41, pp. 343-345. Sull'origine e gli sviluppi dell'ingegneria genetica fino al 1986, cfr. E. BROVEDANI, *L'ingegneria genetica - Aspetti scientifico-tecnici e Le applicazioni dell'ingegneria genetica - Dalla biotecnologia alla terapia genica umana*, rispettivamente in « Aggiornamenti Sociali », (luglio-agosto) 1986, pp. 517-534, rubr. 340, e (settembre-ottobre) 1986, pp. 605-619, rubr. 340.



Dagli esperimenti pionieristici di Brinster e Palmiter ad oggi, le tecniche di intervento sul genoma degli organismi viventi si sono notevolmente affinate e i progressi compiuti dalla ricerca genetica sono stati qualitativamente rilevanti e consistenti, sia nella direzione dell'ampliamento delle conoscenze di base, sia nella prospettiva dell'utilizzo di tali conoscenze e delle connesse tecnologie in diversi ambiti di utilità umana e sociale. Quale esempio di sviluppo della « tecnologia transgenica », della tecnologia cioè che presiede alla realizzazione degli animali transgenici, basti solo citare l'importante esperimento di determinazione del sesso compiuto nel 1991 dal gruppo di ricerca londinese diretto da Robin Lovell-Badge, Peter Goodfellow e Peter Koopman (2), divenuto uno tra i possibili modelli di studio e di sperimentazione *in vivo* per la conoscenza dei meccanismi della differenziazione sessuale. L'esperimento, realizzato in seguito alla localizzazione e identificazione su una regione del cromosoma sessuale maschile « Y » di un gene che regola la differenziazione e lo sviluppo embrionale delle gonadi maschili (*Sry-gene*, ossia *sex-determining region Y gene*), ha indotto lo sviluppo di gonadi maschili in embrioni di costituzione cromosomica « XX » ossia, normalmente di sesso femminile (3). Lovell-Badge e Koopman hanno ottenuto tale sorprendente risultato microiniettando frammenti di DNA genomico, contenenti il gene *Sry*, nel genoma di 11 embrioni di topo di sesso cromosomico femminile. Tre di questi embrioni, geneticamente manipolati, hanno cambiato sesso, sviluppandosi come maschi ed esibendo un comportamento maschile, ma uno solo di essi è risultato prolifico. Le ragioni di tale limitazione non sono ancora note e gli stessi Autori esprimono delle incertezze circa la rilevanza scientifica dei risultati ottenuti, oltre a una serie di quesiti relativi all'effettivo e/o esclusivo ruolo del gene *Sry* nella regolazione dello sviluppo delle gonadi (4). Il progredire delle ricerche probabilmente chiarirà tali dubbi e consentirà anche una valutazione delle possibili implicazioni etiche e dell'eventuale significato simbolico dei risultati ottenuti.

(2) Cfr. P. KOOPMAN, R. LOVELL-BADGE et al., *Male development of chromomally female mice transgenic for Sry*, in « Nature », 351, 1991, pp. 117-121; A. McLAREN, *The making of male mice*, *ibid.*, p. 96; J. CHERFAS, *Sex and the single gene*, in « Science », 252, 1991, p. 782.

(3) Sull'identificazione del gene che regola la differenziazione e lo sviluppo embrionale delle gonadi maschili, cfr. A.H. SINCLAIR et al., *A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif*, in « Nature », 346, 1990, pp. 240-244; J. GUBBAY et al., *A gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a new family of embryonically expressed genes*, *ibid.*, pp. 245-250.

(4) Cfr. P. KOOPMAN, R. LOVELL-BADGE et al., *art. cit.*, p. 121.

L'esperimento di Lovell-Badge e Koopman è chiaramente indicativo del ritmo e della celerità dei progressi compiuti in questi ultimi dieci anni dalla « tecnologia genetica » in generale e da quella « transgenica » in particolare. Gli animali transgenici, infatti — non solo topi (benché in prevalenza), ma anche pecore, capre, maiali, conigli e vacche, ecc. —, sono divenuti dei modelli sperimentali privilegiati in diversi ambiti della ricerca genetica, dalla ricerca pura (in prima istanza finalizzata al progresso delle conoscenze) a quella applicata (orientata alla produzione biotecnologica di proteine di interesse alimentare, farmacologico e terapeutico), e la loro « creazione » in laboratorio, per così dire « su misura » (5), è ormai quasi una routine. La loro crescente utilizzazione in sede di ricerca sperimentale ha notevolmente aumentato la nostra comprensione del controllo dell'espressione genica (i meccanismi attraverso cui un gene trova espressione in un determinato carattere o funzione fisiologica), del funzionamento del sistema immunitario, del processo di formazione dei tumori (oncogenesi), del meccanismo di azione di numerose malattie genetiche umane e delle basi molecolari dello sviluppo embrionale. Il ricorso alla « tecnologia transgenica », inoltre, congiuntamente ad altre complesse tecniche di intervento su cellule embrionali, consente di aumentare la produzione di una determinata proteina o la proliferazione di una determinata linea cellulare, alterando o incrementando una funzione genica, e di sintetizzare proteine esogene di diversa natura e funzione, con la possibilità, per esempio, di produrre proteine di interesse farmaceutico per l'uomo nel latte di bestiame transgenico o di accelerare la crescita degli animali domestici di interesse agro-alimentare, producendo bovini, ovini e suini giganti in tempi più rapidi e a minor costo (6).

Data la rilevanza acquisita dagli animali transgenici quali modelli di

(5) Cfr. J. VAN BRUNT, *Transgenici su misura per la ricerca*, in « Biotec », 6, 1990, pp. 39-42.

(6) Per una rassegna sui vantaggi apportati dallo sviluppo della « tecnologia transgenica », cfr. J. GOSSENS and J. VIJG, *Transgenic mice as model system for studying gene mutations in vivo*, in « Trends in Genetics », 9, 1993, pp. 27-31; A.P. KORESTKY, *Investigation of cell physiology in the animal using transgenic technology*, in « American Journal of Physiology », 262 (Cell Physiol. 31), 1993, pp. C261-C275, 1992; M.H. MEISLER, *Insertional mutation of « classical » and novel genes in transgenic mice*, in « Trends in Genetics », 8, 1992, pp. 341-346; G.T. MERLINO, *Transgenic animals in biomedical research*, in « The FASEB Journal », 5, 1991, pp. 2996-3001; J.M. ADAMS and S. CORY, *Transgenic models of tumor development*, in « Science », 254, 1991, pp. 1161-1166; A. S. MOFFA, *Transgenic animals may be down on the pharm*, in « Science », 254, 1991, pp. 35-36; H. BIALY, *In arrivo i farmaci da animali transgenici*, in « Biotec », 6, 1991, pp. 64 s.; D. HANAHAN, *Transgenic mice as probes into complex systems*, in « Science », 246, 1989, pp. 1265-1274; L.-M. HOUBÉDINE, *Les animaux transgéniques*, in « La Recherche », n. 188, mai 1987, pp. 684-694.

ricerca e sperimentazione scientifica, clinica e terapeutica, nel presente articolo descriveremo brevemente le principali tecniche che ne consentono la realizzazione, alcuni vantaggi e benefici che si prospettano dal loro utilizzo in diversi ambiti di interesse umano e sociale, per considerare e vagliare, infine, alcune problematiche e implicazioni di natura etica e giuridica.

