



Le biotecnologie in medicina: spunti per un'azione didattica

a cura di
Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Bertini

Istituto Superiore di Sanità
Roma 2003



**Le biotecnologie in medicina:
spunti per un'azione didattica**

a cura di
Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Bertini

Istituto Superiore di Sanità
Roma 2003

Istituto Superiore di Sanità

Le biotecnologie in medicina: spunti per un'azione didattica

A cura di Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro e Anna Bertini

2003, ii, 138 p.

La pubblicazione conclude il progetto *Aspetti scientifici ed etici delle biotecnologie in medicina: un'analisi interattiva tra scuola e Istituti di ricerca*, indirizzato a studenti e a professori di scuola secondaria e promosso dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) con il contributo del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca (MIUR). La dispensa è stata redatta a seguito di corsi di aggiornamento e seminari volti ad illustrare sia le applicazioni della genetica molecolare in campo biomedico sia strumenti e metodi didattici innovativi. La pubblicazione condensa l'esperienza di lavoro svolta nelle scuole nel corso dell'anno scolastico 2002-03, con gli approfondimenti scientifici nei settori della genetica molecolare, della ricerca nella didattica e della metodologia didattica.

Istituto Superiore di Sanità

Biotechnology in medicine: hints for an educational action

Edited by Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro and Anna Bertini

2003, ii, 138 p.

This publication concludes the project *Scientific and ethical aspects of biotechnology in medicine: a joint action between schools and scientific institutes* directed to high school students and teachers, being promoted by the Italian National Institute of Health, supported by the Ministry of Education and University. The publication has been carried out after training the teachers in both scientific topics especially concerning molecular genetics and teaching methods based on active/cooperative learning. Furthermore, the publication also organizes materials produced at school by the teachers guiding their pupils to experience self centred learning in reference to the above mentioned topics.

Redazione: Giovanna Morini, Servizio per le Attività Editoriali, ISS

Progetto grafico della copertina: Cosimo Marino Curianò, Servizio per le Attività Editoriali, ISS

Le figure a pagina 31, 70-74 e 78 sono state disegnate da Francesca Bedetti.

La pubblicazione è stata realizzata con il contributo legge n. 6/2000 concesso dal MIUR al progetto "Aspetti scientifici ed etici delle biotecnologie in medicina: un'analisi interattiva tra scuola e Istituti di ricerca". Una collaborazione tra studenti, insegnanti e ricercatori per la produzione di unità documentarie e didattiche sulle applicazioni delle biotecnologie in medicina.

Unità operativa del progetto: Cecilia Bedetti, Maria Cristina Barbaro, Anna Bertini (Istituto Superiore di Sanità, Roma), Milena Bandiera (Dipartimento di Biologia, Università degli Studi "Roma Tre", Roma), Silvia Giannella (liceo ginnasio "Virgilio", Roma), Lucia Amico (Liceo ginnasio "Ruggero Settimo", Caltanissetta).

INDICE

Presentazione <i>Cecilia Bedetti</i>	pag.	1
Descrizione del metodo didattico "Problem-Based Learning" <i>Giovanni De Virgilio</i>	pag.	3
Le biotecnologie in classe: un'occasione per confrontarsi con l'innovazione didattica <i>Milena Bandiera</i>	pag.	9
Malattie dei poveri e malattie dei ricchi: malaria ed eugenica <i>Piero Augusto Battaglia</i>	pag.	29
La madre delle biotecnologie: la tecnica delle colture cellulari <i>Flavia Zucco</i>	pag.	38
Genetica, test genetici e prospettive <i>Domenica Taruscio e Giovanna Floridia</i>	pag.	47
Diagnosi precoce delle malattie infettive e parassitarie <i>Cristina Angelici</i>	pag.	55
Transgenesi, clonazione e terapia genica <i>Corrado Spadafora</i>	pag.	69
Etologia e sperimentazione animale <i>Augusto Vitale</i>	pag.	80
Problematiche etiche nelle scienze della vita <i>Laura Guidoni</i>	pag.	91
Il Problem-Based Learning (PBL) nella scuola: un'alternativa alla didattica tradizionale <i>Silvia Giannella</i>	pag.	97
Le biotecnologie: un'esperienza in classe <i>Lucia Amico, Isabella Albanese e Giuseppina Mannino</i>	pag.	104
Il metodo Problem-Based Learning (PBL) come opportunità di integrazione tra scuola e istituti di ricerca <i>Luciana Bartolini</i>	pag.	108
Biotecnologie e Problem-Based Learning (PBL) in un istituto tecnico <i>Anna Maria D'Andrea e Luciano Filippeschi</i>	pag.	112
Le biotecnologie... Quale futuro? ...Una nuova strada da percorrere <i>Candida Di Iorio e Lidia Salines</i>	pag.	115

“C’era una volta... l’ambiente” <i>Anna Rita Massarella</i>	pag.	119
Incuriosire e motivare <i>Rita Restante</i>	pag.	122
L’apprendimento per problemi in III liceo scientifico al “Sarrocchi” di Siena <i>Maria Risitano</i>	pag.	126
Lo studio delle biotecnologie all’Istituto di Istruzione Secondaria “Paolo Baffi” <i>Maria Luisa Tibaldeschi e Manuela Marini</i>	pag.	129
Gli studenti delle scuole superiori e le biotecnologie <i>Maria Cristina Barbaro e Anna Bertini</i>	pag.	132

PRESENTAZIONE

Questa dispensa, che segue quella sulle nuove droghe, vuole ancora più esplicitamente della precedente evidenziare le potenzialità didattiche di un nuovo modo di vedere i rapporti tra scuola e istituti di ricerca.

La pubblicazione deriva dal progetto realizzato nell'anno scolastico 2002-03 nel quadro delle attività culturali dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS), con il contributo del Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca (MIUR) e con la partecipazione di insegnanti in servizio nelle regioni del Centro-Sud (Campania, Lazio, Molise, Toscana, Umbria e Sicilia). Il progetto dal titolo "Le biotecnologie in medicina: aspetti scientifici ed etici. Un'analisi interattiva tra scuola e istituti di ricerca. Una collaborazione tra studenti, insegnanti e ricercatori per la produzione di unità documentarie e didattiche sulle applicazioni delle biotecnologie in medicina" ha risposto pienamente a quello che si voleva ottenere, cioè sviluppare e sperimentare contenuti, metodi e materiali idonei a contribuire all'orientamento di studenti di istituti di istruzione secondaria superiore a fronte dell'esplosione delle conoscenze e degli avanzamenti tecnologici nel campo della genetica molecolare.

Il progetto ha compreso interventi didattici in dieci istituti di istruzione secondaria superiore (dislocati nel Lazio, Molise, Sicilia, Toscana) guidati dagli insegnanti, preceduti da specifiche attività di formazione a loro indirizzate. I corsi di aggiornamento, curati da esperti dell'ISS e del Dipartimento di Biologia dell'Università degli Studi "Roma Tre", hanno riguardato il contributo dello studio della genetica in campo biomedico. Con riferimento anche ad alcune importanti attività di ricerca condotte presso l'ISS si è partiti dai dati come emergono dall'indagine scientifica, cioè dai protocolli sperimentali, per produrre un discorso valido culturalmente. Della biologia molecolare, in quanto modello interpretativo del mondo dei viventi sono state anche discusse ed evidenziate le distorsioni, la tendenza alla risoluzione in termini genici di ogni fenomenologia, che porta a considerare specchio dei geni ogni aspetto gradevole o repellente degli individui. Si è parlato anche di problemi di natura etica, tenendo conto, nell'avanzamento scientifico e tecnologico, sia delle esigenze morali e sociali degli esseri umani, sia delle preoccupazioni per le sofferenze animali, spesso trascurate. Una parte della biologia sperimentale impiega negli esperimenti animali, ed è quindi suscettibile di valutazioni etiche relative alla sofferenza gratuita degli animali, in particolare i mammiferi, soggetti agli esperimenti. Tale sofferenza risulta accettabile, secondo le leggi vigenti nel nostro Paese, solo in funzione della serietà dell'impegno del ricercatore e della rilevanza del progetto scientifico.

Le tematiche scientifiche illustrate hanno inteso offrire agli insegnanti una trama nella quale inserire contenuti disciplinari del programma di scienze. Sono state pertanto associate, nei corsi, alla presentazione di metodologie didattiche innovative, in grado di stimolare la partecipazione attiva degli studenti al processo di apprendimento.

In una stretta connessione tra contenuti scientifici e metodi didattici è seguito poi l'intervento a scuola, sviluppato e implementato, con ottimi risultati, da un gruppo di insegnanti particolarmente ricco di motivazioni e professionalità, sebbene in numero ridotto rispetto al totale dei partecipanti alle attività di formazione. Concluso il per-

corso didattico gli alunni hanno comunicato i risultati delle loro attività di studio e di ricerca di informazioni in tre seminari, organizzati presso l'ISS, mostrando padronanza degli argomenti e capacità di organizzazione dei concetti.

La pubblicazione raccoglie i testi, quasi al completo, delle lezioni svolte nei corsi di aggiornamento, i racconti delle insegnanti sull'esperienze didattiche realizzate in nove delle dieci scuole e i risultati di un'indagine preliminare, svolta nell'ambito del progetto, sulle opinioni degli studenti rispetto alle biotecnologie.

Con questa dispensa, come con la precedente sulle nuove droghe, vorremmo far conoscere l'iniziativa attuata, suscitare interesse verso le opportunità che nascono dalla collaborazione tra scuola e istituti di ricerca, e infine allargare in futuro a un numero di scuole maggiore dell'attuale la collaborazione con l'ISS.

Cecilia Bedetti

DESCRIZIONE DEL METODO DIDATTICO “PROBLEM-BASED LEARNING”*

Giovanni De Virgilio

Segreteria per le Attività Culturali, Istituto Superiore di Sanità, Roma

La presentazione del “Problem-Based Learning” (PBL) agli insegnanti di istituti di istruzione secondaria superiore ha come scopo principale quello di proporre un nuovo strumento didattico per la formazione scientifica in ambito scolastico.

Il PBL è utilizzato dall’Istituto Superiore di Sanità (ISS) dal 1988 (1) per la formazione continua dei professionisti in sanità pubblica. L’esperienza acquisita dall’ISS nella formazione di adulti su tematiche sanitarie molto articolate consente di estendere, in via sperimentale, l’adozione di questo metodo per le attività di promozione della salute nelle scuole superiori.

Il lavoro svolto nell’ambito del progetto, argomento della dispensa, ha dimostrato, a parere dell’autore, che è possibile formare adeguatamente gli insegnanti alla gestione del PBL, attraverso brevi sessioni di formazione e consulenza.

Nelle pagine che seguono riportiamo gli aspetti salienti del metodo come presentati agli insegnanti nelle sessioni di formazione svolte nell’ambito del progetto.

Origine e descrizione del PBL

Il metodo didattico noto come PBL nasce in Canada negli anni sessanta presso l’Università di Medicina di McMaster (Hamilton, Stato dell’Ontario). Howard S. Barrows, neurofisiologo, aveva osservato come gli studenti del suo corso dimostrassero agli esami finali di aver appreso un gran numero di nozioni teoriche, ma dimostrassero scarsa capacità di applicarle durante il successivo periodo di tirocinio pratico (2).

Per superare questa discrepanza pensò di rimodellare la metodologia didattica del proprio corso esponendo gli studenti, fin dall’inizio del percorso formativo, a dei “casi” che riproducessero il contesto e le problematiche della loro futura vita professionale. Decise, dunque, di non incominciare il corso con l’impartire conoscenze disciplinari teoriche con le lezioni tradizionali, ma con “casi clinici”, che raffigurassero la complessa realtà di ogni singolo paziente e, di conseguenza, richiedessero uno studio e acquisizione delle conoscenze disciplinari in forma integrata e stimolassero lo sviluppo delle capacità complesse di “ragionamento clinico”.

I “casi” furono chiamati “problemi” e il metodo di apprendimento, basato su problemi, fu battezzato “Problem-Based Learning”.

Barrows definì come PBL: “l’apprendimento che si genera dal processo di lavorare alla comprensione o soluzione di un problema” (3).

(*) Parte di questo contributo è già stato pubblicato nella dispensa “Le nuove droghe: spunti per un’azione didattica”. Roma, Istituto Superiore di Sanità; 2002.

La caratteristica distintiva del PBL è che il “problema” viene presentato all’inizio del processo di apprendimento. Esso non è preceduto da alcuna lezione introduttiva, come, altrimenti, avviene con i cosiddetti studi di caso (*case-studies*) dove una prima lezione di inquadramento precede l’esercitazione pratica di applicazione della teoria a un caso specifico. Il metodo PBL, quindi, mette il discente, fin dall’inizio, al centro del processo formativo, stimolandone le capacità di analisi e comprensione del problema e di ricerca della soluzione. Durante tale percorso il discente, apprende utilizzando un approccio sistematico che replica la sequenza di azioni che dovrà attuare nella pratica professionale. Il metodo si può quindi descrivere come incentrato sul discente, caratterizzato dall’enfasi sull’applicazione (non solo acquisizione) di nuove conoscenze e dalla prerogativa di sviluppare nei discenti quelle capacità utili a gestire la propria formazione continua (*self-directed learner*). Per molti, quest’ultimo effetto, costituisce di gran lunga il beneficio più importante generato dal PBL. Nell’ipotesi di Barrows, gli studenti così formati sarebbero dovuti arrivare a frequentare il periodo di tirocinio pratico con un più appropriato bagaglio formativo. L’introduzione del nuovo metodo diede, in effetti, risultati soddisfacenti. Negli anni a seguire il metodo fu esteso a tutta la facoltà di medicina dell’Università di McMaster e molte altre Università in vari continenti, compresa la prestigiosa Harvard, adottarono il PBL per la formazione del medico e in molti altri campi professionali: dall’ingegneria all’architettura, dall’economia alla giurisprudenza. Il metodo, infatti, seppur nato in una facoltà di medicina, risponde a dei presupposti di apprendimento efficace applicabili a diversi ambiti della formazione dell’adulto.

Prima di elencare alcuni di tali presupposti, ci soffermiamo sulla definizione di “problema” e ne forniamo due esempi.

Il problema didattico è “una descrizione più o meno neutra di fenomeni interrelati che necessitano di una spiegazione o di una soluzione” (3). Un “problema” nel PBL descrive in maniera oggettiva (neutra) un fatto che accade, è una fotografia della realtà che il discente riconosce come pertinente al contesto in cui vive o della professione per la quale si sta formando.

Vedremo che l’analisi e la comprensione/soluzione dei “problemi” condurranno il discente ad acquisire, durante il percorso educativo, nuove conoscenze e capacità.

Il primo esempio di “problema”, tradotto da materiale didattico dell’Università di Maastricht, Paesi Bassi, viene utilizzato al quarto anno del corso di medicina della suddetta Università (Tabella 1).

Tabella 1 - Esempio di problema PBL per la formazione del medico

Una donna di 55 anni

Una donna di 55 anni giace per terra lamentandosi penosamente.

Il dolore si presenta a ondate successive e si diffonde dalla regione lombare destra fino alla regione inguinale della stessa parte con interessamento anche dell’adiacente parte anteriore della gamba.

Come puoi spiegare questi fenomeni?

Se tu fossi il medico curante di questa donna, che cosa faresti?

Lavorando su questo “problema” i discenti acquisiranno nozioni e capacità utili a comprendere che cosa stia succedendo e ad affrontare operativamente il problema come avverrà durante le esercitazioni in reparto e, quotidianamente, nella loro futura vita professionale.

Il secondo “problema”, che presentiamo in Tabella 2, è stato preparato per il progetto ISS sulle biotecnologie come esempio di come può essere strutturato, nell’ambito d’interesse, il materiale didattico PBL.

Tabella 2 - Esempio di problema PBL per studenti di scuola secondaria superiore

Il figlio di ...Maradona?

Antonio ha sedici anni e vive con la madre.
Come molti ragazzi della sua età gioca a pallone ed è tifoso del Napoli.
Ha saputo, lo scorso anno dalla madre di essere figlio di Maradona,
ma non riconosciuto legalmente dal padre.
Non è stato facile, la madre di Antonio
ha dovuto ricorrere al tribunale per far valere le sue ragioni.
La paternità finalmente è stata stabilita.
Antonio è ancora più che nel passato appassionato di calcio,
e sogna di diventare un calciatore, ma più bravo del padre.

**Secondo te è stato possibile provare
che Antonio sia figlio di Maradona?**

Questo “problema” potrebbe essere utilizzato in una sessione didattica di scuola secondaria superiore per fare apprendere agli studenti, in maniera attiva e contestualizzata, quali siano alcune applicazioni pratiche della genetica. Altri problemi potrebbero essere preparati per la formazione su aspetti riguardanti la salute quali: il consumo di cibi transgenici, gli xenotrapianti e la produzione di vaccini da vegetali geneticamente modificati per citarne alcuni.

Vediamo ora come ogni singolo “problema” viene inserito e utilizzato nel ciclo di apprendimento del metodo PBL. Le principali fasi del PBL (3) possono essere schematizzate nei seguenti 7 “passi”:

1. chiarire i termini del problema;
2. definire il problema;
3. analizzare il problema;
4. sistematizzare le ipotesi;
5. formulare obiettivi di apprendimento;
6. studio individuale;
7. soluzione/comprendimento del problema.

Le fasi da 1 a 5 sono percorse in piccoli gruppi formati ciascuno da 5-8 discenti e un facilitatore. Il problema viene analizzato nelle sue possibili cause, le conoscenze esistenti nel gruppo vengono condivise e identificato il fabbisogno formativo necessario per spiegare o risolvere il “problema” sotto studio. La fase 6 com-

prende le azioni atte a raggiungere gli obiettivi di formazione che il gruppo si è dato. Essa potrà comprendere vari tipi di attività quali: la ricerca bibliografica, la lezione tradizionale, l'esercitazione pratica, la consultazione di esperti.

La fase 7 prevede che il gruppo si riunisca nuovamente e, grazie a quanto acquisito in fase di studio (fase 6), proceda ad applicare quanto appreso alla spiegazione o soluzione del "problema". Questo ciclo di PBL viene coperto, in genere, nel giro di tre-cinque giorni di lavoro. Un *curriculum* formativo PBL sarà dunque costituito da un numero adeguato di "problemi" che coprano le tematiche del corso e, come già ricordato, da altre tecniche didattiche utili al raggiungimento degli obiettivi formativi.

Avendo descritto il ciclo PBL, risulta ora più facile raffrontare il metodo ad alcuni dei presupposti dell'apprendimento efficace.

In particolare Schmidt (2) cita tre presupposti, relativi ai meccanismi che regolano l'apprendimento dell'adulto e che rendono tale apprendimento più duraturo nel tempo e più facilmente fruibile quando la persona abbia la necessità di utilizzarlo.

Il primo requisito consiste nell'attivare le conoscenze che il discente già possiede in vario grado su un certo argomento: questo artificio renderà più agevole acquisire nuove conoscenze o modificare concetti scorretti. Nel PBL questo richiamo avviene nella prima riunione di gruppo, in particolare nella fase di analisi delle cause del problema (fase 3).

Un secondo presupposto richiede di contestualizzare il momento formativo coerentemente con la realtà professionale. I problemi, come visto nell'esempio di Maastricht (Tabella 1) dedicato alla formazione di base del medico e, nell'esempio sulle biotecnologie (Tabella 2), sono contestualizzati alla realtà del discente: il giovane che si prepara a svolgere una professione (formazione universitaria di base) nel primo esempio e lo studente che si confronta con le complesse tematiche delle biotecnologie (formazione nella scuola superiore) nel secondo esempio. Altri problemi potranno essere disegnati per il professionista che si aggiorna (formazione continua post-laurea) per migliorare le proprie competenze e capacità.

Un terzo presupposto per un apprendimento efficace consiste nell'attività di "elaborazione" delle conoscenze: discutere in gruppo, difendere una propria interpretazione, spiegarla ad altri, produrre un riassunto scritto, sono tutte attività di elaborazione, tipiche della didattica attiva e che costituiscono parte integrante del PBL.

Il PBL, dunque, adotta in vario grado nel proprio ciclo di lavoro/studio tutti e tre i suddetti presupposti: questa osservazione conforta, in linea teorica, la conclusione che il PBL possa essere un metodo di formazione efficace (4).

Vari studi comparativi, specie nell'ambito delle facoltà di medicina, hanno dimostrato che il PBL prepara gli studenti per gli esami finali a un livello comparabile ai colleghi formati con metodi tradizionali. Peraltro, alcune importanti capacità che si apprendono con il PBL, quali la capacità di lavorare in team con altri professionisti e di affrontare sistematicamente le problematiche professionali, non vengono rilevate dagli esami tradizionali viziando, a sfavore del nuovo metodo, la valutazione comparativa con altri metodi didattici. In alcune facoltà che utilizzano il PBL si sono registrati tassi di abbandono degli studi inferiori alle scuole tradizionali: indice di maggiore motivazione a perseguire gli studi perché ritenuti più utili, più efficaci?

È noto che la valutazione dei risultati della formazione pone dei problemi metodologici non indifferenti e non è lo scopo di questa presentazione affrontarne la complessità. A questo proposito possiamo anticipare che si sta valutando l'efficacia

di recenti percorsi di formazione del personale del Servizio Sanitario Nazionale organizzati con il supporto metodologico dell'autore. Da questi studi si attendono ulteriori indicazioni sull'efficacia del metodo nell'ambito della formazione permanente per i professionisti della sanità.

Per quanto concerne invece le differenze principali del PBL con metodi didattici tradizionali, si rimanda alla Tabella 3. In sostanza, il PBL privilegia la formazione in gruppi, incentrata sul discente, enfatizza l'aspetto esperienziale e integra diverse discipline con il fine ultimo di apprendere per applicare.

Tabella 3 - Alcune differenze tra didattica tradizionale e PBL (5)

Didattica tradizionale	PBL
A discipline separate	Integrazione delle discipline
Centrata sull'insegnante	Centrato sul discente
Nozionistica	Esperienziale
Individuo	Gruppo
Curriculum rigido	Curriculum flessibile
Apprendere come fine	Applicare come fine

I principali aspetti organizzativi per chi volesse applicare il PBL implicano, prima di tutto, la necessità di confrontarsi con istituti che abbiano diretta esperienza del metodo: in Italia l'ISS è stato per diversi anni centro collaborativo dell'Organizzazione Mondiale della Sanità per l'utilizzo del PBL nelle professioni sanitarie. Varie aziende sanitarie hanno organizzato, dal 1996, con il supporto metodologico dell'ISS, corsi che utilizzano il PBL (6). Anche in Italia non mancano dunque validi riferimenti ai quali fare ricorso per adottare questo tipo di didattica.

Altri due aspetti fondamentali da soddisfare implicano la disponibilità di adeguate risorse umane e materiali: è necessario formare personale capace di progettare i corsi, produrre i materiali didattici e facilitare i gruppi. Sono inoltre indispensabili delle aule adatte a lavorare in piccoli gruppi.

Le esperienze condotte in varie aziende sanitarie italiane dimostrano che l'utilizzo del PBL nella formazione permanente del personale è attuabile in maniera del tutto soddisfacente. Una prima parziale valutazione di tale successo evidenzia da parte dei partecipanti un alto gradimento del metodo, la percezione di alta efficacia riscontrata sia a fine corso che a un anno di distanza. Il personale coinvolto nella produzione dei materiali didattici, nella facilitazione e nel supporto ai discenti ha rilevato, costantemente e in più corsi, un livello di motivazione dei partecipanti ben maggiore rispetto ai consueti percorsi tradizionali. Come già detto, questi corsi saranno oggetto di valutazioni più strutturate e approfondite per un più preciso apprezzamento del valore del metodo. Le valutazioni finora condotte, seppur parziali, hanno comunque generato indicazioni iniziali molto confortanti a proseguire nell'impiego e nella diffusione del metodo.

Il progetto sulle biotecnologie descritto in questa pubblicazione, a complemento della precedente iniziativa sulle nuove droghe (7), ha rappresentato un'ulteriore

importante opportunità di utilizzare il PBL nella scuola: questa seconda esperienza rafforza l'ipotesi che il PBL possa utilmente affiancare metodi didattici più tradizionali anche nel contesto dell'istruzione secondaria superiore.

Riferimenti bibliografici

1. De Virgilio G. Problem-Based Learning for Primary Health Care Managers in developing countries. *Medical Education*. Edinburgh, Blackwell Scientific Publications 1993; 27: 266-73.
2. Schmidt HG. The rationale behind. Problem-Based Learning. In: Schmidt HG, Lipkin MJr, de Vries MW, Greep JM (Ed.). New directions for medical education. *Problem-Based Learning and community-oriented medical education*. New York: Springer-Verlag; 1989.
3. Barrows HS, Tamblyn RM. *Problem-Based Learning: an approach to medical education*. New York: Springer Publishing Company; 1980.
4. Camp G. Problem-Based Learning: a paradigm shift or a passing fad? *Medical Education Online*. 1996; 1,2. Disponibile all'indirizzo: <http://www.utmb.edu/meo/>; ultima consultazione 7 luglio 2003.
5. De Virgilio G. *PBL: origine, teoria, pratica e differenze con i metodi tradizionali*. Roma: Materiale didattico per i corsi di formazione dei formatori dell'Istituto Superiore di Sanità; 1995.
6. De Virgilio G. Problem-Based Learning for health workers continuing education: an experience from Lazio region in Italy. *Education for Health* 1999; 12(2): 271.
7. Bedetti C, Barbaro MC, Bertini A (Ed.). *Le nuove droghe: spunti per un'azione didattica*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2002.

LE BIOTECNOLOGIE IN CLASSE: UN'OCCASIONE PER CONFRONTARSI CON L'INNOVAZIONE DIDATTICA

Milena Bandiera

Dipartimento di Biologia, Università degli Studi "Roma Tre", Roma

Le ragioni del cambiamento

L'esperienza insegna che quando si intende prendere in seria considerazione l'adozione di una metodologia innovativa - qualunque sia il mestiere esercitato e qualunque sia il processo su cui intervenire - è opportuno fare preventivamente il punto sulle peculiarità e sugli esiti delle pratiche correnti e valutare poi la concreta attuabilità della proposta, possibilmente sperimentandola con la supervisione dell'esperto che la illustra.

Perciò, prima di riesaminare il "Problem-Based Learning" (descritto nel capitolo precedente da Giovanni De Virgilio) e di vagliare analoghe metodologie didattiche che fanno riferimento all'*active/cooperative learning* (1-3) e che possono essere impiegate per proporre in classe il tema delle biotecnologie, vorrei riflettere sulla formazione scientifica di cui si fa carico la nostra scuola e, ampliando non troppo i termini della questione, sulla pregnanza dell'atteggiamento scientifico di noi che insegniamo le scienze.

Innanzitutto richiamerei alcune particolarità della conoscenza che, in base ai risultati della ricerca didattica, sono state delineate a partire dagli anni Sessanta e hanno ispirato l'impostazione di quelle linee innovative della didattica che oggi sollecitano la scuola attiva.

Le rappresentazioni della realtà definite "di senso comune" sono largamente condivise e straordinariamente simili, per tipologia e frequenza, nei Paesi occidentali che pure hanno storie e tradizioni culturali assai diversificate. Si tratta di un dato molto importante che consente - o, meglio, impone - di mettere a fuoco i saperi pre-esistenti del soggetto che apprende, saperi efficaci (in quanto sono messi alla prova e validati dalle pratiche della vita quotidiana), destinati a entrare in conflitto con i saperi scientifici, oggetto delle pratiche dell'insegnamento-apprendimento scolastico.

Inoltre, le competenze proprie di un particolare ambito disciplinare, se non vengono praticate attivamente, persistono nel soggetto che apprende pochi anni dopo l'acquisizione scolastica. Le persone tornano a ragionare, a pensare e a sapere come ragionavano, pensavano e sapevano prima. Questa regressione può essere facilmente verificata su noi stessi, confrontando competenze di cui disponiamo: quelle di ambito scientifico con quelle di ambito storico o letterario. Al netto della ricaduta culturale di passatempi e passioni, dovremo tornare molto indietro nel tempo per ritrovare la collocazione del nostro livello attuale di competenza in merito alle cause della rivoluzione francese o alle poetiche del romanticismo.

L'ultimo punto riguarda il fatto che le conoscenze scolastiche risultano organizzate in compartimenti (le discipline, i libri di testo, i capitoli, ecc.) e tendenzialmente non subiscono processi di integrazione, di generalizzazione, di consapevole applicazione a situazioni concrete: possono essere richiamate soltanto facendo riferimento al compartimento specifico (come accade nel corso delle interrogazioni). Poiché la fenomenologia reale non è organizzata in compartimenti disciplinari, le conoscenze scolastiche risultano poco utili per affrontare e risolvere i problemi della vita quotidiana.

Così accennati termini ed esiti della formazione scientifica, sembrerebbe un compito accessibile quello di identificare strategie che ne potenzino la completezza, la significatività e l'efficacia. Occorre comunque stabilire quali livelli costituiscono un obiettivo ragionevole, e, in prima istanza, se ha senso mirare a una soppressione delle rappresentazioni di senso comune a favore di conoscenze scientifiche.

Sembra che non abbia senso: cercherò di darne ragione facendo riferimento a una ricerca dedicata alla "visione del mondo".

Qualche anno fa, è stato evidenziato (4) che gli insegnanti di scienze dei Paesi non occidentali (Bostwana, Indonesia, Giappone, Nigeria e Filippine) mantengono un'insospettata disponibilità a spiegare fenomeni singolari facendo riferimento ad assetti teorici di natura antropologica e sociologica (non scientifica). Si è pervenuti a questa conclusione mediante la somministrazione di un questionario che propone la scelta tra spiegazioni classificate come magico-misteriche, parapsicologiche, pseudoscientifiche, religioso-spiritiche e scientifico-razionali, applicate a eventi quali la scomparsa delle navi nel Triangolo delle Bermude, l'arrivo improvviso di una persona che è stata appena nominata, l'efficacia dell'intervento di un guaritore, la percezione da parte degli animali di cambiamenti ambientali (terremoti, uragani, ecc.). I soggetti esaminati, che pure avevano goduto di una esauriente formazione scientifica e avevano scelto di insegnare scienze, erano rimasti fortemente legati alle forme di spiegazione tradizionali che risentono dell'impatto di religione, magia e manifestazioni parapsicologiche sulla gestione delle vicende della vita quotidiana.

Era ipotizzabile che la stessa ricerca nei Paesi occidentali avrebbe sortito risultati diversi? È stato somministrato il medesimo questionario (modificandone il testo solo per il necessario adeguamento terminologico e ricorrendo a giudici per la classificazione delle spiegazioni alternative) a 217 insegnanti italiani di Udine, Potenza e Roma (5).

La consegna è stata così formulata: "Leggi i casi presentati e - indipendentemente dal fatto che siano reali o inventati - indica se ti sentiresti di sostenere o adottare ognuno dei commenti e delle spiegazioni che ti proponiamo".

Un caso, come esempio: "Si sente parlare spesso di persone che sopravvivono a periodi di coma più o meno prolungati o a episodi di morte dichiarata. Quando riprendono conoscenza raccontano di visioni e sensazioni interessanti. Cosa ne pensi?"

Le spiegazioni possibili (e la classificazione dei giudici) sono:

- l'anima sopravvive alla morte fisica (connotazione religioso-spiritica);
- le funzioni cerebrali non si interrompono immediatamente quando il cuore si ferma, quindi le esperienze successive alla morte sono simili ai sogni (connotazione scientifico-razionale);
- quelle persone hanno iniziato il viaggio verso l'aldilà (connotazione religioso-spiritica);

- visioni e sensazioni sono dovute all'intervento dell'angelo custode (connotazione religioso-spiritica);
- l'anima, lasciato il corpo, cerca di ricongiungersi all'energia universale dalla quale ha avuto origine (non classificata).

Se valutiamo il grado di accordo-disaccordo con le spiegazioni riferite a otto diversi casi e se lo confrontiamo con quello rilevato nella ricerca originale, la differenza appare molto limitata. In particolare, il disaccordo con le spiegazioni di impronta magico-misterica varia in Africa e in Asia dal 47% al 61%, in Italia si attesta al 66%. L'accordo con le spiegazioni classificate come scientifico-razionali varia in Africa e in Asia dal 34% al 37%, in Italia si attesta al 53%: si tratta di valori più alti, ma l'entità e lo scarto non rendono conto dell'appartenenza alla cultura che ha generato la scienza e che ha orientato una radicale trasformazione dell'ambiente e della qualità della vita umana con i progressi e con i successi del pensiero scientifico.

