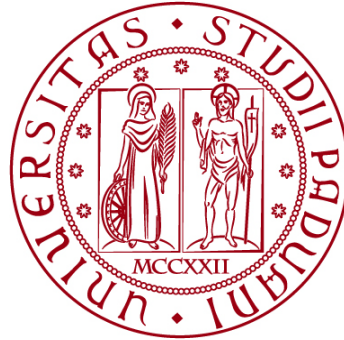


**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA**

**Corso di Laurea in Biotecnologie**



**ELABORATO DI LAUREA**

**ANALISI BIOETICA E REGOLAMENTAZIONE  
DELL'EDITING DELLA LINEA GERMINALE  
UMANA**

Tutor: Prof. Dietelmo Pievani

Dipartimento di Biologia

Laureanda: Carlotta Leonardi

**ANNO ACCADEMICO 2022/2023**



## **INDICE**

<b>Abstract</b> .....	
<b>Introduzione</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Fondamenti scientifici dell'editing genomico</b> .....	<b>2</b>
1.1 Tecniche di editing genomico .....	2
1.2 Applicazioni e potenziali benefici.....	5
1.3 Limitazioni tecniche e rischi .....	8
<b>2. Analisi bioetica dell'editing della linea germinale umana</b> .....	<b>10</b>
2.1 Principi bioetici.....	10
2.2 Implicazioni etiche e morali.....	11
<b>3. Regolamentazione dell'editing della linea germinale umana</b> .....	<b>14</b>
3.1 Normative vigenti .....	14
3.2 Governance internazionale .....	18
<b>Conclusione</b> .....	<b>20</b>
<b>Bibliografia</b> .....	



## **ABSTRACT**

L'editing genomico consente di effettuare modifiche sito-specifiche a livello del genoma, aprendo le porte a innumerevoli ricerche per sfruttare il suo ampio potenziale in ambito medico e biotecnologico. Questa tecnica innovativa offre notevoli benefici ma è soggetta a limitazioni che comportano dei rischi significativi. Tra le sue diverse applicazioni, l'editing genomico è impiegato anche nella ricerca di base sulla linea germinale umana, coinvolgendo la manipolazione del genoma di embrioni umani. Questo ambito solleva complesse questioni etiche e morali, suscitando opinioni divergenti. La stesura della tesi è derivata dalla ricerca, l'analisi e la rielaborazione di pubblicazioni scientifiche. L'elaborato presenta un'analisi delle implicazioni bioetiche riguardanti l'editing della linea germinale umana ed effettua considerazioni sulle modalità per contemperare i principi etici coinvolti. Successivamente vengono esposte ed approfondite le normative vigenti a livello nazionale ed internazionale, evidenziando l'assenza di una regolamentazione adeguata alla gestione di questa tecnologia in modo appropriato. Infine, si sottolinea la necessità di una forma di governance internazionale al fine di massimizzare i benefici terapeutici e mitigare i rischi e le criticità etiche e morali.



## **INTRODUZIONE**

L'editing genomico è una modalità di ingegneria genetica che offre la possibilità di apportare modifiche sito-specifiche ai genomi di cellule e organismi. Tra le tecnologie di editing genomico di ultima generazione, quella con il maggiore potenziale è sicuramente la tecnica basata sull'endonucleasi Cas9, derivata dal sistema immunitario adattivo CRISPR.

La facilità di targeting di Cas9 e la sua elevata efficienza come nucleasi sito-specifica hanno aperto la strada a un vasto spettro di applicazioni biologiche, che spaziano dalla ricerca di base, alle biotecnologie e alla medicina. L'editing genomico offre la possibilità di correggere le mutazioni nella linea germinale, introducendo modifiche genetiche trasmissibili alle generazioni future. Pertanto, questa tecnologia potrebbe essere utilizzata come terapia per malattie genetiche umane.

Tuttavia, l'editing genomico eseguito tramite CRISPR/Cas9 presenta diverse limitazioni tecniche, tra cui il mosaicismo genetico, le mutazioni off-target e le alterazioni cromosomiche. Le potenziali applicazioni dell'editing del genoma sugli embrioni umani richiedono un'analisi approfondita delle implicazioni etiche, sociali e legali di queste tecniche e della loro implementazione nella società.

La presente tesi si propone di esaminare le potenzialità e le implicazioni bioetiche dell'editing della linea germinale umana. Successivamente sarà condotta un'analisi delle normative vigenti a livello globale, seguita da una valutazione della fattibilità di una governance internazionale per questa tecnologia.

Il capitolo iniziale si apre con una breve esposizione delle tecnologie di editing genomico, per poi individuare le principali applicazioni e potenzialità di questa tecnologia, concludendo con un'analisi delle limitazioni tecniche e dei rischi associati.

Il secondo capitolo fornisce una prospettiva sui principi bioetici coinvolti e sulle preoccupazioni etiche associate alle potenziali modifiche ereditarie umane, le quali sono state oggetto di lunghe discussioni. Sarà illustrato come l'editing della linea germinale abbia sollevato importanti interrogativi in merito all'orientamento futuro della scienza e alle questioni sociali ed etiche correlate, inclusa la necessità di definire una risposta professionale e sociale adeguata.

Il terzo capitolo mostra una panoramica globale della regolamentazione dell'editing genetico ereditario, presentando sia sistemi normativi restrittivi che regolamenti più permissivi. In conclusione, si evidenzia l'importanza di una governance internazionale che favorisca l'armonizzazione delle diverse posizioni nazionali e garantisca il coordinamento internazionale dei sistemi normativi.

# 1. FONDAMENTI SCIENTIFICI DELL'EDITING GENOMICO

## 1.1 Tecniche di editing genomico

L'ingegneria genetica è una branca delle biotecnologie che comprende un insieme di tecniche per la manipolazione del genoma, dell'epigenoma e del trascrittoma. Tra queste, è di particolare importanza la tecnologia del DNA ricombinante, la quale ha rivoluzionato la ricerca in ambito biologico, medico e biotecnologico, consentendo la manipolazione delle sequenze di DNA direttamente all'interno degli organismi viventi. Il gene targeting mediante ricombinazione omologa (HR) è una tecnica che permette l'integrazione di modelli di riparazione esogeni che presentano un'omologia di sequenza con il sito bersaglio. Questa tecnologia ha rappresentato un progresso nella manipolazione del genoma, agevolando la generazione di modelli animali knockin e knockout attraverso la manipolazione di cellule staminali germinali. Tuttavia, nonostante la precisione delle modifiche apportate dal gene targeting tramite HR, gli eventi di ricombinazione corretti si verificano con bassa frequenza (1 su  $10^6$ - $10^9$  cellule), limitando l'applicabilità di questa tecnica per studi di larga scala. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

L'editing genomico rappresenta una modalità di ingegneria genetica che consente di effettuare modifiche sito-specifiche ai genomi di cellule e organismi. Tale manipolazione del genoma è innescata dal processo di riparazione delle rotture a doppio filamento (DSB), che può avvenire attraverso eventi di ricombinazione mediati da HR in presenza di un modello di riparazione esogeno. In alternativa, può verificarsi attraverso la via di giunzione delle estremità non omologhe (NHEJ) in assenza di un modello di riparazione, portando all'introduzione di inserzioni o delezioni (indels). Per effettuare l'editing genomico mediante l'induzione di DSB sito-specifici nel DNA, sono state sviluppate quattro classi di proteine leganti il DNA: le meganucleasi, le nucleasi zinc finger (ZF), gli effettori simili ad attivatori della trascrizione (TALE) e, più recentemente, l'endonucleasi Cas9. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

Le meganucleasi e le proteine ZF e TALE riconoscono sequenze specifiche di DNA tramite interazioni proteina-DNA. Le meganucleasi possiedono un unico tipo di dominio, che funge sia da dominio nucleasico che da dominio di riconoscimento del DNA. Le proteine ZF e TALE sono costituite da moduli che riconoscono rispettivamente 3 o 1 nucleotide. Queste proteine possono essere assemblate in combinazione e fuse al dominio nucleasico dell'enzima di restrizione FokI per generare nucleasi sito-specifiche programmabili. Tuttavia, tali strumenti presentano limitazioni che ne limitano l'efficacia nelle applicazioni su larga scala. I domini delle meganucleasi non mostrano una netta distinzione tra i residui nucleasici e i residui di riconoscimento del DNA. D'altra parte, i domini ZF hanno una



specificità di legame dipendente dal contesto, rendendo complessa la progettazione di proteine ZF con elevata specificità di legame alla sequenza di DNA bersaglio (o target). Infine, i monomeri TALE contengono numerose sequenze ripetute, rendendo la loro sintesi un processo difficile e costoso. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