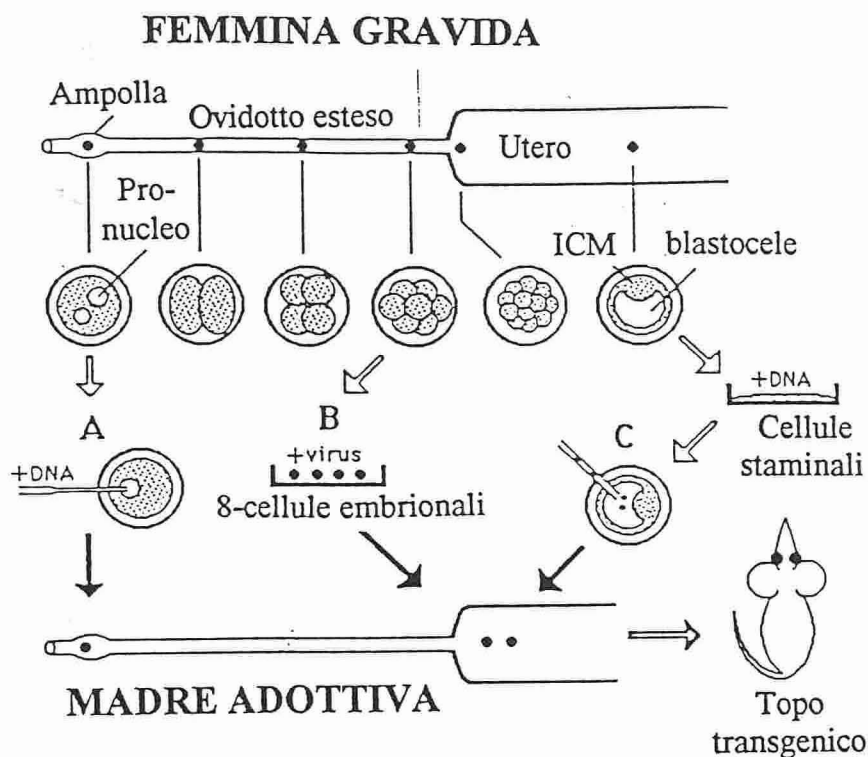
1. La tecnologia transgenica.

Nel corso degli ultimi dieci anni sono stati ideati diversi metodi per la realizzazione degli animali transgenici. La tecnologia transgenica si è notevolmente evoluta e affinata con il concorso di procedure e tecniche diverse elaborate nel tentativo di superare vari ostacoli e di pervenire a risultati sempre più mirati e controllabili. Descriveremo alcune di tali tecniche, a cominciare dalla microiniezione fino alla più recente tecnica del trasferimento genico mirato in cellule staminali embrionali (*gene targeting techniques in embryonic stem cells*), ossia in cellule indifferenziate embrionali (ES). La conoscenza di alcuni aspetti e dettagli delle metodologie in atto consente una più corretta valutazione delle reali possibilità, dei limiti, delle prospettive e delle possibili implicazioni della tecnologia transgenica e dei suoi derivati (7).

1. La microiniezione, ossia l'introduzione, attraverso una micropipetta di vetro, di frammenti di DNA genomico nei pronuclei di ovociti fecondati, rappresenta il metodo più ampiamente adottato nella produzione di animali transgenici. Questa tecnica viene utilizzata soprattutto con cellule embrionali di topo; in altri mammiferi (maiali, capre, conigli, vacche, ecc.) essa risulta meno efficace. La procedura (Fig. 1: A) si svol-

(7) Per una descrizione delle principali tecniche, cfr. W.S. PASCOE, R. KEMIER and S.A. WOOD, *Genes and functions: trapping and targeting in embryonic stem cells*, in « Biochimica et Biophysica Acta », 1114, 1992, pp. 209-221; A. BRADLEY, P. HASTY, A. DAVIS and R. RAMIREZ-SOLIS, *Modifying the mouse: design and desire*, in « Bio/Technology », 10, 1992, pp. 534-539; M. BECKERT et H. LUCAS, *Vers une transformation universelle du vivant?*, in « La Recherche », n. 229, février 1991, pp. 236-238; V.G. PURSEL, C.A. PINKERT, K.F. MILLER et al., *Genetic engineering of livestock*, in « Science », 244, 1989, pp. 1281-1288; M.R. CAPECCHI, *Altering the genome by homologous recombination*, in « Science », 244, 1989, pp. 1288-1292; J. ROSSANT and A. L. JOYNER, *Toward a molecular-genetic analysis of mammalian development*, in « Trends in Genetics », 5, 1989, pp. 277-283; M.A. FROHMAN and G. R. MARTIN, *Cut, paste, and save: new approaches to altering specific genes in mice*, in « Cell », 56, 1989, pp. 145-147; P. NOUVEL, *L'échange standard des gènes*, in « La Recherche », n. 209, avril 1989, pp. 534-536; S.L. MANSOUR, K.R. THOMAS and M.R. CAPECCHI, *Disruption of the proto-oncogene int-2 in mouse embryo-derived stem cells: a general strategy for targeting mutations to non-selectable genes*, in « Nature », 336, 1988, pp. 348-352.

FIG. 1: TECNOLOGIA TRANSGENICA



FONTE: G.T. MERLINO, *Transgenic animals in biomedical research*, cit., p. 2297.

ge pressappoco nel seguente modo: poche ore dopo l'accoppiamento, singoli ovociti fecondati, allo stadio di sviluppo in cui sono visibili i due pronuclei (i nuclei provenienti dalle cellule germinali parentali), vengono isolati da femmine gravide, previamente sottoposte a stimolazione ovarica; nel pronucleo di questi embrioni vengono microiniettate da cinquanta a cento copie di un transgene specifico, ossia sequenze di DNA contenenti un gene clonato e munite di elementi regolativi; gli embrioni geneticamente trattati vengono subito trasferiti nell'ovidotto di femmine « pseudogravide » (8), oppure possono essere lasciati in coltura per una notte, fino allo stadio di due cellule, per essere poi trasferiti in una femmina pseudogravida; ciò consente di identificare gli embrioni che potrebbero essere stati danneggiati dalla microiniezione. A nascita e svezzamento avvenuti (rispettivamente dopo 20 e 21 giorni), una piccola porzione di coda dei topi generati viene « testata », ossia sottoposta a *screening*, per accertare l'avvenuta integrazione del transgene nel loro genoma. Abitualmente, la percentuale di topi che risultano positivi allo *screening* va dal 10 al 40%. L'integrazione del transgene è casuale e avviene di solito prima che l'embrione si divida in due cellule. Il transgene si integra, in genere, in un singolo sito cromosomico, ma può integrarsi anche in più siti in seno al genoma. Nel primo caso si ottiene una generazione di topi transgenici eterozigoti rispetto al transgene microiniettato e tutti positivi al test di identificazione (*positive founder mice*); essi costituiscono un ceppo « capostipite » (*founder*) dal quale è possibile ottenere, tramite accoppiamenti incrociati con topi di tipo selvatico, una discendenza permanente di topi transgenici emizigoti, oppure, per incrocio diretto, una linea di topi transgenici omozigoti, che consentono l'osservazione diretta, *in vivo*, dei principali effetti causati dall'espressione del transgene. Nel secondo caso, invece, si ottiene un animale adulto denominato « mosaico », formato cioè da cellule contenenti il transgene e da cellule che ne sono prive, con scarsa possibilità di trasmettere il nuovo carattere alla discendenza.

La tecnica della microiniezione si è rivelata molto utile per lo studio del livello di espressione del transgene nell'organismo ospite e del modo

(8) Per « pseudogravidanza » si intende l'insorgere nelle femmine dei mammiferi di cambiamenti anatomo-fisiologici strettamente somiglianti a quelli caratteristici della gravidanza che intervengono senza che sia avvenuta la fecondazione dell'uovo. Il fenomeno — dovuto alla secrezione di ormoni da parte del corpo luteo dell'ovaio — si riscontra in quelle specie (per esempio nel topo) in cui il corpo luteo si attiva in seguito alla copulazione, anche quando questa è sterile. Per questa e altre definizioni, cfr. G. DELFINO, E. LANCIOTTI, G. LIGURI e M. STEFANI, *Biologia e Medicina - Dizionario enciclopedico di scienze biologiche e mediche*, Zanichelli, Bologna 1990.

con cui esso viene ereditato e integrato nel genoma delle generazioni successive. La procedura, tuttavia, presenta anche tutta una serie di inconvenienti abbastanza ben repertoriati (9). Non è possibile, per esempio, prevedere con certezza la quantità di transgeni che si integreranno nel genoma dell'animale trattato. Essa può variare da 1 a oltre 50 copie per cellula. L'integrazione, inoltre, avvenendo a caso, qualche volta provoca la disattivazione di alcuni geni della cellula ospite, con conseguenti anomalie morfologiche più o meno gravi. Il livello di espressione, infine, sembra essere più elevato quando il transgene si integra in una regione del cromosoma dove più geni sono attivi.