Dall'analisi dei dati (qui appena abbozzata) si può trarre almeno un'indicazione operativa: un insegnante di scienze deve fare i conti con la tendenza culturale - sua propria e dei suoi alunni - ad adottare spiegazioni non scientifiche (o scientificamente non rilevanti). Non si tratta di progettarne o vagheggiarne la soppressione. Si tratta al contrario di valutarne la funzione e i pregi, di cercare di capire se e in quali casi e contesti ha un senso ed è lecito praticare il terreno della magia o della parapsicologia, e quando è necessario abbandonarlo.

Non si confonda questo atteggiamento con una sorta di tolleranza culturale. Dal momento che nell'occidente tecnologico e scienziato gli insegnanti di scienze indulgono all'adozione di spiegazioni non scientifiche, è proprio l'interpretazione critica in chiave evolucionista, darwinista, di questo comportamento che impone di considerarlo adattativo. Perché negare la rilevanza del pensiero magico o religioso rispetto, ad esempio, al benessere psicologico della persona o alla sollecitazione della creazione artistica?

Se si ammette la legittima coesistenza di modalità alternative di spiegazione, i tradizionali obiettivi della formazione scientifica, che attengono alle modalità di costruzione di conoscenza e alla configurazione di un adeguato repertorio di saperi, debbono essere coniugati con l'obiettivo relativo alla capacità di individuare le occasioni in cui è necessario adottare quelle modalità e applicare quei saperi.

Di questo si dovrà tenere conto se e quando ci si troverà, a scuola, ad affrontare questioni complesse che le conoscenze scientifiche contribuiscono a definire limitatamente ad aspetti non sempre cruciali.

Conoscenza, comunicazione e integrazione sociale

Torniamo ai tradizionali obiettivi della formazione scientifica. Una percezione ampiamente condivisa non riconosce alla scuola una funzione formativa, ma piuttosto quella di somministrazione di saperi. Poiché si pretende che le discipline scolastiche configurino strumenti di lettura della realtà (strumenti nel senso più ampio, strumenti per accedere a un'autonoma valutazione delle problematiche reali, per approfondire autonomamente la conoscenza della realtà stessa) quantomeno occorre riconfigurare la cornice teorica che informa le metodologie didattiche correnti.

Stimoli decisivi sono maturati nell'ambito della teoria cognitivista della conoscenza e hanno prodotto una concezione di insegnamento/apprendimento che viene denominata costruttivista (6, 7): "ogni persona costruisce attivamente il proprio sapere". Questa affermazione non deve essere letta come uno slogan. Si colga piuttosto la metafora del processo di apprendimento, facilmente condivisibile e convincente: considerata la conoscenza come una costruzione (di concetti, tenuti insieme da nessi logici), per incrementarne la complessità e le dimensioni occorre esplorare e valutare la consistenza delle fondamenta e le direttrici del progetto già realizzato. In altri termini, non si può ristrutturare o ampliare un assetto di conoscenze se non partendo da ciò che è già stato costruito e da come è stato costruito nella mente di chi apprende (le preconcoscenze, le modalità di ragionamento).

Proviamo a leggere un episodio di insegnamento-apprendimento in chiave costruttivista. Colui che si appresta ad apprendere dispone già di un assetto di conoscenza, di una rete semantica, di significati che ha determinato e organizzato sulla base dell'esperienza, giorno dopo giorno, dalla nascita. La nozione proposta dall'insegnante - il segmento di conoscenza - si configura potenzialmente come sottoinsieme di un comparto dell'assetto: può accadere che trovi immediatamente una collocazione se esistono somiglianze tra il segmento e un comparto (la medesima parola, la medesima struttura logica). Ragioniamo al limite: se l'insegnante parla in cinese, i più volenterosi tra gli alunni italiani cercheranno di memorizzare i suoni delle sue parole, ma in breve il ricordo si confonderà dal momento che non sarà stato trasmesso alcun significato, non sarà risultato possibile stabilire nessuna relazione logica tra quei suoni e i significati dell'assetto tale da indirizzare una motivata disposizione della nozione. Se l'insegnante propone invece un'informazione che gli alunni considerano di senso compiuto, potrà essere individuata, ad esempio, una parola che è anche presente nell'assetto o che si collega agevolmente a una diversa parola presente nell'assetto.

Per proseguire nella descrizione del processo di acquisizione di conoscenza, vorrei utilizzare ancora le parole come vettori per il reperimento della sede di integrazione di nuove nozioni. Ebbene, non vi è alcuna garanzia che parole cruciali utilizzate nella trasmissione di informazioni scientifiche abbiano lo stesso significato per chi parla (l'insegnante) e per chi ascolta (l'alunno). È sufficiente consultare un dizionario della lingua italiana per rendersi conto che la pluralità dei significati di un termine è la norma. In alcuni casi l'ambito semantico di un termine è talmente ampio da far ritenere quasi miracolosa - o affidata a una notevolissima capacità di inferenza - la realizzazione di una comunicazione senza equivoci. A tal fine la condivisione degli ambiti di contestualizzazione è decisiva. Si pensi alla parola "tempo" che in italiano (non è così in inglese) investe sia la meteorologia (*weather*), sia la cronologia (*time*), eppure credo che nelle conversazioni abituali accada raramente di confondere questi due diversi significati. All'opposto quando l'uso di una parola fa riferimento alla pratica di ambiti differenti da parte degli interlocutori (quello della disciplina per l'insegnante, quello della vita quotidiana per lo studente) parole come "forza", "reazione", "adattamento" potranno determinare una concettualizzazione spuria a causa del trascinarsi di significati propri del linguaggio comune nell'area del linguaggio scientifico.

In generale i problemi della comunicazione, relativi all'essenza e alle modalità d'uso del linguaggio, sono tanto più gravi quanto più diverse sono le esperienze, le competenze e gli interessi degli interlocutori.

Quanto sono diverse le esperienze, le competenze e gli interessi di un insegnante e di uno studente? Occorre che a scuola sia adottata una forma di comunicazione che consenta di negoziare le rispettive conoscenze, di ottimizzare la condivisione dei significati. Occorre che l'insegnante parli e quindi ascolti gli alunni, per cogliere eventuali distorsioni che si sono verificate nella ricezione del suo messaggio, per valutare la congruenza dei termini utilizzati all'atto della riformulazione di concetti, per individuare i terreni praticati per la contestualizzazione (esempi, analogie, metafore).

Se a scuola la negoziazione è possibile, in altre sedi di diffusione delle conoscenze scientifiche non lo è: questo limite può fornire l'opportunità di improntare la comunicazione a finalità "altre", che potenzialmente interferiscono con la chiarezza, con la correttezza e con la comprensibilità del messaggio. Quando gli scienziati presentano gli esiti delle loro ricerche nei mezzi di comunicazione di massa, indulgono all'esigenza di affermare il proprio prestigio (e di attirare finanziamenti); quando i mezzi di comunicazione di massa illustrano teorie e scoperte scientifiche non possono prescindere dagli interessi e dalle inclinazioni politico-ideologiche del pubblico.

Gli insegnanti sono bersagliati da altri messaggi diversamente devianti: quelli della gente che pretenderebbe di rimanere ancorata ai problemi della vita reale e alla logica del senso comune (spesso coincidente con il buon senso) e quelli degli scienziati che traducono o divulgano discorsi scientifici nella convinzione che non siano alla portata di chi non è impegnato, o comunque non è più impegnato, in attività di ricerca. Dagli insegnanti di scienze la gente si aspetta un contributo verso l'acquisizione del controllo dei prodotti della conoscenza scientifica: le applicazioni tecnologiche (elettricità, automobile, materie plastiche) che vorrebbe usare, adattandole alle proprie esigenze; degli strumenti e delle metodologie di diagnosi e cura delle malattie (ECG, NMR, chemioterapia) che non vorrebbe subire, assoggettandosi alla mediazione di esperti. Si aspetta un contributo anche verso l'acquisizione della capacità di orientarsi autonomamente laddove è richiesto di sostenere o contrastare scelte politiche di rilevanza generale o personale connesse con problemi quali la crisi energetica, la fame, i disastri ecologici.

Interventi strategici

Poiché è convinzione largamente condivisa che l'attuale formazione scolastica deluda le aspettative citate in precedenza, sono stati individuati e praticati diversi livelli di intervento e diverse strategie di innovazione metodologico-didattica.

Il primo livello, rappresentato dai contenuti dell'insegnamento scientifico, è stato affrontato, ad esempio, dal National Research Council per la definizione del *National Standard for Science Education in US Schools* (8) raccomandando la riduzione delle informazioni da imparare ("...l'evidente necessità di includere nei libri di testo tutti gli argomenti, i termini e le informazioni è in diretto conflitto con l'obiettivo fondamentale di garantire agli studenti un apprendimento significativo del sapere scientifico"), l'attenzione all'acquisizione dei concetti, la rilevanza del laboratorio.

Un altro modo di incidere sui contenuti è fondato sull'attribuzione di una prevalente rilevanza alle competenze (*content transcendent goals*), che peraltro sono state variamente indicate dagli esperti a partire dall'inizio del secolo scorso: la pratica del pensiero riflessivo (9), la capacità di distinguere e di applicare i principi di tattica e di strategia della scienza (10), la visione della scienza come ricerca (11), la capacità di adottare le procedure della ricerca scientifica ogniqualvolta si incontra un nuovo problema (12), la disposizione a confrontare i saperi acquisiti con il processo di evoluzione razionale della conoscenza scientifica (13).

Un secondo livello di intervento riguarda le condizioni al contorno dell'azione didattica, ovvero l'organizzazione degli ambienti scolastici e la progettazione delle azioni didattiche che si suggerisce debbano tenere conto degli stili di apprendimento degli studenti. Pedagogisti e psicologi hanno esaminato gli esiti della variazione di tipo o di intensità di singoli stimoli (14): ambientali (suono: silenzio o musica?; luce; temperatura; arredi: sedili rigidi o imbottiti?), emozionali (motivazione; persistenza: un impegno alla volta o più impegni contemporaneamente?; responsabilità; struttura: istruzioni dettagliate o autonomia di organizzazione?), sociologici (da solo, in coppia, con i pari, con adulti, in gruppo), fisiologici (percezione: assunzione delle informazioni per via visiva, auditiva, tattile o cinestetica; nutrimento; orario; movimento), psicologici (esigenza di contestualizzazione o di visione panoramica; processazione iniziale dell'informazione da parte dell'uno o dell'altro emisfero cerebrale; esigenza di tempo per l'elaborazione a fini cognitivi). Risulta ampiamente dimostrata l'efficacia di un insegnamento rivolto a studenti opportunamente stimolati, ma non è realistico proporsi di praticare, in linea di principio e sistematicamente, condizioni ottimali per ognuno di venti o trenta studenti. Quindi l'intervento di assecondamento dello stile cognitivo deve necessariamente essere riservato alla soluzione di casi particolari, in situazioni eccezionali di disagio o di difficoltà.

Una particolare attenzione è dedicata dai ricercatori in didattica al livello della comunicazione, con la impostazione e la sperimentazione di strategie volte a migliorare la fruibilità della lezione: domande poste nel corso della lezione, lavoro preventivo degli studenti su materiali di documentazione, dimostrazioni dirette o in video, lezione-dibattito in compresenza di due insegnanti, miniquestionario somministrato sistematicamente qualche minuto prima dello scadere dell'orario, alternanza di attività (interruzione attiva), o concessione di pause (interruzione passiva), distribuzione di materiali (scaletta, parole chiave, bibliografia, griglia per appunti, esercizi).

Sono state anche suggerite strategie che consentono di incidere - orientandole - sulle idee degli studenti: l'uso mirato dell'analogia, l'interazione comunicativa in forma scritta e orale, il cosiddetto *learning cycle* (15, 16) ovvero la sequenza "individuazione di misconcetti - determinazione di conflitto cognitivo - confronto tra vecchie e nuove idee - applicazione delle nuove idee".

Infine, sono state proposte una grande varietà di metodologie innovative nell'ambito dell'*active learning* e del *cooperative learning*. D.R. Paulson e J.L. Faust (17) hanno catalogato, etichettato e definito ben 29 diverse azioni didattiche più e meno facili da adottare, che richiedono da pochi minuti a qualche settimana di lavoro dedicato e che possono concorrere a risolvere problemi diversi di insegnamento-apprendimento. Tutte utilizzano e ottimizzano la comunicazione interattiva tra insegnante e studenti o tra gli studenti.

Così l'*one minute paper*, che si realizza in due fasi: la distribuzione agli studenti di un foglio su cui rispondere - in un tempo non superiore a due minuti - a una domanda relativa all'oggetto della lezione, e la discussione - protratta per una decina di minuti - mirata alla categorizzazione delle risposte e alla selezione di alternative condivise (e possibilmente corrette). Così pure il *role-playing*: un gruppo di studenti, dopo un'accurata attività di documentazione impostata dall'insegnante e completata autonomamente, rappresentano una azione in cui si confrontano diversi punti di vista su una questione che coniuga il versante scientifico con quello socio-economico o etico. Un'azione dedicata alle biotecnologie potrebbe impegnare gli studenti nel ruolo del genetista, del medico, del malato, del familiare del malato, del sacerdote, ecc. La preparazione a una consapevole ed efficace assunzione del ruolo assegnato comporta una seria attività di documentazione, con il ricorso alle riviste scientifiche, a siti Internet di organizzazioni diversamente connotate sul terreno politico e sociale, alla stampa (quotidiani, settimanali di attualità, periodici scientifici a carattere divulgativo) e potrebbe svolgersi parallelamente alla consueta attività didattica, nell'arco di un mese, richiedendo agli studenti qualche ora di lavoro a scuola e qualche ora a casa.

Contiguo al precedente è il livello della contestualizzazione che attiene al proposito di agevolare l'integrazione delle conoscenze disciplinari nei contesti della vita reale al momento stesso della presentazione. Si scongiura il rischio che l'insegnamento disciplinare appaia fine a se stesso (studiare la disciplina per conoscere la disciplina, per superare l'esame, ecc.) e nel contempo si impostano e si esercitano strumenti di analisi della realtà e di intervento che comportano l'utilizzazione delle conoscenze disciplinari. È stato suggerito il ricorso a una didattica interdisciplinare che dia un adeguato risalto agli aspetti filosofici, sociologici, storici, politici, economici e umanistici della scienza. Oppure a una didattica monografica, che organizzi le conoscenze disciplinari nell'ambito di problematiche generali, attuali e rilevanti. Negli USA, una commissione costituita da professori di scienze ha indicato 12 tematiche che possono essere affrontate spendendo creatività e competenze (in particolare scientifico-tecnologiche): la crescita della popolazione, le risorse idriche, la fame e le risorse alimentari, la qualità dell'aria e dell'atmosfera, la tecnologia bellica, le limitazioni energetiche, l'uso del territorio, la salute e la malattia dell'uomo e le sostanze pericolose. Oggi le biotecnologie (Organismi Geneticamente Modificati - OGM, terapia genica) o le nuove malattie ("mucca pazza", SARS) forniscono altri esempi di temi che possono rappresentare una cornice contestuale nella quale inserire un programma di scienze.

Un ultimo livello di intervento è rappresentato dalla concezione di formazione complessiva (della persona, del cittadino): è evidente che una sostanziale e drastica modifica della funzione della scuola si tradurrebbe in un rinnovamento dei programmi e delle pratiche didattiche, e nel conseguente mutamento degli esiti. In Francia, dove il sistema scolastico è saldamente centralizzato e rigidamente controllato, è stato affidato a un superesperto, Edgar Morin, il compito di individuare e illustrare i saperi necessari all'educazione del futuro (18). Il sociologo francese non ha proposto contenuti minimi, né conoscenze di base collocate in aree disciplinari cruciali, ma sette saperi che potremmo definire trans- o meta-disciplinari: la conoscenza della conoscenza ("conoscere che cosa è conoscere"), la conoscenza pertinente ("sviluppare l'attitudine naturale della

mente umana e situare tutte le informazioni in un contesto o in un insieme”), la condizione umana (“l’essere umano è nel contempo fisico, biologico, psichico, culturale, sociale, storico. Questa unità complessa della natura umana è completamente disintegrata nell’insegnamento”), l’identità terrestre (“il destino ormai planetario del genere umano è un’altra realtà fondamentale ignorata dall’insegnamento”), le incertezze della scienza (“principi di strategia che permettono di affrontare i rischi, l’inatteso e l’incerto e di modificarne l’evoluzione grazie alle informazioni acquisite nel corso dell’azione”), la comprensione (“la reciproca comprensione fra umani, sia prossimi che lontani, è ormai vitale affinché le relazioni umane escano dal loro stato barbaro di incomprensione”), l’antropoetica (“capace di riconoscere il carattere ternario della condizione umana, che consiste nell’essere contemporaneamente individuo/specie/società”).

Zoom sull’apprendimento attivo

Senza impegnarsi in esami comparativi che orientino alla scelta del livello di intervento e della strategia più produttivi, sembra ragionevole, intellettualmente stimolante e funzionale agli obiettivi della formazione nel campo delle biotecnologie, prefigurare una didattica che veda lo studente attivo.

Vorrei sgombrare innanzitutto il campo dalle forme di attivismo già ampiamente praticate: alludo in particolare alle cosiddette “ricerche” che sono per lo più episodi di collezionismo acritico e disorganico di mere informazioni, aggravato in anni recenti dall’accesso a Internet e dalla limitata fantasia nell’individuazione delle parole da affidare ai motori di ricerca, cosicché i prodotti delle ricerche scolastiche sono intollerabilmente conformi e convenzionali.

Sono certamente più pregevoli le sollecitazioni alle quali ho già accennato in quanto codificate con riferimento all’*active learning*, e che possono essere utilizzate nel corso della lezione, la forma di insegnamento più utilizzata e più diffusa oggi - e verosimilmente in futuro - all’università e nella scuola preuniversitaria. Si tratta di piccoli trucchi, di procedure minime che attirano lo studente all’interno dell’area tematico-problematica presentata dall’insegnante, catturandone l’attenzione, impegnandolo, escludendo la possibilità che sia totalmente assente o distratto. Ad esempio: l’insegnante impone un’attesa di 15 secondi dopo la formulazione di una domanda e, quindi, prima di interpellare uno studente: dà così tempo per ragionare, per elaborare (la “botta e risposta” gratifica gli studenti attenti e motivati, ma aggrava l’alienazione degli altri). Oppure: l’insegnante interrompe la lezione dopo la presentazione di un concetto cruciale e chiede agli studenti di leggere, confrontare e discutere gli appunti che hanno preso. Oppure ancora: l’insegnante pone una domanda e chiede agli studenti di elaborare e argomentare una risposta, lavorando in coppie. Si determinano così occasioni per esprimere, confrontare e negoziare conoscenze e opinioni.

Una proposta più organica viene dalla Germania. È esemplificata in un lavoro presentato al convegno dell’associazione ERIDOB (European Researches in Didactic of Biology) (19), ed è applicata proprio all’insegnamento della genetica molecolare. L’assunto teorico risiede nell’opportunità di inquadrare un itinerario didattico, tenendo conto di tre dimensioni: i contenuti, i contesti e le attività (*multi-dimensional planning*). I contenuti corrispondono ai comunemente noti *contenuti*

minimi, i saperi che - a giudizio e in base alla competenza dell'insegnante - definiscono il campo della genetica molecolare, nel caso specifico, e che sono elencati nella prima colonna della Tabella. La seconda colonna presenta i contesti che possono essere adottati per l'introduzione alla genetica molecolare.

Tabella - Tre dimensioni per l'elaborazione di un intervento didattico nel campo della genetica molecolare

Concetti fondamentali	Dimensioni	
	Contesti	Attività
Trasformazione	Metodologico	Assunzione passiva di informazione
Coniugazione	Normativo	Assunzione attiva di informazione
Trasduzione	Individuale	Attività pratica
Modello del DNA (Watson e Crick)	Sociale	Attività scientifica
Duplicazione semi-conservativa	Ecologico	Valutazione
Struttura e funzione delle proteine	Globale	Comunicazione
Codice genetico e sintesi proteica: trascrizione e traduzione		
Cause e conseguenze della mutazione		
Ricombinazione artificiale nei batteri		
Applicazioni a microrganismi, a piante e ad animali		
Diagnosi genetica e modificazioni del genoma umano		

È stato sondato il gradimento degli studenti per i diversi contesti, utilizzando il primo questionario (Appendice 1). È evidente che la formulazione del questionario ha indotto gli insegnanti a identificare una serie di casi concreti e realistici, emblematici dei diversi contesti. Li ha perciò orientati a contestualizzare i contenuti specificati nella prima colonna, i classici temi dell'insegnamento disciplinare.

La terza colonna della Tabella è dedicata a sei tipologie di attività didattiche, tutte idonee allo sviluppo di un'adeguata azione didattica, variamente rappresentate nel secondo questionario (Appendice 2), che è stato utilizzato ancora una volta per esplorare le preferenze degli studenti. Non si intende attribuire valore assoluto agli esiti della somministrazione di un simile questionario, ma riferirli al tema particolare e al momento particolare: dopo un'escursione gli studenti potrebbero preferire l'impegno nella consultazione autonoma di testi, e dopo una sequenza di lezioni teoriche l'esecuzione di esperimenti.

La contestualizzazione dei saperi si coniuga con un'attenzione privilegiata alle capacità di argomentazione e di negoziazione nel metodo imperniato sull'a-

dozione di *concept-cartoons*. Presentato nel 1999 al convegno di ESERA (European Science Education Research Association, www.esera.net) (20) il metodo consiste nella impostazione di una vignetta dove personaggi diversi assumono posizioni diverse e diversamente corrette o sbagliate rispetto a una questione che investe fenomeni e quindi saperi scientifici. Le posizioni alternative possono essere individuate dall'insegnante sulla base della sua esperienza (aspetti essenziali o comunque rilevanti, distorsioni o errori di concettualizzazione) o con riferimento ai dati di ricerche dedicate alla definizione di misconcetti e di rappresentazioni di senso comune. Agli studenti è richiesto di scegliere tra le alternative proposte e - obbligatoriamente - di argomentare la scelta. L'insegnante potrà, quando tutti gli studenti avranno preso posizione, attivare una discussione orientata all'elaborazione di un'unica posizione corretta e condivisa. Un esempio è presentato nella Figura (in Appendice 3 viene riportato il problema PBL corrispondente).

Tra i pregi essenziali del metodo il fatto di limitare la trattazione della questione ai punti individuati dall'insegnante come cruciali (e corrispondenti alle posizioni dei personaggi) e la possibilità di esaurire l'azione in un tempo breve (30-60 minuti), posto che la questione e gli obiettivi didattici perseguiti non richiedano un supplemento di documentazione rispetto alle preconoscenze dei partecipanti o ai termini della precedente offerta didattica.

Formalmente l'insegnante si limita a moderare gli interventi e la discussione, ma gode della straordinaria opportunità di osservare i ragazzi: li vede agire in una situazione in cui mettono in gioco le loro conoscenze, la capacità di affermare le proprie opinioni e di modificarle, può quindi valutare diversi aspetti di padronanza concettuale e critica.

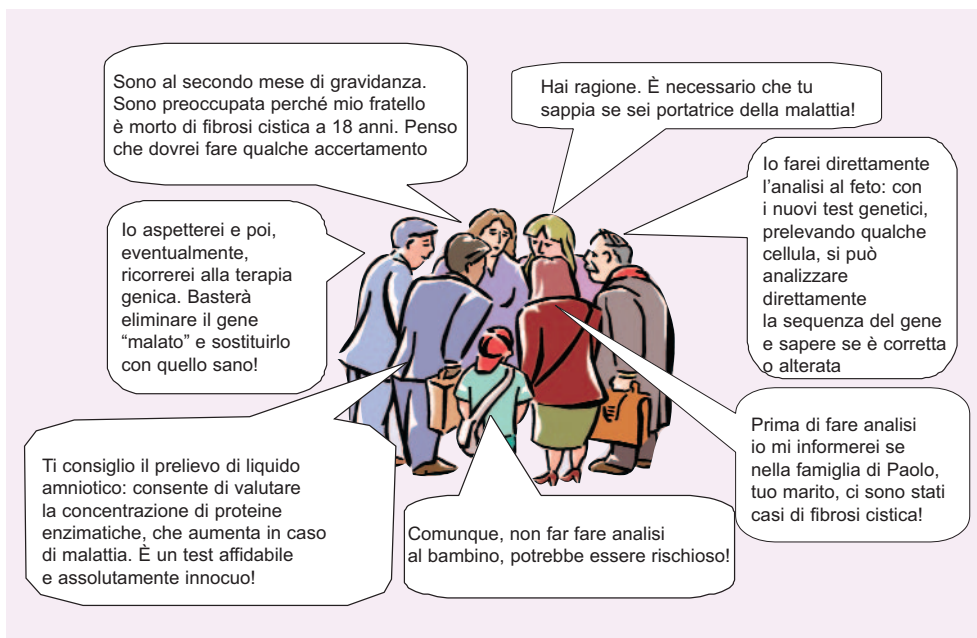


Figura - Esempio di *concept cartoon*

Il *concept cartoon* può essere utilizzato non proprio canonicamente proponendo agli studenti una questione o un problema nella forma di affermazione espressa dal personaggio centrale della vignetta (ad esempio, “La sperimentazione delle biotecnologie utili in campo medico richiede un’inaccettabile sperimentazione sugli animali e anche su esseri umani, volontari”) e sollecitandoli a formulare un certo numero di opinioni/soluzioni alternative, aderendo in tutto o in parte allo spirito della formulazione o opponendosi decisamente. Allo scopo gli studenti dovranno esprimere e analizzare criticamente le proprie reazioni spontanee e dovranno quindi documentarsi per tener conto sia di aspetti significativi dal punto di vista scientifico, sia di considerazioni effettivamente proposte da esperti, enti e associazioni interessati alla questione.

Immagino sia risultato evidente che il metodo fondato sui *concept cartoons* è una derivazione, di più agile uso, del PBL. Molti insegnanti infatti, pur apprezzando le valenze formative del PBL, quando si sono provati a praticarlo hanno trovato difficoltà (21), correlate anche con la mancanza di spazi e arredi adeguati (tavoli e sedie opportunamente dislocati e proporzionati al lavoro di gruppo di 6-8 studenti), con la sottrazione di un tempo eccessivo allo sviluppo delle azioni didattiche in qualche modo obbligate, con la necessità di disporre di una documentazione efficace, che o richiede un ulteriore e indebito - rispetto a una fedele applicazione del metodo - lavoro dell’insegnante o un impegno troppo gravoso per gli studenti, che tenderanno a ignorare la bibliografia più specificamente scientifica e le fonti qualificate, a favore di miscellanee recuperabili in rete, diversamente connotate quanto a finalità e affidabilità.

Peraltro, è sempre più diffusa e assecondata anche nelle università europee l’esigenza di garantire, nell’ambito della formazione scientifica, un’esperienza in cui lo studente assuma un ruolo attivo e il sapere disciplinare una connotazione applicativa. In Danimarca l’elaborazione della soluzione di un problema da parte di un gruppo di studenti assistiti da un *tutor* è parte integrante del piano di studi e attribuisce un numero di crediti formativi pari a quello attribuito per il superamento di prove più tradizionali. L’esempio di problema illustrato durante un recente congresso che si è tenuto a Copenhagen (22) è reale: il Comune aveva effettivamente concesso all’università dieci ettari di terreno, il mare effettivamente salava ricorrentemente questo terreno ed effettivamente era opportuno far fruttare il terreno. Questo il testo del problema proposto a studenti della facoltà di agraria: “Il Comune ha concesso in uso all’università dieci ettari di terreno agricolo situato in una regione costiera che viene periodicamente sommersa dalle acque di marea. Il gruppo di lavoro individuerà le colture che è opportuno praticare per garantire all’università un rendimento che sarà reinvestito in servizi didattici.” E questo è un problema attinente al tema del corso:

“Il responsabile delle edizioni RAI-ERI ti sottopone i due brani seguenti tratti dal libro di D. Cugia “Domino” che ha ispirato uno sceneggiato di grande successo.

«Le fu spiegato, con il tatto dovuto, che i cinesi lavoravano segretamente alla clonazione umana sin dai primi anni sessanta. Essi riuscirono a ricavare la sequenza del DNA dal bulbo di un capello, a isolare una delle cellule somatiche e a prelevarne il nucleo. Dieci anni più tardi scoprirono come riuscire a impiantarli nel citoplasma di un uovo femminile al quale era stato neutralizzato in precedenza il proprio nucleo originario».

segue

(continua)

«Quanto impieghi adesso per arrivare al prodotto finito? Per la gravidanza nella madre bionica artificiale, nove giorni, contro i nove mesi di madre natura – rispose Tung con orgoglio. Questo per il clone neonato - osservò il Venerabile - E per svilupparlo fino all'età equivalente del soggetto originale? L'inventore illustrò d'essere riuscito ad alterare i geni del tempo, velocizzando la crescita dei cloni adulti... Nelle vasche *teacher*, grazie ai simulatori virtuali e agli elettrodi collegati con le strutture neuronali, i cloni evolvono dalla primissima infanzia alla maturità...».

Ti vengono affidati due compiti:

- 1) La correzione formale del testo (ovvero la sostituzione di termini e di espressioni che risultano ambigui o scorretti dal punto di vista scientifico anche se non si entra nel merito del procedimento descritto);
- 2) una valutazione della credibilità della fattibilità del procedimento.

Ti viene chiesto di argomentare sia le correzioni, sia le valutazioni al fine di convincere l'autore ad apportare le opportune modifiche nella prossima edizione del libro.

In Israele, un Paese dove si dedica una straordinaria attenzione e cura alla formazione, è stata definita e utilizzata un'altra metodologia derivata dal PBL. Gli obiettivi specifici riguardano l'acquisizione da parte degli studenti della consapevolezza relativa ai limiti di competenza rispetto all'analisi e alla soluzione di un problema e della capacità di orientarsi, discriminando i diversi aspetti problematici - non dichiarati - di una situazione complessa (*ostension-teaching approach*).

Si parte da un "caso". G. Olsher e A. Dreyfus (23) lo presentano in forma di messaggio rivolto agli studenti:

"Caro studente, come sai, le tecniche dell'ingegneria genetica consentono di far produrre a microrganismi in modo efficiente e rapido, a basso costo, grandi quantità di prodotti chimici importanti. Questi prodotti sono utilizzati in medicina, in agricoltura e in altri campi. Attualmente nel mondo sono attive centinaia di industrie biotecnologie che adottano le metodologie dell'ingegneria genetica. Negli ultimi 5 anni, l'investimento mondiale complessivo nel settore biotecnologico è valutato miliardi di dollari.

Anche nel nostro Paese ci sono molte industrie impegnate nell'ingegneria genetica. A Rehovot - dove c'è un'università, una facoltà di agraria - è coltivata una pianta che produce ormone della crescita destinato al bestiame, in modo che le mucche producano più latte. I ricercatori sono riusciti a isolare il gene che è responsabile della produzione dell'ormone della crescita nell'ipofisi della mucca. Lo hanno introdotto in cellule batteriche che pertanto producono l'ormone. L'industria è attualmente impegnata nella sperimentazione clinica e ha già richiesto la licenza per commercializzare l'ormone prodotto dai batteri. Studi economici hanno dimostrato che la somministrazione dell'ormone ai bovini sarebbe altamente remunerativa.

Sei il coordinatore di una commissione pubblica che deve decidere se permettere all'industria di distribuire il prodotto sul mercato:

- 1) Incontri i ricercatori dell'industria. Che cosa vuoi sapere da loro?
- 2) Tu personalmente voterai a favore o contro la diffusione del prodotto?"

segue

Il “caso” è un tipico problema (nell’accezione presentata in relazione al “PBL”). La prima domanda mira a mettere alla prova la capacità di individuare gli aspetti problematici. La seconda a consentire allo studente di confrontare le sue posizioni assunte l’una prima e l’altra dopo un’analisi effettivamente puntuale della questione. Tale analisi sarà sollecitata suggerendo una serie di domande che ha senso rivolgere ai ricercatori:

- Il trattamento con l’ormone altera il gusto del latte?
- Se si consuma il latte prodotto da mucche alimentate con l’ormone si corre qualche rischio?
- Questa applicazione delle biotecnologie apre la strada alla produzione di altri prodotti utili?
- I microrganismi utilizzati per la produzione dell’ormone possono essere o diventare pericolosi per l’uomo?
- La somministrazione dell’ormone fa subire agli animali qualche tipo di sofferenza?
- L’ormone può avere effetti nocivi a lungo termine?
- È lecito alterare processi naturali solo per far guadagnare più soldi a qualcuno?
- Il metodo può in qualche modo nuocere agli animali? Può avere effetti collaterali?