Tra le tecnologie di editing genomico di ultima generazione, quella con il maggior potenziale è senza dubbio la tecnica basata sull'endonucleasi Cas9, derivata dal sistema immunitario adattivo microbico CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats), scoperto in *Streptococcus pyogenes*. La nucleasi Cas9 viene indirizzata alla sequenza di DNA d'interesse tramite un breve RNA guida che si appaia al DNA target. Questa tecnologia ha avuto origine da studi di ricerca di base volti a comprendere la funzione del sistema CRISPR, presente in batteri e archea. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

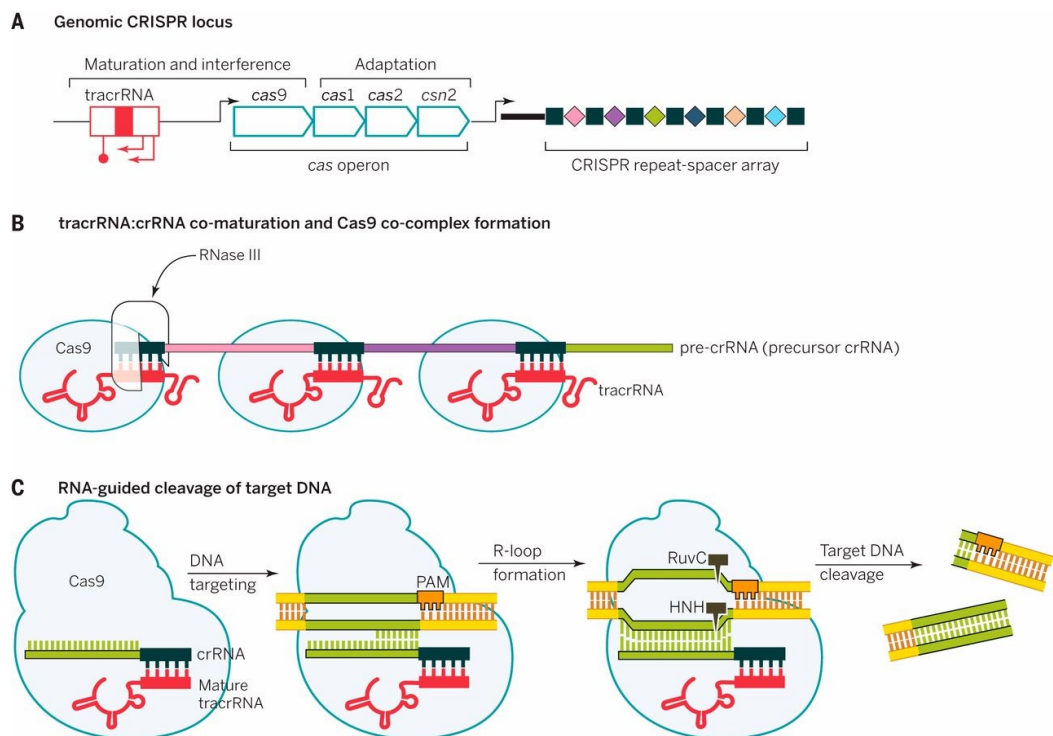
I loci CRISPR-Cas sono composti da un operone Cas e da un array CRISPR, formato da una serie di sequenze ripetute identiche (ripetizioni dirette) intervallate da sequenze variabili (spacer) corrispondenti a sequenze all'interno di elementi genetici estranei (protospacer). I geni Cas, situati nell'operone cas, vengono trascritti e tradotti in proteine. D'altra parte, gli array CRISPR vengono trascritti in un singolo RNA, il quale viene processato in diversi CRISPR RNA (crRNA) che guidano l'attività di Cas. A monte del locus CRISPR viene codificato il tracrRNA, essenziale per la maturazione dei crRNA. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

L'immunità adattativa mediata dal sistema CRISPR si svolge in tre fasi: (i) inserzione di una sequenza di DNA estraneo come sequenza spacer nell'array CRISPR; (ii) trascrizione del precursore dei crRNA (pre-crRNA) che viene processato in singoli crRNA, ognuno composto da una sequenza ripetuta e da una sequenza spacer; e (iii) taglio dell'acido nucleico estraneo da parte delle proteine Cas nei siti complementari alla sequenza spacer del crRNA. Esistono tre tipi di sistemi CRISPR-Cas. I sistemi di tipo I e III impiegano un ampio complesso di proteine Cas per il riconoscimento e il taglio del DNA. Invece, il sistema di tipo II richiede una sola proteina, rendendolo estremamente utile per l'editing genomico. (Doudna & Charpentier, 2014)

La proteina Cas9 è composta da due domini nucleasici: HNH e RuvC-like, responsabili del taglio a doppio filamento della sequenza d'interesse. È possibile ottenere una variante della proteina Cas9 con attività nucleasica a singolo filamento (nickasi) mediante la mutazione del dominio HNH o del dominio RuvC-like. In alternativa, effettuando una mutazione in entrambi i domini si può ottenere una proteina priva di attività nucleasica (dCas9), mantenendo al contempo la capacità di riconoscimento e legame al DNA bersaglio. Il riconoscimento del DNA target richiede sia l'appaiamento

delle basi con la sequenza del crRNA sia la presenza della sequenza PAM, localizzata in un sito adiacente alla sequenza d'interesse. (Doudna & Charpentier, 2014)

La proteina Cas9 utilizza il duplex tracrRNA:crRNA per guidare il taglio del DNA (Figura 1). Questo sistema è stato ingegnerizzato come un singolo RNA guida (sgRNA), mantenendo due caratteristiche cruciali: la sequenza di 20 nucleotidi all'estremità 5' del sgRNA (che determina l'accoppiamento con il DNA target) e la struttura a doppio filamento sul lato 3' del sgRNA (che determina il legame con Cas9). Il sistema CRISPR-Cas9 può essere indirizzato a qualsiasi sequenza di DNA d'interesse, purché adiacente a una sequenza PAM. La programmazione del complesso richiede una semplice modifica al sgRNA, a differenza di ZFN e TALEN, che necessitano di una progettazione più complessa. Questa facilità di programmazione ha reso la tecnologia CRISPR-Cas9 ampiamente adottata dalla comunità scientifica per indirizzare o modificare i genomi di una vasta gamma di cellule e organismi. (Doudna & Charpentier, 2014)



**Figura 1** Il sistema CRISPR-Cas di tipo II in *Streptococcus pyogenes*

(A) L'operone cas, il tracrRNA e l'array CRISPR.

(B) Il sistema CRISPR-Cas di tipo II prevede: l'associazione di Cas9 con il duplex tracrRNA:crRNA, il processamento dell'RNA da parte della ribonucleasi III e il taglio del DNA bersaglio.