Permangono anche dei dubbi sulla corretta espressione del transgene nell'organismo ospite, in quanto il sito di integrazione può influire nell'espressione del transgene.

2. Un'altra tecnica per la realizzazione di animali transgenici si avvale di alcune proprietà di particolari ceppi virali, quali i **retrovirus** e, più recentemente, gli **adenovirus** (10). Rispetto alla microiniezione, questa tecnica consente di intervenire in vari stadi di sviluppo dell'embrione, di mutare un gene specifico o di marcare una cellula nel corso del suo sviluppo. I « retrovirus » rappresentano una famiglia di virus, presente nei vertebrati e nell'uomo, il cui genoma è costituito esclusivamente da RNA (l'altra categoria di acidi nucleici presenti nel nucleo delle cellule) e non da DNA, come la maggioranza degli organismi viventi. Essendo parassiti (come tutti i virus), per sopravvivere e riprodursi essi sfruttano il meccanismo di sintesi proteica delle cellule ospiti, integrandosi nel loro genoma. I « retrovirus » sono dotati di un particolare enzima, denominato per la sua funzione specifica « trascrittasi inversa », capace di usare l'RNA virale come stampo per la formazione di una molecola di DNA complementare (cdNA). Quest'ultima, una volta sintetizzata in seno alla cellula ospite, si integra nel suo patrimonio genetico. L'« astuzia tecnica » consiste, allora, nel manipolare geneticamente dei ceppi

(9) Cfr. R. JAENISCH, *Transgenic animals*, in « Science », 240, 1988, pp. 1468-1474; L.-M. HOUBEINE, *art. cit.*, pp. 685 s.; R.A. LANG, D. METCALF, R.A. CUTHBERTSON et al., *Transgenic mice expressing a haemopoietic growth factor gene develop accumulations of macrophages, blindness, and a fatal syndrome of tissue damage*, in « Cell », 51, 1987, pp. 675-686; R.E. HAMMER, V.G. PURSEL, C.E. REXROAD et al., *Production of transgenic rabbit, sheep and pigs by microinjection*, in « Nature », 315, 1985, pp. 680-683.

(10) Sulle caratteristiche di questi ceppi virali e sul loro meccanismo di azione, cfr. J.D. WATSON, N.H. HOPKINS, J.W. ROBERTS et al., *Biologia molecolare del gene*, Zanichelli, Bologna 1989, pp. 1015-1037; B. ALBERTS, J.D. WATSON et al., *Biologia molecolare della cellula*, Zanichelli, Bologna 1984, pp. 602-607.

di « retrovirus », inserendovi il gene che si intende trapiantare, per trasformarlo, in tal modo, in « vettore » di materiale genetico specifico. I « retrovirus », infatti, hanno una elevata virulenza o capacità infettiva. Di solito, quasi il 100% delle cellule dei tessuti trattati *in vitro* con dei « retrovirus » ne incorporano il patrimonio genetico.

I vettori retrovirali comunemente utilizzati in sede di laboratorio sono ceppi di « retrovirus » originariamente presenti nei topi e responsabili, esclusivamente in questa specie biologica, di alcune forme di cancro (leucemia e sarcoma). Da tempo essi sono oggetto di studio e di sperimentazione da parte di numerose *équipes* di ricerca. Le loro proprietà strutturali, funzionali e genetiche sono ben conosciute. Per evitare una propagazione incontrollata al di fuori delle cellule bersaglio, in altri organi o tessuti dell'organismo ospite, i vettori retrovirali vengono modificati geneticamente, ricorrendo a complesse tecniche di ingegneria genetica, e resi praticamente inoffensivi. La « **trasduzione virale** » (Fig. 1: B), ossia l'incorporazione del transgene specifico nell'organismo ospite mediante retrovirus, consiste, allora, nell'incubare degli embrioni precoci in un terreno di coltura contenente vettori retrovirali geneticamente modificati e nel trasferirli nell'utero di madri surrogate.

Pur presentando alcuni vantaggi rispetto alla microiniezione, anche la tecnica dei vettori retrovirali presenta una serie di inconvenienti. Con una certa frequenza, per esempio, l'incorporazione del « retrovirus » nel cromosoma scatena l'attivazione di geni contigui con il rischio di indurre una trasformazione cancerogena della cellula ospite. I « retrovirus », inoltre, benché sia stato soppresso il gene che regola la sintesi della « trascrittasi inversa », sono spesso instabili e possono riacquisire la loro virulenza ricombinandosi con ceppi virali latenti presenti nella cellula ospite. Il meccanismo di incorporazione del transgene, infine, permane ancora casuale ed è abbastanza frequente lo sviluppo di animali transgenici mosaici. Tuttavia, essendo l'infezione virale avvenuta in uno stadio di sviluppo embrionale precoce, molte cellule dei tessuti germinali (i tessuti che producono le cellule sessuali) hanno incorporato il transgene. Alcuni di questi inconvenienti sono in parte superati con il ricorso agli « adenovirus » — un'altra famiglia di virus il cui genoma è costituito da DNA —, i quali, inserendosi nel meccanismo di trascrizione e di replicazione del DNA della cellula infettata, sembrano incorporarsi in maniera più stabile nel genoma ospite.

3. Una nuova tecnica, estremamente precisa e mirata, che consente la realizzazione di animali transgenici con caratteristiche desiderate, utilizzabili nell'ambito della ricerca biomedica quali modelli di studio e di

sperimentazione *in vivo* di determinate patologie umane o di fondamentali funzioni fisiologiche, è stata recentemente elaborata dal prof. Mario Capecchi dell'Università dello Utah (Salt Lake City). Tale tecnica si serve di cellule staminali embrionali pluripotenti (*pluripotent embryonic stem cells*), di cellule, cioè, che mantengono la capacità di poter evolvere o differenziarsi in più di una direzione (11). Essa consente il **trasferimento genico mirato** (*gene-targeting technology*), ossia l'incorporazione di uno specifico transgene in un punto preciso del genoma della cellula ospite, e si fonda sul meccanismo della ricombinazione omologa fra sequenze di DNA contenute nel transgene e sequenze cromosomiche della cellula ospite: meccanismo analogo allo scambio di materiale genetico (*crossing-over*) tra i cromatidi di due cromosomi omologhi che comunemente avviene nelle cellule degli organismi superiori al momento della meiosi, ossia al momento della formazione delle cellule sessuali (gameti).

La tecnica del *gene-targeting* permette di operare una grande varietà di mutazioni genetiche, dalla completa disattivazione di una funzione genica, all'incremento di tale funzione, fino alla mutagenesi mirata di un singolo aminoacido, ossia alla mutazione di un gene specifico al fine di studiarne la funzione normale, e alla sostituzione di proteine residenti mutanti che interferiscono con il normale processo di sintesi proteica regolato dai geni endogeni. Il procedimento si svolge schematicamente nel seguente modo (Fig 1: C): dalla massa cellulare interna di un embrione di topo allo stadio di blastocisti (circa quattro giorni dall'inizio dello sviluppo embrionale) vengono isolate e coltivate *in vitro* singole cellule staminali embrionali pluripotenti; nel nucleo di queste cellule vengono inserite (per elettroporazione) sequenze di DNA contenenti un transgene con un *marker* selettivo; le cellule che hanno incorporato il transgene vengono selezionate, sottoposte a *screening* per l'avvenuta ricombinazione e reintrodotte nel blastocele di un embrione ricevente, dove sono