Nell’esperienza descritta da Oisher e Dreyfus la semplice riflessione sugli aspetti problematici individuati dalle domande determina un significativo cambiamento dell’atteggiamento degli studenti nei confronti della questione. In altri termini, la contestualizzazione dell’applicazione biotecnologia, l’ampliamento della gamma di informazioni oltre quelle strettamente scientifiche è rilevante per la formazione del giudizio, quel giudizio che a sua volta è rilevante per consentire al cittadino di contribuire consapevolmente alla gestione della cosa pubblica. Superfluo sottolineare che normalmente a scuola sarebbero affrontati principi e tecniche di produzione dell’ormone da parte dei batteri, e non si attiverebbero i canali di potenziale, opportuno collegamento con l’alimentazione e con la salute dell’uomo, con la qualità della vita degli animali, con le implicazioni economiche, produttive e anche etiche.

Concreti supporti

Ecco una scheda che propone sette domande per controllare se il problema ideato dall’insegnante è correttamente impostato rispetto alle finalità formative pre-stabilite:

Titolo del problema	_____
Obiettivo formativo prevalente	_____
1. La situazione è pertinente?	Le conoscenze/competenze disciplinari sono rilevanti e sono integrate in un contesto di vita reale
2. Chi propone il problema?	Chi richiede la soluzione del problema - nel caso sia indicato - ha autorità e autorevolezza tali da sollecitare un impegno serio ed efficace

segue

(continua)

3. Esiste un problema?	a) Emerge chiaramente la necessità di elaborare una soluzione, e in particolare una soluzione tipologicamente ben caratterizzata b) Non si tratta di un compito (ovvero di un problema che può essere risolto utilizzando conoscenze già acquisite dagli studenti)
4. Le informazioni fornite sono necessarie e sufficienti?	a) Il testo non fornisce informazioni che potrebbero portare fuori strada (distrattori) b) Gli studenti dispongono già di informazioni utili per la comprensione e per l'analisi del problema
5. Chi è chiamato a risolvere il problema?	La figura professionale o la persona alla quale è richiesta soluzione del problema - nel caso sia indicata - è tenuta ad avere le competenze necessarie
6. Chi usufruirà della soluzione del problema?	Il linguaggio, la complessità logica e l'approfondimento dell'informazione disciplinare adottati per la formulazione dell'argomentazione/spiegazione debbono corrispondere alle competenze delle persone alle quali si intende sia rivolta - nel caso siano indicate
7. Le risorse necessarie sono accessibili?	L'insegnante ha verificato la disponibilità di testi, riviste scientifiche, documenti, siti Internet, enti, esperti, ecc., adeguati per quantità e qualità

L'insegnante potrà elaborare autonomamente griglie che consentano la rilevazione di dati utili per la valutazione degli studenti nel corso del lavoro di gruppo (vedi PBL) o della discussione (vedi *concept cartoon*). Avrà cura di limitare l'osservazione a 6/8 ragazzi e di distinguere tra rilevazione di competenze comportamentali e conoscenze/competenze disciplinari.

Una griglia dedicata alla competenza lessicale in ambito disciplinare potrebbe essere impostata come segue:

1	2	3	4	5	6

I numeri saranno sostituiti con i nomi dei sei studenti osservati e nelle caselle di ogni colonna (ovviamente più numerose di quelle sopra presentate) saranno via via inserite le parole o le espressioni utilizzate dallo studente per indicare oggetti o eventi significativi rispetto alla trattazione del tema in discussione. L'insegnante potrà predefinire un elenco di parole chiave ricavandole dal suo repertorio personale (al quale attinge per le lezioni), dal libro di testo, dai materiali di documentazione forniti agli studenti o da essi recuperati: gene, genoma, plasmidio, trasposone, vettore, enzima di restrizione, trasformazione, ecc. Potrà essere registrata la correttezza d'uso, la frequenza assoluta e relativa al ricorso a espressioni alternative meno rigorose. Potrà essere definito il grado di padronanza lessicale e potrà essere realizzato un confronto tra quello manifestato all'inizio di una azione didattica e quello raggiunto alla fine.

Una griglia dedicata alle modalità di partecipazione all'attività di gruppo potrebbe prevedere tre tipi fondamentali di intervento degli studenti coinvolti: affermazioni, domande e proposte. Potrebbe al contempo distinguere la connotazione degli interventi, valutandone l'intento collaborativo, positivo, o divergente, tendente a distrarre dalla questione, o polemico, critico. L'impostazione potrebbe essere quella che segue:

Intervento	1	2	3	4	5	6
Affermazione con intento collaborativo, positivo						
Affermazione divergente, tendente a distrarre						
Affermazione polemica o critica						
Domanda con intento collaborativo, positivo						
...						

Anche in questo caso i numeri saranno sostituiti con i nomi dei sei studenti osservati e nelle caselle di ogni colonna saranno via via inseriti contrassegni: una crocetta ogni volta che quello studente effettuerà quel tipo di intervento. L'insegnante potrà definire in prima approssimazione il profilo di ogni studente relativo al tipo di contributo che fornisce al lavoro del gruppo e all'atteggiamento con il quale partecipa ad attività collettive; successivamente potrà rilevare e valutare - su base qualitativa e quantitativa - le linee di tendenza del cambiamento.

Da ultimo, uno spunto per riflettere sulla personale tendenza e disponibilità a impegnarsi sul tema del corso. Si tratta delle posizioni che i corsisti* hanno assunto aderendo a una richiesta così formulata: "Tenendo anche conto di

(*) Gli insegnanti partecipanti ai corsi "Biotecnologie in medicina: aspetti scientifici ed etici. Spunti per un'azione didattica", organizzati dall'ISS, Roma.

quanto è stato (o non è stato) trattato in questo corso, indica due buoni motivi che potrebbero indurti a non affrontare a scuola il tema delle biotecnologie in medicina”.

È emerso quanto segue (la sequenza rispetta un ordine di frequenza decrescente):

- gli studenti non hanno le necessarie conoscenze di base;
- gli aspetti tecnico-metodologici sono troppo complessi;
- l'insegnante non può assumere la funzione di arbitro tra le posizioni in materia, che sono estreme e radicali;
- l'insegnante non è in grado di gestire le necessarie relazioni interdisciplinari;
- l'insegnante non dispone delle necessarie competenze mediche;
- l'insegnante teme di essere indebitamente condizionato dalle posizioni personali;
- l'insegnante non ha fiducia negli scienziati;
- l'insegnante rifiuta la visione della biotecnologia come panacea;
- sarebbe necessaria una contestualizzazione troppo ampia.

Alcuni dei partecipanti non hanno individuato buoni motivi che giustificassero la rinuncia a trattare il tema.

Conclusioni

Sono contraria alla formulazione e allo scambio di ricette in ambito professionale e considero in particolare l'esercizio dell'insegnamento fortemente connesso con la storia della persona. Penso quindi che un'esperienza didattica per quanto ben congegnata e manifestamente efficace non sia valida in assoluto, ma relativamente alla storia dell'insegnante che l'ha praticata e alla classe che ne ha usufruito. Mi sembra sensato assumere che le proposte didattiche presentate come metodologicamente qualificate siano vincolate e limitate al contesto in cui sono state realizzate. Tutto può cambiare, se cambia il contesto. Perciò vorrei che quanto ho esposto in questo capitolo fosse considerato come materia di riflessione e di appropriazione secondo direttrici autonomamente definite da ogni lettore. E vorrei aggiungere qualche spunto su questioni di base, meno direttamente correlato con l'active learning e con le biotecnologie. Mi farò aiutare da un personaggio del quale mi sono recentemente infatuata: Milton Erickson, uno psicologo molto noto che ha proposto una metodologia di analisi, di sostegno, dei suoi assistiti basata su un'attenta considerazione delle particolarità di ognuno e su una intensa attività di negoziazione.

Mi piace stabilire un parallelo tra l'azione dello psicoterapeuta e quella dell'insegnante, riportando dal libro "La mia voce di accompagnerà" (24) una prima citazione: "Quando un terapeuta, con o senza l'impiego di racconti, è in grado di aiutare un paziente a entrare in contatto con le proprie conoscenze inutilizzate, questo paziente ha il massimo di probabilità di inglobare questo sapere dimenticato all'interno del proprio comportamento".

Propongo di assumere che il primo obiettivo di un insegnante sia quello di mettere in contatto l'alunno con le sue conoscenze inutilizzate. È assai probabile infatti che qualche particolare o aspetto della materia trattata sia presente nell'assetto di conoscenze dell'alunno: una parola chiave, una rappresentazione, un'esperienza, un ricordo, insomma una qualche possibilità di ancoraggio.

Una seconda citazione: "Quando mi narrava racconti che mi riportavano alle mie prime esperienze di apprendimento, mi era possibile, in stato di trance, rivivere l'immenso sforzo e le frequenti frustrazioni che l'apprendimento di qualunque compito

o capacità comporta. Allo stesso tempo, mi rendevo perfettamente conto che queste capacità le avevo imparate con successo, ciò implicava che avrei potuto imparare a superare altri ostacoli della mia vita presente”.

Propongo di affidare all'insegnante - come compito qualificante e delicato - quello di sostenere lo studente nel suo processo di apprendimento, impegnandosi a dimostrargli che quello che sa, lo ha imparato; che ha già intrapreso un percorso, ha già ottenuto successi e quindi deve semplicemente continuare. Non si tratta di una considerazione ovvia. Pochi di noi si rendono conto di quanta strada hanno fatto per arrivare a essere come sono e a sapere quello che sanno.

Una terza e ultima citazione, anzi, un racconto: “Un'estate, vendevo libri per pagarmi gli studi al college, un giorno, verso le cinque entrai nel recinto di una fattoria e chiesi al contadino se voleva comprare dei libri. Il contadino mi rispose: “Giovanotto, io non leggo niente, non ho bisogno di leggere niente, a me interessano solo i miei maiali”. “Le dispiace se sto qui e parlo con lei mentre dà da mangiare ai maiali?” chiesi io. “No, gira alla larga giovanotto, non ti servirà proprio a niente. Io non posso perdere tempo con te, ho da fare a dare da mangiare ai miei maiali”. E così cominciai a parlare dei miei libri. E poiché ero un ragazzo vissuto sempre in campagna, senza pensarci raccolsi da terra un paio di bastoncini e, mentre parlavo, cominciai a grattare le schiene dei maiali. Il contadino mi vide, si fermò, e disse: “Chiunque sappia grattare la schiena ai maiali nel modo cui piace ai maiali, è uno che voglio conoscere. Che ne dici di cenare con me stasera, e puoi dormire gratis da me, e ti comprerò anche i libri. A te piacciono i maiali. Tu sei uno che sa grattarli nel modo in cui a loro piace essere grattati”.

Propongo, in sintesi, che un insegnante si consideri impegnato soprattutto ad accertare che gli studenti imparino a grattare i maiali. A questo scopo non è utile nulla di quanto è scritto nei libri di testo, ma un costante e profondo radicamento nella vita reale.

Riferimenti bibliografici

1. Silberman M. *Active Learning*. Boston: Allyn and Bacon; 1996.
2. Lazarowitz R, Hertz-Lazarowitz R. Cooperative learning in the science curriculum. In: BJ Fraser & KG Tobin (Ed.). *International handbook of science education*. Dordrecht (The Netherlands): Kluwer Academic Publishers; 1998. p. 449-69.
3. Lord TR. 101 reasons for using cooperative learning in biology teaching. *American Biology Teacher* 2001; 63: 30-9.
4. Ogunniyi MB, Jegede OJ, Ogawa M, Yadiola CD, Oladele FK. Nature of Worldview Presuppositions among Science Teachers in Botswana, Indonesia, Japan, Nigeria, and the Philippines. *Journal of Research in Science Teaching* 1995; 32: 817-31.
5. Bandiera M, Danhoni Neves MC, Vicentini M. Nature of Worldview Presuppositions among Science Teachers in Italy and Brazil. *Acta Scientiarum* 1999; 21: 97-106.
6. Ausubel DP. *Educazione e processi cognitivi*. Milano: Franco Angeli; 1968/1987.
7. Colburn A. Constructivism: Science education's “Grand Unifying Theory”. *The Clearing House* 2000; 74: 9-12.
8. *Nature* 1995; 378: 528.
9. Dewey J. *How we think*. Lexington (MA): D.C. Heath, 1933.
10. Conant JB. *On understanding science*. New York: Mentor; 1947.
11. Schwab JJ. Enquiry, the science teacher, and the education. *The Science Teacher* 1960; 27: 6-11.

12. Gagneé RM. The learning requirements for enquiry. *Journal of Research in Science Teaching* 1963; 1: 144-53.
13. Duschl RA. *Restructuring science education*. New York: Teacher College press; 1990.
14. Underwood M. Catering for Individual Student Needs: Learning Styles. *The Science Education Review* 2002; 1:58-65 and 92-9.
15. Musheno BV, Lawson AE. Effect of Learning Cycle and Traditional Text on Comprehension of Science Concepts by Students at Differing Reasoning Levels. *Journal of Research in Science Teaching* 1999; 36: 23-37.
16. Lawson AE. Teaching Concepts and Developing Reasoning Using Learning Cycles. *The Science Education Review* 2002; 1: 133(1-19).
17. <http://www.calstatela.edu/dept/chem/chem2/Active/main.htm>
18. Morin E. *I sette saperi necessari all'educazione del futuro*. Milano: Raffaello Cortina Editore; 1999/2001.
19. Eschbach J, Harms U. Influence of different contexts on students' interest in molecular genetics. IVth Conference of ERIDOB. Toulouse, ottobre 2002.
20. Keogh B, Naylor S. *Starting Points for Science*. Sandbach: G.B. Millgate House Publishers; 1997.
21. Angeli, C. Teachers' practical theories for the design and implementation of "Problem-Based Learning". *Science educational International* 2002; 13: 9-15.
22. Practical Work in Science Education: The Face of Science in School. Royal Danish School of Educational Studies, Copenhagen, maggio 1998.
23. Olsher G, Dreyfus A. The "ostension-teaching" approach as a means to develop junior-high students attitudes toward biotechnologies. *Journal of Biological Education* 1999; 34: 25-31.
24. Erickson M. *La mia voce ti accompagnerà*. Roma: Astrolabio; 1982/83.

APPENDICE 1

Questionario somministrato per valutare l'interesse degli studenti relativamente a diversi contesti nel campo della genetica molecolare (19).

Valuta quanto sei interessato ad approfondire i temi sottoelencati

1 2 3 4 5

Le modalità di identificazione e di isolamento dei geni in laboratorio

La legittimità dal punto di vista etico della manipolazione del genoma delle piante da parte dell'uomo

L'innocuità degli alimenti vegetali manipolati geneticamente

Le modalità di coordinamento dei Paesi europei in materia di normativa relativa agli alimenti geneticamente modificati

La possibilità che materiali biologici prodotti a partire da amido modificato geneticamente possano sostituire la plastica

I termini di coltivazione della rapa al fine di produrre biodisel, un carburante alternativo a quelli fossili

(1) Moltissimo; (2) molto; (3) mediamente; (4) poco; (5) molto poco

APPENDICE 2

Questionario somministrato per valutare il gradimento degli studenti relativamente a diverse pratiche che consentono di approfondire i contenuti della genetica molecolare (19)

Valuta quanto gradiresti le seguenti pratiche per attuare l'approfondimento dei temi prescelti

1 2 3 4 5

Ascoltare una conferenza

Vedere un film

Consultare autonomamente testi e documentazione

Elaborare criticamente i dati disponibili per produrre nuova informazione

Elaborare modelli e materiali utili per la presentazione dell'argomento

Verificare i dati impegnandosi in attività di indagine/ricerca

Eseguire esperimenti di manipolazione genetica

(1) Moltissimo; (2) molto; (3) mediamente; (4) poco; (5) molto poco

segue

(continua)

Valuta quanto gradiresti le seguenti pratiche per attuare l'approfondimento dei temi prescelti

1 2 3 4 5

Elaborare ipotesi circa le conseguenze della diffusione di pratiche di manipolazione genetica

Progettare un esperimento che consenta di verificare un'ipotesi

Valutare criticamente dati sperimentali relativi alla manipolazione genetica e alla diffusione delle relative applicazioni

Discutere le conseguenze dell'utilizzazione della manipolazione genetica

Partecipare a un dibattito con l'intervento di esperti in manipolazione genetica

Discutere le conseguenze della diffusione delle applicazioni della manipolazione genetica

(1) Moltissimo; (2) molto; (3) mediamente; (4) poco; (5) molto poco

APPENDICE 3

Problema PBL preparato per i corsi "Le biotecnologie in medicina: aspetti scientifici ed etici. Spunti per un'azione didattica".

Un colloquio delicato

Anna aspetta un bambino ed è alla dodicesima settimana di gravidanza.

Poiché suo fratello è morto di fibrosi cistica a 18 anni, è intenzionata a ricorrere a qualche tipo di accertamento che possibilmente la tranquillizzi circa l'eventualità che il suo bambino sia affetto dalla stessa malattia.

Decide di recarsi al consultorio.

Ma prima vorrebbe avere qualche indicazione che le consenta di prepararsi anche psicologicamente al colloquio.

Si rivolge in amicizia a te che sei un esperto.

Deve raccogliere informazioni sui famigliari? Quali?

È opportuno che si sottoponga preventivamente a qualche esame o faccia qualche analisi?

E se le proporranno di sottoporre a test il feto? È rischioso?

Perché non orientarsi subito a praticare eventualmente la terapia genica?

MALATTIE DEI POVERI E MALATTIE DEI RICCHI: MALARIA ED EUGENICA

Piero Augusto Battaglia

Laboratorio di Biologia Cellulare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Malaria e “povertà”

La malaria è una malattia che uccide ancora nel mondo tra un milione e mezzo ai due milioni di esseri umani, tra cui oltre cinquecentomila bambini sotto i cinque anni di età nella sola Africa. Secondo i dati dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) sono circa 500 milioni gli uomini che contraggono questa malattia ogni anno.

La malaria è una malattia della povertà, è stato detto da importanti personaggi tra cui la presidentessa dell'OMS, il presidente del National Institute of Health (USA), il Papa, ma povertà è nome troppo generico e usato troppo spesso per farci comprendere a fondo con quali cause sia in rapporto la malaria.

Malaria e cause sociali ed economiche

Per questo motivo ho messo in rapporto i dati sociali ed economici pubblicati dall'ONU con il dato della diffusione della malaria nel mondo. Basta avere una carta mondiale e ricoprire con il colore rosso le nazioni in cui la malaria è diffusa, in verde il dato sociale ed economico per ogni nazione, e quando i due dati si sovrappongono colorare la nazione di giallo per mettere in evidenza la sovrapposizione (Figura 1A).

Come primo dato ho messo in rapporto la diffusione della malaria con un concetto più preciso di povertà basato sulla classificazione dei Paesi in base al prodotto interno lordo. Non tutti i Paesi in cui è diffusa la malaria hanno questo dato tra i più bassi nel mondo (Figura 1B).

La situazione che favorisce la malaria deve essere più complessa, dovuta anche ad altri fattori. Ne ho misurato uno molto importante: la disponibilità di servizi sanitari che è misurata dalla mortalità infantile sotto i cinque anni di età. Tanto più alta è la mortalità infantile, tanto meno i servizi sanitari sono disponibili. Viene dato un taglio molto alto al dato, considerando solo mortalità infantili tragicamente alte, oltre gli 80 morti per mille nati vivi; si consideri che l'Italia ha una mortalità infantile del 7 per mille nati.

Tolto uno o due casi, questa mortalità infantile così alta, dovuta a una quasi totale mancanza di servizi sanitari, si accentua nelle nazioni africane con alta diffusione della malaria (Figura 1C). Anche l'attesa di vita delle popolazioni africane è straordinariamente bassa (Figura 1D). La malaria impedisce di lavorare perchè il forte indebolimento generale determina impossibilità di lavorare e maggiore possibilità di contrarre malattie. Tornando ai dati economici, se si correla il debito che i Paesi endemici per la malaria hanno, appare che circa la metà dei Paesi ha alto

debito e malaria. Sono rimasto sorpreso da questo dato (Figura 1E), mi sarei aspettato che tutti i Paesi malarici avessero alto debito, vista la propaganda di questa situazione che hanno fatto nel nostro Paese cantanti e Presidenti del consiglio. Per questo motivo sono stato spinto a esaminare la diffusione della malaria contro le nazioni classificate più ricche del mondo secondo l'ONU.

Sorprendentemente due nazioni tra le più ricche del mondo continuano ad avere la malaria nel loro territorio (Figura 1F). Questo dato non correla con un concetto di "povertà" soltanto superficialmente economico. Povertà è anche ignoranza in cui viene mantenuto un popolo. Se viene misurato il dato sull'analfabetismo maschile e femminile, in parte questo dato correla con la malaria in molti Paesi, ma quello che è interessante è che il Qatar sparisce da questa classificazione. Non è più colorato in giallo (correlazione) ma in rosso: solo presenza di malaria (Figura 1G). Una delle componenti "povertà", colpisce non tutta la popolazione ma solo una parte di questa? Una pratica che colpisce più di 500 milioni di donne nel mondo è l'infibulazione: si correla con la malaria? Certamente in più della metà dei casi e anche in particolare nel Qatar (Figura 1H). Quindi una parte della popolazione, le donne, è colpita duramente nel 50% dei Paesi malarici. Ed ecco che una piena correlazione appare tra analfabetismo femminile, superiore all'80% di tutte le donne del Paese, e malaria endemica (Figura 1I). La condizione di analfabeta in cui è mantenuta non permette alla madre di avere le conoscenze adatte per preservare il bambino dall'attacco malarico.



Figura 1 - Malaria e cause sociali ed economiche. Vengono evidenziate in rosso la diffusione geografica della malaria, in verde le condizioni sociali o economiche e in giallo la sovrapposizione dei due dati. La lettura della figura va da sinistra a destra (ad esempio, A, B, C, D)

Così diverse componenti della povertà contribuiscono al mantenimento della malaria: non solo bassa produzione di beni e debito alto, ma anche mancanza di servizi sanitari come sembra facilmente ipotizzabile, e, come è stato rivelato da questo semplice studio (che può essere facilmente riprodotto in classe) oppressione di una parte della popolazione su di un'altra, come appare dal dato dell'infibulazione e dell'analfabetismo femminile.

Non è semplicemente lo sviluppo economico a garantirci dall'assenza della malaria, ma un complesso di situazioni economiche sociali e politiche inerenti alla qualità della vita degli uomini.

Il contributo del lavoro sperimentale nella lotta contro la malaria

L'agente della malaria è un protozoo, il plasmodio, che dall'individuo infetto viene diffuso agli altri individui sani attraverso la puntura della zanzara *Anopheles* femmina. Si può scegliere come bersaglio del proprio lavoro sperimentale il protozoo o l'insetto. Fallito completamente il tentativo di eliminare completamente l'*Anopheles* attraverso insetticidi, da molto tempo si cerca di diminuire la popolazione di insetti mediante l'inserimento nella popolazione di numerosi individui sterili. In questo modo viene drasticamente diminuita la popolazione, rendendo inefficaci e privi di prole tutti gli accoppiamenti con individui sterili. Questo metodo ha avuto alcuni notevoli successi, ad esempio l'eliminazione dalla Libia dello *screw worm* in anni recenti (dati FAO). Ha però un grosso difetto: i mutanti sterili vengono ottenuti mediante irradiazione con i raggi X. Questi raggi colpiscono e distruggono a caso, non limitandosi ai geni importanti solo per la fecondità della zanzara, ma colpendo i geni necessari per il corteggiamento nel maschio della zanzara. Tutti i ditteri (l'*Anopheles* è un dittero) svolgono un sofisticato e complesso corteggiamento assolutamente necessario in tutte le sue fasi per raggiungere i favori dell'*Anopheles* femmina (Figura 2).

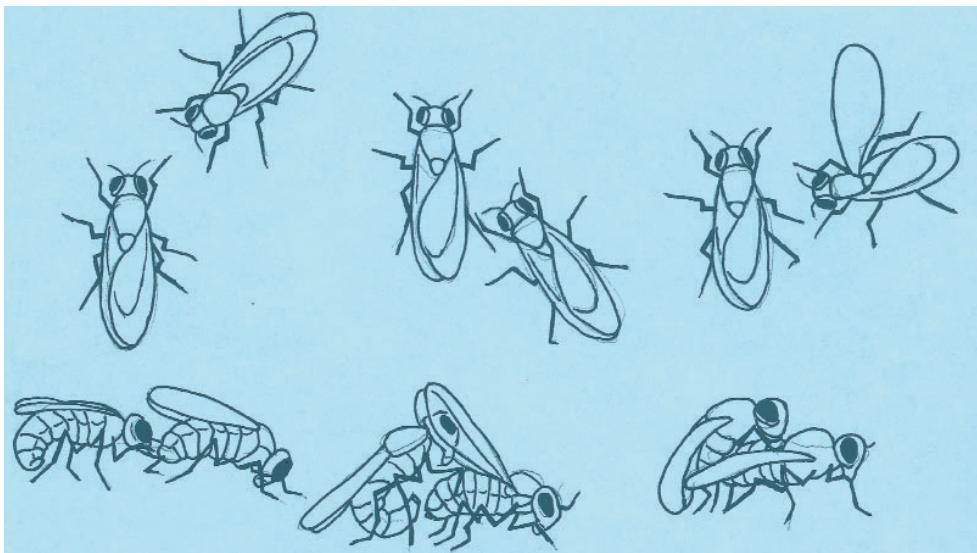


Figura 2 - Fasi del corteggiamento e accoppiamento. La figura è stata modificata da Scientific American (1)

Prima il maschio si avvicina non aggressivamente alla femmina, l'accarezza più volte affettuosamente, le canta una canzoncina, la bacia, prova a vedere se è disposta ad accoppiarsi, e finalmente se la femmina ha gradito il corteggiamento e acconsente, si accoppia. Se questa successione di attenzioni o una sola di queste è assente l'accoppiamento non può assolutamente avvenire. Sia la corretta successione che i singoli "gradini" del corteggiamento dipendono da geni specifici. Ecco perché mutazioni in questi geni rendono il maschio non soltanto sterile, ma incapace completamente ad avvicinare qualsiasi femmina tanto che i maschi finiscono per inseguirsi uno con l'altro formando una lunga catena (Figura 3 A-B). Per mettere in atto la strategia per la diminuzione delle zanzare portatrici del *Plasmodio* è necessario distruggere i geni non a caso, ma solo quelli che presiedono alla fertilità. Noi abbiamo selezionato uno di questi geni.

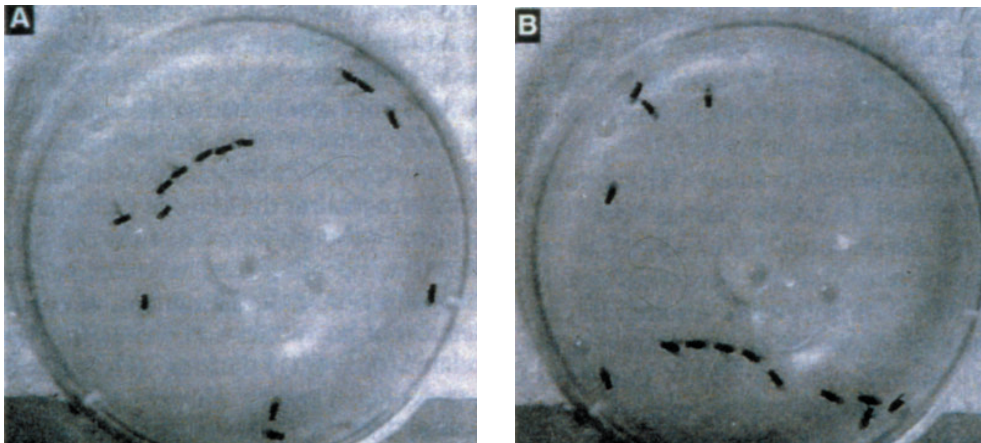


Figura 3 (A-B) - Maschi sterili si inseguono l'un l'altro

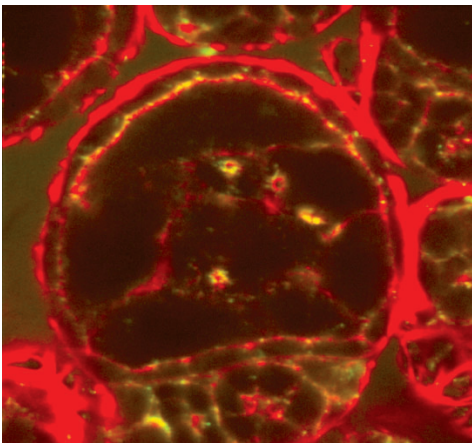


Figura 4 - Camera ovarica d'insetto. Vengono evidenziati in rosso i confini cellulari e in giallo i *ring canals*

L'uovo della zanzara è chiuso in una camera ovarica costituita dall'uovo che non ha biosintesi e da numerose cellule nutritive, che trasferiscono all'uovo proteine, acidi nucleici, lipidi che vanno a far ingrandire l'uovo finché raggiunge la maturità (Figura 4).

Le sostanze sintetizzate dalle cellule nutritive per raggiungere l'uovo passano attraverso canali (*ring canals*) (Figura 5). Si credeva che questi canali fossero sempre pervi e aperti. Il pregiudizio proveniva dal fatto che gli esperimenti erano stati fatti su un animale, la *Drosophila*, tenuta in "cattività" soltanto in laboratorio e continuamente abbondantemente nutrita come il Puccettino

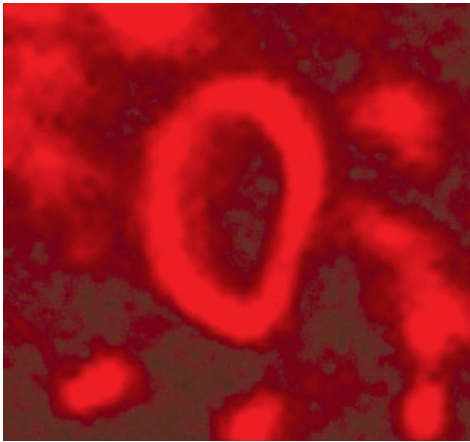


Figura 5 - Viene evidenziato in rosso il *ring canal* ingrandito

che abbiamo isolato e che è responsabile di tenere aperti i *ring canals*. Se questo solo gene è mutato i *rings* rimarranno chiusi e l'uovo degenererà rendendo sterile la zanzara. Zanzare sterili ma perfettamente in grado di accoppiarsi possono essere prodotte per mutazione di questo solo gene: il gene *kelch*.

della favola. La zanzara è invece un animale libero, e il cibo non lo trova sempre pronto, ma deve andare a cercarlo furtivamente di notte. Spesso può rimanere a lungo senza cibo. Quando è ridotta alla fame i *ring canals* si chiudono e l'uovo non riceve più le sostanze necessarie al suo sviluppo dalle cellule nutritive. È solo quando la femmina trova il pasto di sangue e se ne ciba che i *rings* si riaprono e l'uovo può crescere per arrivare alla maturazione. L'abbondante pasto di sangue ricco in proteine fa produrre alla zanzara l'ecdisone che è un ormone che induce la riapertura dei *rings*, come abbiamo dimostrato con esperimenti *in vitro*. L'ecdisone agisce su un gene *kelch*,

Solo i Paesi ricchi praticano l'eugenica?

Cosa significa eugenica? Scegliere i migliori incroci per prevenire caratteri sfavorevoli per l'uomo. Di quale carattere si sia trattato e in parte ancora si tratta, come vedremo, è qui esemplificato in questa diapositiva: malattie mentali, perversioni sessuali, figli illegittimi, povertà, criminali e assassini (Figura 6).