(C) Taglio del DNA con il duplex tracrRNA:crRNA. (Doudna JA, 2014)

Più recentemente, sono stati sviluppati due nuovi approcci di editing genomico. Il "base editing" impiega una Cas9-nickasi fusa a un enzima di editing del DNA; questa proteina di fusione catalizza una modifica mirata

della sequenza genomica (ad esempio, da A a G o da C a T) senza provocare una rottura a doppio filamento nel DNA. Il "prime editing", invece, impiega una Cas9-nickasi fusa a una trascrittasi inversa. Tuttavia, queste strategie richiedono il trasporto di proteine chimeriche di grandi dimensioni, complicando la loro introduzione nelle cellule. (Doudna, 2020)

## **1.2 Applicazioni e potenziali benefici**

La facilità di targeting di Cas9 e la sua elevata efficienza come nucleasi sito-specifica hanno reso il sistema CRISPR applicabile su larga scala e hanno aperto la strada a una vasta gamma di applicazioni biologiche, che spaziano dalla ricerca di base, alle biotecnologie e alla medicina. La nucleasi Cas9 può essere convertita in nickasi o dCas9, tramite l'inattivazione di uno o entrambi i domini catalitici. Inoltre, i domini di legame al DNA possono essere legati a domini effettori funzionali (in alternativa ai domini nucleasici), ampliando notevolmente il repertorio di applicazioni di questo sistema. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

Il sistema CRISPR/Cas9 può essere utilizzato per manipolare il genoma di cellule e animali, ricreando mutazioni genetiche causative di malattie umane. In questo modo, è possibile sviluppare nuovi modelli cellulari o animali contenenti mutazioni specifiche. Per la generazione di modelli cellulari, Cas9 e l'sgRNA vengono introdotti nelle cellule tramite la trasfezione di plasmidi. Per la generazione di modelli animali transgenici, la proteina Cas9 e il trascritto sgRNA vengono iniettati negli zigoti fecondati, ottenendo una modifica genetica ereditabile. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

L'editing del genoma con Cas9 consente la manipolazione di più bersagli contemporaneamente, facilitando lo svolgimento di screening funzionali a livello genomico per identificare i geni coinvolti nella manifestazione di un fenotipo di interesse. È possibile introdurre mutazioni con perdita di funzione (loss-of-function) in esoni costitutivi, per eseguire uno screening genomico dei fenotipi di perdita di funzione. In alternativa, dCas9 può essere legata a diversi domini effettori per effettuare altri tipi di screening genomico. Ad esempio, dCas9 può essere fusa a modificatori epigenetici, detti epiCas9, i quali sono in grado di inserire o rimuovere modifiche epigenetiche in loci specifici. Questo sistema permette di studiare gli effetti della metilazione o della condensazione della cromatina sulla differenziazione cellulare o sulle patologie. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

Il sistema CRISPR/Cas9, inoltre, permette di modulare la trascrizione. Il legame di dCas9 ad elementi del DNA può inibire la trascrizione ostacolando stericamente l'RNA polimerasi. Questa interferenza basata su CRISPR, detta CRISPRi, può essere potenziata tramite la fusione di dCas9 a domini repressori trascrizionali. D'altra parte, il legame di dCas9 a domini attivatori trascrizionali stimola l'espressione genica. In alternativa, dCas9 può essere fusa a un tag fluorescente; le proteine Cas9 vengono indirizzate

verso loci specifici, consentendo un imaging in vivo del genoma cellulare. Questa tecnica permette lo studio dell'architettura cromosomica e dell'organizzazione strutturale del genoma. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

La regolazione inducibile dell'attività di Cas9 può essere ottenuta suddividendo la proteina in due unità e controllando il loro riassetto attraverso l'induzione mediante piccole molecole o segnali luminosi. L'induzione tramite piccole molecole potrebbe semplificare il controllo sistemico di Cas9 in pazienti o modelli animali, mentre l'induzione mediante segnali luminosi consente una manipolazione più precisa dal punto di vista spaziale. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

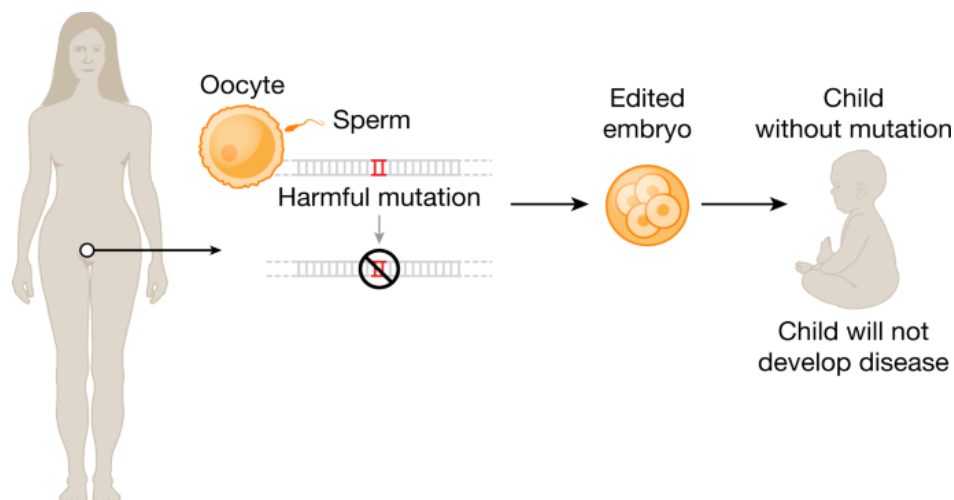
Nel corso degli anni, il sistema CRISPR/Cas ha trovato applicazione in diversi settori. In agricoltura, questa tecnologia viene impiegata per modificare i genomi delle piante, con l'obiettivo di migliorare le colture per aumentare la resa, migliorare il contenuto nutrizionale e creare piante resistenti ai parassiti o agli stress ambientali. Inoltre, il sistema CRISPR è stato utilizzato per manipolare i genomi degli animali, creando ceppi resistenti alle malattie. La straordinaria potenzialità e la facilità d'uso di CRISPR suggeriscono che l'editing genomico potrebbe essere impiegato come terapia per le malattie genetiche umane. Questo obiettivo può essere raggiunto in due modi: eliminando un gene wild-type che predispone a una malattia o a un'infezione, oppure sostituendo un gene mutato con quello wild-type. L'efficacia di tale approccio dipende dal numero di cellule somatiche che possono essere modificate; pertanto, è preferibile manipolare i gameti, lo zigote o l'embrione in una fase precoce al fine di ridurre significativamente il mosaicismo. (Piergentili, et al., 2021)

Il primo approccio, ossia l'eliminazione di un gene wild-type, potrebbe essere sfruttato per prevenire l'insorgenza di malattie non genetiche o complesse. Ad esempio, l'inattivazione del recettore CCR5 nei linfociti mediante la via di giunzione delle estremità non omologhe (NHEJ) potrebbe rappresentare una strategia efficace per impedire l'infezione da HIV. Il secondo approccio, invece, potrebbe essere impiegato per il trattamento di malattie genetiche ereditarie. Nel caso di malattie monogeniche recessive causate da mutazioni con perdita di funzione (come l'anemia falciforme), Cas9 potrebbe essere utilizzato per correggere la mutazione causale. Per le malattie dominanti negative in cui il gene mutato è aplosufficiente (come l'amiloidosi ereditaria da transtiretina), la strategia potrebbe prevedere l'utilizzo di NHEJ per inattivare l'allele mutato. Nel caso di malattie monogeniche causate da duplicazione di sequenze (come l'ataxia di Friedreich), Cas9 potrebbe essere impiegato per la delezione degli elementi duplicati. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

Inoltre, CRISPR potrebbe essere utilizzato per l'ingegnerizzazione di cellule terapeutiche, come le cellule T con recettore dell'antigene chimerico (CAR),

le quali possono essere modificate ex vivo e reinfuse in un paziente per mirare specificamente alcuni tipi di cancro. Questa tecnologia consente anche la rimozione di interi cromosomi dal genoma, suggerendo un possibile uso di CRISPR come strategia terapeutica per alcune malattie umane legate all'aneuploidia, come la sindrome di Down. Inoltre, CRISPR potrebbe essere impiegato per eradicare malattie di origine parassitaria, come la malaria, tramite il controllo dei loro vettori, come le zanzare. Ciò è reso possibile dalla tecnica "gene drive", che consente la trasmissione di uno o più geni specifici in una popolazione, alterando la probabilità di trasmissione attraverso le generazioni. (Piergentili, et al., 2021)

Tutte le terapie di editing genomico attualmente in fase di sviluppo sono orientate al trattamento dei pazienti mediante la modifica delle cellule somatiche. Queste terapie sono progettate per influenzare esclusivamente l'individuo che riceve il trattamento. Tuttavia, l'editing genomico offre la possibilità di correggere le mutazioni nella linea germinale, introducendo cambiamenti genetici trasmissibili alle generazioni future. L'editing della linea germinale umana può introdurre modifiche genetiche in ovuli, spermatozoi o embrioni; tale approccio si distingue dall'editing delle cellule somatiche poiché produce cambiamenti genetici ereditabili se le cellule sono utilizzate per avviare una gravidanza (Figura 2). L'editing del genoma germinale è ampiamente impiegato negli animali e nelle piante ed è oggetto di ricerca anche negli embrioni umani. (Doudna, 2020)