(11) Sulla tecnica del *gene-targeting* e della « ricombinazione omologa », cfr. E.F. WAGNER, *On transferring genes into stem cells and mice*, in « EMBO Journal », 9, 1990, pp. 3025-3032; M.R. CAPECCHI, *art. cit.*; W.S. PASCOE, R. KEMIER and S.A. WOOD, *art. cit.*; A. GOSSLER, A.L. JOYNER et al., *Mouse embryonic stem cells and reporter constructs to detect developmentally regulated genes*, in « Science », 244, 1989, pp. 463 s.; S.L. MANSOUR, K.R. THOMAS and M.R. CAPECCHI, *art. cit.*; T. DOETSCHMAN, R.G. GREGG, N. MAEDA et al., *Targeted correction of a mutant HPRT gene in mouse embryonic stem cells*, in « Nature », 330, 1987, pp. 576-578; O. SMITHIES, R.G. BOGGS et al., *Insertion of DNA sequences into the human chromosome β -globin locus by homologous recombination*, in « Nature », 317, 1985, pp. 230-234; M.J. EVANS and M.H. KAUFMAN, *Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos*, in « Nature », 292, 1981, pp. 154-156.

integrate nella massa cellulare interna; gli embrioni geneticamente trattati vengono poi trasferiti nell'ovidotto di madri surrogate. I topi che si sviluppano con questa tecnica sono emizigoti mosaicici rispetto al transgene. Se la linea delle cellule germinali ha integrato il transgene, dall'incrocio dei figli si ottiene una linea capostipite di topi omozigoti transgenici. L'accoppiamento con topi di tipo selvatico, invece, consente di ottenere una discendenza di topi transgenici eterozigoti, quale linea di perpetuazione del transgene, data la difficoltà di mantenere le cellule staminali in coltura per lungo tempo. Quanto alla durata delle generazioni transgeniche, i dati non consentono ancora alcuna certezza, in quanto tutti gli animali transgenici, a prescindere dalla tecnica utilizzata, vanno incontro a vari rischi (morte in utero, sterilità, malattia, incapacità di allattare, alterazioni morfologiche, ecc.), in relazione anche al tipo di informazione genetica incorporata.

2. Risultati e prospettive della tecnologia transgenica.

L'avvento e lo sviluppo della tecnologia transgenica hanno considerevolmente accresciuto le nostre conoscenze di base su molti processi fisiologici e patologici. Gli animali transgenici sono infatti impiegati quali modelli di studio in diversi ambiti della ricerca biomedica, dalla regolazione dell'espressione dei geni, all'origine, allo sviluppo e al trattamento di molte malattie, e sono attualmente in corso ricerche sulla realizzazione biotecnologica di bestiame transgenico di interesse agro-alimentare e sulla produzione di importanti farmaci. Quale primo elemento per una valutazione etica dei vantaggi e dei benefici arrecati dallo sviluppo e dall'applicazione della tecnologia transgenica, considereremo ora, in breve, alcuni dei più significativi risultati finora ottenuti o ragionevolmente prospettati.

1. La creazione di modelli animali per lo studio *in vivo* di malattie umane rappresenta una tra le più importanti e promettenti applicazioni della tecnologia transgenica. Le tecniche disponibili consentono di realizzare appositi modelli di animali transgenici per analizzare i meccanismi molecolari che sono alla base di determinate patologie, per individuare eventuali agenti in grado di revocare la malattia fin dai suoi primi sintomi, di rallentarne il progresso o di attenuarne il decorso. Numerosi modelli di malattie umane in animali transgenici sono stati creati, studiati e continuano ad essere sperimentati da diversi gruppi di ricerca genetica e biomedica. L'*équipe* del prof. Rudolf Jaenisch del Whitehead Institute for Biomedical Research di Cambridge (USA), per esempio, ha realizzato dei modelli di topi transgenici per una forma letale della ma-

lattia ereditaria umana « osteogenesi imperfetta » (*osteogenesis imperfecta*) — un'anomalia congenita dello scheletro che si manifesta con fratture multiple, associate a otosclerosi con sordità e a patologie cardiovascolari —, per la sclerosi glomerulare (una forma di glomerulonefrite focale), oltre a diversi altri modelli con mutazione genica mirata (*gene-targeting*) come, per esempio, dei topi transgenici ottenuti per mutagenesi inserzionale del gene che regola la sintesi della microglobulina- $\beta 2$, proteina necessaria al trasporto e all'espressione degli antigeni di istocompatibilità (MHC) sulla membrana di molte cellule, con conseguente perdita, in questi topi transgenici, degli antigeni MHC e delle cellule T citotossiche, la cui funzione è quella di riconoscere le cellule estranee (allogenetiche) e di indurre la risposta immunitaria (12); mancando le cellule T citotossiche, essi potrebbero fungere da riceventi universali e servire da modello per gli esperimenti e i problemi di rigetto connessi ai trapianti d'organo.

Recentemente, per citare ulteriori esempi, sono stati realizzati dei modelli di topi transgenici per lo studio dell'anemia falciforme, malattia ereditaria caratterizzata dalla presenza di eritrociti a forma di falce (drepanociti), e per quello della fibrosi cistica, malattia ereditaria delle ghiandole a secrezione mucosa, caratterizzata da abbondante produzione di muco viscoso (mucoviscidosi), con ostruzione e dilatazione delle ghiandole (13). I topi transgenici per l'anemia falciforme sintetizzavano emoglobina umana da cellule falciformi e presentavano gli stessi segni di malattia trovati nell'uomo; i topi transgenici per la fibrosi cistica producevano nel loro latte la molecola CFRT (*cystis fibrosis transmembrane conductance regulator*), ossia la proteina sintetizzata dal gene anomalo, e manifestavano molti dei sintomi caratteristici della malattia. Diversi modelli di animali transgenici infine — non solo topi, ma anche ratti, conigli, maiali e pecore —, sono da tempo utilizzati per lo studio dell'AIDS e delle patologie correlate, dell'ipertensione, dell'ipercolesterolemia,

(12) Cfr. A. STACEY, J. BATEMAN, R. JAENISCH et al., *Perinatal lethal osteogenesis imperfecta in transgenic mice bearing an engineered mutant pro- α (I) collagen gene*, in « Nature », 332, 1988, pp. 131-136; H. WEIHER, T. NODA, R. JAENISCH et al., *Transgenic mouse model of kidney disease: insertional inactivation of ubiquitously expressed gene leads to nephrotic syndrome*, in « Cell », 62, 1990, pp. 425-434; M. ZIJLSTRA, M. BIX, R. JAENISCH, *$\beta 2$ -Microglobulin deficient mice lack CD4-8- cytolytic T cells*, in « Nature », 344, 1990, pp. 742-746.

(13) Cfr. T.M. RYAN, T.M. TOWNES et al., *Human sickle hemoglobin in transgenic mice*, in « Science », 247, 1990, pp. 566-568; P. DI TULLIO, S.H. CHENG et al., *Production of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the milk of transgenic mice*, in « Bio/Technology », 10, 1992, pp. 74-78; M. BARINAGA, *Knockout mice offer first animal model for CF*, in « Science », 257, 1992, pp. 1046 s.

dei disturbi della crescita, della sindrome di Down e del diabete (14). La produzione di animali transgenici di dimensioni superiori al topo è particolarmente importante per lo studio di determinati processi fisiologici, come, per esempio, le funzioni cardiocircolatorie, respiratorie e renali.

2. Un altro importante ambito di sviluppo e applicazione della tecnologia transgenica è la **ricerca oncologica**, ossia, lo studio dei meccanismi genetici e molecolari che sono alla base del cancro. Da tempo la ricerca oncologica è riuscita a identificare due categorie di geni la cui anomalia funzionale provoca la comparsa di elementi cellulari neoplastici e la proliferazione metastatica incontrollata, ossia l'invasione di tutto l'organismo da parte delle cellule neoplastiche (metastasi): gli « oncogeni », implicati nella regolazione della crescita e del differenziamento cellulari, e gli « anti-oncogeni », o geni soppressori, con azione antitumorale, inibente la proliferazione incontrollata. Entrambe queste categorie di geni furono identificati nell'ambito della ricerca su alcuni virus che provocano tumori in numerosi vertebrati (virus tumorali) e che posseggono uno o più loci genetici, detti oncogeni, diretti e unici responsabili della trasformazione neoplastica della cellula ospite (15). Fin dai primi anni '80, con le tecniche dell'ingegneria genetica, numerosi oncogeni attivi sono stati isolati da certi tumori dell'uomo e di altre specie biologiche .