Tutti i Paesi ricchi hanno praticato questo tipo di intervento con i risultati esposti nella Tabella. I dati riguardano il periodo che va fino al 1970, quando in questi Paesi l'eugenica pubblica (con l'intervento dello Stato) cessa. Per la Germania i dati vanno dal 14 luglio 1933, data dell'approvazione da parte del Parlamento tedesco della Legge che va sotto il nome di "Una vita indegna di essere vissuta" fino alla fine della seconda guerra mondiale. I nazisti, nel momento dell'approvazione della Legge, erano in minoranza nel Parlamento.

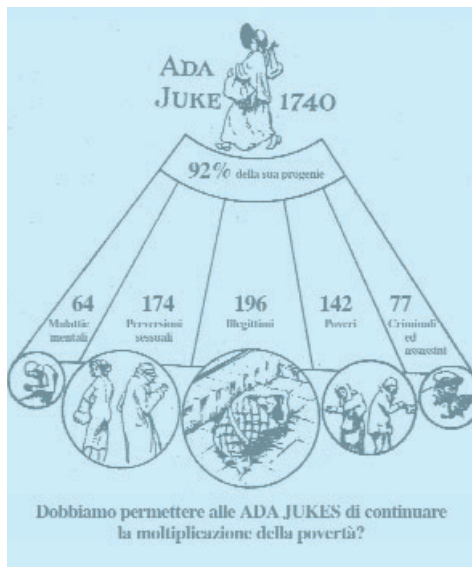


Figura 6 - Perché praticare l'eugenica attraverso la sterilizzazione. Un'atroce giustificazione proveniente da un giornale scientifico dei primi del '900

Tabella - Risultati dell'eugenica per i Paesi in cui i dati sono disponibili

Paesi	Sterilizzati	Eliminati
Stati Uniti	81 000	-
Germania	400 000	80.000
Svezia	63 000	-
Finlandia	11 000	-
Inghilterra	60 000	-

Quando questa pratica è venuta finalmente a mancare (intorno al 1970) è stata la Cina a riprendere con una legge, basata come possiamo vedere sugli stessi argomenti sociali ed economici degli eugenetisti dell'inizio del '900 "if a couple both have a genetic defect which would like make childbearing inappropriate from a medical point of view, then the marriage can only take place if the couple agree to take long term contraceptive measures or be sterilised". In China it is very unusual for a couple to choose to have a child if they know it will be abnormal. The decision has a clear economic rationale. A disabled child will probably not be able to support aging parents and will be a considerable financial drain because of the high costs of education and health care (2).

Scelte scientifiche e valori culturali e politici

Come mai l'eugenica è iniziata nei Paesi più ricchi? Un contributo fondamentale lo hanno dato le teorie Malthusiane. Osservate le due curve presentate nella Figura 7: una delle due curve precipita velocemente verso i valori bassi delle nascite ed è quella del ceto medio inglese, mentre le crescite della classe povera si mantengono su picchi alti quasi allo stesso valore iniziale. Questi dati sono bastati ai fondatori dell'eugenica (tra cui il grande biologo sir Roland Fischer) per affermare che la responsabilità della caduta della civiltà era da cercarsi nella minore riproduzione della classe ricca, in cui risiedono, al contrario della classe povera, i caratteri di industriosità e creatività responsabili del progresso civile (3). Emblematico, in questo senso, il caso della base genetica del ritardo mentale. Secondo gli eugenetisti, questo carattere, determinato da un solo allele recessivo di un gene, sarebbe più diffuso nella classe povera, e la sua diffusione sarebbe enormemente aumentata nella popolazione a causa della maggiore prolificità dei poveri. Di qui le misure di sterilizzazione forzata adottate per diminuire, secondo gli eugenetisti, gli individui portatori di questo carattere. Punnet ha calcolato che se l'allele fosse stato recessivo, come si sosteneva, tenendo conto della Legge di Hardy-Weinberg ci sarebbero voluti 8 000 anni perché si scendesse a un ritardato mentale di uno su 100 000, adottando misure di sterilizzazione (4). Tragicamente convinto dalle sue idee politiche e dai suoi valori Roland Fischer obiettò che il conto era stato fatto considerando, come vuole la Legge di Hardy-Weinberg per una popolazione panmittica, mentre la classe povera non è panmittica, gli incroci avvengono tutti all'interno di questa classe, per cui per la sterilizzazione dei poveri e dei ritardati mentali, si sarebbe ottenuta una diminuzione del ritardo mentale per generazione del 36% (4). Come si vede con chiarezza da questo esempio e dai dati mostrati nella Tabella non sono valse le sole ragioni scientifiche per fermare l'eugenica e le pratiche di sterilizzazione.

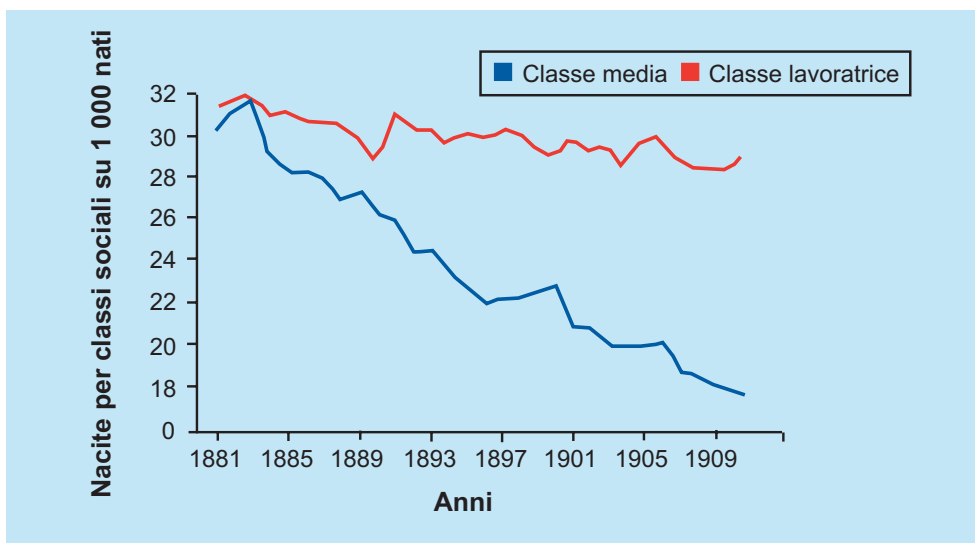


Figura 7 - Malthusianesimo ed eugenica. Le classi povere avrebbero più figli delle classi ricche. Infatti, la curva delle nascite del ceto medio precipiterebbe rapidamente negli anni al contrario di quella delle classi povere che si manterrebbe alta costantemente. La figura è stata tratta da Trends in Genetics (4) e riprodotta per gentile concessione dell'Editore

Era infatti ben conosciuto negli anni '70 quando ancora continuavano queste pratiche come, fatta salva la complessità del ritardo mentale e le indubbe influenze ambientali (sociali ed economiche), il carattere fosse influenzato da almeno cinque componenti genetiche diverse, che risiedono in diverse parti del genoma umano. Più in generale le misure eugeniche sono sbagliate poiché ben più del 90% delle malattie ereditarie insorgono come mutazioni *ex novo* nelle cellule germinali e non sono portate come tali dai genitori nelle cellule somatiche. La prevenzione dovrebbe così considerare come bersaglio principale, se possibile, la prevenzione delle mutazioni e le cause della loro insorgenza.

Tutti questi argomenti scientifici non hanno impedito che gli stessi pregiudizi venissero adottati in Cina con l'approvazione dell'89% dei genetisti cinesi (2).

Fine dell'eugenica e riproposizione degli stessi problemi

Nei nostri Paesi che fine ha fatto l'eugenica?

Uno scienziato inglese ha scritto che non è sparita ma si è privatizzata, alludendo forse ai lauti guadagni che industrie e medici ottengono dai *kits* per diagnostica prenatale (5). Ma a parte questo c'è necessità di porsi scelte difficili, anche di lavoro scientifico. Ci si ridomanda, come all'inizio degli anni '30: "Chi deve ricevere un certo tipo di cura e quanto a lungo". Domanda che è sintetizzata dai concetti di costo-beneficio (chi curare) e *base line* (quando interrompere una terapia) "non oltre un certo limite". Una scelta si pone, ad esempio, quando si tratta di scegliere quali tra le 4 000 malattie genetiche vanno studiate con buona probabilità di successo ai fini di raggiungere una terapia.

Esperimenti contro il determinismo genico

Si deve, secondo me, tenere conto di un insegnamento fondamentale che ci viene dalla tragica esperienza dell'eugenica: non è mai un solo gene a determinare una malattia. Nelle malattie umane, infatti, lo stesso allele può presentare differenti fenotipi in differenti individui. Due esempi di notevole importanza. La *sickle cell anemia* ha rappresentato il primo e più importante esempio, per gli studi che ha permesso, di malattia in cui una base in un singolo gene se mutata produce un singolo aminoacido mutato e di conseguenza una proteina (Hb) con funzioni aberranti. Gli individui omozigoti per questa mutazione vivono da pochi giorni fino a 80 anni. Due importanti fattori genetici modificano la risposta degli individui alla *sickle cell anemia*: talassemia ed elementi genetici che controllano la concentrazione dell'emoglobina fetale (6).

I gemelli omozigoti figli di schizofrenici risultano essere uno schizofrenico e l'altro no (la schizofrenia ha una componente genetica che è stata individuata in 6 parti diverse del genoma (6p, 8p, 13q, 15q, 22q, 10q) (5). Il risultato può essere attribuito alla comparsa di errore nei circuiti genetici di uno dei due gemelli durante lo sviluppo.

Bastano questi esempi a rivelare la presenza di un'enorme variabilità genetica. Questa variabilità può essere sfruttata ai fini di cercare possibili terapie per le malattie genetiche. Come?

Sono stati scelti 929 geni umani coinvolti in malattie genetiche umane e si è cercato in tutto il genoma della *Drosophila* se ci fossero geni uguali a quelli umani: ne sono stati trovati 548. Ben 714 geni umani sono uguali a quelli della *Drosophila* (77% dei 929 iniziali). Il criterio adottato è stato quello di considerare uguali quei geni quando così facendo la probabilità di incorrere in errore sia inferiore a $1/10^{10}$ (7).

Torniamo al nostro problema: trovare i geni responsabili della varietà con cui si presenta un carattere. Un esempio clamoroso nella *Drosophila* è rappresentato dai geni che influenzano la formazione dell'occhio. Il gene *ey* può rappresentare il gene che induce il circuito genico che produce la costruzione dell'occhio. Se questo gene è mutato l'occhio non si sviluppa. Ora se incrociamo la mosca senza occhio con mosche catturate nell'ambiente (cantine, frutterie, ecc.) l'occhio ricompare nei discendenti, non perché il gene *ey* sia stato riparato ma perché le mosche catturate nell'ambiente hanno geni in grado di modificare il circuito che porta alla formazione dell'occhio agendo sui singoli componenti (8). Questi geni non sono più presenti nelle mosche allevate in laboratorio.

Noi ci proponiamo così di ibridare mosche che abbiamo in laboratorio mutate, ad esempio, in un circuito che porta a un difetto genetico in comune con l'uomo (e che porta in questo ultimo l'insorgenza di una malattia genetica) con mosche *wild* alla ricerca di geni sconosciuti che influenzano il circuito. La speranza è di trovare alcuni di questi geni modificatori il cui effetto positivo possa essere indotto da un farmaco.

Questi esempi mi hanno convinto che per sviluppare una tecnologia in biologia è sempre necessaria una ricerca e che l'etica è sempre il frutto di scelte dipendenti, se non vogliono essere solo regole igieniche, non soltanto dalla scienza.

Riferimenti bibliografici

1. Greenspan RJ. Understanding the genetic construction of behaviour. *Scientific American* 1995; 272: 72-8.
2. Xin Mao. Chinese eugenic legislation. *Lancet* 1997; 349: 139.
3. Crow JF, Fischer RA. A centennial view. *Genetics* 1990; 124: 207-11.
4. Mazumdar PMH. "Reform" eugenics and the decline of Mendelism. *Trends in Genetics* 2002; 18: 48-52.
5. Cooper B. Nature, nurture and mental disorder: old concepts in the new millennium. *British J Psychiatry* 2001; 178(S40): S91-S103.
6. Steinberg MH. Modulation of the phenotypic diversity of sickle cell anemia. *Hemoglobin* 1996; 20: 1-19.
7. Homophila database disponibile all'indirizzo: <http://homophila.sdsc.edu>; ultima consultazione 28 luglio 2003.
8. Polaczyk PJ, Gasperini R, Gibson G. Naturally occurring genetic variation affect *Drosophila* photoreceptor determination. *Dev Genes Evol* 1998; 207: 462-70.

LA MADRE DELLE BIOTECNOLOGIE: LA TECNICA DELLE COLTURE CELLULARI

Flavia Zucco

*Istituto di Neurobiologia e Medicina Molecolare,
Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma*

Introduzione

Le biotecnologie, intese nel significato più ampio del termine, non sono acquisizioni recenti per l'uomo, infatti, esse sono definite come quei procedimenti attraverso i quali materiali naturali o sintetici vengono trasformati in prodotti utili mediante l'uso di agenti biologici.

Mi è sembrato importante dare questa definizione per sottolineare alcune confusioni che si generano comunemente, per i non addetti ai lavori.

La prima è che le biotecnologie sarebbero un prodotto della nostra epoca e delle conoscenze più avanzate della biologia molecolare. In effetti, secondo la definizione data, la produzione del pane o delle bevande alcoliche è una biotecnologia e, quindi, di origine molto antica.

La seconda è che ingegneria genetica e biotecnologia sono, spesso, considerate sinonimi, mentre l'ingegneria genetica non è che uno dei vari tipi di biotecnologie che abbiamo a disposizione.

Certamente, le biotecnologie più recenti, come l'ingegneria genetica, la clonazione, la fecondazione *in vitro*, la terapia genica, rappresentano delle novità importanti, sia dal punto di vista scientifico e tecnologico, che da quello bioetico.

Piuttosto che entrare nel merito di ciascuna di esse, intendo risalire a quella che si considera la tecnologia madre delle biotecnologie: la possibilità di coltivare cellule, come singoli organismi viventi, separate dal tessuto o dall'organismo di origine. Farò dunque una storia di questo percorso di nuove conoscenze e scoperte, iniziato nemmeno troppo lontano nel tempo.

Storia delle colture cellulari

John Paul, uno dei protagonisti nel campo delle colture cellulari, distingue due grandi epoche in questo settore: la prima, che ha riguardato i tentativi di isolare cellule e di tenerle in vita in piastre di vetro (come coltivarle, come farle sopravvivere, come identificarle correttamente), e la seconda, dal 1950 in poi, definita dallo scienziato come l'*era moderna*: quella in cui le ricerche non sono più indirizzate alla messa a punto del modello sperimentale in quanto tale, ma cominciano a usare - proprio perché una serie di problemi sono stati superati - le colture *in vitro* per rispondere a domande fondamentali della biologia. Inizialmente gli studi hanno riguardato il settore della virologia e poi si sono estesi al campo, che ormai viene definito, della biologia cellulare e molecolare. È su queste tecniche di coltura delle cellule che si basano molti degli avanzamenti delle conoscenze della biomedicina contemporanea.

L'origine delle colture cellulari viene fatta risalire al 1907 a opera di Ross G. Harrison che coltivò, con successo, frammenti del tubo neurale di embrione di rana in una goccia di siero, frammenti in grado, in quelle condizioni, di produrre fibre nervose. In realtà, già prima di Harrison, nel 1885 Wilhelm Roux era riuscito a tenere in vita embrioni di pollo in soluzione salina e nel 1887 J. Arnold aveva tenuto in coltura, sempre con siero, linfociti di anfibi. A quei tempi l'idea che cellule o embrioni isolati dall'organismo potessero sopravvivere non era affatto ovvia, e dunque intuirne la possibilità e i tentativi per realizzarla, hanno rappresentato una rivoluzione e un vero salto di qualità nella ricerca.

Una volta verificato che cellule isolate potevano sopravvivere in coltura, l'impegno venne speso a migliorare e ottimizzare le condizioni ambientali per garantire una buona sopravvivenza alle cellule. Ci si dedicò, dunque, alla messa a punto e all'individuazione di mezzi di coltura propriamente arricchiti di fattori nutrizionali, quali vengono forniti nell'organismo *in toto*. Nei primi tempi veniva usato il siero, o estratti del siero, mentre poi sono stati ricostituiti mezzi di coltura, a partire da componenti basali, che portano il nome dei ricercatori che li hanno messi a punto: Eagle, Dulbecco, Jocklick e altri. Si tratta di ricercatori che, in quegli anni, prima dell'*era moderna*, si sono impegnati esclusivamente a creare condizioni di coltura per le cellule, quanto più simili alla situazione *in vivo*. È sempre di quegli anni un'altra intuizione geniale, quella della professoressa Rita Levi Montalcini, sulla capacità delle stesse cellule di produrre quei fattori che sono destinati a farle sopravvivere e specializzare per le funzioni a cui sono destinate. Anche questo concetto non era così ovvio e scontato. Si pensava, infatti, che il nutrimento, e quindi anche molti segnali per la cellula, arrivassero dall'esterno, mentre ora sappiamo che è nel programma della cellula stessa il messaggio che le fa produrre le sostanze di cui avrà bisogno per diventare più grande, più matura, più differenziata. Alla scoperta del NGF (fattore di crescita delle fibre nervose), ha fatto seguito l'identificazione di un numero molto ampio di fattori, prodotti proprio dalle cellule e destinati a svolgere funzioni specifiche per il loro funzionamento e differenziamento.

Vari tipi di coltura e alcuni esempi di cellule specializzate

Una volta apertasi la possibilità di coltivare cellule e di poterne controllare la replicazione e lo sviluppo in coltura, si è proceduto all'isolamento di cellule da vari tipi di tessuti e organi (Figura 1). In realtà, ci si trova di fronte a due tipi fondamentali di cellule in coltura: le colture primarie e le linee cellulari. Le colture vengono chiamate primarie quando le cellule vengono messe in coltura a partire dall'organo o tessuto d'origine fino alla prima sottocoltura, in seguito alla quale si parla di linea cellulare. Infatti, quando si cerca di sottocoltivarle molte di esse non sopravvivono, specie nel caso si debba operare il distacco (meccanico o enzimatico) delle cellule dal substrato. Questo passaggio, infatti, comporta o la morte delle cellule normali, che sono molto sensibili, oppure modificazioni nelle cellule che sopravvivono. Di conseguenza si opera una sorta di selezione, per cui le popolazioni successive non sono più, in realtà, cellule normali, ma sono cellule in qualche modo trasformate.

Sono definite "linea cellulare" le cellule che derivano dalle sottocolture delle colture primarie. Le linee possono essere a vita limitata, sono in grado, cioè, di subire alcuni passaggi ma, poi, vanno comunque incontro all'invecchiamento e alla morte. Altre linee cellulari sono a vita indefinita: sono linee di cellule trasfor-

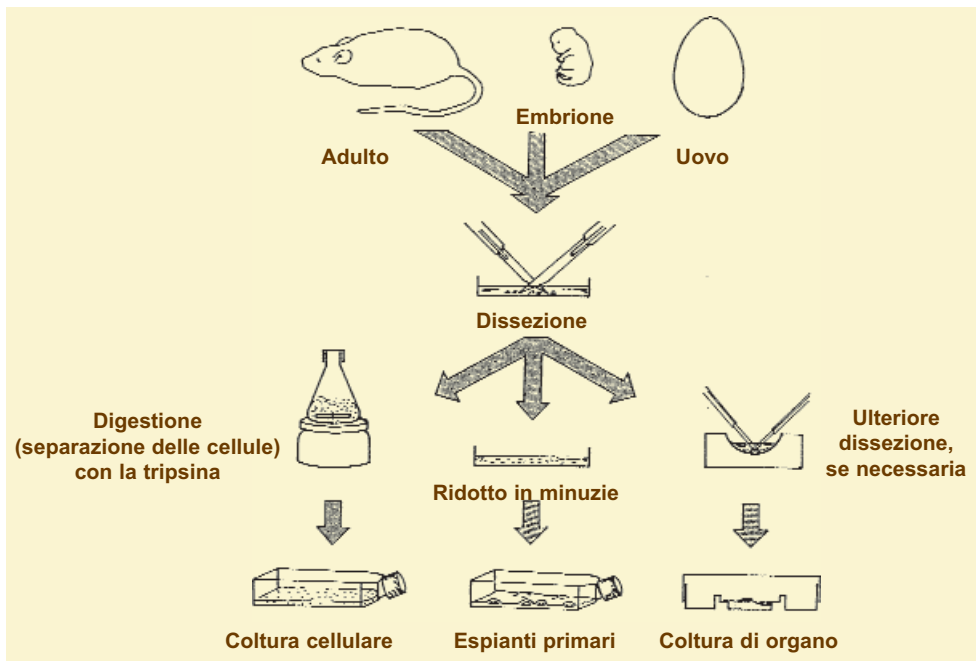


Figura 1 - Schema di preparazione di cellule isolate da organismi o tessuti

mate e che hanno perso molte delle caratteristiche del tessuto od organo di provenienza, e le linee cellulari derivate da tumori. È noto che i tumori rappresentano una condizione in cui viene persa la capacità di controllo della proliferazione, e perdono, in una certa misura, le caratteristiche del tessuto di origine e quindi si de-differenziano.

Non meraviglia, dunque, che le cellule di origine tumorale e quelle trasformate possano dare facilmente origine a linee cellulari immortali, in quanto sono caratterizzate da un'alta attività proliferativa e non presentano particolari esigenze nutritive, perché perdono parte delle loro specializzazioni. Sono, inoltre, tolleranti rispetto a condizioni ambientali piuttosto elementari e quindi riescono a perpetuarsi: infatti, non a caso, i tumori possono produrre delle metastasi, ovvero invadere altri organi.

Ci troviamo, oggi, di fronte alla possibilità di scegliere tra innumerevoli tipi di colture cellulari diverse in relazione agli organismi, ai tessuti e agli organi di provenienza. Inoltre con l'aiuto di fattori specifici si riesce anche a indurre e mantenere nei preparati *in vitro* funzioni altamente specializzate. La ricerca si trova, dunque, ad avere a disposizione una varietà enorme di modelli sperimentali ai quali porre i quesiti più disparati. Tra questi, non ultimi, modelli di origine umana, anche se in questo caso si possono sollevare problemi etici sui quali sarà bene ritornare.

Esistono banche di colture cellulari e la più famosa è l'*American Tissue Culture Collection* che ha in elenco centinaia e centinaia di linee cellulari. Ognuna è accompagnata da un certificato (Tabella) che fornisce informazioni estese sulla linea cellulare in oggetto, sulle condizioni di coltura, sulla qualità del prodotto, (poiché di prodotto si tratta: esse possono essere acquistate).

Tabella - Esempio delle informazioni contenute nei certificati forniti dalle banche di colture cellulari agli acquirenti

Codice Ditta HTB 37 Caco-2 (linea tumorale di un adenocarcinoma del colon umano) John Fogh ha isolato questa linea cellulare mediante espianco da un tumore primario del colon e sospensione nel terreno di coltura di Eagle (*Minimum Essential Medium*) arricchito con il 15% di siero fetale bovino (*J Nat Cancer Inst* 58: 209-214, 1977; *ibid.*, 59: 221-226, 1977).

Caratteristiche delle cellule

<i>Dati del paziente</i>	Età: 72 anni; sesso: maschile; razza: bianca; gruppo sanguigno: 0 positivo
<i>Trattamento</i>	Citossano, 5-fluorouracile
<i>Condizioni di crescita</i>	Monostrato
<i>Morfologia</i>	Epitelioide
<i>Cariologia</i>	(P14) Ipertetraploidia
<i>Citopatologia in vitro</i>	(P6) Cellule di adenocarcinoma
<i>Potere di generare tumori</i>	Tumorigeniche in topi immunodeficienti

Caratteristiche della preparazione

<i>Numero di sottocolture seriali dal tessuto originario</i>	13
<i>Terreno di congelamento</i>	Terreno di coltura, 95%; DMSO, 5%; senza antibiotici.
<i>Vitalità</i>	88%
<i>Terreno di coltura</i>	<i>Minimum Essential Medium</i> di Eagle arricchito con aminoacidi non essenziali e piruvato di sodio, 85%; siero fetale bovino, 15%; senza antibiotici
<i>Isoenzimi</i>	Me-2, 1; PGM ₃ , 1; PGM ₁ , 1; ES D, 1; AK1, 1; GLO-1, 1; G6PD, B
<i>Frequenza del fenotipo</i>	0.0187
<i>Sterilità</i>	Assenza di batteri, funghi e micoplasmi.
<i>Specie</i>	Confermata come umana tramite analisi isoenzimi

Esiste anche una *European Cells Culture Collection* che ha sede in Inghilterra. In Italia nella piccola collezione di colture cellulari presso l'Istituto Zooprofilattico di Brescia, è reperibile una serie di linee cellulari accompagnate, analogamente all'*American Tissue Culture Collection*, da una certificazione.

Prendo ad esempio una linea cellulare tumorale di origine umana per dare un'idea delle funzioni e delle caratteristiche che mostra *in vitro*.

La Figura 2 mostra l'immagine delle cellule Caco-2 ottenuta al microscopio ottico (A) e al microscopio elettronico (B), che appare identica agli enterociti del nostro epitelio intestinale. La cellula è polarizzata, ovvero con i microvilli, destinati all'assorbimento dei nutrienti, esposti verso l'alto, nella direzione del mezzo di coltura, che corrisponde al lume intestinale. In alto le cellule adiacenti sono unite da giunzioni strette.

Grazie all'innovazione tecnologica e all'aumento delle conoscenze, oggi giorno si possono ottenere in coltura, strutture altamente specializzate, operando in condizioni che riproducano estremamente da vicino la situazione che si ha *in vivo*. Cosicché, queste cellule, ad esempio, vengono usate e coltivate su filtro per studiare l'assorbimento di nutrienti, di farmaci, il passaggio di eventuali inquinanti o

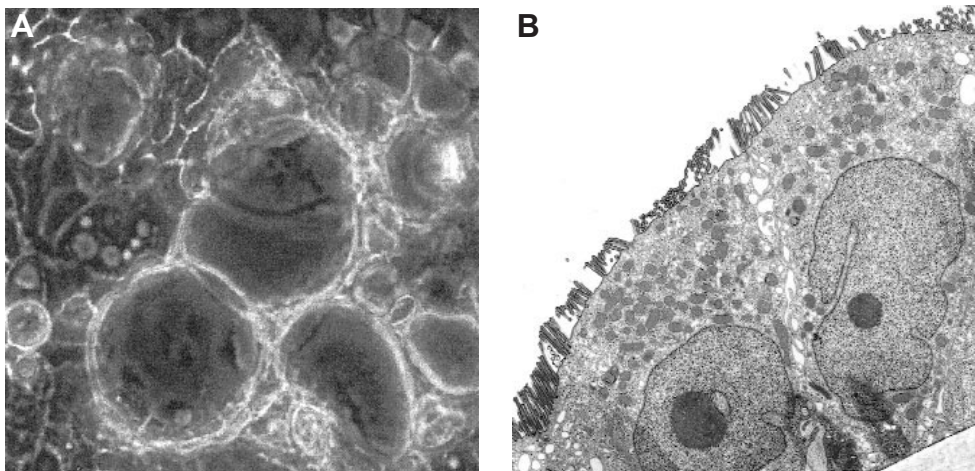


Figura 2 (A-B) - Immagine delle cellule Caco-2 al microscopio ottico (A) e al microscopio elettronico (B) (Per gentile concessione della dott.ssa Annalaura Stamatii, ISS)

additivi alimentari o xenobiotici, ecc. Questa linea cellulare, che è una linea tumorale derivata da un adenocarcinoma del colon umano, nelle condizioni di coltura, regredisce a una fase fetale del colon, diventando molto simile alle cellule dell'intestino tenue, le quali sono appunto destinate all'assorbimento dei nutrienti. Queste cellule sono state messe in coltura da un ricercatore che si occupava essenzialmente di studiare alcuni farmaci anti-tumorali, specificatamente la capacità di queste sostanze di inibire la proliferazione cellulare. Solo nel 1983, alcuni ricercatori francesi si sono accorti che questa linea, mantenuta in particolari condizioni di coltura (ad esempio, in presenza di un'alta percentuale di siero e glucosio), conservava le caratteristiche di un enterocita dell'intestino tenue. Quindi una linea usata e messa in coltura con altri scopi, è diventata un modello *in vitro* dell'intestino tenue umano, su cui è possibile studiare non solo le funzioni e la regolazione del differenziamento intestinale ma anche l'assorbimento di farmaci, i meccanismi di organizzazione dell'orletto a spazzola, della digestione di sostanze a livello di questo orletto e del passaggio delle sostanze attraverso la barriera intestinale.

La *Food and Drug Administration* negli Stati Uniti, tra l'altro, sta pensando di brevettarla poiché il suo uso sta diventando molto diffuso nell'industria farmaceutica.

Alcune applicazioni delle colture cellulari

Passando direttamente alle applicazioni delle colture cellulari, la più nota è ormai divenuta una prassi ospedaliera: la produzione di pelle. Bastano pochissime cellule derivate dalla pelle di un paziente per riuscire a fare delle colture di una certa entità. Questi lembi di pelle possono essere tolti dalla coltura e reimpiantati sull'individuo entro pochissimi giorni, senza che si presentino problemi di rigetto. È una tecnica che ormai funziona perfettamente.

Un'altra applicazione consiste nella produzione di molecole di anticorpi monoclonali attraverso la formazione degli ibridi, in una miscela di due cellule diverse. Gli anticorpi monoclonali sono uno strumento utilissimo nella ricerca scientifica e

hanno anche enormi risvolti applicativi, perché servono a identificare in modo specifico antigeni d'interesse medico. Si tratta di una tecnologia con una grande diffusione sul mercato.

Come detto, queste tecnologie si sono evolute a livelli molto sofisticati, tali da consentire il mantenimento, la specializzazione e la tipizzazione accurata in coltura di moltissimi tipi diversi di cellule. Un esempio di cellule che si coltivano molto facilmente sono i fibroblasti (Figura 3). Sono cellule che in coltura presentano una forma allungata, aderiscono facilmente al substrato e non sono molto esigenti dal punto di vista delle caratteristiche dei terreni di coltura. Tuttavia, per questa loro facilità a essere coltivate rappresentano un problema per chi prepara le colture. Infatti, nelle procedure di isolamento di cellule epiteliali tipiche di un organo, in genere si ottengono popolazioni miste, nelle quali i fibroblasti, per la velocità nell'a-

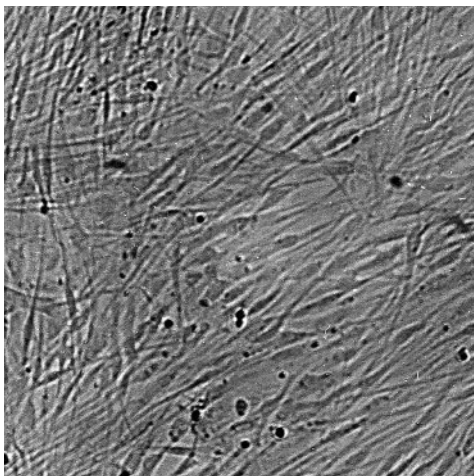


Figura 3 - Fibroblasti al microscopio ottico (Per gentile concessione della dott.ssa Annalaura Stammati, ISS)

derire al substrato e nel crescere facilmente, prendono il sopravvento. Il problema è liberare queste preparazioni dai fibroblasti. Nella Figura 4 un esempio di cellule epiteliali.

Altri tipi di cellule specializzate in coltura sono mostrati nella Figura 5 e nella Figura 6.

È possibile coltivare *in vitro* anche le cellule germinali. A questo proposito vale la pena di osservare che, operando su di esse, si può procedere alla coltura e, quindi, alla sperimentazione su embrioni fino a stadi piuttosto avanzati dello sviluppo.