**Figura 2** Editing della linea germinale umana (Doudna, 2020)

Le prime ricerche sull'editing della linea germinale umana sono state condotte per valutare la capacità preclinica di CRISPR-Cas9 nell'apportare correzioni a sequenze patologiche negli embrioni umani. Questi studi si sono focalizzati sulla comprensione delle prestazioni di CRISPR-Cas9, valutando l'efficienza delle mutazioni, l'editing off-target, il tasso di mosaicismo e la compatibilità con il proseguimento dello sviluppo preimpianto. La maggior parte di tali ricerche ha sfruttato la riparazione del DNA diretta dall'omologia (HDR) per introdurre modifiche nel genoma;

molti studi hanno utilizzato embrioni triploidi non vitali per evitare questioni etiche. (Rebecca & Niakan, 2019)

È stata esaminata la prospettiva di adattare il sistema per eseguire una "terapia germinale di una generazione", mirando a prevenire la trasmissione delle modifiche alla generazione successiva. Questo approccio permetterebbe di trattare una condizione ereditaria nella linea somatica, preservando la linea germinale. (Piergentili, et al., 2021)

### **1.3 Limitazioni tecniche e rischi**

L'editing genomico tramite CRISPR/Cas9 presenta diverse limitazioni tecniche. Un importante limite evidenziato in studi su modelli animali transgenici generati attraverso l'iniezione zigotica di CRISPR è rappresentato dal mosaicismo genetico, il che implica che un numero variabile di cellule non presenterà la mutazione d'interesse. Solitamente, questi studi coinvolgono l'iniezione di mRNA di Cas9 negli zigoti, ovvero embrioni fecondati allo stadio di singola cellula. Tuttavia, poiché l'attività di trascrizione e traduzione è soppressa negli zigoti, la traduzione dell'mRNA di Cas9 è ritardata fino a dopo la prima divisione cellulare; questo ritardo contribuisce al mosaicismo genetico negli embrioni modificati con CRISPR. L'alto tasso di riparazione tramite NHEJ potrebbe inoltre contribuire al mosaicismo, generando indels che mutano il sito di riconoscimento di Cas9. (Hsu, Lander, & Zhang, 2014)

La possibilità che il mosaicismo possa compromettere un'accurata diagnosi genetica pre-impianto è motivo di preoccupazione. Attualmente, si teme che se il mosaicismo portasse a una rappresentazione erronea dei genotipi degli embrioni in ambito clinico, i risultati potrebbero variare notevolmente a seconda del livello di mosaicismo e della natura degli esiti di editing non identificati. È importante considerare che gli embrioni che sembrano correttamente modificati dal punto di vista genetico e selezionati per il trasferimento potrebbero comunque risultare in gravidanze non sane se la percentuale di cellule modificate è troppo bassa per migliorare i sintomi o se vi sono ampie delezioni o riarrangiamenti che potrebbero influenzare altri geni. (Rebecca & Niakan, 2019)

L'efficacia dell'introduzione delle mutazioni desiderate negli embrioni umani attraverso HDR è relativamente bassa, nonostante la presenza di un modello per la riparazione, poiché la via NHEJ prevale, portando alla formazione di mutazioni indel. Lo scarso successo dell'HDR potrebbe essere una conseguenza della mancanza di controllo sul momento in cui si verificano i DSB. Poiché, a seconda dell'approccio con cui viene effettuata la microiniezione (mRNA codificante Cas9 o proteina Cas9), potrebbe esserci un ritardo variabile tra l'iniezione, la trascrizione, la traduzione, la formazione di DSB e la degradazione della proteina Cas9. Questo processo potrebbe essere ulteriormente complicato dalla condensazione dei

cromatidi fratelli in preparazione alla mitosi, potenzialmente rendendo inaccessibile la sequenza bersaglio di Cas9, poiché è stato dimostrato che lo stato della cromatina influisce sull'attività di Cas9. Pertanto, risulta difficile determinare in quale fase del ciclo cellulare si formeranno i DSB e se la via di riparazione per HDR sarà disponibile. (Rebecca & Niakan, 2019)

L'utilità clinica dell'editing del genoma è strettamente legata all'accuratezza e alla precisione del processo. L'accuratezza si riferisce al rapporto tra le modifiche genetiche effettuate nei siti bersaglio (on-target) e quelle avvenute in siti errati (off-target). La precisione, invece, indica la frazione di modifiche on-target che risultano nell'effetto genetico desiderato. L'editing genomico inaccurato si verifica quando il taglio e la riparazione del DNA indotti da CRISPR avvengono in posizioni del genoma non destinate alla modifica, di solito in regioni adiacenti al sito di editing programmato. L'editing genomico impreciso è il risultato delle diverse modalità di riparazione del DNA dopo il taglio on-target; eventi di NHEJ e HDR producono modifiche distinte nel sito di editing desiderato. Inoltre, sono state osservate grandi delezioni e complessi riarrangiamenti genomici in seguito all'editing del genoma. (Doudna, 2020)

Diversi fattori influenzano le potenziali applicazioni cliniche dell'editing del genoma. Innanzitutto, le proteine di origine batterica utilizzate per l'editing potrebbero rivelarsi immunogene, potenzialmente scatenando una risposta immunitaria. La presenza di anticorpi preesistenti contro Cas9 e cellule T reattive, derivati dall'esposizione a batteri patogeni dotati di sistemi CRISPR, potrebbe altresì provocare un'inflammatione. Inoltre, è stato rilevato un processo involontario di selezione di cellule modificate con cambiamenti genetici indesiderati; per esempio, è stata osservata la selezione di cellule con mutazioni di perdita di funzione di p53, associate a una rapida crescita cellulare e al cancro. Infine, rimane ancora da chiarire il grado di sicurezza e stabilità a lungo termine dei risultati ottenuti con cellule geneticamente modificate in vivo. (Doudna, 2020)

L'editing genomico con CRISPR implica il rischio di mutazioni off-target e alterazioni cromosomiche sia negli embrioni che nelle cellule somatiche. In particolare, l'applicazione di CRISPR su embrioni umani comporta gravi potenziali rischi per l'integrità del genoma, con la possibilità di generare modifiche del cariotipo ampie e inaspettate, potenzialmente associate a problemi di salute. Dalle molteplici ricerche sull'editing degli embrioni umani emergono tre conclusioni principali: (i) gli embrioni rispondono in modo diverso ai danni al DNA rispetto alle cellule quando manipolati con CRISPR-Cas9, e le ragioni di questa differenza non sono ancora state chiarite; (ii) l'esito di tali manipolazioni risulta imprevedibile e variabile, comportando il rischio di diversi tipi di danni genomici; (iii) la percentuale di cellule che presenta aberrazioni cromosomiche è estremamente elevata. (Piergentili, et al., 2021)

## **2. ANALISI BIOETICA DELL'EDITING DELLA LINEA GERMINALE UMANA**

### **2.1 Principi bioetici**

L'analisi dei principi bioetici coinvolti nell'editing della linea germinale umana riveste un'importanza fondamentale nella valutazione delle implicazioni etiche di questa tecnologia. I quattro principi chiave da prendere in considerazione sono la beneficenza, la non maleficenza, l'autonomia e la giustizia (Figura 3)

Il principio di beneficenza implica agire per il bene degli individui e della società. Nell'ambito dell'editing genomico sugli embrioni umani, la beneficenza riguarda i benefici terapeutici offerti da questa tecnologia. La correzione delle mutazioni nella linea germinale potrebbe consentire l'introduzione di cambiamenti genetici ereditabili e la creazione di embrioni sani. Di conseguenza, il gene mutato non verrebbe più trasmesso alle generazioni successive. L'editing genomico potrebbe essere utilizzato come strategia terapeutica per malattie genetiche ereditarie e alcune condizioni umane da aneuploidia, come la sindrome di Down. Inoltre, CRISPR potrebbe essere utilizzato per eradicare malattie di origine parassitaria, come la malaria, tramite la tecnica "gene drive" e per trattare alcuni tipi di cancro tramite l'ingegnerizzazione di cellule terapeutiche CART. (Piergentili, et al., 2021)