Il prof. Philip Leder della Harvard Medical School di Boston (USA) viene considerato un pioniere nell'ideazione di **topi transgenici oncogenetici**, denominati « oncotopi » (*oncomice*), ossia dei topi che hanno integrato nel loro genoma degli oncogeni attivati, per lo studio dei fattori ambientali, tossicologici e genetici che influenzano lo sviluppo dei tumori. Il famoso « topo di Harvard », divenuto celebre per tutti i problemi etico-giuridici sollevati in seguito alla richiesta di tutela brevettuale, è un modello di topo transgenico oncogenetico realizzato nel 1984 da Leder, microiniettando in ovociti fecondati di topo una sequenza onco-

(14) Cfr. C. LOCARDI, P. SESTILI, P. PUDDU et al., *Modelli murini per lo studio dell'AIDS*, in « Biotec », 2, 1993, pp. 18-21; M.J. LEONARD, J.W. ABRAMCZUK et al., *Development of disease and virus recovery in transgenic mice containing HIV proviral DNA*, in « Science », 242, 1988, pp. 1665-1670; J.J. MULLINS, J. PETERS and D. GANTENT, *Fulminant hypertension in transgenic rats harboring the mouse Ren-2 gene*, in « Nature », 344, 1990, pp. 541-544; S.L. HOFFMAN, D.W. RUSSEL et al., *Overexpression of low density lipoprotein (LDL) receptor eliminates LDL from plasma in transgenic mice*, in « Science », 239, 1988, pp. 1277-1281; E. BORELLI, R.A. HEYMAN et al., *Transgenic mice with inducible dwarfism*, in « Nature », 339, 1989, pp. 538-541.

(15) Cfr. J.D. WATSON, N.H. HOPKINS, J.W. ROBERTS et al., *op. cit.*, pp. 1106-1164; B. ALBERTS, J.D. WATSON et al., *op. cit.*, pp. 602-609.

genetica « overespressa », ossia il gene *c-myc* (gene che produce tumori delle cellule mieloidi [mielocitomi]), sotto il controllo di una sequenza genica regolativa (promotore) derivata dal virus del tumore mammario murino (*mouse mammary tumor virus*, MMTV). Questo gene è implicato nello sviluppo del linfoma di Burkitt, un tumore maligno che colpisce di solito i bambini, sviluppandosi soprattutto nelle ossa mascellari e mandibolari. L'oncogene *c-myc*, attivato dall'aggiunta della sequenza regolativa MMTV, è in grado di esprimersi nell'epitelio mammario, consentendo, in tal modo, di studiare il meccanismo che sta alla base della trasformazione cellulare neoplastica (16). Poiché il topo oncogenetico realizzato da Leder si presta come modello per lo studio dello sviluppo dei tumori nelle cellule, l'Università di Harvard, al fine di garantire un certo rendimento degli investimenti finanziari stanziati per quel tipo di ricerca, fece formale richiesta di una sua tutela brevettuale, ottenendo la concessione del brevetto nel 1986 dall'« Ufficio Brevetti e Marchi » (*Patent and Trademark Office*) di Washington e nel 1991 dall'Ufficio Brevetti Europeo (*European Patent Office*, EPO) di Bruxelles, dopo un complesso e controverso iter giuridico (17).

Il ruolo e la funzione di molti altri oncogeni implicati nello sviluppo di vari tipi di tumori sono attualmente oggetto di studio e sperimentazione in diversi modelli di animali transgenici. Sono stati realizzati topi transgenici per almeno una trentina di oncogeni che regolano la sintesi delle principali categorie di fattori responsabili della trasformazione neoplastica della cellula ospite: fattori di crescita che regolano la proliferazione cellulare (fattore di crescita trasformante, *TGF- α* ; interleukina 2, *Int-2*); fattori di necrosi tumorale (recettori citochinici); fattori di trasformazione (geni trasformanti della famiglia *ras*); fattori di trascrizione; ecc. (18). Modelli di animali transgenici di questo tipo sono utilizzati anche per lo studio e la ricerca di carcinogeni chimici e sostanze tossiche. Tali ricerche stanno considerevolmente incrementando le nostre conoscenze sugli effetti provocati da singoli oncogeni sui meccanismi di trasformazione neoplastica e di proliferazione metastatica.

(16) Cfr. T.A. STEWART, P.K. PATTENGAL and P. LEDER, *Spontaneous mammary adenocarcinomas in transgenic mice that carry and express MTV/myc fusion genes*, in « Cell », 38, 1984, pp. 627-637.

(17) Cfr. R. HUBBARD and S. KRIMSKY, *The patented mouse*, in « Genewatch », 1, 1988, pp. 6 s.; G. CASSANI (a cura di), *Il brevetto europeo dei topi transgenici: un problema morale? e Animali transgenici*, in « Biotec », 5, 1991, pp. 62 s. e 3, 1992, pp. 55 s.

(18) Cfr. J.M. ADAMS and S. CORY, *Transgenic models of tumor development*, in « Science », 254, 1991, pp. 1161-1166.

3. Significativi risultati sono stati recentemente ottenuti nella **produzione di importanti farmaci nel latte di bestiame transgenico** (pecore, capre, maiali, vacche, ecc.). Il ricorso alla tecnologia transgenica in quest'ambito si prospetta estremamente vantaggioso e potrebbe consentire la produzione su larga scala di proteine umane di interesse farmaceutico, quali, ad esempio, alcuni fattori di coagulazione necessari per il trattamento dell'emofilia, l'eritropoietina (proteina implicata nella formazione degli eritrociti), utilizzata nella terapia dell'AIDS e di certe forme di cancro che provocano soppressione di midollo osseo, e l'alfa-1 antitripsina (AAT), la cui carenza è, in alcuni casi, tra le cause dell'enfisema e di altre malattie polmonari degenerative. Abitualmente tali proteine vengono purificate da prelievi di tessuti o liquidi umorali umani oppure prodotte dall'industria biotecnologica tramite fermentazione di batteri geneticamente manipolati, con costi, per dose terapeutica, piuttosto elevati. Secondo stime teoriche, invece, una decina di pecore transgeniche sarebbe sufficiente a coprire il fabbisogno mondiale di tali proteine.

La ghiandola mammaria si presta molto bene quale sistema transgenico per lo studio dei meccanismi di espressione dei geni che regolano la sintesi e, quindi, la produzione di proteine di interesse farmaceutico, offrendo una potenza produttiva estremamente elevata e a bassi costi operativi. Il latte degli animali di allevamento, infatti, contiene decine di grammi per litro di diverse proteine e la ghiandola mammaria può funzionare come un « bioreattore » altamente produttivo. I transgeni di interesse farmaceutico possono venir incorporati nel genoma delle cellule della ghiandola mammaria muniti delle sequenze regolative dei geni che codificano le proteine acide del siero, come, per esempio, la β -caseina e la β -lattoglobulina. I risultati più promettenti in tale direzione, anche se il livello di produzione permane ancora variabile e generalmente basso, sono stati ultimamente ottenuti da diversi gruppi di ricerca (19). L'*équipe* del prof. Alan Colman, del Pharmaceutical Proteins Limited di Edimburgo (UK), è riuscita a realizzare cinque pecore transgeniche il cui