È ancora su cellule in coltura, che è diventato possibile il trasferimento, a esempio, del nucleo da una cellula a un'altra. È possibile inserire, in cellule

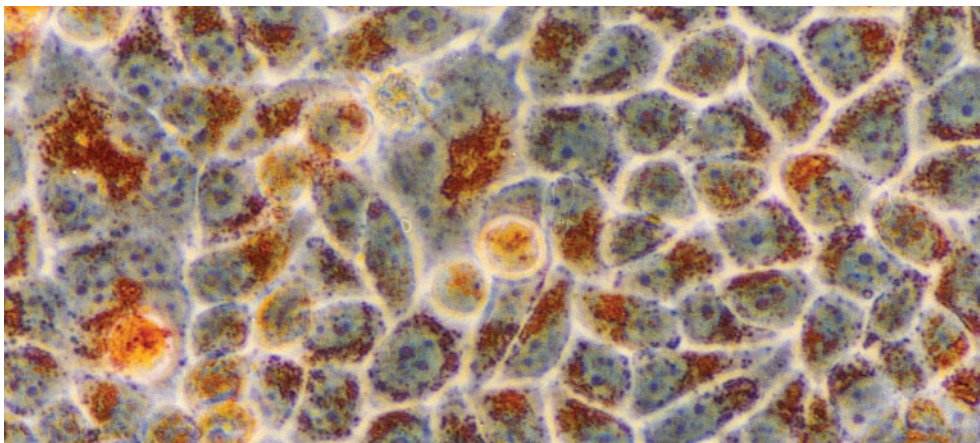


Figura 4 - Cellule epiteliali al microscopio ottico (Per gentile concessione della dott.ssa Annalaura Stammati, ISS)

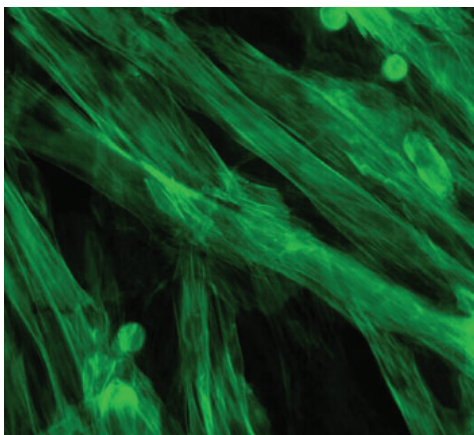


Figura 5 - Una coltura cellulare muscolare, i miofibrilli, osservati al microscopio a fluorescenza. La marcatura fluorescente verde mette in evidenza il citoscheletro di actina (Per gentile concessione della dott.ssa Carla Fiorentini, ISS)

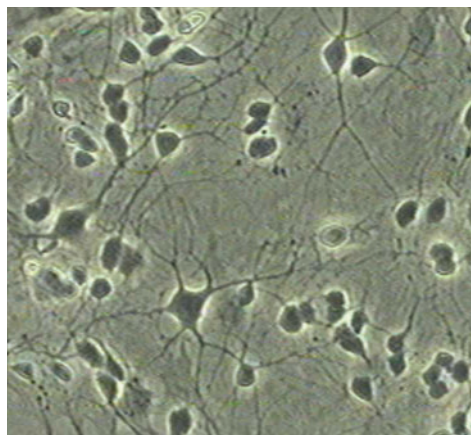


Figura 6 - Cellule neuronali di retina di ratto osservate al microscopio a contrasto di fase. Le cellule cominciano a sviluppare la rete neuritica che permetterà di metterle in contatto (Per gentile concessione della dott.ssa Fiorella Malchiodi Albedi, ISS)

mantenute in coltura, geni isolati anche da altri organismi e verificare in quali cellule della coltura l'inserimento è avvenuto, come è avvenuto e se è trasmesso anche nelle popolazioni successive della coltura cellulare.

Sono esempi del punto di incontro tra la tecnologia dell'ingegneria genetica e quella delle colture cellulari. È l'area in cui le biotecnologie hanno aperto uno spettro di problemi di ordine bioetico enorme e forse è la parte più dibattuta di questa area di ricerca e innovazione.

Inoltre si può ricorrere alle colture di cellule, per l'identificazione di specifici marcatori, sia nel caso della diagnosi prenatale, sia nel caso della medicina forense. Per la verità adesso, con lo sviluppo di alcune tecniche avanzate come la PCR (Polymerase Chain Reaction) si riesce ad avere quantità sufficienti di materiale genetico per procedere ad alcune caratterizzazioni, senza dover amplificare il campione coltivando le cellule di interesse specifico. In passato, per compiere analisi sul cariotipo, nel caso dell'amniocentesi, si doveva partire dal prelievo di un piccolo quantitativo di liquido amniotico contenente cellule del feto, si doveva amplificare la popolazione di queste cellule artificialmente coltivandole in laboratorio, dopodiché si aveva un certo numero di cariotipi sufficiente per fare un'analisi genetica adeguata dello stato del feto e del suo sviluppo.

Riassumendo, le colture cellulari possono permettere, amplificando alcune popolazioni cellulari, di avere materiale sufficiente per identificare alcuni marcatori. Numerosi appaiono i tipi di problemi che possono aprire tutte le applicazioni citate.

Alcuni aspetti etici

A proposito di cellule di origine umana vorrei citare un caso che si è realmente presentato, e che aiuta a evidenziare i problemi etici, che si possono presentare.

Alcuni anni fa, negli Stati Uniti si è verificato un problema intorno al brevetto di una linea cellulare da parte di un ospedale. Un ricercatore dell'ospedale aveva isolato, da una popolazione cellulare, derivata dal prelievo a un paziente, a fini diagnostici e terapeutici, una linea di cellule che produceva molecole di particolare interesse. Questa linea era stata isolata dalla popolazione più generale, caratterizzata e, una volta verificata questa sua particolare capacità, era stata sottoposta a brevetto.

Il paziente, venuto a conoscenza di ciò, ha intentato causa all'ospedale e ha chiesto un risarcimento sollevando due ordini di problemi: il primo è quello del consenso informato, in quanto il paziente rimproverava all'ospedale di non essere stato informato delle ricerche effettuate e dei suoi sviluppi. In questo caso ci troviamo di fronte a un aspetto che si presenta spesso nella ricerca scientifica: quello appunto di trovare cose che non si erano previste. Neanche i medici ricercatori che avevano isolato la popolazione cellulare, a priori, pensavano che avrebbero individuato, nella coltura delle cellule derivate dal paziente, questa particolare popolazione cellulare. Il secondo problema è l'aspetto commerciale: questa linea, una volta brevettata, ha garantito all'ospedale la possibilità di commercializzarla e quindi di ottenere dei profitti, che il paziente voleva condividere.

Nel caso di indagini su embrioni, prescindendo dalle tematiche concernenti l'embrione, troppo complesse e numerose per essere trattate sinteticamente in questa sede, entra in gioco fondamentalmente il principio di autodeterminazione della donna. È possibile, infatti, coltivando delle morule o delle blastocisti *in vitro*, riuscire a fare diagnosi prenatali della condizione dell'embrione. Qualora si individuino gravi danni, subentra il problema di decidere se procedere o meno all'impianto dell'embrione nell'utero della donna. Questa decisione deve spettare alla donna, perché riguarda il suo corpo, la sua salute e la sua vita. Ma qui, si sostiene da parte della Chiesa, andrebbe tenuto da conto anche il diritto dell'embrione a nascere, qualunque sia la sua malformazione.

Sempre nel campo della fecondazione *in vitro*, è stato molto discusso il caso della famosa pecora Dolly. In una coltura cellulare si parla di clone quando si ha una popolazione cellulare che deriva da un'unica singola cellula. Il processo di clonazione di cui si parla in riferimento alla pecora Dolly è diverso: in quel caso, infatti, è stato preso il nucleo di una cellula adulta di una pecora ed è stato introdotto nell'ovocita della pecora stessa, tramite tecniche di coltura delle cellule summenzionate. Questo ha fatto sì che si ottenesse una pecora che riproduceva esattamente se stessa.

Dal punto di vista della ricerca scientifica, il risultato dell'esperimento fatto sulla pecora Dolly, è interessante. In realtà, si era sempre pensato che esistesse, in relazione alle cellule differenziate, una specie di dogma secondo cui il nucleo di una cellula differenziata avrebbe un programma unidirezionale, con alcuni geni definitivamente silenti e con quelli destinati a funzioni specializzate attivati. Nell'esperimento della pecora Dolly, invece, il nucleo di una cellula specializzata (in quanto si trattava di una cellula di una ghiandola mammaria) messo dentro un ovocita, ha riassetato il suo programma ed è ripartito come se, non ricordandosi più di essere il nucleo di una cellula mammaria, fosse stato il nucleo di una cellula embrionale e dunque totipotente e in grado di programmare un nuovo intero individuo.

Sul piano etico ci sono state molte critiche, rispetto alle possibili applicazioni che si potrebbero fare ed è stato agitato lo spettro della clonazione umana; di fatto, questi timori sembrano prematuri, perchè questi studi sono in una fase ancora molto primitiva e la tecnica non funziona pienamente. Tra l'altro in Dolly si è registrato un invecchiamento precoce, in quanto, apparentemente, non viene dimenticato del tutto, da parte del nucleo, il messaggio di essere derivato da un tessuto adulto.

Riguardo le cellule staminali, è crollato uno dei dogmi a cui abbiamo creduto per diversi anni, ovvero che vi fossero dei tessuti non in grado di rigenerarsi, come ad esempio, il tessuto nervoso. In realtà esistono cellule staminali praticamente di tutti i tessuti (così sembra e si comincia a identificarle) e, non solo queste possono dare origine e quindi rinnovare il tessuto a cui appartengono, ma pare che alcune di esse siano totipotenti, cioè in particolari condizioni di coltura, con particolari fattori di crescita, possono dare origine anche a tessuti diversi da quelli da cui sono state prelevate.

È chiaro che questo settore non presenta solo un interesse scientifico e terapeutico, ma anche commerciale. È evidente la possibilità di fare, per altri organi o per altri tessuti, ciò che si fa per la pelle, quindi avere *in vitro* la possibilità di ricreare dei tessuti di riparo, là dove ce ne sia bisogno, possibilmente a partire dallo stesso individuo da curare, in modo da evitare problemi di rigetto. Chi avrà successo in questo tipo di ricerche, potrà pensare di brevettare le cellule che è riuscito a identificare e isolare o le procedure che ha adottato, con la prospettiva di realizzare dei profitti certamente rilevanti.

L'ultima osservazione che mi preme fare, e che vorrei che fosse oggetto di riflessione per tutti, è che il mercato per queste applicazioni così sofisticate è ovviamente il mercato dei Paesi ricchi, con tecnologie e strutture sanitarie molto avanzate e riguarda una cerchia di popolazione certamente limitata. Questo è un ulteriore aspetto che chiama in causa la responsabilità degli scienziati, degli individui e dell'intera collettività.

GENETICA, TEST GENETICI E PROSPETTIVE

Domenica Taruscio e Giovanna Florida

Laboratorio di Ultrastrutture, Istituto Superiore di Sanità, Roma

La genetica è la scienza che studia i caratteri ereditari e la loro modalità di trasmissione da genitori a figli. Entrambi i genitori trasmettono ai figli i geni contenenti le informazioni che determineranno le loro caratteristiche.

La molecola depositaria dei caratteri ereditari è l'acido desossiribonucleico (DNA) (Figura 1). Il DNA è composto da due catene nucleotidiche che decorrono in direzione opposta e sono avvolte a spirale a formare una doppia elica.

In ciascun filamento di DNA possiamo considerare i due assi laterali, costituiti dai residui di desossiribosio e dai gruppi fosforici in successione alternata, e una porzione interna variabile costituita dalle basi azotate (adenina, guanina, citosina, timina) legate fra loro mediante ponti idrogeno. L'accoppiamento delle basi sulle due catene è altamente specifico: l'adenina di una catena può appaiarsi soltanto con la timina della catena opposta mediante un doppio ponte idrogeno, la guanina solo con la citosina.

Il filamento di DNA è invisibile al microscopio ottico mentre è osservabile con il microscopio elettronico a trasmissione. Le sue dimensioni sono straordinarie: tutto il DNA è impacchettato ma, se si potesse srotolare, il filamento di una singola cellula sarebbe lungo più di un metro.

Il gene è un frammento di DNA che può essere definito come l'unità d'informazione genetica e contiene le informazioni per produrre una singola catena polipeptidica (1).

Le quattro basi nucleotidiche adenina, timina, guanina, citosina costituiscono le unità elementari d'informazione genetica e vengono utilizzate secondo un codice a triplette, ognuna capace di definire uno dei venti aminoacidi. In realtà il nostro codice è degenerato in quanto un aminoacido può essere codificato da più di una tripletta.

Il flusso d'informazione genetica è quasi esclusivamente unidirezionale (2): il DNA, specifica la sintesi di acido ribonucleico messaggero (mRNA) che a sua volta specifica la sintesi di proteine. In sintesi, la sequenza lineare di nucleotidi nel DNA è

decodificata per dare una sequenza lineare di nucleotidi nell'RNA (trascrizione) che, a sua volta, può essere decodificata secondo il codice a tripletta per dare una sequenza lineare di aminoacidi nel prodotto polipeptidico (traduzione).

Solo una piccola parte del DNA cellulare viene trascritto e in più, solo una parte dell'RNA trascritto viene tradotto in polipeptide. A seconda dei loro bisogni e delle loro funzioni, cellule differenti tra-

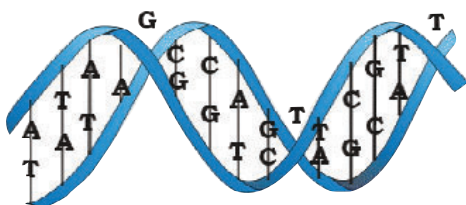


Figura 1 - Rappresentazione schematica del DNA

scrivono geni diversi. Alcune cellule, ad esempio le cellule del cervello, esprimono un grosso numero di geni diversi. I geni espressi definiscono quindi le funzioni cellulari. Alcune funzioni sono essenziali per il funzionamento generale della cellula e sono specificate dai cosiddetti geni *housekeeping*; altri geni invece hanno un'espressione marcatamente ristretta a specifici tipi cellulari (2).

Nel 2001 è stata pubblicata la bozza quasi completa (circa il 97%) del genoma umano su *Nature* (sequenziamento realizzato dall'*International Human Genome Sequencing Consortium*) e su *Science* (sequenziamento realizzato da Celera Genomics). Nell'aprile 2003 è stato annunciato il sequenziamento completo di tutto il genoma umano da parte dell'*International Human Genome Consortium*.

Il numero di geni nell'uomo è compreso tra i 30 000 e i 40 000, significativamente più basso di quello stimato precedentemente (tra 50 000 e 140 000). Le regioni codificanti costituiscono quindi meno del 5% del genoma e alcuni cromosomi hanno una densità genica più alta di altri (3).

Il DNA durante la divisione cellulare si condensa sempre più sino a formare in metafase i cromosomi, strutture visibili al microscopio ottico. Nell'uomo vi sono 46 cromosomi, ventidue coppie di autosomi e una coppia di cromosomi sessuali. Nell'ambito di ogni coppia di cromosomi un cromosoma è di origine paterna, l'altro di origine materna. Il numero e l'accurata descrizione morfologica dei cromosomi presenti in un individuo rappresentano il cariotipo. Esiste, infatti, una classificazione internazionale dei cromosomi umani che si avvale della morfologia e del bandeggio specifico che ciascuna coppia di cromosomi assume dopo specifiche tecniche di colorazione (4) (Figura 2).

Nel momento in cui si verificano degli "errori" nel passaggio delle informazioni genetiche si può sviluppare una malattia genetica.

Vi sono varie modalità di trasmissione di una malattia genetica:

- Ereditarietà monogenica o mendeliana, dovuta all'alterazione di un singolo gene (ad esempio, la fibrosi cistica);
- ereditarietà multifattoriale, dovuta all'interazione tra più geni e l'ambiente (ad esempio, il diabete giovanile e l'ipertensione);



Figura 2 - Cariotipo femminile umano normale. I cromosomi mostrano le bande G, ottenute dopo colorazione con Giemsa (da: <http://worms.zoology.wisc.edu/zooweb/Phelps/karyotype.html>)

- ereditarietà cromosomica, dovuta a un'alterazione numerica o strutturale dei cromosomi (ad esempio, la trisomia del cromosoma 21 o sindrome di Down);
- ereditarietà mitocondriale, dovuta ad alterazione nel DNA dei mitocondri (ad esempio, l'encefalomiopatia mitocondriale);
- ereditarietà non mendeliana, dovuta a eventi epigenetici o a espansione di triplette (ad esempio, la sindrome di Prader-Willi e la sindrome dell'X-Fragile).

Le malattie a ereditarietà monogenica si trasmettono con tre diverse modalità: autosomica dominante (ad esempio, acondroplasia, Corea di Huntington) autosomica recessiva (fibrosi cistica) o legata ai cromosomi sessuali (distrofia muscolare di Duchenne).

Nello studio di queste malattie è molto importante costruire un albero genealogico (Figura 3), raccogliendo la storia familiare e ottenendo quante più informazioni possibili; si possono quindi distinguere i diversi meccanismi ereditari individuando il modello di trasmissione di una determinata malattia monogenica.

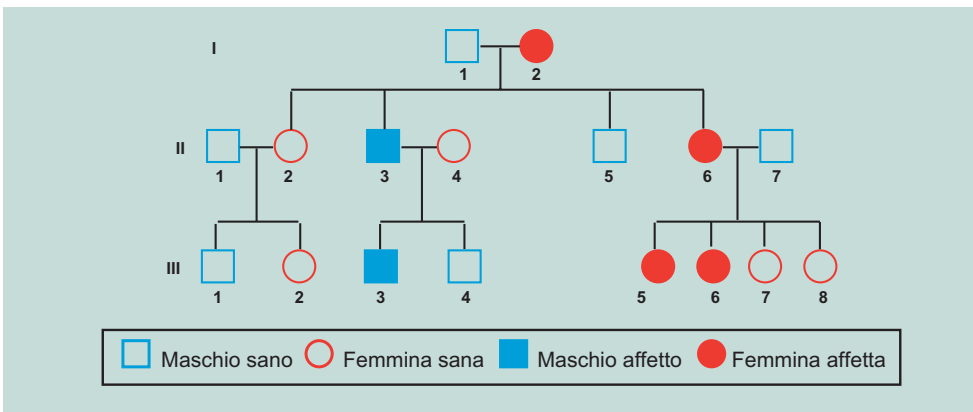


Figura 3 - Rappresentazione schematica di un albero genealogico

Molte malattie ereditarie dell'uomo sono determinate da mutazioni in singoli geni e sono quindi trasmesse come caratteri monogenici.

Le aberrazioni cromosomiche sono responsabili di circa il 50% degli aborti spontanei entro le prime 15 settimane (5) e sono associate a morte prenatale, malformazioni congenite e a sindromi. Le aberrazioni numeriche o aneuploidie, dovute a non disgiunzione dei cromosomi alla meiosi o nelle prime fasi di divisione mitotica dello zigote, sono causa di sindromi quali la sindrome di Down (trisomia del cromosoma 21), la sindrome di Turner (monosomia del cromosoma X), la sindrome di Klinefelter (Figura 4).

Le aberrazioni strutturali consistono in delezioni, duplicazioni, inversioni, isocromosomi, cromosomi ad anello, traslocazioni. Le delezioni e le duplicazioni consistono, per un determinato cromosoma, nella perdita o nell'acquisto di un segmento di DNA; tali anomalie hanno effetto sugli individui portatori allo stato eterozigote e gli effetti dipendono dal numero di geni coinvolti. Ad esempio, la sindrome *Cri du Chat* è dovuta a una delezione nel braccio corto del cromosoma 5. Le inversioni, invece, fanno variare non il numero di geni presenti, ma la loro disposizione rispetto all'ordinamento normale; solitamente non danno effetti fenotipici, a eccezione dei casi in cui in corrispondenza dei punti di rottura si



Figura 4 - Cariotipo di un individuo con sindrome di Klinefelter (47, XXY) (da: <http://worms.zoology.wisc.edu/zooweb/Phelps/karyotype.html#9>)

siano verificate anche mutazioni geniche o vi siano effetti di posizione (cioè si ha un'espressione alterata rispetto alla normalità di un gene). Le traslocazioni consistono di solito nello scambio reciproco di regioni cromosomiche. Le traslocazioni sono dette bilanciate se non c'è un guadagno o una perdita di materiale cromosomico; in questo caso generalmente non si hanno effetti fenotipici a meno che si rompa un gene importante o sia influenzata l'espressione di un gene. I portatori di traslocazioni bilanciate sono fenotipicamente normali ma possono formare gameti sbilanciati e quindi concepire zigoti con assetto cromosomico sbilanciato (2).

L'eredità multifattoriale coinvolge l'interazione di geni e fattori ambientali.

Nelle malattie multifattoriali l'eredità è complessa e difficilmente prevedibile poiché si eredita la predisposizione ad ammalarsi e, nonostante la predisposizione, molte persone non si ammalano mai (6).

I caratteri non mendeliani possono dipendere da due, tre o molti loci genetici. In particolare la determinazione genetica può coinvolgere un piccolo numero di loci (oligogenica) o molti loci, ciascuno con un piccolo effetto (poligenica); o può esserci un *locus* singolo con un *background* multifattoriale. Esempi di tali patologie sono il diabete mellito giovanile e le malattie autoimmuni, come il lupus, l'artrite reumatoide e la sclerosi multipla (2).

Le patologie a ereditarietà mitocondriale sono dovute a mutazioni puntiformi, delezioni o duplicazioni nel genoma dei mitocondri, organuli coinvolti nei processi ossidativi e deputati alla produzione di energia (2). Le alterazioni nel DNA mitocondriale si trasmettono solo per via materna poiché i mitocondri dell'embrione derivano tutti dall'ovocita materno.

È difficile stabilire connessioni genotipo-fenotipo in tali patologie. Ad esempio, nell'atrofia ottica ereditaria di Leber (LHON) (MIM 535 000) (7), in cui si ha la sostituzione di un nucleotide, alcuni pazienti sembrano essere omeoplasmici (tutte le molecole di DNA mitocondriale hanno la mutazione), altri eteroplasmici. Inoltre è probabile che altri geni e fattori ambientali siano coinvolti nella LHON (7).

Vi sono altri tipi di patologie che non dipendono da variazioni nella sequenza del DNA ma da cambiamenti, detti epigenetici, che possono influenzare l'espressione di un gene o le proprietà del suo prodotto. I più importanti meccanismi epigenetici sono (2):

- metilazione del DNA; ad esempio in molti tumori la funzione del gene soppressore tumorale CDKN2A è soppressa dalla metilazione del promotore piuttosto che da un'alterazione della sequenza del DNA;
- cambiamenti nella configurazione della cromatina che, come risultato di riarrangiamenti cromosomici, possono influenzare l'espressione di un gene intatto. Ad esempio, nel linfoma di Burkitt si ha una traslocazione che altera la regolazione del protooncogene/ oncogene MYC localizzato nel braccio lungo del cromosoma 8;
- *imprinting*: i geni *imprinted* sono quei geni la cui espressione è controllata da patterns di metilazione che differiscono secondo la loro origine parentale. Così quando il meccanismo di *imprinting* non funziona bene o l'origine parentale non è quella che dovrebbe essere, un gene intatto può perdere la funzione o acquisire un'espressione inappropriata. Molte patologie umane coinvolgono geni *imprinted*, ad esempio, le sindromi di Prader-Willi e di Angelman;
- cambiamenti nella conformazione proteica. Talvolta le molecole proteiche possono passare da una conformazione nativa stabile a una nuova forma con proprietà differenti. Un esempio è dato dalle proteine del prione.

Altre patologie genetiche sono dovute a un'espansione di ripetizioni trinucleotidiche, all'interno o fuori sequenze codificanti. Nella sindrome dell'X-Fragile e nell'ataxia di Friedreich una grossa espansione di ripetizioni all'esterno delle sequenze codificanti causa una perdita di funzione abolendo la trascrizione (2).

Nella Corea di Huntington e nell'ataxia spinocerebellare un'espansione di ripetizioni CAG all'interno delle sequenze codificanti porta alla formazione di tratti di poliglutamina all'interno della proteina, che causa aggregazione in alcuni tipi di cellule e le porta alla morte (2).

Per test genetico si intende l'analisi a scopo clinico di DNA, RNA, cromosomi, proteine, metaboliti o altri prodotti genici, fatta per evidenziare genotipi, mutazioni, fenotipi o cariotipi correlati o meno con patologie ereditabili umane. Questa definizione include gli screening prenatali, neonatali e dei portatori, nonché i test sulle famiglie a rischio. I risultati di queste indagini si possono applicare alla diagnosi e alla prognosi di malattie ereditarie, alla predizione del rischio - malattia, all'identificazione dei portatori sani, alle correlazioni fenotipo - genotipo. Sono invece esclusi da questa definizione i test effettuati a solo scopo di ricerca (6).

I test genetici possono essere effettuati sia in diagnosi prenatale per identificare nel feto anomalie costituzionali, sia in diagnosi postnatale per identificare sia anomalie costituzionali sia tumorali. Le metodiche di diagnosi prenatale utilizzate sono l'amniocentesi (prelievo di liquido amniotico), la villocentesi (prelievo dei villi coriali), e la funicolocentesi (prelievo di sangue fetale). Le tecniche utilizzate possono essere citogenetiche e molecolari. Le tecniche citogenetiche ci permettono di stabilire il numero e le caratteristiche dei cromosomi, quindi l'individuazione di aberrazioni cromosomiche (di numero e di struttura) nel feto.

Con le tecniche di genetica molecolare, studiando direttamente il DNA, si possono diagnosticare le alterazioni genetiche conosciute, altrimenti invisibili all'esame citogenetico. La maggior parte delle alterazioni, infatti, è talmente piccola che non provoca alcuna modificazione visibile nella struttura dei cromosomi. Nel campo

delle patologie monofattoriali, come le talassemie, la fibrosi cistica, la distrofia muscolare e le emoglobinopatie, le tecniche di biologia molecolare si sono rivelate vincenti: il numero delle malattie genetiche identificabili cresce parallelamente alla individuazione di nuovi geni malattia.

In diagnosi postnatale si analizzano con tecniche citogenetiche i preparati cromosomici allestiti da sangue periferico, da midollo osseo o da fibroblasti.

L'analisi citogenetica costituzionale si esegue su soggetti con sospetta sindrome cromosomica o malattia genetica, genitori e familiari di soggetti con anomalie cromosomiche, coppie di poliabortività e problemi di fertilità.

L'analisi citogenetica per anomalie acquisite prevede l'esecuzione della coltura, del cariotipo e dell'esame mediante Ibridazione in situ Fluorescente (FISH) con sonde specifiche per lo studio di patologie ematologiche (Leucemia Mieloide Cronica - LMC, Mielodisplasia, ecc.) e tumori solidi (7).

L'analisi molecolare viene eseguita su DNA estratto da sangue o altri tessuti per identificare mutazioni geniche in individui portatori o affetti di una determinata patologia.

Come eseguire quindi la prevenzione di una malattia genetica e dare informazioni? Attraverso la consulenza genetica che è un servizio mediante il quale la coppia o l'individuo è informato su caratteristiche e conseguenze della malattia genetica, probabilità di trasmettere la malattia ai figli e possibilità di diagnosi e terapia.

La consulenza ha lo scopo di:

- 1) fornire indicazioni, quando possibile, per un esame di tipo genetico sulle persone che si presume siano portatrici o affette da una malattia genetica;
- 2) informare i componenti della famiglia sia sulla possibilità di ereditare o meno la malattia, sia sulla possibilità di effettuare una diagnosi prenatale;
- 3) spiegare tutte le opzioni possibili per affrontare il rischio di malattia;
- 4) far compiere le scelte più adeguate autonomamente e far agire coerentemente rispetto alle scelte compiute;
- 5) migliorare il benessere psicologico del malato e dei familiari (8, 9).

L'Istituto Superiore di Sanità (ISS) ha avviato nel 2000 il "Progetto nazionale per la standardizzazione e l'assicurazione di qualità dei test genetici" al fine di garantire la verifica di tutti i controlli per assicurare la validità, l'accuratezza, la precisione, la riproducibilità dei test genetici già in uso su tutto il territorio nazionale, su base volontaria dei laboratori partecipanti.

Il nostro progetto prevede l'organizzazione sul territorio nazionale di una rete di laboratori pubblici che utilizzano test genetici, mediante la formazione di otto unità operative, ciascuna con un proprio responsabile.

Due unità operative sono situate all'interno dell'ISS e sei sono interregionali. Alle unità operative interregionali afferiscono diversi laboratori-servizi pubblici, distribuiti sul territorio nazionale (10).

Tutti i laboratori ricevono campioni biologici testati e validati prima di essere inviati dall'ISS e restituiscono a questo i risultati.

Il nostro progetto fino a ora ha eseguito controlli esterni di qualità in genetica molecolare per la sindrome dell'X-Fragile, la fibrosi cistica, la beta-talassemia e la poliposi adenomatosa del colon. Per quanto riguarda la citogenetica sono stati eseguiti controlli sia in citogenetica postnatale (costituzionale e acquisita) sia prenatale.

I laboratori che hanno partecipato nei due anni sono 74 e sono localizzati su tutto il territorio nazionale.

Nei due controlli di qualità eseguiti il livello di qualità dell'analisi è stato molto buono; vi è invece disomogeneità e talvolta incompletezza nella refertazione.

Una volta sequenziato tutto il DNA, quali sono i possibili scenari futuri della cosiddetta "era postgenomica"?

Affronteremo alcuni di questi, quali la genomica funzionale, la proteomica, la terapia genica e la farmacogenomica.

La genomica funzionale è quella disciplina che include le ricerche svolte a comprendere il funzionamento di ogni gene: dunque non solo sapere "che cosa fa", ma anche "come lo fa".

Il sequenziamento completo del genoma umano è infatti solo l'inizio della nostra comprensione della biologia dell'uomo. Bisogna identificare tutti i geni e delucidare la funzione dei prodotti espressi (RNA funzionale e proteine); inoltre occorre capire il ruolo delle sequenze non codificanti.

La proteomica o *reverse genetics* è lo studio su larga scala delle proteine e ha lo scopo di tracciare la mappa di probabilmente mezzo milione di proteine, codificate dai circa 30 000 geni, e di studiare sistematicamente le interazioni proteina-proteina. La proteomica si sta sviluppando secondo tre linee principali: la prima si occupa della micro-caratterizzazione delle proteine, della loro identificazione su larga scala e delle loro modificazioni; la seconda confronta i livelli proteici in situazioni e tessuti diversi e promette potenziali applicazioni in un ampio spettro di patologie; la terza area di ricerca, infine, studia le interazioni delle proteine tra di loro e con i tessuti circostanti (11). La proteomica permetterà, quindi, una migliore comprensione dell'eziopatogenesi delle malattie, lo sviluppo di nuovi "biomarkers" per la diagnosi precoce delle patologie e accelererà lo sviluppo di nuovi farmaci (12).

Da una parte la genomica infatti, consente di determinare la posizione, la sequenza e la funzione dei geni; dall'altra parte la proteomica, studiando le proteine, permette di conoscerne il funzionamento e di risalire al gene cui fanno capo.

La farmacogenomica è lo studio del genoma (DNA) e dei suoi prodotti (RNA e proteine), con tecniche di biologia molecolare o genetiche, ai fini della ricerca e sviluppo di farmaci. La farmacogenomica studia gli effetti differenti di composti chimici sull'espressione genica, tra tutti i geni espressi in un genoma. Si mira a trovare il farmaco migliore tra i tanti composti in esame (13).

La terapia genica potrà, conoscendo la funzione di ogni gene, affrontare in modo radicale ogni malattia derivante da un'alterazione genetica, sostituendo geni "sani" a quelli "alterati". Il trasferimento del gene funzionante nell'organismo ospite rimedierà il difetto del gene difettoso o assente, prevenendo o curando una malattia genetica. Attualmente ciò già avviene, ma in casi molto rari.

La realizzazione pratica della terapia genica non è per niente semplice. Ogni malattia, oltre che la caratterizzazione del gene o dei geni responsabili, richiede spesso anche la messa a punto di una tecnica diversa. Le cellule bersaglio sono differenti a seconda della malattia, ad esempio nella fibrosi cistica bisogna principalmente curare le cellule delle vie aeree, mentre nelle immunodeficienze occorre trasferire il gene "sano" nelle cellule del sangue. Gli unici successi della terapia genica riguardano la SCID (Severe Combined Immunodeficiency Syndrome), in cui è stato possibile guarire bambini affetti (14). È ovvio che vi è ancora tanta strada da fare.