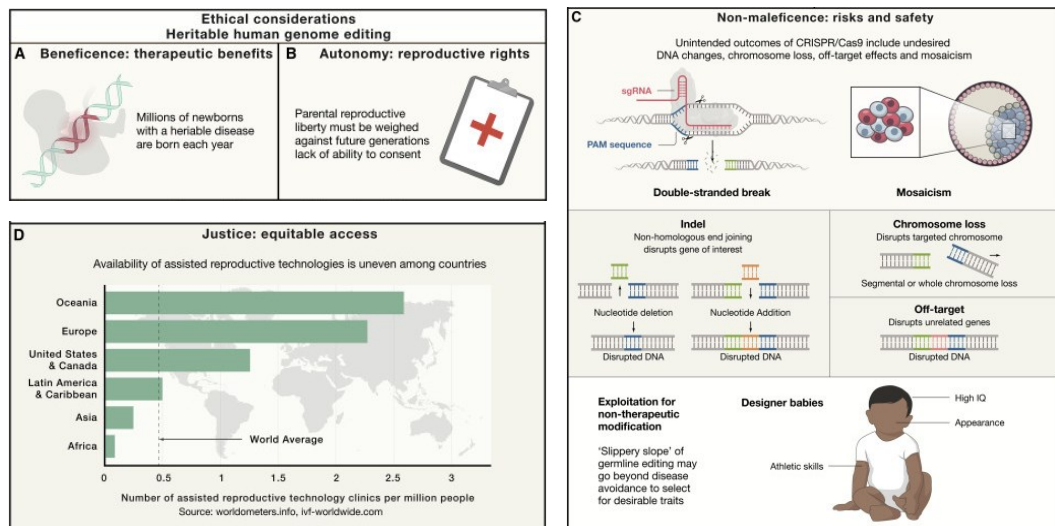
Il principio di non-maleficenza richiede di evitare di fare del male o arrecare danni a individui o alla società. Nel contesto dell'editing genomico sulla linea germinale umana, la non maleficenza implica la valutazione dei rischi e della sicurezza associati alle modifiche genetiche. L'editing genomico effettuato con CRISPR/Cas9 presenta diverse limitazioni tecniche, tra cui il mosaicismo genetico. Inoltre, comporta il rischio di mutazioni off-target e alterazioni cromosomiche, tra cui gli indels e la perdita di cromosomi. Il principio di non-maleficenza si estende anche alla possibilità di sfruttare l'editing genomico per modifiche non terapeutiche. Questa tecnologia potrebbe dar luogo al fenomeno dell'"enhancement" (o potenziamento), che implica la selezione di specifiche caratteristiche nell'embrione, andando ben oltre l'uso terapeutico volto a ripristinare la salute. (Piergentili, et al., 2021)

Il principio di autonomia sottolinea il diritto degli individui di prendere decisioni autonome riguardo al proprio corpo e alla propria salute. Nel contesto dell'editing genetico su embrioni umani, si riflette sulla mancanza della capacità di dare il proprio consenso prima della nascita. Inoltre, si considera l'autonomia dei genitori nel prendere decisioni per gli embrioni. I rischi e i benefici dei trattamenti influenzano sia i genitori che il bambino, ma con una importante distinzione: i futuri genitori possono valutare i rischi e i benefici e dare il loro consenso, mentre l'essere umano non ancora nato non ha questa capacità. D'altra parte, i genitori prendono



numerose decisioni che influenzano il futuro dei loro figli, e il desiderio comune è quello di migliorare la loro salute. (Turocy, Adashi, & Egli, 2021)

Il principio di giustizia riguarda la distribuzione equa delle risorse, dei benefici e dei rischi all'interno della società. Nell'ambito dell'editing genomico sulla linea germinale umana, la giustizia sottolinea l'importanza di garantire un accesso equo alle terapie genetiche, evitando disuguaglianze. C'è il rischio che questa tecnologia sia accessibile solo a individui e nazioni con maggiore disponibilità economica, aumentando così le disparità sanitarie tra le diverse classi socioeconomiche. D'altra parte, l'applicazione di questa tecnica potrebbe contribuire a ridurre le disuguaglianze causate da malattie e varianti genetiche. (Turocy, Adashi, & Egli, 2021)



**Figura 3** I quattro principi bioetici: (A) la beneficenza, (B) l'autonomia, (C) la non maleficenza e (D) la giustizia. (Turocy, Adashi, & Egli, 2021)

## 2.2 Implicazioni etiche e morali

Le potenziali applicazioni dell'editing genomico sugli embrioni umani richiedono un'approfondita valutazione delle implicazioni etiche, sociali e legali di queste tecniche e della loro applicazione nella società. Le preoccupazioni etiche legate all'editing genomico si basano sui limiti della tecnologia CRISPR, compresi i rischi derivanti dal mosaicismo e dall'editing impreciso, che sono ancora in gran parte sconosciuti. Affinché un processo decisionale possa essere ritenuto etico, deve essere basato su un'analisi dettagliata dei rapporti rischio/beneficio, tenendo in considerazione gli obiettivi, i possibili esiti e la probabilità che ciascuno di essi si manifesti. Valutare i potenziali rischi e benefici della tecnologia CRISPR con un grado di accuratezza accettabile, tuttavia, può essere estremamente complicato; a causa delle limitazioni tecniche e delle complessità intrinseche nei sistemi biologici, che rendono difficile fare previsioni affidabili sul futuro di un organismo geneticamente modificato. (Piergentili, et al., 2021)

Il sistema CRISPR-Cas può provocare effetti genetici pleiotropici, i quali determinano variabilità fenotipica nell'uomo e possono alterare o eliminare alcuni fenotipi di malattia. Di conseguenza, l'editing di un gene a livello delle cellule germinali e/o somatiche potrebbe portare a conseguenze biologiche imprevedibili. La manifestazione di un fenotipo biologico è determinata da fattori ambientali, genetici ed epigenetici. È altamente improbabile che un singolo gene sia l'unico fattore determinante nella modellazione e nello sviluppo di un tratto biologico complesso, rendendo essenziale acquisire una comprensione approfondita di tutte le variabili indipendenti coinvolte nella determinazione del fenotipo. Poiché persiste l'incertezza sulla modalità in cui l'espressione e la modificazione dei geni influenzano tratti biologici complessi, risulta complesso condurre un'analisi dettagliata dei rischi e dei benefici. (Piergentili, et al., 2021)

La potenziale applicazione della tecnologia CRISPR sulla linea germinale umana ha acceso un dibattito etico e legale. Tale controversia coinvolge la mancanza di consenso sullo status dell'embrione umano. Sebbene molti membri della comunità scientifica sostengano che la sperimentazione sugli embrioni umani dopo 14 giorni sia eticamente inaccettabile, si riscontra una mancanza di accordo sul momento in cui un embrione acquisisce "lo status di persona". Questo concetto, filosofico e giuridico, riguarda l'attribuzione di diritti e dignità a un individuo. Se si attribuisce agli embrioni lo status di persona, allora essi hanno diritto a veder riconosciuti i loro diritti umani inalienabili. Al contrario, se sono considerati una via di mezzo tra un essere umano e un aggregato di cellule, non è chiaro quali diritti morali dovrebbero essere loro riconosciuti. (Piergentili, et al., 2021)

Un aspetto rilevante riguardo l'editing genomico degli embrioni umani riguarda il potenziamento genetico. Il sistema CRISPR potrebbe essere impiegato per migliorare le capacità degli esseri umani che devono ancora nascere. L'editing genomico consentirebbe la selezione di tratti e caratteristiche individuali durante la gestazione, in base ai desideri e alle decisioni di terzi. Questo rappresenterebbe una forma di "potenziamento genetico germinale", superando di gran lunga l'uso terapeutico inteso a ripristinare o promuovere la salute. (Piergentili, et al., 2021) Il potenziale dell'editing genetico per il potenziamento umano solleva diverse questioni. La prima concerne la fattibilità. La maggior parte delle discussioni sul miglioramento genetico si concentra su tratti come l'intelligenza, le capacità atletiche, l'aspetto o la personalità. Tuttavia, gli ultimi due decenni di scoperte genetiche hanno rivelato che questi tratti hanno un'eziologia complessa che coinvolge molteplici componenti genetiche e ambientali. Di conseguenza, sarebbe difficile ottenere un miglioramento significativo di questi tratti attraverso l'editing di uno o pochi geni. (Marchant, 2021)