(19) Cfr. H. WESTPHAL, *Transgenic animals and biotechnology*, in « The FASEB journal » 3, 1989, pp. 117-120; J. DENMANN, K.M. EBERT, J.M. MCPHERSON et al., *Transgenic expression of a variant of human tissue-type plasminogen activator in goat milk: purification and characterization of the recombinant enzyme*, in « Bio/Technology », 9, 1991, pp. 839-843; G. WRIGHT, A. CARVER, A. COLMAN et al., *High level expression of active human alpha-1-antitrypsin in the milk of transgenic sheep*, in « Bio/Technology », 9, 1991, pp. 830-834; A.J. CLARK, H. BESSOS, H. BISHOP et al., *Expression of human anti-hemophilic factor IX in the milk of transgenic sheep*, in « Bio/Technology », 7, 1989, pp. 487-492; J.P. SIMONS, I. WILNUT et al., *Gene transfer into sheep*, in « Bio/Technology », 6, 1988, pp. 179-183; A.S. MOFFA, *art. cit.*, p. 36.

latte conteneva fino a 35 grammi per litro di alfa-1 antitripsina, con un'attività biologica essenzialmente identica a quella della proteina derivata dal plasma umano. Per ottenere tale risultato, sono state geneticamente trattate 549 cellule uovo fecondate artificialmente, di cui 439 furono impiantate nell'utero di 152 madri adottive. Qualora si potessero raggiungere alti e costanti livelli di produzione, basterebbe un gregge di dimensioni moderate per produrre diverse migliaia di chilogrammi di proteine in un solo ciclo di allattamento. Un'altra proteina umana molto utile per uso clinico, ma anche molto costosa, la proteasi t-PA (attivatore tissutale del plasminogeno) — proteina che viene liberata dalla presenza di trombi nei vasi sanguigni —, è stata recentemente prodotta, con procedimento analogo a quello appena descritto, nel latte di capre transgeniche realizzate dall'*équipe* del prof. John McPherson della Genzyme Corporation di Farmingham (USA). Su 29 nati da 36 embrioni geneticamente trattati, solo un maschio e una femmina contenevano il transgene, con un basso livello di produzione proteica (alcuni milligrammi per litro) e con alcune differenze strutturali rispetto alla proteasi prodotta nel sistema di colture di tessuti. Significativi risultati, infine, sono stati ottenuti e si prospettano nella produzione di vacche da latte transgeniche. La vacca da latte, in grado di produrre più di 10.000 litri di latte all'anno, rappresenta, infatti, il bioreattore animale ideale (20). Sulle vacche transgeniche sono attualmente in corso ricerche in diversi Paesi europei. Solo per citare qualche esempio, in Olanda l'*équipe* del prof. Herman de Boer ha ideato un procedimento per la realizzazione di vacche transgeniche per la lattoferina umana, una proteina che contiene ferro ed è dotata di attività antibatterica, e in Italia, presso la facoltà di Agraria dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza, il gruppo del prof. Vittorio Bottazzi, direttore dell'Istituto di Microbiologia, ha focalizzato due obiettivi di ricerca di particolare interesse dal punto di vista scientifico e applicativo: l'aumento della quota di gammaglobuline (proteina sierica con attività anticorpale) nel latte e la modificazione della composizione proteica, con particolare riguardo all'introduzione di proteine di interesse caseario provenienti da specie differenti, come, per esempio, l'alfa-caseina bufalina (21).

(20) K.G. HILL et al., *Production of transgenic cattle by microinjection*, in « Theriogenology », 37, 1992, p. 222; P. KRIMPENFORT et al., *Generation of transgenic dairy cattle using in vitro embryo production*, in « Bio/Technology », 9, 1991, pp. 844-847.

(21) L'aumento delle gammaglobuline nel latte può offrire interessanti applica-

3. Implicazioni etiche e giuridiche.

1. Lo sviluppo della tecnologia transgenica, come attestano gli esempi citati, è sicuramente destinato ad apportare considerevoli vantaggi e benefici alla ricerca biologica fondamentale, in campo medico-terapeutico e in diversi ambiti di utilità umana e sociale, a cominciare dal progresso delle conoscenze genetiche in generale (meccanismi che regolano l'espressione genica, attivazione degli oncogeni, ecc.) fino a tutte le possibili e prospettabili applicazioni di interesse farmaceutico, terapeutico e agro-alimentare. La determinazione dei vantaggi e dei benefici ottenibili grazie alla realizzazione degli animali transgenici, costituisce già un fondamentale elemento per una valutazione etica positiva. La **legittimazione etica** di questo tipo di ricerca, infatti, non risiede unicamente nella produzione e nel progresso del sapere, ma anche e soprattutto nella sua **destinazione a servizio del progresso umano e sociale**. I risultati finora ottenuti e quelli ragionevolmente prospettati, benché ancora circoscritti e, in alcuni casi, di incerta interpretazione, sono di rilevante portata etica, in quanto aprono la strada allo sviluppo di nuove terapie bio-mediche e a un incremento qualitativo delle potenzialità produttive degli animali da allevamento, con incontestabili vantaggi e benefici per l'umanità intera, dal miglioramento dell'alimentazione fino alla ricerca di efficaci soluzioni al problema della fame nel mondo. In relazione alle finalità perseguite, pertanto, non vi sono delle controindicazioni di natura etica allo sviluppo e all'utilizzo della tecnologia transgenica, nella misura in cui, tenuto conto dell'affidabilità degli strumenti di intervento tecnico e delle condizioni del protocollo sperimentale, gli obiettivi e i possibili vantaggi e benefici perseguibili siano stati previamente e criticamente considerati e valutati.

2. Anche la tecnologia transgenica, tuttavia — come altri settori della ricerca e sperimentazione genetica e bio-medica (progetto genoma,

zioni: oltre ai possibili risvolti sulla sanità delle mammelle e sul problema della mastite bovina (processo infiammatorio della ghiandola mammaria), e oltre alle applicazioni come fonte di immunoglobuline di interesse farmaceutico, essa influenza positivamente, accelerandoli, i fenomeni di affioramento della crema e di debatterizzazione del latte, processi chiave in alcune produzioni tipiche, quali quelle del Grana Padano e del Parmigiano Reggiano. La modifica della composizione proteica del latte consente, invece, di migliorarne le caratteristiche fisiche ed organolettiche, con notevoli vantaggi ai fini del consumo alimentare diretto e del suo impiego da parte dell'industria casearia.

terapia genica, tecnica dei marcatori genetici, ecc) (22) —, pur garantendo prospettive decisamente vantaggiose in vari ambiti di utilità umana e sociale, solleva **alcuni problemi e interrogativi** di diversa natura e valenza etica, in parte nuovi e inediti, che conviene, sia pure sommariamente, rilevare e precisare. Essi concernono, da un lato, le condizioni etiche dell'impiego degli animali transgenici quali modelli per la sperimentazione *in vivo* di determinate patologie, oppure quali « bioreattori » per la produzione di grandi quantità di proteine (*gene-farming*), dall'altro, le questioni etico-giuridiche relative alla richiesta e alla concessione del brevetto agli organismi geneticamente mutati, ottenuti con la tecnologia transgenica. Considereremo alcuni di tali problemi, quelli più dibattuti in sede di riflessione bioetica.

a) La realizzazione in laboratorio di animali transgenici è fondamentalmente motivata dall'esigenza scientifica di disporre di modelli sperimentali per la ricerca e l'osservazione *in vivo* dei meccanismi d'azione di determinate patologie a base genetica, per il progresso nella conoscenza e nel controllo di tali meccanismi e di altri (anche fisiologici), e per il conseguimento di possibili vantaggi derivanti dall'utilizzo di specifici sistemi o apparati biologici che funzionino, come abbiamo visto nel caso della ghiandola mammaria, quali « bioreattori » per la produzione di proteine di interesse farmaceutico e alimentare. Tale esigenza ha un indubbio valore etico in quanto non costituisce solo un elemento essenziale alla dinamica della ricerca scientifica, la quale deve poter sperimentare per progredire, ma è in prima istanza finalizzata alla produzione di conoscenze e procedure tecniche di manifesto interesse umano e sociale, quali, appunto, il progresso della ricerca terapeutica, con l'ideazione di nuove diagnosi e terapie bio-mediche, e lo sviluppo di biotecnologie altamente e qualitativamente produttive. In questa prospettiva, tuttavia, benché **le motivazioni e le finalità perseguite siano moralmente accettabili**, si impone anche il problema delle condizioni etiche dell'impiego degli animali transgenici quali cavie di laboratorio, ossia, più in generale, la **questione dei criteri etici della sperimentazione animale**; a cominciare dall'interrogativo di fondo se sia moralmente ammissibile realizzare deliberatamente, come avviene nel caso degli oncotopi, degli animali ammalati e necessariamente sofferenti, oppure — tradotto in al-