Riferimenti bibliografici

1. Fantoni A. " Problemi della genetica" A cura di S. Barlati (Ed.). Roma: Antonio Delfino Editore. *Genetica* 2000; 3-45.
2. Strachan T, Read AP. Human molecular genetics 2. BIOS Scientific Publishers Ltd; 1999.
3. <http://www.genome.gov/10001772>
4. Conti AM, Nicoletti B. "Origine, conservazione ed aumento della variabilità genetica". A cura di S. Barlati (Ed.). Roma, Antonio Delfino Editore. *Genetica* 2000; 47-67.
5. Jobantrupa, Sobrino A, Kinney A, Kline J, *et al.* Multiplex interphase FISH as a screen for common aneuploidies in spontaneous abortions. *Hum Repr* 2002; 1166-70.
6. Olden K, Wilson S. Enviromental health and genomics: visions and implications. *Nature Rev Genet* 2000; 1: 149-53.
7. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/entrez/dispmim.cgi?id=535000>
8. Linee guida per test genetici. Rapporto del gruppo di lavoro 19 maggio 1998. Comitato nazionale per la biosicurezza e le biotecnologie. Istituto Superiore di Sanità. <http://www.cnmr.iss.it /TEST/DOCU/lgui.pdf>
9. Bowles Biesecker B, Marteau TM. The future of genetic counselling: an international perspective. *Nature Genet* 1999; 22: 133-7.
10. <http://www.cnmr.iss.it>
11. Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomes. *Nature* 2000; 405: 837-46.
12. Hanash S. Disease proteomics. *Nature* 2003; 42: 226-32.
13. Lindpaintner K. The impact of pharmacogenetics and pharmacogenomics on drug discovery. *Nature Rev Drug Discovey* 2002; 1: 463-9.
14. Somia N, Verma IM. Gene therapy: trials and tribulations. *Nature Rev Genet* 2000; 1: 91-9.

Ringraziamenti

Si ringrazia Fabiola Gnessi per il contributo grafico.

DIAGNOSI PRECOCE DELLE MALATTIE INFETTIVE E PARASSITARIE

Maria Cristina Angelici

Laboratorio di Parassitologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Le biotecnologie sono il prodotto della capacità dell'uomo di modificare l'ambiente in cui vive per soddisfare le proprie necessità.

Tramite l'uso delle biotecnologie l'uomo ha migliorato le sue conoscenze sugli organismi viventi e ha, in parte, imparato a modificarli. Questo è vero anche nei confronti dei microrganismi patogeni dai quali egli cerca di difendersi. Analizzando e studiando i microbi con tecniche di biologia molecolare, ad esempio, è riuscito a conoscere nei minimi particolari la struttura del loro genoma e la loro biologia. Questa conoscenza gli ha permesso di combatterli formulando un'adeguata terapia, almeno fino a quando non siano riusciti a modificarsi geneticamente per sfuggire alla pressione selettiva esercitata dalla terapia. Di fronte a tale cambiamento si è dovuto nuovamente utilizzare la biotecnologia per aggiornare le conoscenze e migliorare il controllo della patologia da essi indotta.

È bene quindi, in quest'epoca di perplessità nei confronti delle biotecnologie, soprattutto dovuta alla produzione degli Organismi Geneticamente Modificati, sottolinearne, invece, l'importanza e la valenza nel controllo delle malattie infettive e non infettive e quindi agli aspetti applicativi nel campo della medicina.

Qui verranno esposti, in particolare, alcuni aspetti dell'utilizzo delle biotecnologie nel campo delle malattie infettive e parassitarie, quale l'uso delle tecniche di biologia molecolare e ingegneria genetica per diagnosticare e combattere gli agenti patogeni.

Dalla ricerca al laboratorio: biotecnologia e diagnosi

La PCR: sensibilità e tempismo

Le tecniche di biologia molecolare messe a punto nei laboratori di ricerca di base, si sono rivelate essere di elevata utilità nelle applicazioni in medicina come ad esempio, nella diagnosi molecolare. L'uso della Polymerase Chain Reaction (PCR) è stato ampiamente accettato nell'ambito della diagnostica, per gli elevati vantaggi che è in grado di apportare: specificità e sensibilità della diagnosi.

Il metodo della PCR prevede l'utilizzazione, in una miscela in provetta, di un enzima, la TAQ polimerasi, particolarmente utile perché in grado di lavorare a temperature molto elevate. L'enzima deriva dal batterio *Thermophilus aquaticus*, che è in grado di sopravvivere anche a 95-96 °C, temperatura alla quale il DNA in soluzione acquosa è in grado di denaturare. Ciò vuol dire che proprio subito dopo che i legami idrogeno tra le basi si sono scissi e le catene della doppia elica si aprono distanziandosi, l'enzima è in grado di polimerizzare una nuova catena su quella che funge da stampo. Questo fatto è ciò che garantisce la sensibilità del metodo perché

consente all'enzima di polimerizzare copie di DNA stampo in condizioni di alta temperatura alle quali altri enzimi e componenti inquinanti vengono, invece, denaturati. Esso, inoltre, copia la molecola stampo sfruttando il principio della termodinamica del DNA secondo il quale le sequenze più simili si riassociano per prime. Ciò vuol dire che per prime si legheranno le piccole sequenze omologhe al DNA denaturato (oligonucleotidi o *primer*) che alla TAQ servono come promotori della sintesi della nuova catena. Ciò che si verifica è che il sistema di produzione delle nuove copie del DNA stampo lavora in condizioni di "alta stringenza" cioè in condizioni limitate che non permettono la produzione di prodotti scadenti. Una volta che il sistema di duplicazione del DNA target è iniziato vengono prodotte, in tempi brevi, un numero di copie di esso che cresce in modo esponenziale. Questo risultato si ottiene anche partendo da quantità infinitesimali di DNA stampo.

Per questo il sistema è molto sensibile e quindi particolarmente utile nel campo della diagnostica perché permette di partire anche da una sola cellula del patogeno potenzialmente infettante o da poche copie del suo DNA. Altrettanto è utile in quanto fornisce una diagnosi altamente specifica se i *primer* sono sequenze appartenenti a geni tipici del microorganismo, non presenti in altri organismi.

Una diagnosi molecolare è utile perché ci permette di realizzare:

- una diagnosi sensibile amplificando una sequenza o un tratto di gene codificante in maniera talmente efficiente che anche una parte infinitesima del DNA di quell'organismo può essere rivelato se presente nel campione in esame;
- una diagnosi altamente specifica perché il sistema di amplificazione può utilizzare sequenze individuate solo nell'organismo in studio e quindi tipiche di esso.

Ciò ha determinato due elementi fondamentali: il primo è la rapidità e l'efficienza del sistema diagnostico, che permette di attuare una diagnosi precoce e quindi di applicare una rapidità di intervento; il secondo è la specificità del sistema, che effettivamente è talvolta elevatissima, e consente una diagnosi specie-specifica o addirittura ceppo-specifica e quindi di identificare in maniera sicura l'agente patogeno distinguendolo da altri simili per i quali la cura sarebbe diversa. In questo modo si può ottimizzare l'intervento di cura.

Tutto ciò è particolarmente vero quando parliamo di protozoi, che sono organismi unicellulari eucarioti e quindi organismi superiori e complessi più di virus e batteri e che in alcuni casi possono essere difficilmente raggiungibili nei distretti organici, difficilmente isolabili e presenti in quantità molto basse. Questo è ciò che si verifica tra l'altro comunemente quando il caso in studio è costituito da un'infezione allo stadio iniziale.

Primer diversi per target diversi

Dal punto di vista sperimentale evidenziare la presenza di un microbo tramite l'uso della PCR significa amplificare alcune sue sequenze geniche (target) tanto da renderle evidenti come bande su un gel d'elettroforesi. Per fare ciò è necessario disporre di piccole sequenze copia del target, costruite sinteticamente (*primer*).

Sperimentalmente si tratta di applicare il sistema direttamente ai campioni biologici come, ad esempio, una miscela di cellule estratte da un tessuto umano, in cui potrebbe essere presente il parassita. Dopo aver lisato il tessuto stesso si ottiene il DNA totale in esso contenuto, si aggiungono i componenti che servono perché la reazione di amplificazione specifica avvenga e se nel pool di DNA umano è presente anche quello del parassita, si ottiene un concentrato del gene o di un frammento del gene esclusivo del parassita. Se non si ottiene prodotto d'amplificazione vuol dire che il parassita non era presente e quindi l'individuo non è infetto. La certezza di quanto si ottiene dipende dai controlli che vengono posti nell'esperimento. Ad esempio, l'uso contemporaneo di *primer* per geni umani e per geni del parassita consente di sapere che comunque il DNA totale era stato estratto se ottengo l'amplificazione del gene umano in assenza di amplificazione del gene del parassita. L'uso di una provetta contenente DNA purificato del parassita come campione in più nell'esperimento consente di verificare la buona efficienza delle sostanze e delle molecole aggiunte per fare avvenire la reazione. In essa l'amplificazione deve comunque avvenire e questo costituisce il controllo positivo del sistema. L'uso, infine di una provetta contenente solo i componenti della miscela di amplificazione in assenza completa di DNA serve a evidenziare che, non ottenendo alcuna banda, i componenti sono liberi da contaminazioni di DNA esogeno.

L'elevato livello di specificità di questo metodo permette, inoltre, di operare una diagnosi differenziale nel caso in cui insieme al microrganismo sospetto siano presenti altri a esso più o meno simili, la cui patologia può sovrapporsi confondendo il quadro diagnostico. Questo è un evento che può verificarsi nell'uomo per le infezioni batteriche e virali e meno per quelle parassitarie e consiste appunto nel fatto che lo stesso paziente può essere infettato contemporaneamente o in tempi vicini da due o più organismi patogeni. Essa, invece, è una condizione piuttosto frequente negli animali. Poiché buona parte delle infezioni e delle parassitosi dell'uomo derivano dagli animali (zoonosi) di cui ci nutriamo o con i quali entriamo in contatto è importante sottolineare che l'uso di una buona diagnostica è richiesta anche nella sanità veterinaria. Infezioni miste provocate da più agenti che esprimono un diverso grado di patogenicità richiedono una diagnosi differenziale per sapere come intervenire nella cura del paziente che prevederà farmaci, dosaggi e modalità di somministrazione diversi.

La diagnostica molecolare con PCR permette di discriminare i diversi agenti delle infezioni miste con l'uso di diversi *primer* specifici.

In modo analogo si procede se l'infezione può essere dovuta a due o tre ceppi di tipo diverso o se può derivare da una forma dello stesso parassita caratterizzata da un diverso tropismo cioè dalla capacità di migrare in distretti cellulari diversi determinando patologie diverse. In questi casi è possibile utilizzare *primer* differenziali in successione osservando ciò che amplifica è ciò che non amplifica e quindi operando una diagnosi per esclusione.

Le tecniche di frazionamento del DNA e di sequenziamento, infine, hanno permesso di utilizzare il prodotto di amplificazione della PCR per studiare e classificare il genotipo a cui appartiene l'agente infettante o la mutazione genica che ha portato alla formazione di cloni resistenti agli antibiotici, come ad esempio facilmente succede in molte specie di batteri.

Lo studio dei genotipi consente di caratterizzare:

- Ceppi con diverso grado di virulenza
- Diverso livello di trasmissibilità
- Diverso tropismo e compartimentalizzazione del parassita



Con l'uso del test così messo a punto è stato possibile, ad esempio, identificare la presenza di infezione da *Entamoeba* discriminando tra *E. histolytica* specie patogena ed *E. dispar* specie apatogena per l'uomo, le cui sintomatologie sono sovrapponibili oppure tra *Mycobacterium tuberculosis* e specie diverse di *Mycobacterium* che per il loro diverso potere patogeno sono state inizialmente definite atipiche. *Primer* diversi sono inoltre utili per discriminare tra i genotipi diversi di *Leishmania infantum* e, infine, con le tecniche descritte è possibile utilizzare un pannello di *primer* per tipizzare i mutanti batterici e virali che appartengono alla stessa specie.

Con la PCR è stato possibile non solo evidenziare la presenza di un'infezione ma anche operare una diagnosi:

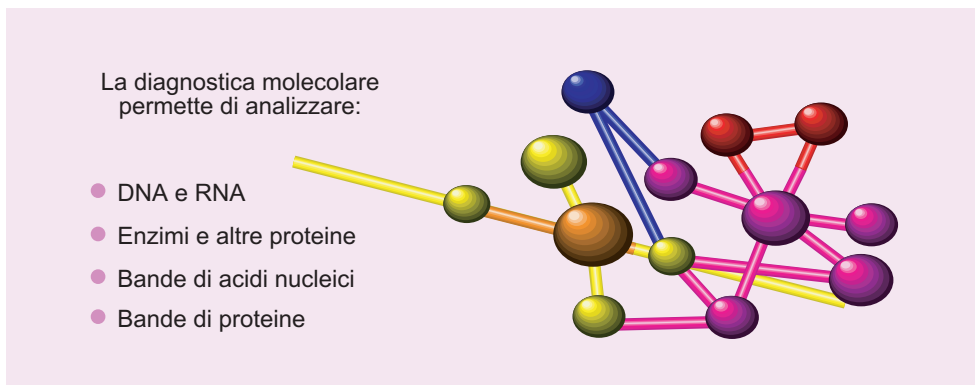
- differenziale di specie o di esclusione;
- di ceppi a virulenza diversa;
- di genotipi varianti e di cloni mutanti;
- di ceppi infettanti co-specifici ma con tropismi diversi.

Altri test molecolari

Le tecniche di ingegneria genetica hanno permesso di mettere a punto non solo la PCR come test diagnostico ma anche altri metodi molecolari che utilizzano gli acidi nucleici o le proteine.

Lo studio degli isoenzimi, ad esempio, è stato il primo metodo molecolare che ha permesso di studiare la variabilità genetica degli organismi viventi e quindi la loro identità. Con questo metodo è possibile analizzare ed evidenziare in modo colorimetrico e specifico alcuni enzimi come, ad esempio, quelli del ciclo di Krebs che appunto presentano un'elevata possibilità di variazione di sequenza aminoacidica senza che la funzione biologica ne sia modificata.

Utilizzando le differenze di sequenze proteiche mostrate da specie e ceppi diversi è possibile tipizzare l'agente infettante di cui si studiano gli isoenzimi.



La riassociazione per omologia di sequenza è un metodo altrettanto valido per studiare la variabilità genica a livello del DNA e si basa sul principio della sua termostabilità. Poiché la capacità di riassociazione della doppia elica è proporzionale all'omologia di sequenza e quanto più le sequenze sono omologhe, tanto più queste si riassociano velocemente, la velocità e l'efficienza di riassociazione diventa una misura della similitudine genica tra organismi diversi. Con questo metodo utilizzando matrici di DNA genomico note è possibile fare una definizione di specie.

Western e Southern blot sono anch'essi sistemi di ibridazione molecolare rispettivamente per le proteine e per gli acidi nucleici, che però, utilizzano, per ibridare, piccole molecole antigeniche o brevi tratti di DNA come "sonde" di omologia. Anche in questo caso è la reattività tra una molecola nota e una sconosciuta che permette di operare una diagnosi di sequenza e quindi di specie o variabile antigenica dell'organismo studiato. Anche questi metodi sono dunque utili per identificare l'agente infettivo e poiché utilizzano supporti di cellulosa per legare gli acidi nucleici o le proteine sono particolarmente utili per studi o diagnosi "di campo", condotte, cioè, direttamente nei luoghi che sono focolai d'infezione.

Con queste tecniche se si riscontra un segnale positivo vuol dire che la sonda di DNA specifico del microorganismo ha trovato il suo DNA omologo e quindi l'infezione è sicuramente esistente e siamo in grado di rivelarne la localizzazione tissutale.

Generalmente tali sonde per le ibridazioni sono estremamente specifiche e di sequenza conosciuta in quanto isolata da ceppi di riferimento.

La conoscenza della variabilità di sequenza e la scelta di sequenze specifiche da usare come sonda derivano dal complesso lavoro di sequenziamento del genoma del microbo stesso, dal frazionamento dei suoi geni con enzimi di digestione (RAPD, Fingerprinting, ecc.) e dai clonaggi molecolari per isolare e caratterizzare le sequenze utili per la diagnosi.

Il test molecolare a DNA può essere schematizzato come segue:

- amplificazione genica tramite PCR;
- uso di sonde e ibridazione molecolare;
- riassociazione per omologie;
- studio della variabilità di sequenze (RAPD, sequenziamento).

Anticorpi monoclonali

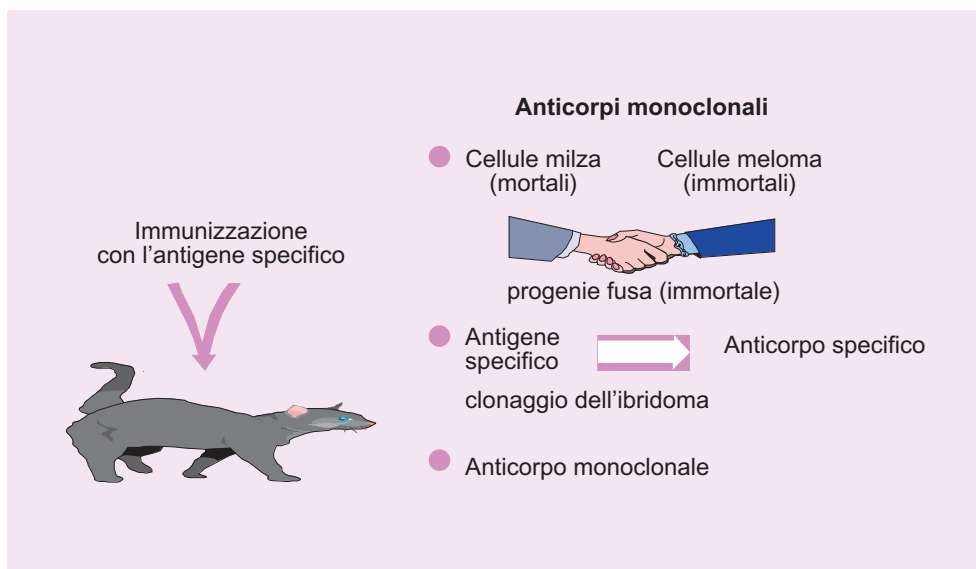
Gli anticorpi monoclonali sono un altro dei sistemi diagnostici ottenuti applicando le biotecnologie. Essi sono caratterizzati da un elevato potere discriminante in quanto molto specifici e permettono di mettere in evidenza i microbi anche all'interno dei tessuti biologici.

Questo tipo di anticorpi isolati *in vitro* sono il prodotto di una clonazione e per questo sono ultraspecifici. Per produrli è necessario immunizzare la cavia con l'antigene estratto *in vitro* dal microbo per il quale si deve mettere a punto la diagnosi. L'antigene è ottenuto con biotecnologie attraverso processi di caratterizzazione e clonaggio molecolare. Con queste tecniche è possibile anche ottenere parti di un antigene e fare anticorpi monoclonali solo verso queste parti.

Il topo inoculato con la molecola isolata diventa iperimmune cioè reagisce fortemente e quindi produce molte immunoglobuline che si accumulano ad alti livelli nella milza. Asportando le cellule di milza, queste vengono messe in coltura e sottoposte a fusione con cellule di mieloma mantenute in laboratorio. Tale tipo di cellule è, per sua natura, immortale cioè sono cellule riproducibili *in vitro* per successive clonazioni da un unico clone iniziale.

Dalla fusione delle cellule iperimmuni di milza con quelle di mieloma, si ottiene una popolazione mista di cellule ibride più o meno resistenti e più o meno produttrici di anticorpi. È il lavoro di selezione degli ibridi migliori, tramite continue reazioni antigene/anticorpo, che permette allo sperimentatore di ottenere un solo tipo ibrido resistente e capace di moltiplicarsi *in vitro* indefinitamente esprimendo anticorpi specifici verso l'antigene prescelto con elevata efficienza. L'ibrido ottenuto ha ereditato le qualità positive delle linee cellulari progenitrici che sono: immortalità ed elevata produzione di anticorpo specifico per un singolo antigene o per parte di esso.

Un prodotto quindi, di alta tecnologia e di preziosa applicabilità in campo diagnostico.



Con questo tipo di molecole è possibile catturare l'antigene specifico del microbo nel materiale biologico potenzialmente infetto o effettuare test *in vitro* di tipo sierologico o di ricerca diretta evidenziando la reazione con appropriate colorazioni specifiche.

Il test anticorpale può essere così suddiviso:

- isolamento di antigeni con tecniche ricombinanti;
- produzione di anticorpi ultraspecifici: anticorpi monoclonali.

Di nuovo si tratta di un prodotto diagnostico molto specifico e sensibile con cui è possibile fare una diagnosi precoce.

Test colturali

L'utilizzazione di sistemi colturali è derivata dalla possibilità di isolare cellule estratte dall'organismo *in toto* e farne cloni cellulari *in vitro*. Sono state prodotte, in questo modo linee cellulari pure più o meno stabili e longeve. L'utilizzazione di queste colture stabili si è in poco tempo rivelata preziosa nei settori più diversi e un'applicazione qui già descritta è proprio quella della produzione degli anticorpi monoclonali. La possibilità di utilizzare i monostrati di cellule *in vitro* per simulare l'ambiente interno, ha permesso l'isolamento e la crescita in provetta di diversi microrganismi, da batteri a parassiti, altrimenti difficilmente ottenibili. Il sistema di crescita di questi agenti infettanti *in vitro*, ha permesso, a sua volta, di superare le difficoltà imposte dal sistema immunitario e dai tempi d'infezione, spesso molto lunghi, del sistema di isolamento *in vivo*. L'isolamento del microbo *in vitro* ha permesso, inoltre, la sua identificazione sia come agente infettante che come identità specifica e quindi di usare la coltura cellulare come test diagnostico. Il lavoro di adattamento del tipo di coltura cellulare al tipo di microrganismo ha permesso ulteriormente di migliorarne la sensibilità e l'applicabilità anche alla diagnosi diretta di materiale infetto, oltre che alla messa a punto di test di risposta ai farmaci, con possibilità di modularne il dosaggio.

Dalla ricerca al laboratorio: biotecnologia e terapia

Farmaci tradizionali e nuovi farmaci

A tutt'oggi non sempre sono disponibili terapie adeguate per combattere le infezioni di tipo microbiologico. Rimane in molti casi un problema di specificità e di efficienza di trattamento farmacologico che spesso è superato con la formulazione di un complesso protocollo terapeutico e con la somministrazione di associazioni di farmaci piuttosto che di uno solo. Esiste, in molti casi, un problema di resistenza genica di ceppi diversi, di organismi che evolvono rapidamente e quindi cambiano il loro genoma in funzione proprio della pressione selettiva del farmaco diventando non più né identificabili né controllabili. L'apporto delle biotecnologie in questo settore ha permesso la produzione di molecole e principi attivi di nuovo tipo sia con i metodi biologici che con quelli dell'ingegneria genetica.

Terapia classica

Farmaci tradizionali

Nuove terapie

Associazioni

Liposomi

Principi attivi derivanti dalle piante



L'adeguamento stesso del comportamento terapeutico al controllo di una data infezione è dovuto al rapido aggiornarsi delle biotecnologie sul problema della farmacoresistenza. Ci si è accorti, ad esempio, con tecniche di bioingegneria che in molti casi la resistenza ai farmaci non deriva da mutazioni nel genoma ma da DNA extra cromosomiali di tipo plasmidico presenti nel microbo. Con gli stessi metodi si è visto che talvolta l'inefficienza di una data terapia dipende da differenze nel genoma della specie, costituita da genotipi varianti o da "meccanismi di fuga" della risposta immunitaria dell'ospite per la presenza di molte e varianti componenti antigeniche nella stessa specie di microbo.

Prodotti di approcci biotecnologici sono le nuove terapie e i nuovi principi attivi utili come farmaci quali l'uso del DNA ricombinante e l'uso di prodotti di estrazione vegetale, ma anche nuovi metodi di somministrazione quale l'uso di liposomi veicolanti.

A questo punto va fatta una nota sul fatto che proprio l'uso dei metodi *in vitro*, sempre derivati da studi biotecnologici ha permesso il primo screening sperimentale di questi nuovi farmaci, superando, in molti casi, il problema di una sperimentazione *in vivo* e quindi i problemi bioeteci a essa collegati.

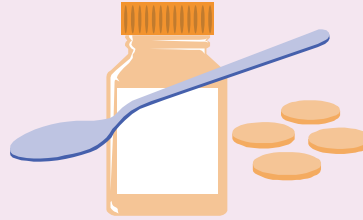
Vaccini

I vaccini sono il prodotto ultimo di una biotecnologia improntata sulla diagnosi e sulla cura. La produzione di un vaccino sintetizza tutto quello che è stato prima puntualizzato in termini di importanza dell'uso delle biotecnologie nel settore delle infezioni microbiche sia per una diagnosi precoce che per una terapia efficiente.

Persino i primi vaccini utilizzati erano un prodotto delle tecnologie essendo costituiti dal microbo vivo reso inattivo per l'attività patogena tramite l'intervento dello sperimentatore (trattamenti fisico-chimici, denaturazione delle tossine, modifiche genetiche, inserzioni di mutazioni).

Negli ultimi anni i prodotti vaccinali in studio o in uso sono costituiti da molecole ricombinanti ottenute con la bioingegneria e spesso sperimentate con tecniche *in vitro* ancor prima che *in vivo*. Tali prodotti sono spesso originati dallo stesso microorganismo da combattere ma anche prodotti sinteticamente in laboratorio a somiglianza di prodotti molecolari da esso precedentemente isolati e caratterizzati.

- Vaccini con microrganismi inattivati
- Vaccini ricombinanti



In conclusione le biotecnologie offrono:

Un contributo nella diagnosi delle malattie infettive

- Sensibilità e specificità della diagnosi
- Tempismo nella diagnosi
- Possibilità di ricreare sistemi *in vitro*

Un contributo nella terapia delle malattie infettive

- Farmaci sintetici
- Sperimentazione di farmaci *in vitro*
- Vaccini ricombinanti

Biotecnologie applicate alla diagnosi: un esempio

L'utilizzazione delle biotecnologie nel campo della diagnostica ha portato alla definizione della cosiddetta diagnosi di terzo livello. Le tecniche sopra citate, infatti, essendo di elevata sensibilità e specificità sono in grado di fornire, in molti casi, un quadro diagnostico inequivocabile rivelandosi così particolarmente utili nei casi in cui la diagnostica classica non è sufficiente. Questo significa che risulta conveniente e anche più economico applicare in prima istanza tecniche semplici di diagnosi che sono a basso costo e di facile applicazione (sierologia, microscopia, coltura) cioè tecniche di primo livello. Se poi, l'infezione non è conclamata ma silente e quindi poco sintomatica utilizzare i cosiddetti test di conferma quali i metodi sierologici più sofisticati e metodi biochimici in generale per comprovare il dato diagnostico (diagnosi di secondo livello). Solo nel caso in cui rimanga il dubbio o si debba fare una ricerca diretta dell'agente patogeno in distretti organici e cellulari difficilmente raggiungibili o si debba fare una diagnosi di specie, o clone, si deve ricorrere ai metodi molecolari e colturali che la biotecnologia ci ha messo a disposizione. Questo tipo di tecniche,

comunque, richiedono elevata esperienza e costi talvolta elevati. Per tutto questo esse rappresentano tecniche di diagnosi specifica di terzo livello e non di screening.

Un buon esempio di questo tipo di approccio diagnostico può essere portato parlando della toxoplasmosi congenita. Questa è un' infezione che può verificarsi a carico del feto qualora la madre sia entrata in contatto con il protozoo parassita *Toxoplasma gondii* per la prima volta nella sua vita (donna non immune) e proprio nel corso della gravidanza.

T. gondii provoca normalmente una patologia poco cruenta che si può confondere con una forte influenza, ma è proprio nella patologia congenita che riveste maggiore interesse sanitario per le gravi conseguenze apportate al feto.

Toxoplasma gondii

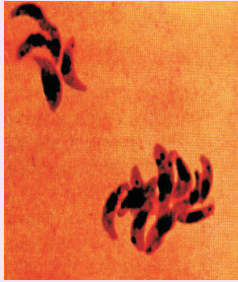
è un protozoo parassita intracellulare ubiquitario
agente eziologico della toxoplasmosi

Infezione autorisolvibile

- *Toxoplasmosi* acquisita

Infezione con conseguenze gravi

- *Toxoplasmosi* opportunista
- *Toxoplasmosi* congenita



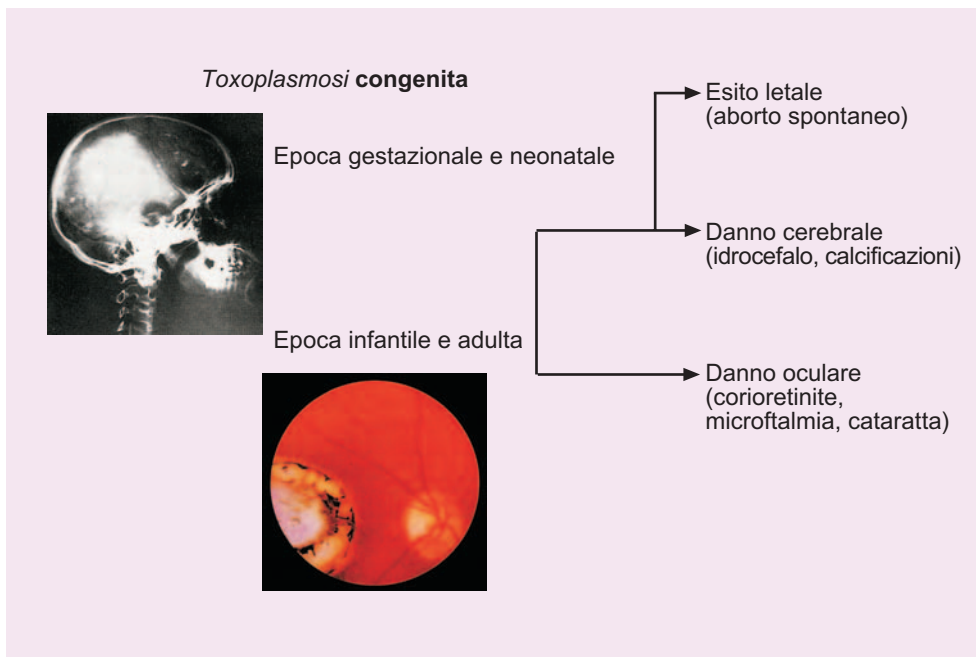
In tal caso, infatti, non avendo anticorpi la donna non è difesa dall'infezione e rischia di trasmettere l'infezione al feto con probabilità diverse a seconda del trimestre di gravidanza, della sua reattività immunologica, ma anche dalla virulenza del ceppo di parassita con cui è entrata in contatto.

In questo tipo d'infezione, la rapidità e la precisione dell'intervento diagnostico è determinante per evitare appunto la trasmissione, ovvero il male peggiore. I livelli d'intervento, in questo caso, sono quindi due: l'infezione della madre e l'infezione del figlio.

I tempi, la dinamica, la diagnosi e il trattamento sono diversi. Il livello di sensibilità con il quale si deve intervenire per fare diagnosi deve permettere di raggiungere distretti difficili quali appunto il feto e il livello di specificità deve consentire di avere la risposta più sicura nei tempi più veloci e con le modalità meno invasive.

Per questo nel nostro esempio è necessario intervenire con le tecniche molecolari dopo che la prima diagnosi operata sulla madre (di tipo sierologico) ha rivelato la presenza dell'infezione.

Nello schema che segue è puntualizzato l'aspetto patogenetico di questa infezione e nel nostro laboratorio sono state esaminati a tutt'oggi circa mille casi per la diagnosi di terzo livello.



Proprio per poter indagare ai due livelli dell'infezione della madre e del figlio, è stato preso in esame per ciascuna diagnosi prenatale richiesta, un campione di sangue periferico materno, allo scopo di poter individuare l'eventuale presenza di parassitemia e quindi d'infezione attiva della madre.

D'altra parte, per poter indagare sulla possibilità di passaggio transplacentare del parassita è necessario, ovviamente, esaminare il liquido amniotico prelevato con amniocentesi ed eventualmente il sangue cordonale del feto prelevato con cordocentesi.