Un'altra questione critica riguardo al potenziamento risiede nella difficoltà di distinguere chiaramente gli usi terapeutici da quelli di potenziamento nell'ambito medico. Numerose condizioni patologiche presentano varie gradazioni di gravità: da un lato, trattare una condizione in cui la persona è fisicamente o mentalmente svantaggiata può essere considerato un trattamento terapeutico; dall'altro lato, intervenire su una persona fisiologicamente sana può rientrare nell'ambito del potenziamento. La mancanza di una chiara linea di demarcazione tra terapia e potenziamento rappresenta una sfida per le distinzioni normative tra i due tipi di interventi e comporta il rischio che l'approvazione dell'editing genetico per alcune condizioni possa creare un "piano scivoloso" per l'utilizzo della stessa applicazione in altri pazienti a scopo di potenziamento. (Marchant, 2021)

Il dibattito bioetico sull'editing della linea germinale umana si è intensificato notevolmente a seguito di un evento che ha avuto luogo nel 2018. Durante un summit internazionale sull'editing del genoma umano, è emersa la notizia di un presunto uso dell'editing genetico su embrioni umani da parte dello scienziato He Jiankui. Tale evento ha portato alla nascita di due gemelle geneticamente modificate tramite l'editing del genoma germinale per impedire l'espressione del recettore CCR5 dell'HIV. L'annuncio è stato accolto da una condanna internazionale a causa di evidenti violazioni delle linee guida etiche e scientifiche. Ciò includeva la mancanza di una base medica solida, la carenza di valutazioni sulla sicurezza, l'inadeguatezza dei documenti di consenso informato firmati dai futuri genitori e l'assenza di una discussione pubblica sulle conseguenze personali e sociali. In seguito a questo evento, molti membri della comunità scientifica hanno sostenuto la necessità di una moratoria sull'editing genomico degli embrioni umani. (Turocy, Adashi, & Egli, 2021)

La discussione sull'editing della linea germinale ha sollevato importanti interrogativi relativi al futuro orientamento della scienza e alle questioni sociali ed etiche correlate, inclusa la necessità di definire una risposta professionale e sociale adeguata. Di fronte a questa sfida, varie organizzazioni, tra cui la National Academy of Sciences, la National Academy of Medicine, la Royal Society e istituzioni analoghe in altri paesi, hanno concordato su una serie di punti chiave. Innanzitutto, considerando la numerosità di questioni scientifiche, etiche e politiche irrisolte, si ritiene inappropriato eseguire l'editing del genoma germinale che conduca a una gravidanza umana. In secondo luogo, l'editing del genoma germinale in vitro su embrioni e gameti umani dovrebbe essere consentito per agevolare la ricerca sulle potenziali applicazioni cliniche dell'editing genetico. Infine, le future applicazioni cliniche dell'editing della linea germinale non dovrebbero procedere senza una motivazione medica urgente, prove che ne sostengano l'uso clinico, una giustificazione etica e un processo pubblico trasparente. (Doudna, 2020)

### **3. REGOLAMENTAZIONE DELL'EDITING DELLA LINEA GERMINALE UMANA**

#### **3.1 Normative vigenti**

Le preoccupazioni etiche relative alle potenziali modifiche ereditarie umane sono state oggetto di lunghe discussioni, ma l'avvento di CRISPR ha reso più immediato e urgente il dibattito. Gli approcci normativi variano notevolmente tra le varie categorie di editing del genoma umano. L'applicazione umana meno controversa è rappresentata dall'editing somatico del genoma, utilizzato come terapia per alcune malattie. Tale applicazione ha già ottenuto l'approvazione per diverse sperimentazioni cliniche in tutto il mondo. L'approvazione normativa dell'editing genetico somatico in vari Paesi si concentra principalmente sulla sicurezza, con requisiti che includono test preclinici, un'autorizzazione iniziale per iniziare la sperimentazione nell'uomo e diverse fasi di test clinici per valutare la sicurezza e l'efficacia. (Marchant, 2021)

Le risposte nazionali all'editing genetico ereditario sono più diversificate rispetto all'editing genetico somatico. Sebbene nessuna nazione abbia ancora autorizzato l'editing genetico ereditario a fini riproduttivi, i sistemi normativi nazionali adottano approcci più o meno restrittivi nei confronti di tali procedure. La distinzione delle restrizioni normative sull'editing genetico ereditabile tra le varie nazioni risulta complesso, poiché i Paesi hanno precedentemente adottato limitazioni su pratiche correlate, come la clonazione riproduttiva, le applicazioni di cellule staminali, la terapia genica ereditabile e la riproduzione in vitro, le quali possono o meno estendersi all'editing genetico ereditabile. (Marchant, 2021)

Numerose nazioni hanno adottato regolamenti restrittivi che vietano in modo permanente qualsiasi uso clinico dell'editing genetico ereditario. La maggior parte degli Stati membri dell'Unione Europea ha ratificato la Convenzione del Consiglio d'Europa sui diritti umani e la biomedicina, comunemente nota come Convenzione di Oviedo. La quale rappresenta un evento cruciale per l'accordo internazionale in Europa, riguardo alle norme e alle linee guida sull'editing genomico germinale umano. La Convenzione di Oviedo è stata la prima politica internazionale giuridicamente vincolante in tema di biodiritto. (Nestor & Wilson, 2022) Tale convenzione vieta espressamente le modifiche ereditarie e il potenziamento genetico, come indicato nell'articolo 13 che stabilisce che "Un intervento diretto a modificare il genoma umano può essere intrapreso solo per scopi preventivi, diagnostici o terapeutici e solo se la sua finalità non è quella di introdurre modificazioni nel genoma dei discendenti". La convenzione è stata promulgata nel 1997 ed è entrata in vigore nel 1999. Attualmente, trentacinque Stati membri del Consiglio d'Europa l'hanno firmata e 29 l'hanno ratificata. (Marchant, 2021)

Diversi Paesi hanno integrato nei loro statuti nazionali politiche che vietano l'editing genetico sugli embrioni umani, indipendentemente dal fatto che l'embrione modificato sia destinato o meno all'impianto. Tra questi Paesi rientrano Germania, Canada, Brasile e Australia. Tale nazioni hanno enfatizzato il divieto di editing del genoma umano attraverso l'applicazione di sanzioni penali. (Marchant, 2021)

Altre giurisdizioni, come gli Stati Uniti, hanno adottato un approccio normativo intermedio e temporaneo riguardo all'editing genetico ereditario. Negli Stati Uniti, la ricerca scientifica sull'editing del genoma dell'embrione umano senza trasferimento a fini riproduttivi è consentita, ma non può beneficiare di finanziamenti pubblici. Inoltre, è vigente una norma che vieta la coltura in vitro di embrioni umani per più di 14 giorni dalla loro creazione. (Xue & Shang, 2022) Regolamentazioni rigide, supervisionate dalla Food and Drug Administration (FDA), regolamentano gli studi clinici negli Stati Uniti, affiancate da linee guida fornite dal National Institutes of Health (NIH). Le direttive del NIH chiariscono che qualsiasi proposta di sperimentazione clinica che implichi modifiche dell'editing genomico germinale sarà respinta dal Recombinant DNA Advisory Committee (RAC) del NIH. (Nestor & Wilson, 2022)

Il *Further Consolidated Appropriations Act* del 2020 include l'emendamento Dickey-Wicker, il quale proibisce i finanziamenti federali di ricerche che comportano la creazione o la distruzione di embrioni. Un altro emendamento vieta alla FDA di esaminare domande di sperimentazione clinica che coinvolgano embrioni umani intenzionalmente modificati per effettuare alterazioni genetiche ereditarie. (Nestor & Wilson, 2022) La clausola adottata dal Congresso negli Stati Uniti, che impedisce alla FDA di esercitare la sua autorità normativa per valutare applicazioni cliniche che implicano l'editing ereditario, deve essere riautorizzata annualmente per rimanere in vigore. Senza questa clausola, l'autorità normativa della FDA non proibisce esplicitamente le modifiche genetiche ereditarie, ma i rigorosi requisiti per dimostrare la sicurezza e l'efficacia costituirebbero un ostacolo significativo per eventuali applicazioni. (Marchant, 2021)