(22) Cfr. E. BROVEDANI, *Verso la terapia genica umana - Prospettive e implicazioni etiche*, in « Aggiornamenti Sociali », (settembre-ottobre) 1988, pp. 591-611, rubr. 340; ID., *Progetto genoma - Aspetti scientifico-tecnici, prospettive e implicazioni etiche*, *ibid.*, (luglio-agosto) 1989, pp. 487-507, rubr. 340; ID., *Nuovi test genetici - Prospettive e implicazioni etico-sociali*, *ibid.*, (settembre-ottobre) 1990, pp. 613-632, rubr. 340.

tri termini —, se la sofferenza e il danno arrecati agli animali possano venir legittimati, ma in quale misura e in base a quali ragioni, dall'esigenza di far progredire la ricerca genetica e bio-medica (23).

Senza entrare direttamente nel merito della controversa questione dei « diritti degli animali » (24), se gli animali, cioè, possano, o meno, venir considerati soggetti morali e giuridici, e se quindi abbia senso, e fino a che punto, attribuire ad essi dei diritti — questione che, pur essendo implicata, esula dai limiti del presente articolo — ci limitiamo a qualche breve osservazione, circoscritta all'ambito degli animali transgenici e concernente il quesito di fondo relativo ai possibili criteri etici del loro impiego in sede di sperimentazione genetica e bio-medica.

Il valore proprio della natura non umana, correttamente inteso — evitando, cioè, gli estremi di un antropocentrismo esclusivo o di un biocentrismo radicale —, esige, nell'interesse stesso dell'uomo e della medesima natura, un approccio agli esseri viventi rispettoso delle leggi e delle dinamiche caratteristiche del mondo vivente. Il rispetto dovuto all'integrità della biosfera, quale ambito di interazioni e relazioni essenziali tra gli organismi viventi, strutturalmente indispensabile all'esistenza e allo sviluppo della stessa specie umana, è eticamente rilevante e non consente alcun intervento arbitrario sulla struttura e sulla dinamica dei suoi elementi costitutivi. Il « **rispetto per la natura** », si afferma nell'enciclica *Sollicitudo rei socialis* di Giovanni Paolo II, è una « **dimensione etica** » dello sviluppo umano e sociale. Esso implica la « crescente consapevolezza che non si può fare impunemente uso delle diverse categorie di esseri, viventi o inanimati — animali, piante, elementi naturali — come si vuole, a seconda delle proprie esigenze economiche. Al contrario, occorre tener conto della natura di ciascun essere e della sua mutua connessione in un sistema ordinato, che è appunto il cosmo » (n. 34). Ne consegue che ogni intervento nell'organizzazione del vivente necessita

(23) Cfr. D. MARCER, R.A. BALK, B. FREEDMAN and M.-C. GOULET, *New creations?*, in « Hastings Center Report », 1, 1991, pp. 32-35.

(24) Per una breve sintesi sulla controversa questione dei diritti degli animali, cfr. S. CASTIGNONE, *La questione animale tra etica e diritto*, in C.A. VIANO (a cura di), *Teorie etiche contemporanee*, Bollati Boringhieri, Torino 1990, pp. 225-234; cfr. anche, Id. (a cura di), *I diritti degli animali*, Il Mulino, Bologna 1985; T. REGAN, *The case for animal rights*, University of California Press, Berkeley - Los Angeles 1985 (traduzione italiana, Garzanti, Milano 1990); G. PERICO, *Sperimentazione scientifica sugli animali*, in « Aggiornamenti Sociali », (gennaio) 1983, pp. 53-62, rubr. 102. Sui fondamenti filosofici del concetto di tutela e di rispetto delle varie forme dell'esistente (ambiente, animali, individui umani, ecc.), cfr. L. LOMBARDI VALLAURI (a cura di), *Il meritevole di tutela*, Giuffrè, Milano 1990.

di un'adeguata legittimazione etica che renda conto delle motivazioni, delle finalità perseguite e delle condizioni di realizzazione.

Gli **interventi sugli animali superiori**, in particolare, possono assumere rilevanza etica maggiore, soprattutto quando, in relazione a determinati interessi umani, essi producono effetti devastanti e distruttivi della loro costituzione e integrità fisico-biologica. La capacità di soffrire e di percepire il dolore non è una caratteristica esclusivamente umana, ma è condivisa anche da molti animali dotati di complessa organizzazione biologica e neurologica. Lo psichismo, infatti, è una facoltà presente, e diversamente operante, a vari gradi e livelli di sviluppo e organizzazione dell'apparato cerebrale degli organismi viventi lungo la scala zoologica. Nei mammiferi, in particolare, la capacità di soffrire e di sperimentare il dolore è ben sviluppata e provata. In base a tali considerazioni si può ritenere che il fondamentale principio etico che prescrive di non arrecare danno e sofferenza (*primum non nocere*) non sia di esclusiva pertinenza dell'uomo, ma possa venire esteso anche agli animali in grado di provare la sofferenza. La capacità di provare dolore, infatti, è molto rilevante sul piano etico e, in considerazione anche del valore proprio della natura non umana, dovrebbe tradursi nel **rispetto per la sofferenza animale**. Tale principio, tuttavia, ha valore assoluto solo nei confronti dell'uomo, perché solo l'uomo è « persona » (soggetto di autocoscienza, razionalità e libertà) e quindi portatore di diritti assoluti e inalienabili. Nei confronti degli animali, invece, in quanto non « soggetti-persona », il medesimo principio è applicabile solo analogicamente o in termini relativi (non assoluti); esso non esclude, pertanto, l'**inflizione di sofferenza**, e neppure l'**uccisione** stessa, **se vi sono motivi razionali e proporzionati**, riconducibili alle necessità di esistenza e di sviluppo dell'uomo, motivi quindi obiettivamente e razionalmente fondati. Ciò premesso, l'infusione di sofferenza (da ridurre al minimo nella linea del doveroso « rispetto della sofferenza animale » e del principio di « proporzionalità »), e anche la stessa uccisione, se finalizzate ad un uso razionale (alimentazione, ricerca biomedica, ecc.), sono da ritenersi eticamente legittimate; se invece sono connesse a un uso scarsamente razionale, sproporzionato, o addirittura del tutto irrazionale, esse sono eticamente illecite.

L'assunzione del fondamentale principio etico *primum non nocere* in sede di sperimentazione animale dovrebbe consentire di **delineare alcune condizioni etiche del protocollo sperimentale**. Nel caso specifico degli animali transgenici, e in relazione alla peculiarità dell'ambito di ricerca (biomedica o agro-alimentare) potrebbero essere osservate, perlomeno, le seguenti precauzioni e raccomandazioni etiche: 1) sottoporre a

valutazione critica le motivazioni e gli obiettivi della sperimentazione, il concetto stesso di « indispensabilità » dell'impiego o della realizzazione di animali transgenici ai fini della produzione di risultati di utilità umana e sociale, l'effettiva efficacia della procedura predisposta, rispetto a eventuali metodi alternativi eseguibili su colture cellulari *in vitro*, e infine i possibili e prevedibili effetti secondari e/o indesiderati; 2) la determinazione dei vantaggi e dei benefici dovrebbe includere anche la valutazione di una soglia o limite di tollerabilità della sofferenza animale, ossia del grado di proporzionalità tra i benefici previsti (soprattutto se incerti) e i danni inferti; 3) in ragione del rispetto dovuto alla sofferenza animale, l'uso della tecnologia transgenica, o l'impiego di animali transgenici, dovrebbe essere regolamentato in relazione al progressivo ottenimento di risultati certi, evitando ogni tipo di ricerca e sperimentazione preoccupata solo della sua crescita interna, e ignara dei propri scopi.