I materiali biologici ottenuti sono quindi divisi in tre aliquote e trattati in modo appropriato sia per ottenere DNA che per conservare le cellule in essi contenute in modo vitale per farle crescere in coltura *in vitro* e per la coltura *in vivo*.

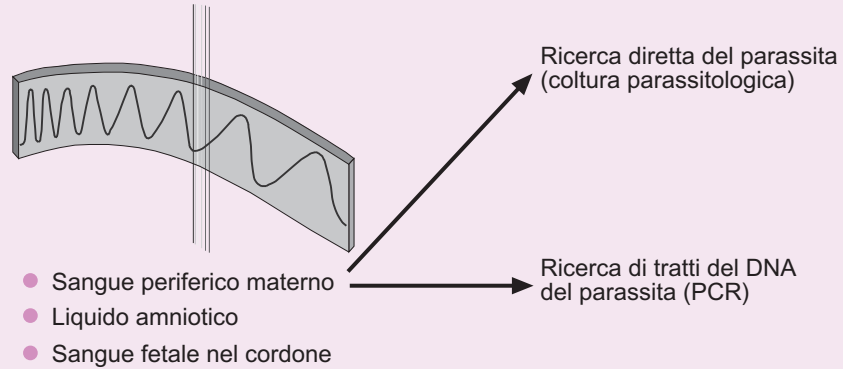
La PCR da noi utilizzata è di tipo multiplo cioè si serve di diverse coppie di *primer* derivate da un frammento di DNA di un gene presente solo in *Toxoplasma* e da una sequenza di RNA in esso molto abbondante. In questo modo l'amplificazione diviene altamente specifica e sensibile.

La coltura *in vitro*, utilizza sia i cloni cellulari mantenuti in laboratorio che gli anticorpi monoclonali che, essendo altamente specifici, permettono di identificare, tramite colorazione fluorescente, il parassita eventualmente accresciuto nelle cellule in coltura.

In questo modo vengono utilizzati tutti i sistemi diagnostici che la biotecnologia può fornire ottenendo da ciascuno di essi un'informazione diversa sullo stato e il livello dell'infezione.

Il significato di essi sarà diverso, nei diversi materiali biologici saggiati, perché con la rivelazione della presenza del DNA del parassita non avremo alcuna informazione sull'infettività del parassita eventualmente presente e quindi della patologia fetale. Il DNA può derivare, infatti, sia dai parassiti interi e vitali che da parassi-

Diagnosi di terzo livello: diagnosi prenatale



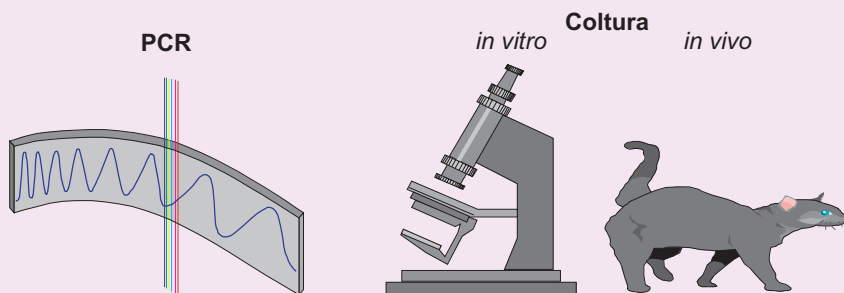
ti uccisi o inattivati dalla terapia in corso che alla donna deve essere comunque somministrata sin dalla prima evidenza di sierconversione.

In ogni caso, nella nostra diagnosi di terzo livello, ciò che si ottiene dall'applicazione di queste sofisticate tecniche è la ricerca diretta del parassita e l'informazione sul suo stato di vitalità e quindi d'infettività.

L'inoculo del campione biologico *in vivo* ovvero nella cavia, infine, pur non essendo un buon metodo diagnostico perché richiede troppo tempo per fare attecchire il parassita e fornire una risposta alla diagnosi, permette, invece, di valutare il grado di virulenza del parassita dall'osservazione della patologia sviluppata nell'animale da laboratorio.

Perciò possiamo schematizzare il protocollo diagnostico di terzo livello come segue.

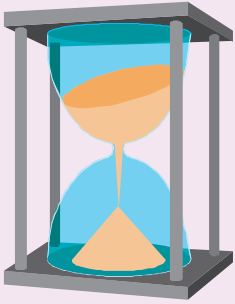
Protocollo ISS. Tempismo nella diagnosi



Il quadro completo, quindi, della diagnosi di trasmissione fetale sarà dato, nel nostro esempio, dall'applicazione delle diverse tecniche in modo contempora-

neo sugli stessi campioni biologici. In questo modo inoltre, vengono rispettati dei tempi di risposta della diagnosi che si adattano bene alla eticità del problema la cui risoluzione del quale dipende dalla velocità dell'intervento: la PCR permette, infatti, di fornire una prima risposta già entro poche ore dal ricevimento dei campioni; la cultura *in vitro* consente di sapere in non più di una settimana se vi è una trasmissione; la cultura *in vivo* permette di conoscere in un mese circa, quando ormai è stata formulata una diagnosi di presenza di trasmissione, il genotipo del ceppo infettante e quindi la virulenza e la gravità della patologia contratta dal feto.

In questo modo il nostro protocollo diagnostico permette al clinico di operare la consulenza e somministrare una terapia adeguata al più presto possibile al fine di interrompere o addirittura prevenire la trasmissione al feto. Considerando che il farmaco somministrato alla donna gravida appena viene identificata la sieroconversione è la spiramicina che non passa la barriera placentare e quindi non raggiunge il feto, è chiaro che anche una positività solo in PCR del liquido amniotico induce i clinici a modificare la terapia classica con una più specifica che consiste nell'associazione pirimetamina-sulfadiazina-acido folinico. In questo modo, grazie all'applicazione di metodi derivati dalla biotecnologia per la diagnosi e la cura è possibile rendere la diagnosi non solo curativa ma anche preventiva.



Prevenzione della trasmissione

Diagnosi tempestiva e accurata

- Diagnosi molecolare standardizzata
- Diagnosi colturale

Terapia mirata

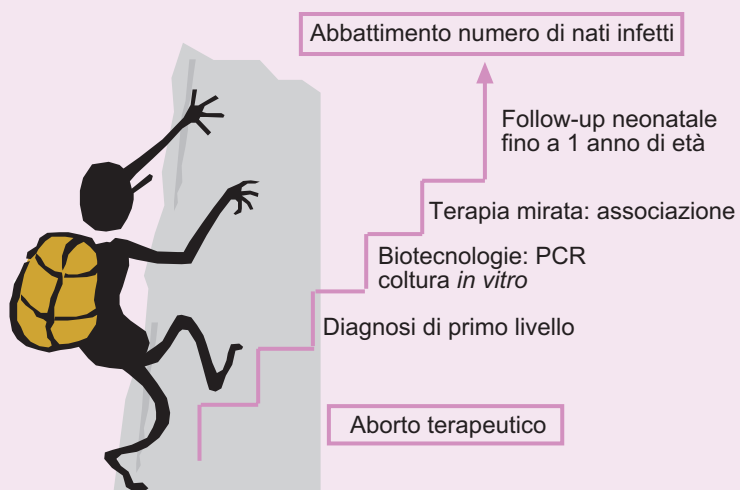
- Spiramicina
- Pirimetamina, sulfadiazina + acido folico

In questo modo diviene possibile di nuovo spostare l'attenzione dall'infezione della madre a quella del figlio anche per l'aspetto terapeutico.

Questo modo di operare ci ha permesso, negli anni, di osservare prima di tutto che il numero degli aborti terapeutici è fortemente diminuito perché la consulenza fatta su dati diagnostici più sicuri ha reso la donna e lo stesso medico più sicuro nel controllo dell'infezione e anche il numero dei nati infetti è diminuito perché in questo modo si è fatta più prevenzione.

Quindi il lavoro del ricercatore di base prima, e del ricercatore applicato, poi, hanno contribuito in questo caso, come in altri simili, a rendere più agile la scalata del clinico verso il miglioramento della salute in questo settore.

Miglioramento della gestione medico-assistenziale



È opportuno, quindi, usare le biotecnologie in centri dove è possibile mettere insieme competenze diverse affinché possa essere tenuto sotto controllo il significato e il valore predittivo di ciascuna di esse.

TRANSGENESI, CLONAZIONE E TERAPIA GENICA

Corrado Spadafora

*Servizio Qualità e Sicurezza Sperimentazione Animale,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

La transgenesi animale, la terapia genica e la clonazione sono aree contigue di ricerca in biotecnologia il cui sviluppo ha subito una rapida evoluzione nel corso degli ultimi anni. Scopo di questo articolo è di offrire un aggiornamento sintetico sugli studi svolti e sui risultati raggiunti in questi campi, allo scopo di chiarirne sia la natura sperimentale di base che le applicazioni pratiche, ma soprattutto per definire gli aspetti concettuali che accomunano e quelli che differenziano queste tre aree di ricerca. Mi soffermerò principalmente sulla transgenesi animale che, essendo dei tre la tecnologia più “anziana”, sviluppata cioè da oltre vent’anni, offre una maggior mole di risultati rispetto alla terapia genica e alla clonazione che sono ancora a livelli preliminari di sperimentazione.

La transgenesi è un intervento sperimentale volontario di inserimento di un gene esogeno nel genoma di una specie animale. Il gene può appartenere alla stessa specie o può derivare da specie differenti.

L’animale si definisce transgenico quando il gene esterno è:

- integrato nel suo genoma;
- espresso correttamente (in genere si usa un gene che codifica una data proteina) e selettivamente in uno o più tessuti dell’animale;
- integrato nella linea germinale e per conseguenza trasmissibile dall’animale fondatore alla progenie.

La terapia genica, al contrario, è un’azione sperimentale mirata soprattutto alla cura di patologie. Come la transgenesi, anche la terapia genica prevede l’introduzione di un gene esogeno nel genoma dell’ospite e la sua corretta espressione ma, diversamente dalla transgenesi, richiede che l’inserimento sia circoscritto nel genoma di un determinato tessuto o di un organo specifico ed esclusa dalla linea germinale. Questa è una differenza fondamentale, perché finalizzata esclusivamente a modificare uno specifico fenotipo somatico e non la linea germinale che, al contrario, è uno degli obiettivi della transgenesi.

Questo aspetto centrale che differenzia la terapia genica dalla transgenesi è graficamente evidente nello schema riportato in Figura 1. Una barriera, detta di Weismann, dal nome del biologo tedesco che per primo la teorizzò, stabilisce la completa separazione della linea germinale, che origina i gameti (spermatozoi e oociti), dalla linea cellulare somatica da cui derivano gli altri tessuti e organi. È in virtù di questa barriera se una mutazione intervenuta nella linea somatica vi rimane circoscritta e non può essere trasmessa alla linea germinale e, di conseguenza, non viene ereditata dalla progenie di quel determinato individuo. L’assenza di questa barriera avrebbe conseguenze disastrose: ad esempio, molti tumori dovuti a mutazioni somatiche sarebbero propagati alla progenie attraverso la linea germinale! La differenza fondamentale che distingue la transgenesi dalla terapia genica è basata sul superamento della barriera di Weismann nel primo caso ma non nel secondo.

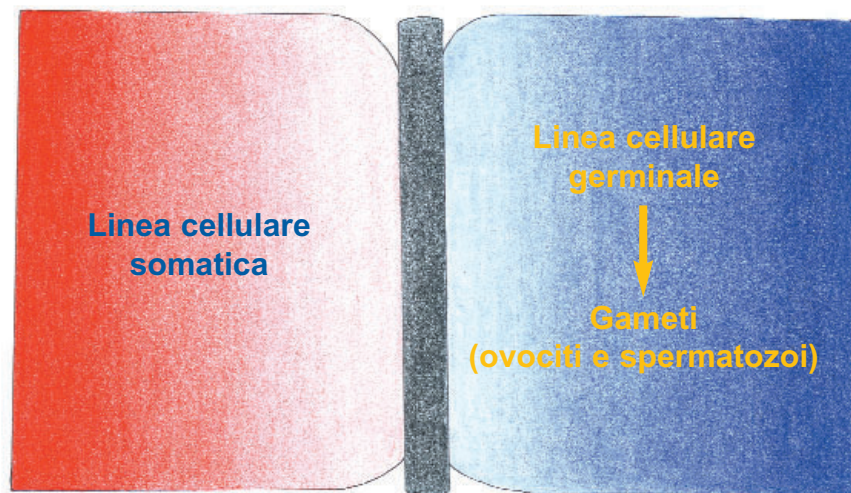


Figura 1 - Barriera di Weismann

La transgenesi

Le origini della transgenesi risalgono agli esperimenti di manipolazione genica sul topo, che Rudolf Jaenish eseguì intorno alla metà degli anni '70 (1). Jaenish aveva iniettato con una micropipetta del DNA proveniente dal virus SV40 nella cavità celomatica della blastociste murina (la blastociste è l'embrione di 4-5 giorni dalla fecondazione). L'esperimento produsse topi il cui genoma conteneva frammenti di DNA di SV40, dimostrando per la prima volta che si potevano ottenere con tecniche artificiali dei mammiferi mutanti. Fino ad allora, era stato possibile indurre mutazioni solo in organismi come la *Drosophila* o i lieviti.

I topi di Jaenish erano mutanti, ma non ancora transgenici. La definizione di animale transgenico fu introdotta pochi anni dopo, nel 1980, dal gruppo di ricercatori guidati da J.W. Gordon e da F.H. Ruddle (2). Questi ricercatori sono stati i primi a mettere a punto la tecnica di microiniezione del DNA ricombinante all'interno dello zigote (ovulo fertilizzato) e a dimostrare la trasmissione del transgene alla progenie da parte degli animali ottenuti con questa tecnica (3). Questi animali, per la prima volta, sono stati definiti appunto transgenici e la tecnica di microiniezione è correntemente utilizzata ancora ai giorni nostri.

Un'altra tappa importante è stata la creazione, da parte di un gruppo di ricercatori coordinato da R.D. Palmiter e R.I. Brinster nel 1982 negli Stati Uniti, di un ceppo di topi transgenici ottenuti microiniettando il gene dell'ormone della crescita umano (4). Questo esperimento ha prodotto un ceppo di topi molto più grandi dei loro omologhi non transgenici, dimostrando che era possibile modificare non solo il genotipo ma anche il fenotipo degli animali mutati. Il topo mutante dell'esperimento di Palmiter e Brinster, la cui fotografia all'epoca ha fatto il giro di tutto il mondo, è stato il capostipite delle centinaia di migliaia di animali transgenici che da allora sono stati creati introducendo i geni più disparati.

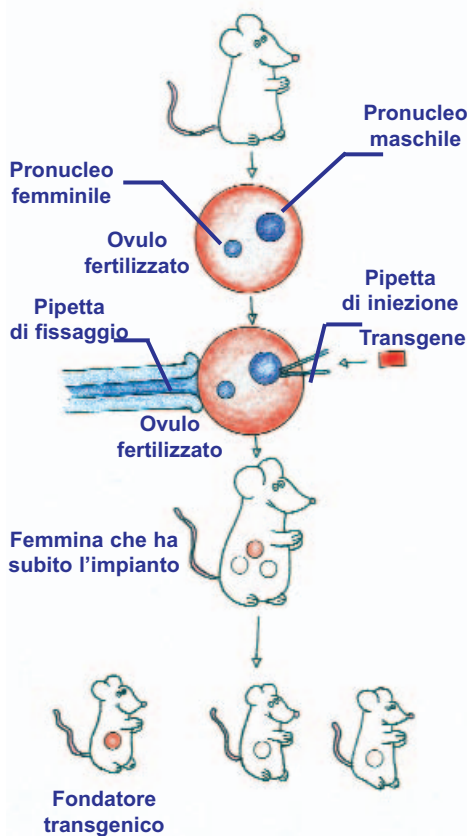
Esistono diverse metodologie per produrre animali transgenici (Tabella 1).

Tabella 1 - Metodi per produrre animali mutanti

Microiniezione del DNA nell'ovocita fertilizzato
 Microiniezione di cellule staminali nell'ovocita fertilizzato
Nuclear Transfer di cellule staminali trasformate *in vitro*
 Mediata da retrovirus
 Mediata da spermatozoi
Knocking-out

La microiniezione è il più antico e anche il più usato sul topo con buoni risultati. Non è altrettanto valido quando applicato su animali di interesse zootecnico come il maiale, le pecore e i bovini, per i quali sono stati messi a punto anche altri sistemi.

Il metodo basato sulla microiniezione di DNA ricombinante nel pronucleo maschile dello zigote, è schematizzato in Figura 2. Nel corso della fecondazione c'è un intervallo di circa 20 ore che separa l'ingresso dello spermatozoo nell'ovocita dalla fusione dei due nuclei (maschile e femminile). Pertanto, dopo circa 12-15 ore dall'inseminazione, quando i due nuclei sono ancora ben distinti, si prelevano chirurgicamente gli zigoti dalla femmina e li si utilizza per microiniettare il costrutto che contiene il transgene.



Gli oociti fertilizzati vengono tenuti in coltura per circa ventiquattr'ore, fino alla prima divisione cellulare e quindi si procede all'impianto degli embrioni a due cellule in una pseudo-madre sottoposta a trattamento ormonale, in grado di accogliere l'embrione e di portare avanti la gravidanza. Gli animali nati, a circa tre settimane dalla nascita, sono sottoposti a screening utilizzando il DNA estratto da un frammento di coda. Con questo sistema circa il 10% degli animali nati è transgenico.

La microiniezione di cellule staminali nell'ovocita fertilizzato è un metodo, più recente del precedente (Figura 3). Utilizza le cellule staminali (cellule embrionali totipotenti) ricavate dalla blastociste murine. Queste cellule sono coltivate e poi transfettate con il gene di interesse che di norma è associato a un gene che conferisce resistenza a uno specifico antibiotico, la neomicina (G418). Le cellu-

Figura 2 - Animali mutanti prodotti dalla microiniezione di DNA nell'ovulo fertilizzato

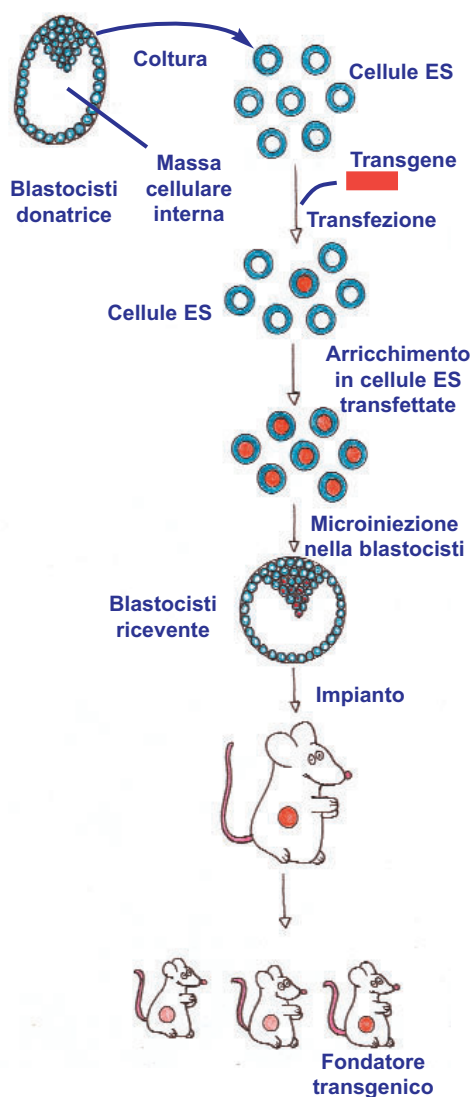


Figura 3 - Animali mutanti prodotti attraverso microiniezione di cellule staminali nell'ovocita fertilizzato

le modificate sono mantenute vitali in terreni di coltura addizionati con antibiotico, e, dopo la selezione, quelle sopravvissute sono reintrodotte per microiniezione in blastociste derivate da un altro topo, dove saranno incorporate nella massa embrionale in sviluppo. Considerando che le cellule trasformate dal transgene rappresentano solo una parte dell'embrione, si svilupperanno embrioni parzialmente transgenici, ossia a mosaico, i quali introdotti in madri pseudogravide, produrranno animali transgenici a mosaico (*chimere*). Il successo dell'esperimento consiste nell'identificare un animale nel quale il transgene sia presente nella linea germinale; attraverso incroci successivi da questo animale fondatore è possibile poi ottenere una progenie di animali completamente trasformati.

Un metodo recentemente sviluppato è quello basato sul trasferimento del nucleo di cellule staminali trasformate *in vitro* in oociti anucleati (Figura 4). Prevede l'utilizzo della tecnica di clonazione. Le cellule staminali sono prelevate, trasformate e selezionate in modo analogo a quanto sopra indicato. I nuclei delle cellule, preparati in modo appropriato, sono quindi microiniettati in un ovocita anucleato, privato cioè del nucleo. L'introduzione del nucleo darà origine a un embrione, che è poi impiantato in una madre pseudogravida. Con questo metodo, diversamente dal precedente, si ottiene un animale transgenico nel cento per cento dei casi; tuttavia l'aspetto negativo di questo metodo è rappresentato dalla sua efficienza estremamente bassa, un risultato positivo dopo svariate centinaia di tentativi, causata da una procedura complessa e ancora in via di miglioramento.

La transgenesi mediata da retrovirus, pur essendo ormai in disuso presenta un interessante approccio sperimentale (Figura 5). Gli embrioni prelevati allo stadio di quattro/otto cellule vengono infettati con un retrovirus reso non patogeno, e con alcune delle sue componenti sostituite con il gene di interesse. L'embrione infettato viene quindi impiantato nella madre che darà poi origine alla prole. Il sistema utilizzato fin dagli anni '80 adesso è in disuso sia perché genera un alto numero di animali transgenici a mosaico (non necessariamente tutte le cellule dell'embrione ven-

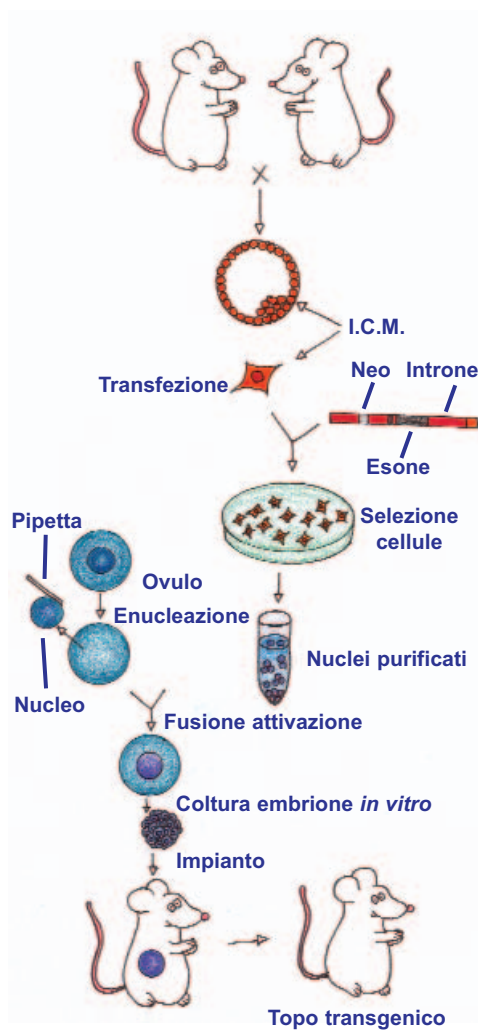


Figura 4 - Transgenesi basata sul metodo *Nuclear Transfer* di cellule staminali trasformate *in vitro*

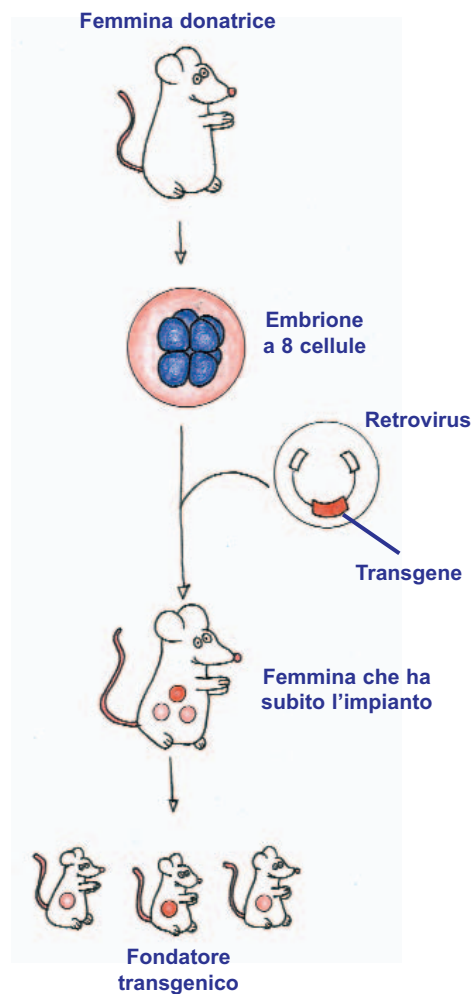


Figura 5 - Transgenesi mediata da retrovirus

gono contemporaneamente infettate con il transgene) sia perché recentemente ci si è resi conto che l'uso di questi vettori retrovirali comporta dei rischi. Il retrovirus è di per sé un organismo aggressivo che tende a integrarsi in modo incontrollato nel genoma dell'ospite infettato nel quale può causare danni. Se i danni sono letali lo sviluppo embrionale è interrotto e l'animale non nasce; alternativamente, ed è il rischio peggiore, pur essendo l'integrazione del transgene compatibile con la sopravvivenza dell'animale, esso può procurare dei danni nell'animale stesso e/o nella sua discendenza, che si manifestano fenotipicamente anche a distanza di tempo. Il sistema, sostanzialmente in disuso, è riemerso più recentemente in quanto adoperato nei protocolli di terapia genica.

Infine la transgenesi mediata da spermatozoi è il metodo che stiamo studiando all'Istituto Superiore di Sanità. Si basa sulla proprietà degli spermatozoi di tutte le specie, dall'echinoderma all'uomo, di legare spontaneamente molecole di DNA esogeno e di trasferirle agli embrioni durante la fecondazione producendo embrioni ed animali adulti transgenici (Figura 6).

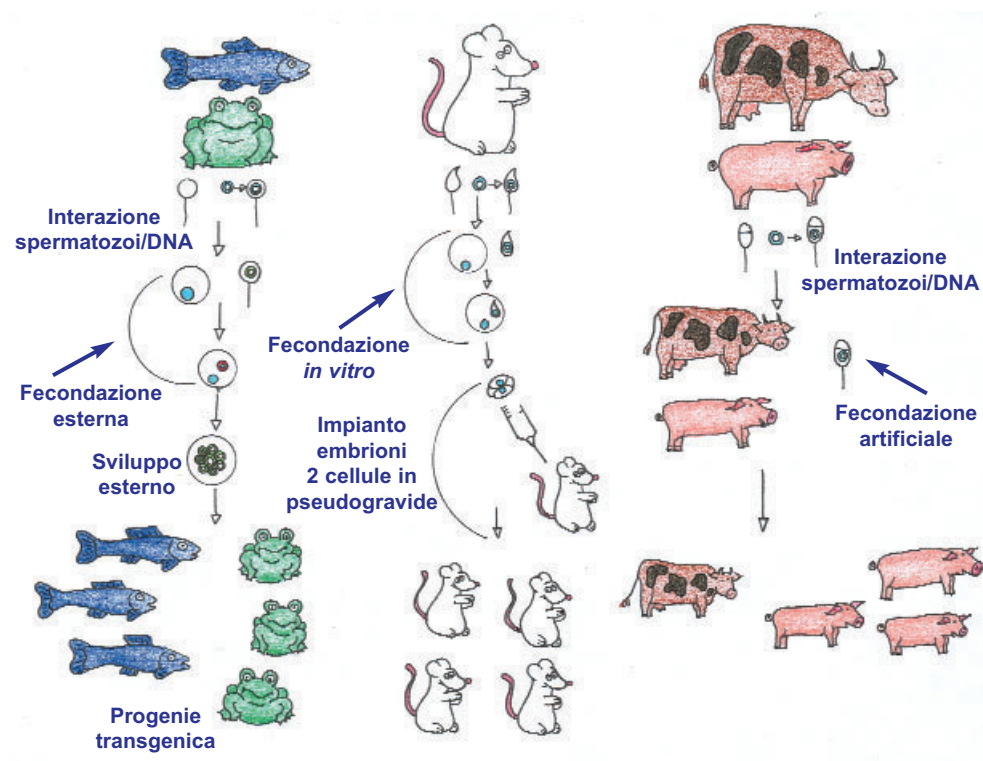


Figura 6 - Transgenesi mediata da spermatozoi

Negli ultimi dieci anni il metodo è stato applicato a varie specie e, poiché è estremamente semplice e non richiede complesse tecnologie di laboratorio, può essere utilizzato anche in esperimenti sul campo, su animali di allevamento. È stato applicato su animali acquatici, quali pesci e anfibi nonché su animali di allevamento di grossa taglia, per questi ultimi adottando le usuali procedure di fecondazione artificiale correntemente usate negli allevamenti. La prole è poi selezionata sulla base dell'analisi del DNA estratto da un frammento di coda o di orecchio.

Più recentemente, questo metodo è stato associato all'ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection) che consiste nel lasciare interagire gli spermatozoi col DNA esogeno e poi nell'iniettare il complesso spermatozoi/DNA nell'ovocita, in sostituzione della fecondazione naturale. Con questo sistema sono stati ottenuti topi transgenici ad alta efficienza.

Un'altra variante del sistema prevede l'utilizzo di anticorpi contro antigeni di superficie degli spermatozoi. L'anticorpo infatti determina una maggiore efficienza stabilizzando l'interazione tra spermatozoi e transgene mediante un legame polare

che si forma da un lato tra un'estremità con carica positiva dell'anticorpo e il DNA esogeno e dall'altro associandosi all'antigene di superficie riconosciuto sugli spermatozoi.

In altri casi, il metodo di transgenesi mediata da spermatozoi è stato effettuato per microiniezione diretta del DNA ricombinante all'interno dei vasi deferenti dell'epididimo: il DNA si diffonde tra gli spermatozoi epididimali ed è da questi spontaneamente "catturato". È sufficiente poi far accoppiare gli animali per avere una progenie transgenica senza bisogno di interventi *in vitro*. L'intervento è ben tollerato in topi e ratti.

Un processo diametralmente opposto a quello della transgenesi è il *knocking-out*. Mentre la transgenesi consiste nell'acquisizione di un carattere esogeno, il *knocking-out* è la delezione di un carattere endogeno in quella specie. Entrambi i sistemi sono adoperati in modo complementare perché sinergicamente concorrono a definire la funzione di un determinato gene nell'ambito della fisiologia dell'animale, dello sviluppo embrionale ed eventualmente in processi patologici, come i tumori.

Animali transgenici e *knock-out* sono impiegati nello studio del ruolo della componente genetica in numerose patologie (Tabella 2). Con questi sistemi il coinvolgimento di centinaia di geni sono stati individuati, ad esempio nell'oncogenesi, in malattie del sistema immunitario, nel diabete, nell'ipertensione, nell'epilessia e nell'invecchiamento.

Tabella 2 - Patologie e aree di studio in cui si utilizzano animali transgenici/*knockout*

• Oncogenesi	• Malattie psicosomatiche
• Malattie neurodegenerative (Alzheimer, Huntington)	• Disordini della vista e dell'udito
• Disordine del sistema immunitario e patologie autoimmuni	• Disordini della riproduzione
• Diabete	• Malattie pituitarie
• Ipertensione e infarto	• Malattie del metabolismo e ormonali (fibrosi cistica, fenilchetonuria, aterosclerosi)
• Epilessia	• Encefalopatia spongiforme
• Patologie virali (AIDS, epatite, polio)	• Invecchiamento
• Malattie della pelle	• Calvizie

Sono stati sviluppati centinaia di modelli animali murini che risultano utili sia per studiare l'eziologia e lo sviluppo di tali patologie, sia per la messa a punto di possibili interventi di terapia genica volti a riportare alla normalità il fenotipo di un tessuto alterato.