Infine, esistono sistemi normativi più permissivi, come quelli adottati in Cina e nel Regno Unito, che non vietano esplicitamente l'editing genetico ereditario, ma richiedono l'approvazione di specifiche richieste, che finora non sono state concesse. In queste giurisdizioni, la ricerca che coinvolge la modifica di embrioni e gameti è consentita, a patto che non comporti l'impianto di embrioni modificati. (Marchant, 2021)

Nel Regno Unito l'applicazione dell'editing della linea germinale a scopo di impianto è vietata, mentre è consentito l'editing genetico sugli embrioni soprannumerari, a condizione che vengano distrutti immediatamente dopo. La coltura in vitro di embrioni umani oltre i 14 giorni dall'inizio della

loro creazione, ovvero dopo la comparsa della linea primitiva, è vietata in conformità con la *Human Fertilisation and Embryology Act* (HFE) del 1990. (Piergentili, et al., 2021) Questa legge stabilisce che la ricerca e l'uso clinico di gameti o embrioni per qualsiasi scopo sono proibiti, a meno che non si ottenga una licenza dalla Human Fertilisation and Embryology Authority. Nel 2015 queste normative sono state aggiornate, concedendo l'autorizzazione a condurre terapie che coinvolgano la manipolazione mitocondriale embrionale al fine di prevenire malattie mitocondriali. Questo emendamento è stato particolarmente significativo, perché ha reso il Regno Unito il primo Paese a concedere l'approvazione delle tecniche di sostituzione del DNA mitocondriale. (Nestor & Wilson, 2022)

Nonostante il primo tentativo di modifica della linea germinale umana sia avvenuto in Cina, con la nascita dei primi bambini geneticamente modificati, attualmente il paese ha adottato approcci politici restrittivi. L'Assemblea nazionale del popolo (NPC) e il Comitato permanente hanno introdotto nuove disposizioni in Cina in seguito all'incidente di He Jiankui. Nel 2021 sono state promulgate due nuove leggi sulla ricerca: la legge sull'assistenza sanitaria di base e la legge sulla biosicurezza. Inoltre, nel 2020, sono stati inseriti due nuovi articoli al Codice Civile della Repubblica popolare cinese: l'articolo 1008 e l'articolo 1009. (Nestor & Wilson, 2022)

L'articolo 1008 stabilisce che qualsiasi sperimentazione clinica debba ricevere l'approvazione etica, accompagnata da un consenso scritto che divulghi chiaramente lo scopo, gli obiettivi e i potenziali rischi della sperimentazione. L'articolo 1009 stabilisce che le attività di ricerca medica e scientifica relative a geni umani ed embrioni devono attenersi alle leggi, ai regolamenti amministrativi e alle norme statali, evitando di mettere in pericolo la salute umana, offendere l'etica e danneggiare gli interessi pubblici. L'introduzione di questi articoli, a seguito dell'incidente di He Jiankui, riflette l'impegno del governo cinese nel regolamentare ulteriormente la ricerca embrionale e l'editing genetico. In precedenza, il Codice Civile cinese non conteneva disposizioni specifiche per affrontare controversie civili o penali derivanti da violazioni delle norme sull'editing genomico umano. (Nestor & Wilson, 2022)

Nel 2021, è stata apportata una modifica al Codice penale della Repubblica popolare cinese, che ha stabilito come reati sia la pratica illegale dell'editing genetico umano che la clonazione di embrioni umani. (Nestor & Wilson, 2022) Un nuovo articolo, l'articolo 336B, è stato aggiunto successivamente all'articolo 336 del Codice penale. Questo articolo sanziona chiunque impianti un embrione umano geneticamente modificato o clonato nel corpo di un essere umano o di un animale, o impianti un embrione animale geneticamente modificato o clonato nel corpo di un essere umano, con una pena detentiva e/o una multa, a seconda della gravità delle circostanze. (Xue & Shang, 2022)

Cinque Paesi (Colombia, Panama, Belgio, Italia ed Emirati Arabi Uniti) prevedono potenziali eccezioni per l'editing genomico sulla linea germinale. Ad esempio, la Colombia autorizza tale tecnica se finalizzata ad alleviare le sofferenze o a migliorare la salute della persona coinvolta. (Turocy, Adashi, & Egli, 2021) In Italia, invece, specifiche disposizioni della legge 40/2004 conferiscono diritti all'embrione sin dal momento della fecondazione. Questa legge vieta l'uso degli embrioni per qualsiasi ricerca, a meno che non sia direttamente finalizzata al miglioramento delle condizioni terapeutiche dell'embrione stesso. (Piergentili, et al., 2021)

Sebbene nessun Paese abbia autorizzato interventi di editing genetico umano a scopo di potenziamento, molte giurisdizioni mancano di sistemi normativi consolidati per affrontare questa questione. Un'eccezione è rappresentata dai firmatari europei della Convenzione di Oviedo, la quale proibisce esplicitamente il potenziamento genetico. In pochi altri Paesi, come Cile, Colombia, Messico e Panama, sono in vigore divieti espliciti riguardanti il miglioramento genetico. Molti Paesi asiatici mostrano una tendenza più favorevole al potenziamento umano, anche se nessuno ha espresso una posizione esplicitamente a favore. (Marchant, 2021)

La ricerca sull'editing degli embrioni umani è una questione controversa e la sua regolamentazione varia tra i Paesi, in base a vincoli normativi preesistenti sulla ricerca sugli embrioni. La maggior parte dei Paesi non ha normative specifiche, né permissive né proibitive, in merito. Diverse nazioni consentono l'editing genomico di embrioni umani a scopo di ricerca, senza intento riproduttivo, tra cui: Stati Uniti, Regno Unito, Giappone, Cina, Svezia, Irlanda, Norvegia, Thailandia, Iran, Congo, Burundi e India. In contrasto, altri Paesi vietano la ricerca sul genoma germinale umano, come Germania, Francia, Canada, Brasile e Svizzera. (Turocy, Adashi, & Egli, 2021)

Questi regolamenti condividono un obiettivo comune: prevenire l'uso improprio o prematuro di tali tecnologie. Nonostante la comune aspirazione a migliorare la salute umana, i divieti assoluti limitano il potenziale della ricerca traslazionale, evidenziando la mancanza di fiducia nella capacità della regolamentazione di discernere tra un uso appropriato e uno inappropriato, entrambi ancora da definire. È innegabile che la restrizione o il divieto della ricerca sugli embrioni umani potrebbero costituire un ostacolo al progresso scientifico e allo sviluppo di terapie in grado di combattere malattie attualmente incurabili. Le future discussioni politiche dovrebbero coinvolgere attivamente le comunità scientifiche, mediche e pubbliche per riflettere sugli interessi nazionali condivisi e definire un utilizzo eticamente accettabile di queste tecnologie. (Turocy, Adashi, & Egli, 2021)

### **3.2 Governance internazionale**

Le divergenti posizioni nazionali sull'editing del genoma umano generano richieste di una governance internazionale per questa biotecnologia. Tuttavia, le nazioni possiedono valori culturali, politici, ed etici distinti, che sostengono approcci normativi diversificati. La variabilità delle leggi nazionali, radicata nella storia e nella cultura di ogni nazione, rende difficile una completa armonizzazione a livello internazionale delle normative che regolano l'editing della linea germinale umana. (Marchant, 2021)

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha evidenziato che solo pochi Paesi hanno adottato un'adeguata regolamentazione per l'editing genomico degli embrioni umani, fondata su normative e meccanismi di supervisione equilibrati. Di conseguenza, la priorità definita dagli esperti dell'OMS è quella di valutare come promuovere al meglio la trasparenza e l'affidabilità delle pratiche, garantendo che ogni decisione e autorizzazione si basi su un'approfondita valutazione dei rischi e dei benefici. (Piergentili, et al., 2021)