b) Un altro aspetto problematico implicato nello sviluppo della tecnologia transgenica riguarda la **concessione del brevetto ai modelli di animali transgenici** ottenuti attraverso tali procedimenti tecnici. Nel 1986 l'Università di Harvard ottenne dall'« Ufficio Brevetti e Marchi » (*Patent and Trademark Office*) di Washington la concessione del brevetto sul modello di topo oncogenetico realizzato da Leder, e nel 1991 anche dall'Ufficio Brevetti Europeo (*European Patent Office*, EPO). La richiesta e la successiva concessione del brevetto, dopo un lungo e complesso iter giuridico-procedurale, hanno riattivato la polemica, già in atto da qualche anno, sull'ammissibilità etica di estendere la tutela brevettuale agli organismi viventi. La tutela brevettuale, infatti, attribuendo all'inventore il monopolio di sfruttamento dell'invenzione brevettata, gli garantisce l'esclusività dei diritti di sfruttamento dei risultati industrialmente apprezzabili. Richiameremo brevemente gli estremi di tale controversia problematica, sottolineando alcuni aspetti etico-giuridici implicati, limitatamente all'estensione della protezione giuridica agli animali transgenici. (25)

L'applicazione della normativa brevettuale all'ambito biotecnologi-

(25) Sui diversi aspetti della questione dell'estensione della tutela brevettuale agli organismi viventi, cfr. J.H. BARTON, *Brevettare la vita*, in « Le Scienze », n. 273, maggio 1991, pp. 14-21; G. TREVISAN, *Brevettare il futuro*, in « Sapere », maggio 1991, pp. 49-56; B. EDELMAN, *Le droit et le vivant*, in « La Recherche », n. 212, juillet-août 1989, pp. 966-976; OFFICE OF TECHNOLOGY ASSESSMENT, *New development in biotechnology - Patenting life*, Washington D.C., April 1989; COMMISSIONE NAZIONALE SVIZZERA JUSTITIA ET PAX, *Tecnologia genetica - Una valutazione etica*, Berna 1992, pp. 79-84; E. BROVEDANI, *Il brevetto di organismi viventi ottenuti con l'ingegneria genetica - Aspetti scientifici, giuridici ed etici*, in « Aggiornamenti Sociali », (aprile) 1988, pp. 245-257, rubr. 340.

co, pur tenendo conto di tutti gli incentivi e i possibili vantaggi per lo sviluppo industriale, solleva una serie di **problematiche etico-filosofiche ed etico-giuridiche inedite**. Il travaglio giuridico che ha accompagnato l'evoluzione della normativa brevettuale nel settore dell'industria biotecnologica, dal *Plant Patent Act* del 1930 (USA) all'*accordo per l'armonizzazione del diritto sui brevetti*, raggiunto nel 1991 a L'Aia in seno al GATT (*General Agreement on Tariffs and Trade*), è abbastanza indicativo in proposito. L'*accordo* raggiunto a L'Aia, per esempio, non si limita alla protezione giuridica dei procedimenti, ma parla esplicitamente di « organismi brevettati » o di « esseri viventi brevettati », accogliendo, in tal modo, il principio dell'estensione della normativa brevettuale agli organismi viventi, sancito dalla Corte Suprema Federale degli Stati Uniti il 16 giugno 1980, relativamente ai microrganismi geneticamente manipolati (« caso Chakrabarty »), e il 3 aprile 1987, relativamente agli organismi pluricellulari, purché non esistenti in natura. In base a tale principio, il criterio giuridico discriminante tra ciò che è brevettabile e ciò che non è brevettabile non va ravvisato nella frontiera tra vivente e non vivente, ma tra quanto esiste in natura e quanto è inventato dall'uomo, sia esso vivente o non vivente. In altri termini, la protezione giuridica, che in base alla normativa brevettuale tradizionale veniva garantita a un procedimento, viene estesa anche ai prodotti ottenuti dal procedimento stesso. Ne consegue un diritto sul prodotto brevettato e, quindi, nel caso delle biotecnologie, sugli stessi organismi viventi brevettati.

Relativamente al quesito circa l'ammissibilità etica della brevettazione degli organismi viventi, bisogna distinguere tra la **protezione giuridica della « tecnologia genetica »** utilizzata e « inventata », e il diritto sul prodotto brevettato, ossia, nell'ambito specifico degli animali transgenici, sull'essere vivente ottenuto mediante il procedimento brevettato. Se la tutela brevettuale concerne unicamente il procedimento, ai fini di garantire, secondo lo spirito della normativa brevettuale, un certo rendimento degli investimenti finanziari e un incentivo all'innovazione, **non sembra che sussistano delle controindicazioni d'ordine etico**; si pone peraltro l'esigenza di valutare le possibili conseguenze e ricadute sociali, quali, ad esempio, un'eccessiva « sponsorizzazione » della ricerca da parte dell'industria privata a discapito delle istituzioni universitarie e a discredito della libertà della ricerca scientifica, con il rischio che quest'ultima risulti sempre più asservita all'utilità economica e condizionata dalle pressioni del profitto. L'eventualità di tali rischi andrebbe attentamente vagliata al fine di una adeguata regolamentazione giuridica degli ambiti e delle condizioni della tutela brevettuale degli animali transgenici.

Qualora invece la **tutela brevettuale** si estendesse anche **ad ogni organismo vivente mutato geneticamente**, come sembrano indicare alcuni articoli del citato *accordo internazionale de L'Aia* del 1991, la questione dell'ammissibilità etica, in linea di principio, di tale brevettazione (e più in generale, della brevettazione di qualunque altro organismo vivente) diviene più **problematica e controversa**. In questo caso ci troviamo di fronte a un « diritto sul prodotto brevettato », prodotto che è un organismo vivente, e tale diritto, in base alla normativa brevettuale vigente, comporterebbe possesso ed esclusività dei diritti di sfruttamento, sebbene limitati nel tempo, a seconda delle diverse legislazioni nazionali, plurinazionali e internazionali. La problematicità etica di questa estensione della tutela brevettuale dipende dal fatto che la caratteristica essenziale degli organismi viventi è la loro capacità di riprodursi. Ora, questa capacità non è il risultato di una « attività inventiva » e viene pertanto meno una condizione essenziale della normativa brevettuale. Non si vede come una procedura che induce una mutazione genetica implichi un diritto di proprietà sull'intero organismo e sulla sua discendenza, ammesso che gli animali transgenici siano in grado di riprodursi autonomamente. Quale criterio di valutazione etica potrebbe essere evocato il principio, già enunciato nel 1983 dalla FAO, che le risorse genetiche sono un' eredità comune dell'umanità e, quindi, liberamente accessibili a tutti, in quanto costituiscono un « bene pubblico ». In base a tale principio il brevetto di organismi viventi geneticamente mutati, nella forma dell'esclusività dei diritti di sfruttamento, risulterebbe eticamente inammissibile, almeno per quelle specie biologiche o frequenze geniche ritenute, in base alle conoscenze attuali, indispensabili al mantenimento della biodiversità, quale fattore essenziale all' equilibrio ecologico o all' integrità della biosfera.

La tutela brevettuale, pertanto, dovrebbe concernere prevalentemente la protezione giuridica della « tecnologia genetica », nel quadro di una adeguata regolamentazione giuridica, oppure, qualora venisse estesa solo ad alcuni organismi transgenici di laboratorio, dovrebbero essere adottate delle **forme di protezione giuridica meno esclusive**, che garantiscano il libero scambio delle informazioni e innovazioni scientifiche, e non consentano, per esempio, a un' industria farmaceutica di trarre profitti sproporzionati da animali transgenici di interesse scientifico, fisiologico o terapeutico, a discapito non solo della funzione sociale di ogni proprietà, ivi compresa quella intellettuale, ma dello stesso progresso scientifico.