I rischi attuali e potenziali associati all'utilizzo dell'editing della linea germinale umana avranno un impatto che supererà i confini nazionali, con potenziali influenze sulla società nel suo complesso. Pertanto, emerge la necessità di una governance a livello transnazionale per questa tecnologia. È fondamentale stabilire uno o più meccanismi di governance che possano affrontare in modo efficace le sfide sociali e di salute pubblica connesse all'applicazione di questa tecnologia. (Xue & Shang, 2022)

Un obiettivo che la governance internazionale dovrebbe perseguire è l'armonizzazione dei sistemi normativi. Un approccio efficace per un processo decisionale collaborativo implica un dibattito rispettoso dei punti di vista opposti e la partecipazione attiva di tutte le parti interessate. Un dibattito multidisciplinare promuove un'atmosfera costruttiva e potrebbe facilitare ai politici, ai finanziatori, agli istituti di ricerca e ai ricercatori la distinzione tra le applicazioni appropriate e quelle inadeguate di questa tecnologia. (Xue & Shang, 2022)

La governance internazionale si è distanziata dai trattati come principale strumento di armonizzazione, data la considerevole quantità di tempo, risorse ed energie richieste per negoziare e far rispettare tali trattati. L'adozione di strumenti non direttamente imposti dai governi, come principi e linee guida, comporta un ampliamento dei soggetti coinvolti nella supervisione, rispetto al modello tradizionale di regolamentazione. (Marchant, 2021) Un sistema di governance efficace esige il rispetto delle convenzioni internazionali stabilite da organizzazioni intergovernative (come l'UNESCO e l'OMS), organizzazioni non governative e comitati di conferenze scientifiche, (come il Comitato Organizzatore dei Summit Internazionali sull'Editing del Genoma Umano). (Xue & Shang, 2022)



L'Organizzazione delle Nazioni Unite per l'Educazione, la Scienza e la Cultura (UNESCO) ha delineato la sua posizione sull'editing della linea germinale umana nella *Dichiarazione Universale sul Genoma Umano e i Diritti Umani* del 1997. L'articolo 1 della dichiarazione afferma che: "Il genoma umano sottende l'unità fondamentale di tutti i membri della famiglia umana, come pure il riconoscimento della loro intrinseca dignità e della loro diversità. In senso simbolico, esso è patrimonio dell'umanità." L'articolo 24 della dichiarazione elabora la posizione dell'UNESCO sull'editing della linea germinale umana, definendola una pratica contraria alla dignità umana. (Nestor & Wilson, 2022)

Nel 2021, l'OMS ha proposto un quadro di governance globale, fornendo linee guida a nazioni e scienziati sull'editing del genoma umano. Queste linee guida rappresentano un aggiornamento delle raccomandazioni sull'uso di CRISPR e di altre tecnologie di editing genetico nella ricerca e negli studi clinici. L'OMS sottolinea la necessità di una regolamentazione globale rigorosa sull'editing genetico umano, applicabile a tutti i Paesi, inclusi quelli in via di sviluppo. Inoltre, viene evidenziata l'importanza di un'attenzione e collaborazione internazionale nell'attuazione di tali linee guida. Poiché queste raccomandazioni non hanno forza vincolante senza un trattato o accordo internazionale che definisca chiaramente ciò che è consentito e impegni le nazioni alle proprie azioni. (Nestor & Wilson, 2022)

Considerando il rapido avanzamento della ricerca e dell'applicazione delle biotecnologie, è cruciale raggiungere un consenso su un quadro di governance globale stabilito da un'entità formale che vada oltre l'attuale sistema informale di governance. Una possibile opzione potrebbe essere la creazione di una nuova struttura istituzionale, oppure l'utilizzo di un'organizzazione internazionale esistente, come l'OMS o l'UNESCO, per garantire il coordinamento internazionale delle misure di governance. (Marchant, 2021)

Un quadro di governance globale potrebbe fungere da guida per ciascun Paese nella formulazione delle proprie politiche di regolamentazione, tenendo conto del contesto culturale, politico, religioso e sociale specifico. Riconoscendo l'importanza del coordinamento internazionale, i governi dovrebbero identificare un organismo responsabile di una revisione costante degli sviluppi dell'editing genetico, fornendo regolarmente aggiornamenti al pubblico e ai governi per garantire una continua condivisione di informazioni a livello transnazionale. Le discussioni sulla sicurezza e l'etica riguardo l'editing genetico umano dovrebbero essere soggette a meccanismi di revisione periodica, considerando il continuo sviluppo del campo in ambito scientifico, tecnologico e sociale. (Xue & Shang, 2022)

## **CONCLUSIONE**

La presente tesi ha indagato il campo complesso e in continua evoluzione dell'editing della linea germinale umana, esplorando sia i suoi fondamenti scientifici che le questioni bioetiche e le regolamentazioni a livello globale. L'analisi scientifica, bioetica e normativa di questo ambito riflette la complessità e la multidimensionalità di questa innovativa frontiera delle biotecnologie.

La rivoluzionaria potenzialità di tecnologie come CRISPR apre le porte a nuove frontiere nella lotta contro le malattie ereditarie. Tuttavia, questo scenario è accompagnato da una serie di sfide legate a limitazioni tecniche e questioni etiche e legali associate alla manipolazione del patrimonio genetico umano.

L'analisi bioetica ha sottolineato la complessità delle questioni etiche legate all'editing della linea germinale umana. Emergono preoccupazioni in merito alla dignità umana, all'autonomia individuale e alla giustizia sociale, sollevando interrogativi cruciali sulla responsabilità morale e sociale nell'applicazione di queste tecnologie.

L'esame delle normative globali sull'editing della linea germinale umana ha rivelato differenze significative nei regolamenti tra le nazioni, evidenziando la complessità nel trovare un terreno comune su questioni così delicate. Mentre alcuni paesi hanno adottato regolamentazioni restrittive, altri hanno optato per approcci più permissivi. Questa diversità evidenzia la necessità di una governance internazionale al fine di armonizzare le regolamentazioni su scala globale.

L'avanzamento continuo della ricerca scientifica rende imperativo un parallelo sviluppo del contesto etico e normativo, affinché l'editing della linea germinale umana sia guidato da principi che rispettano la dignità umana, promuovono l'equità e tutelano il benessere delle future generazioni. La sfida consiste nel bilanciare il potenziale benefico di questa tecnologia con la necessità di preservare valori etici fondamentali e garantire la sicurezza a livello globale.

Guardando al futuro, è fondamentale adottare una governance internazionale che armonizzi le normative nazionali, promuovendo trasparenza, responsabilità e rispetto dei principi etici. Il coinvolgimento di tutte le parti interessate e un dialogo continuo tra scienziati, bioetici e legislatori sarà cruciale per definire direttive chiare e condivise. Solo attraverso un approccio collaborativo e una governance responsabile possiamo sperare di realizzare appieno il potenziale di queste tecnologie senza compromettere i valori fondamentali che ci definiscono.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Doudna, J. (2020). The promise and challenge of therapeutic genome editing. *Nature* 578, 229-236.
2. Doudna, J., & Charpentier, E. (2014). The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* 346, 1258096.
3. Hsu, P., Lander, E., & Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell* 157(6), 1262-1278.
4. Marchant, G. (2021). Global Governance of Human Genome Editing: What Are the Rules? *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 385-405.
5. Nestor, M., & Wilson, R. (2022). Domestic and International Regulation of CRISPR. In: *Anticipatory Ethics and The Use of CRISPR in Humans*. Springer, 113-124.
6. Piergentili, R., Del Rio, A., Signore, F., Umani Ronchi, F., Marinelli, E., & Zaami, S. (2021). CRISPR-Cas and Its Wide-Ranging Applications: From Human Genome Editing to Environmental Implications, Technical Limitations, Hazards, and Bioethical Issues. *Cells*, 10(5):969.
7. Rebecca, A. L., & Niakan, K. K. (2019). Human germline genome editing. *Nature Cell Biology* 21, 1479-1489.
8. Turocy, J., Adashi, E., & Egli, D. (2021). Heritable human genome editing: Research progress, ethical considerations, and hurdles to clinical practice. *Cell* 184 (6), 1561-1574.
9. Xue, Y., & Shang, L. (2022). Governance of Heritable Human Gene Editing World-Wide and Beyond. *Int J Environ Res Public Health*, 19(11):6739.