La transgenesi può avere applicazioni pratiche nella zootecnia con la prospettiva di migliorare le caratteristiche genetiche in specie animali di interesse commerciale. In generale questi interventi sono finalizzati a introdurre geni che codificano specifiche proteine nel genoma di animali di allevamento (in generale si tratta di suini, ovini e bovini) per poi far secernere tali molecole nei fluidi corporei dell'animale (latte, sangue e urina) da cui poi sono estratte in grande quantità. Il sistema più vantaggioso è l'espressione selettiva del transgene nella ghiandola mammaria e la conseguente secrezione della proteina nel latte. La produzione, ad esempio, dell'insulina, o del fattore di coagulazione dalla ghiandola mammaria che li secerne

poi nel latte, semplificherebbe enormemente i processi di purificazione ed eviterebbe inoltre il sacrificio degli animali. L'applicazione della transgenesi alla zootecnia è ancora a livello sperimentale: i modelli animali sviluppati per la produzione nel latte di sostanze di interesse farmacologico (le proteine di coagulazione del sangue, gli ormoni della crescita, ecc.) hanno fino a ora dato risultati non soddisfacenti in termini quantitativi.

È da ricordare che all'Università di Princeton sono stati prodotti maiali transgenici col gene della globina umana che viene correttamente prodotta e rilasciata nel sangue degli animali. È ovvio che allo stato attuale questi animali non hanno alcuna applicazione utile per l'uomo perché nel loro sangue è comunque presente anche la globina suina. Due processi sequenziali sono richiesti: l'esclusione della globina suina per la delezione del gene endogeno (produzione di un animale *knock-out*) e l'inserimento successivo del transgene umano.

Un argomento che frequentemente ricorre sui media riguarda l'utilizzo di maiali transgenici quali donatori di organi per trapianti umani (xenotrapianti). Negli xenotrapianti è comunemente considerato come problema principale l'immediato rigetto dell'organo da parte del sistema immunitario umano che nel giro di pochi minuti riconosce come non-proprio gli antigeni di superficie dei tessuti animali trapiantati. Per cercare di rendere compatibile il trapianto si è ritenuto di produrre animali transgenici (soprattutto maiali transgenici) che esprimano proteine che vengano riconosciute come proprie dal sistema immunitario umano.

Tuttavia rimangono rischi gravi per la salute umana associati agli xenotrapianti; tali rischi non sono soltanto di natura immunologica, cioè il rigetto iperacuto e il rigetto tardivo, che ragionevolmente si prevede possano essere superati mano mano che miglioreranno le conoscenze sui meccanismi della risposta immunitaria, ma si tratta soprattutto di rischi di carattere genetico, che vengono generalmente sottovalutati. I rischi genetici consistono nella possibile trasmissione di elementi genetici mobili, i retrovirus endogeni e i retrotransposoni, che costituiscono l'quasi al 50% del genoma dei mammiferi. Trattandosi di elementi mobili possono staccarsi da un distretto del genoma, spostarsi e introdursi, anche in copie multiple in altre zone del genoma esercitando pertanto una potente azione mutagenica. Tali elementi mobili si sono introdotti nel corso dell'evoluzione nei genomi delle varie specie con i quali sono entrate in uno stato di equilibrio dinamico che evita danni genetici. In caso di xenotrapianto il raggiunto equilibrio evolutivo specie-specifico verrebbe a mancare con il rischio conseguente di una riattivazione di elementi genetici mobili che potrebbero passare dall'organo animale impiantato all'individuo ricevente colonizzando i tessuti e causando mutazioni dalle conseguenze non prevedibili. Tali potenziali rischi potrebbero essere ulteriormente amplificati se il paziente sottoposto a xenotrapianto riuscisse a sopravvivere e a riprodursi: in questo caso gli elementi mobili potrebbero passare dalla linea somatica alla linea germinale, colonizzare i gameti e quindi trasmettersi alla progenie come elementi costitutivi dei loro genomi. Nel giro di qualche generazione potrebbero prodursi dei danni genetici inaspettati.

Allo scopo di evitare tali rischi, si pone il quesito bioetico sull'obbligatorietà della sterilizzazione per chi si sottopone a uno xenotrapianto. Non si tratta di rischi teorici ma di rischi sostanziali e documentati come ha dimostrato, tra gli altri, dal lavoro di van der Laan *et al.* (5). I ricercatori hanno evidenziato il passaggio di retrovirus endogeni di maiale in cellule umane coltivate, che costituiscono un substrato ottimo

per il passaggio e la crescita di retrovirus endogeni del suino. Inoltre le cellule sono state impiantate anche in topi SCID, cioè immunodepressi, i quali hanno sviluppato leucemie dovute proprio alla presenza dei retrovirus che sono andati a integrarsi nel genoma del topo producendo danni considerevoli.

La terapia genica e la clonazione

Come precedentemente detto, la terapia genica è quell'intervento tendente a modificare localmente la condizione del fenotipo, alterato da una mutazione, attraverso la sostituzione funzionale del gene alterato col corrispondente gene sano.

In generale, il protocollo adottato nella terapia genica consiste nel prelevare le cellule di interesse dal paziente, a metterle in coltura e a transfettarle con un costrutto contenente il gene normale; alternativamente le cellule possono essere infettate con un retrovirus ingegnerizzato col medesimo gene di interesse. Le cellule trasformate, sia con l'una o l'altra modalità, vengono quindi reintrodotte nel paziente nella prospettiva che queste cellule possano proliferare, sostituendosi a quelle alterate del paziente e far sì che il gene venga espresso correttamente, con un recupero del fenotipo normale.

La terapia genica è un procedimento da considerarsi ancora largamente sperimentale: allo stato attuale poche prove sono state condotte sugli esseri umani, mentre studi *in vitro* hanno dimostrato la possibilità sperimentale di trasformare efficacemente le cellule, e la sperimentazione su topi o ratti ha dimostrato che le cellule trasformate possono ricostituire tessuti sani, una volta inoculate negli animali. A questo proposito come esempio ricordiamo il modello sperimentale che utilizza il gene diidrofollato-reduttasi. Questo gene ha una funzione importante nel controllo della mitosi: esso è antagonizzato dal metatrexato, un antimitotico che viene utilizzato correntemente in chemioterapia. Nel modello sperimentale è stato utilizzato un gene mutante che resiste al metatrexato, cioè che si esprime regolarmente anche in presenza del metatrexato. Sono state prelevate delle cellule dal midollo osseo di topo, sono state transfettate con un costrutto contenente il gene mutato e poi reimpiantate in un topo che è stato precedentemente esposto ad alte dosi di radiazioni per eliminarne il tessuto midollare.

Dopo circa due mesi i topi trapiantati e altri non trapiantati, di controllo, sono stati esposti al metatrexato; i controlli non trapiantati sono tutti morti, mentre l'80% dei topi trapiantati sono sopravvissuti. Ciò ha dimostrato che in effetti è possibile introdurre un nuovo gene in un tessuto che è poi in grado di proliferare e prendere il posto del tessuto midollare originario dell'animale; questo tessuto ha un fenotipo modificato rispetto a quello originario dell'animale che lo rende resistente all'azione tossica di un farmaco. Si tratta inoltre di una modificazione stabile perché, ripetendo la procedura, a distanza di due mesi, si è visto che l'80% degli animali ritrapiantati (sempre con le cellule del midollo dell'animale) sopravvive all'azione del metatrexato.

Questi risultati ottenuti su modelli animali suggeriscono che sia possibile applicare questo tipo di terapia anche all'uomo. Tuttavia, a volte, emergono delle difficoltà inaspettate. Nel 2002 negli Stati Uniti un paziente affetto da anemia falciforme è stato trattato con la terapia genica utilizzando virus ingegnerizzati. Nel corso della terapia è stato sottoposto a controlli e analisi accurate per accertare la per-

manenza del transgene nella sede di destinazione, cioè le cellule del sangue. Dagli esami effettuati è risultato invece che il gene usato per la terapia genica era presente anche nello sperma del paziente. Di conseguenza la terapia è stata bloccata immediatamente. Evidentemente per motivi non chiariti la barriera di Weismann è stata superata e il transgene era passato dalle cellule somatiche a quelle germinali.

La clonazione è quel procedimento sperimentale finalizzato alla produzione di un embrione e/o di un individuo adulto mediante il trasferimento di un nucleo diploide di una cellula somatica in un oocita anucleato. La clonazione ha implicazioni fondamentali negli studi di base, giacché consente di studiare e caratterizzare le varie fasi del meccanismo molecolare di deprogrammazione e di riprogrammazione del genoma. Il nucleo di una cellula somatica è stato programmato nel corso dello sviluppo embrionale a differenziarsi in particolare tessuto - mammario nel caso della pecora Dolly (Figura 7). Quando quel nucleo viene introdotto in un oocita anucleato avviene un processo di deprogrammazione del nucleo, ossia di ritorno allo stato embrionale che consente la formazione di un nuovo embrione e, in casi più rari, lo sviluppo di un animale normale. Questo è stato il caso celeberrimo della pecora Dolly. Il processo di de- e ri-programmazione, per molti versi ancora oscuro, è molto complesso e avviene solo parzialmente. La clonazione aiuta a studiare i meccanismi molecolari del differenziamento, sia quello normale nell'embriogenesi, sia quello patologico nel caso dei tumori.

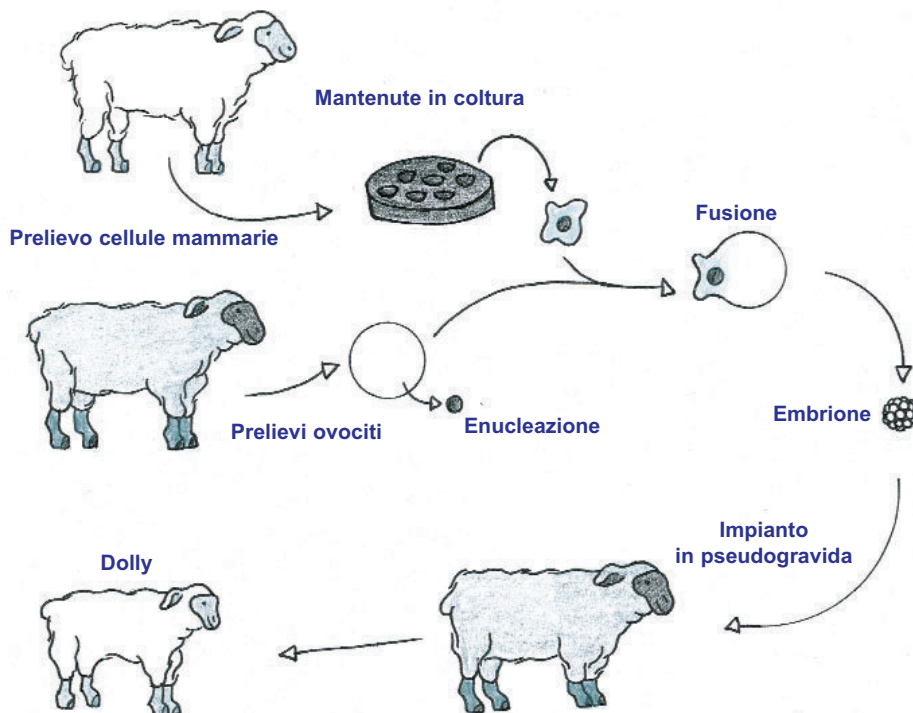


Figura 7 - Metodo di clonazione con il quale è stata prodotta la pecora Dolly

La clonazione è anche applicata nella riproduzione di animali di interesse zootecnico, e nella produzione di animali transgenici con il metodo del trasferimento nucleare precedentemente menzionato.

L'impiego della clonazione in riferimento agli esseri umani suscita dibattiti accaniti. L'opinione corrente in alcuni Paesi (ad esempio, in Inghilterra) considera accettabile la clonazione umana a scopo terapeutico ma non riproduttivo. Ciò significa consentire alla produzione di embrioni derivati dal tessuto di un determinato paziente per avere, ad esempio, cellule staminali che possono essere utilizzate per la cura di determinate patologie.

Riferimenti bibliografici

1. Jaenisch R, Mintz B. Simian Virus 40 DNA sequences in DNA of healthy adult mice derived from preimplantation blastocyst injected with viral DNA. *Proc Natl Acad Sci* 1974; 71:1250-4.
2. Gordon JW, et al. Genetic transformation of mouse embryo by microinjection of purified DNA. *Proc Natl Acad Sci* 1980;77: 7380-4.
3. Gordon JW, Ruddle FH. Integration and stable germ line transmission of genes injected into mouse pronuclei. *Science* 1981; 214:1244-6.
4. Palmiter RD, et al. Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature* 1982; 300: 611-5.
5. van der Laan LJW, et al. Infection by porcine endogenous retrovirus after islet xenotransplantation in SCID mice. *Nature* 2000; 407: 90-4.

ETOLOGIA E SPERIMENTAZIONE ANIMALE

Augusto Vitale

*Laboratorio di Fisiopatologia di Organo e di Sistema,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Il modello animale

Il tema della sperimentazione animale è un tema di grande attualità e, negli ultimi anni, si è arricchito di diversi contributi provenienti da diverse discipline. In questo intervento si cercherà di affrontare il tema della sperimentazione animale, cercando di mettere in evidenza i rapporti tra questa e l'etologia, lo studio del comportamento animale.

La sperimentazione animale è quel tipo di ricerca che utilizza animali per ottenere informazioni o sull'animale in sé, oppure utilizza l'animale come modello per ottenere informazioni su altre specie. Nel primo caso possiamo, ad esempio, parlare di domande di tipo etologico, sul comportamento di quel dato animale. Nel secondo caso, invece, ci troviamo nell'ambito di domande di tipo biomedico, dove l'animale viene utilizzato per ottenere, nella maggior parte dei casi, dati che possano essere applicati all'uomo. Quindi, un modello animale si può definire come un essere vivente sul quale è possibile studiare meccanismi biologici, o è possibile indurre una condizione patologica per la quale il meccanismo assomiglia, almeno in una delle sue parti, allo stesso meccanismo osservato nella specie umana o in un'altra specie animale.

Utilizzare le conoscenze che si hanno su una certa specie per comprenderne meglio un'altra, trova la sua giustificazione nella teoria darwiniana dell'evoluzione, che ha profondamente cambiato il modo in cui noi interpretiamo la natura e i suoi meccanismi. Secondo la teoria dell'evoluzione darwiniana le caratteristiche morfologiche e fisiologiche dell'essere umano sono tanto più comuni a quelle di un altro animale quanto minore è il tempo passato dalla separazione da un progenitore comune. Se si accetta questa impostazione teorica allora diventa accettabile, da un punto di vista scientifico, l'utilizzo degli animali come modelli in esperimenti che hanno il fine di migliorare le conoscenze sull'essere umano. Però è essenziale che il modello animale scelto sia adeguato per la domanda che ci siamo posti.

Ad esempio, il mollusco *Aplysia* è un modello particolarmente adatto nel caso si vogliano studiare le basi molecolari dell'apprendimento animale. Tuttavia, visto il repertorio comportamentale e la lontananza filogenetica con l'uomo, questo organismo non rappresenta un modello appropriato, ad esempio, per indagini di carattere psicofarmacologico mirate all'identificazione di meccanismi neuro-psichici caratteristici dei mammiferi. Ogni modello permette di rispondere a determinati interrogativi biologici, ponendo allo stesso tempo dei limiti al ricercatore. Alcuni di questi limiti sono di natura conoscitiva, altri di natura tipicamente etica. Una caratteristica generale degli studi *in vivo* è che tanto più si vuole arrivare a una comprensione molecolare del fenomeno biologico, tanto maggiore è il grado di invasività inflitto al soggetto sperimentale, e dunque tanto maggiore è il problema se sia eticamente corretto, una volta valutato l'apporto conoscitivo che ne può derivare, eseguire un particolare esperimento.

Il modello animale negli studi comportamentali

I roditori sono i modelli animali preferiti in sperimentazione biomedica. Tra le caratteristiche che rendono i roditori appropriati per studi di laboratorio si possono elencare innanzitutto la notevole facilità di allevamento, la velocità con cui questi animali si riproducono, e la disponibilità di ceppi puri, cioè con un patrimonio genetico conosciuto. L'uso di specie geneticamente simili permette allo sperimentatore di confrontare gli effetti di diverse procedure sperimentali sullo stesso "background" genetico, oltre a consentire di confrontare e generalizzare i risultati ottenuti in diversi laboratori. Il loro uso permette inoltre di operare una riduzione del numero di soggetti animali impiegati nell'attività sperimentale poiché la variabilità interindividuale è ridotta nel caso di soggetti geneticamente simili.

Un caso a proposito è quello dell'uso di ratti nello studio delle patologie cardiovascolari, particolarmente in relazione al ruolo dei fattori emozionali. Questi studi sono stati condotti usufruendo delle conoscenze etologiche sull'organizzazione sociale di questi animali, mettendo a confronto individui di diversa o uguale posizione gerarchica all'interno del gruppo sociale. Infatti il protocollo sperimentale prevedeva lo studio dell'impatto di due tipi di sfide sociali, potenzialmente stressanti, sulla fisiologia di un ratto dominante: l'incontro con un ratto subordinato e l'incontro con un ratto anch'esso dominante. Venivano quindi misurate la suscettibilità all'aritmia cardiaca durante l'incontro, e i ritmi giornalieri di frequenza cardiaca dopo l'incontro. Questo tipo di studio ha fornito importanti indicazioni sulle relazioni esistenti fra diversi tipi di stress di natura sociale e l'attività del sistema nervoso autonomo.

Un'altra area di ricerca nella quale i roditori possono dare importanti contributi è quella relativa allo sviluppo del sistema nervoso centrale durante le fasi critiche della crescita. È stato dimostrato che lo sviluppo del sistema nervoso centrale è particolarmente sensibile, ad esempio, all'influenza di ormoni steroidi: modificazioni nei livelli di tali ormoni durante fasi critiche dello sviluppo possono provocare alterazioni neurochimiche e morfologiche in grado di modificare la maturazione funzionale e comportamentale dell'individuo. Lo scopo di questo tipo di ricerca è di studiare i meccanismi che sono alla base di tali modificazioni di lungo termine della reattività individuale. Il protocollo sperimentale prevede che i piccoli roditori vengano separati dalla madre per un periodo di 24 ore. Durante questo periodo essi vengono tenuti a temperatura costante in un incubatore. Questa procedura sperimentale provoca un'attivazione dell'asse neuroendocrino del piccolo. Quest'attivazione viene saggiata, al termine del periodo di separazione, mediante una serie di stimoli quali farmaci ansiolitici e stimolanti. Una serie di parametri comportamentali, tra cui l'attività locomotoria, vengono saggiati in seguito alla somministrazione del farmaco e correlati alle misure ormonali. Alla fine del test gli animali vengono sacrificati per raccogliere campioni di sangue in cui saggiare i livelli plasmatici di corticosterone. Questo esperimento ha un certo grado di invasività, rappresentato dalla separazione dalla madre dove, per un periodo di 24 ore, al piccolo manca la stimolazione e il nutrimento materno. Però la deprivazione materna permette di attivare un sistema, quello costituito dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrenale, normalmente refrattario alla stimolazione esterna, almeno per quanto riguarda le fasi precoci di sviluppo. Tale manipolazione risulta in un aumento significativo di glucocorticoidi circolanti, permettendo lo studio dell'azione di questi ormoni sulle strutture bersaglio, in particolare il sistema nervoso centrale. Ora, è stato notato che la manipola-

zione durante l'infanzia, attraverso la produzione di glucocorticoidi che ne consegue, produce animali che da adulti presentano una maggiore attività esplorativa, hanno una secrezione di corticosterone più ridotta e quindi, in altre parole, si comportano come animali meglio adattati a situazioni di stress.

In questi meccanismi di attivazione dell'asse neuroendocrino ci sono dei fruttuosi e interessanti parallelismi con ciò che succede nell'essere umano. Infatti, questi studi possono offrire la possibilità di aiutare la comprensione dei fenomeni di reattività individuale di fronte alla stimolazione esterna, con le patologie collegate a questa reattività, quali depressione e sindromi ansiose, dove la maggiore o minore attività dell'asse neuroendocrino è un fattore determinante.

Quindi i roditori possono darci importanti informazioni a un livello, per così dire, di base sul rapporto tra sviluppo del sistema nervoso e comportamento. Se vogliamo però indagare sull'origine e la funzionalità di processi comportamentali più complessi, ci dobbiamo rivolgere ad animali più vicini a noi per scegliere un modello appropriato.

In questo caso un buon modello è il *primate* non-umano, cioè le scimmie con le quali, in termini evolutivisti, abbiamo avuto un antenato in comune relativamente pochi milioni di anni fa. L'ordine dei primati appartiene alla classe dei mammiferi, e comprende circa 220-230 differenti specie. La sperimentazione biomedica utilizza una frazione minima dei primati esistenti, e il numero dei primati utilizzati in sperimentazione sta diminuendo per una serie di ragioni: le pressioni delle associazioni protezionistiche, il costo, i problemi di immagine, le nuove generazioni di studiosi alla ricerca di alternative.

Comunque, in alcuni tipi di sperimentazione che differiscono per campo di ricerca e grado di invasività, si utilizzano ancora le scimmie. Un primo tipo di esperimento è quello che intende studiare i meccanismi e le strutture che vengono utilizzate in determinate azioni comportamentali, e da qui la possibilità di individuare le zone interessate da patologie inerenti a questo tipo di azioni. Ad esempio, ipotizziamo che si vogliono studiare le strutture nervose interessate alla coordinazione occhio-mano nel movimento volontario. Questo tipo di ricerca deve necessariamente utilizzare un modello animale in grado di compiere movimenti di prensione precisi, e quindi una scimmia, per le nostre metodologie attuali, è ancora una scelta obbligata. Inoltre, il *primate* non-umano presenta delle caratteristiche anatomiche del cervello molto simili alle nostre, e quindi è un modello appropriato per studiare attività cerebrali che, ad esempio, avvengono nella corteccia cerebrale. In questo caso il soggetto sperimentale viene addestrato a eseguire particolari comportamenti, quali il seguire con gli occhi uno stimolo luminoso che si muove su uno schermo, o afferrare un oggetto alla fine di una certa traiettoria. Tali compiti vengono eseguiti con l'animale legato a una sedia che lascia liberi gli arti per portare a termine il compito; contemporaneamente degli elettrodi registrano l'attività del cervello. Una variazione che si sta studiando in relazione a questo protocollo è la possibilità di eliminare la sedia di contenimento, e di usare elettrodi che possono registrare l'attività dell'animale anche se questo si muove all'interno della sua gabbia. Da una parte ciò allunga i tempi di raccolta dei dati, ma dall'altra l'animale si trova molto più a suo agio a eseguire i compiti mentre si trova in un ambiente familiare. Alla fine dell'esperimento, nella maggior parte dei casi, l'animale viene sacrificato per un'analisi più accurata del tessuto nervoso coinvolto nell'esperimento. La legge vieta di utilizzare lo stesso animale per più di un esperimento, specialmente se quest'ultimo comporta sofferenza per l'animale stesso.

In altri esperimenti invece, la domanda non riguarda il ruolo che determinate strutture hanno, ad esempio, nell'espressione di un determinato comportamento, ma il comportamento *per se*. Ad esempio, come l'animale risponde a determinati stimoli, quando mette in atto determinati comportamenti: quale situazione ambientale fa sì che un animale si comporti in una certa maniera invece che in un'altra. In questi casi il fenomeno è più complesso: entrano in gioco una serie di fattori diversi che contribuiscono all'espressione del fenomeno che si voglia studiare. Proprio per questa maggiore complessità del fenomeno sotto osservazione, una diretta applicazione dei risultati alla specie umana dei risultati ottenuti è più problematica. Una cosa è dire che si ha in comune la struttura e il funzionamento di una certa porzione del sistema nervoso; tutt'altro è dire che si ha in comune un certo comportamento. Noi esseri umani siamo animali molto particolari, e il nostro comportamento è dettato da ragioni biologiche, ma anche da ragioni culturali nelle quali il nostro essere biologico gioca un ruolo, ma in maniera indiretta o, per lo meno, non in maniera direttamente comparabile con gli altri animali.

Detto questo però, ci si può chiedere se l'evoluzione dell'intelletto umano rappresenta un'espansione delle capacità già presenti nei nostri antenati, come postulato da Charles Darwin. Se noi accettiamo la continuità su questo aspetto del comportamento (ad esempio, in relazione allo sviluppo del sistema nervoso), il modello animale ci può fornire indicazioni anche sull'origine dei nostri comportamenti complessi. Conseguentemente, possiamo raccogliere informazioni utili anche per quanto riguarda eventuali ritardi o disturbi di comportamenti, ad esempio, di apprendimento. Questo è il campo della psicologia comparata, e Charles Tolman, psicologo canadese così citava: gli animali sono studiati in modo da illuminarci sullo sviluppo del funzionamento della psiche umana. La psicologia comparata è indubbiamente una scienza umana, essenziale alla psicologia, la quale non può capire compiutamente il proprio oggetto di studio se non informata dalla teoria dello sviluppo evolutivo". Ad esempio, un particolare esperimento riguardava le competenze cognitive che portano alla risoluzione di un particolare problema manuale. Il problema era di ottenere una nocciolina che si trovava al centro di un tubo di plexiglas. Per fare ciò il soggetto sperimentale aveva a disposizione un bastone, che, una volta infilato nel tubo, poteva spingere la nocciolina fuori dall'apparato. Riuscire a risolvere questo problema, e i modi e i tempi con i quali si raggiunge la soluzione, si deve a diversi fattori. Quello che però interessa è l'aspetto comparativo. In questa serie di esperimenti, ideati da Elisabetta Visalberghi dell'Istituto di Psicologia del CNR, si sono confrontate le performance di giovani scimpanzé, con quelle di questo altro *primate*, il cebo dai cornetti, o *Cebus apella* (1). Queste scimmie benché evolutivamente lontane da scimpanzé e esseri umani, sono capaci di impressionanti performance manuali. Infine la comparazione si è estesa anche ai bambini. La domanda che interessava era: "Da dove vengono certe nostre competenze comportamentali?"; e inoltre: "Perché uno scimpanzé a un certo punto non riesce più a fare ciò che un bambino o una bambina della stessa età sa fare?". Uno studio comparato con un animale che condivide con noi il 98% di patrimonio genetico, ci permette di individuare differenze sottili, ma estremamente importanti, che portano un essere umano a sviluppare le sue impressionanti, se comparate con gli altri animali, capacità cognitive. Quindi, conseguentemente, sarà più facile ipotizzare la causa di eventuali difetti dello sviluppo cognitivo di bambini meno fortunati.

Questo era quindi uno sguardo molto veloce e superficiale ai campi di applicazione dei modelli animali in sperimentazione biomedica. Ho tralasciato campi quali la tossicologia o la farmacologia, per una mia non competenza, ma sono aree di ricerca dove il ricorso al modello animale è una realtà molto ben consolidata.

Etologia: una breve storia

L'etologia è lo studio del comportamento animale. Questo studio si può fare sia in natura che in laboratorio. Non è vero, come si sente ogni tanto dire, che lo studio del comportamento in laboratorio è meno valido di quello in natura: dipende dal tipo di informazione che si vuole ottenere. Diamo un paio di definizioni di cosa è il comportamento animale, dove si possono già individuare alcune differenze metodologiche in relazione a come questa disciplina si è sviluppata nel tempo: "Il comportamento consiste di atteggiamenti o serie di atteggiamenti delimitati nel tempo" (2); oppure, "Il comportamento è il risultato di un continuo cambiamento nella muscolatura del corpo, cambiamento che noi percepiamo come un continuo susseguirsi di posture e movimenti; queste posture e movimenti hanno una serie di conseguenze sul rapporto tra l'animale e il suo ambiente" (3).

L'essere umano da sempre è stato interessato al comportamento animale e, ad esempio, osservazioni sul comportamento degli animali si trovano già in Aristotele. Il primo che però ha inquadrato il fenomeno del comportamento animale senza ricorrere a cause sovranaturali, è stato naturalmente Charles Darwin.

Nella prima metà del secolo lo studio del comportamento animale prende differenti orientamenti che avranno la loro influenza sugli sviluppi futuri di questa disciplina. Due importanti filoni teorici si sviluppano in quegli anni. La prima è quella dei cosiddetti "vitalisti". Questi studiosi pensavano che gli animali avessero una sorta di forza interna, una spinta istintuale che guidava il loro comportamento. Per loro però non era necessario spiegare i meccanismi di questa motivazione interna: osservavano, ma non spiegavano. Questo tipo di atteggiamento fu proprio di un particolare orientamento della psicologia americana, che interpretò appunto il comportamento come una tensione verso uno scopo ben determinato da una rappresentazione mentale. A questi studiosi si contrapponeva un'altra scuola di pensiero più influente e, per così dire, più potente teoricamente e metodologicamente parlando. I "behaviouristi", importanti studiosi del comportamento come Watson, Thorndike, Skinner, vedevano il comportamento come un fenomeno biologico assolutamente spiegabile in termini di stimoli e reazioni. Gli animali sono delle macchinette dove basta spingere un particolare pulsante per ottenere un particolare comportamento. Non esiste soggettività, e la plasticità del comportamento non è certo un loro cavallo di battaglia. È un tipo di approccio meccanicistico, una "psicologia senz'anima". Benché questo sia stato, e in alcuni casi sia ancora, un approccio un po' semplicistico del comportamento, studiosi appartenenti a questa scuola hanno fatto scoperte di grande importanza. Per tutti cito il grande Pavlov, che descrisse una forma di apprendimento, che coinvolgeva risposte a stimoli condizionanti, che è ora riconosciuto come un meccanismo base di apprendimento molto diffuso nel regno animale.

Un problema di fondo che si può riscontrare nell'atteggiamento dei behaviouristi è che gli animali non rispondono solamente alle leggi della fisica, ma sono anche esseri biologici. Ora, per la fisica si possono identificare leggi fisse e regolari; la biologia invece è fatta di una variabilità che si organizza in modi differenti a seconda

del contesto temporale. Quindi si tratta di strategie metodologiche di ricerca necessariamente differenti. Applicare a un fenomeno prettamente biologico, come il comportamento animale, un approccio suggerito dalla fisica può essere riduttivo e fuorviante, perché sottovaluta aspetti come variabilità e complessità che sono propri della biologia.

Due sono i riconosciuti padri dell'etologia moderna.

Il primo è Konrad Lorenz. Il grande merito del grande scienziato austriaco fu quello di inquadrare lo studio del comportamento in una cornice teorica e metodologica di tipo evuzionistico-darwiniano. Negli anni '30, quindi, Lorenz lanciò l'idea che il comportamento animale poteva essere studiato così come si studiava un arto, o una struttura del sistema digerente. Così come il metodo comparativo, ad esempio, illustrava come dai pesci ai mammiferi gli arti superiori si erano sviluppati e trasformati per assumere, tra le tante forme, anche quella degli esseri umani, così si poteva immaginare che un comportamento si fosse evoluto e trasformato nel tempo. Inoltre Lorenz, che aveva un grande interesse per gli aspetti istintuali del comportamento, fu uno dei primi etologi a integrare questi aspetti con le sollecitazioni ambientali, dove entrambi concorrono per l'espressione di un certo comportamento.

Contemporaneo a Lorenz fu Niko Tinbergen. Tra l'altro i due studiosi, insieme all'entomologo etologo Karl von Frish, ricevettero il premio Nobel per la Medicina nel 1973. Tinbergen, forse più di Lorenz, fu un grandissimo osservatore del comportamento in natura. Inoltre, ha avuto il grande merito di inquadrare l'etologia in un preciso contesto metodologico, indicando quattro domande fondamentali sulle quali dovrebbe focalizzarsi lo studio del comportamento animale. Secondo Tinbergen infatti, per un dato comportamento animale ci si può chiedere: "Come si sviluppa nel tempo un dato comportamento?" cioè: "Mentre un individuo cresce quali sono le fasi che portano all'espressione di un dato comportamento?" ovvero si studia l'ontogenesi comportamentale. Un esempio possono essere gli studi che hanno portato a comprendere come si sviluppa il canto di un uccello, da quando è pulcino fino alla vita adulta. Una seconda domanda è: "A cosa serve quel dato comportamento?" cioè "Quale vantaggio ha un individuo che mette in atto un certo comportamento, rispetto a un individuo che non lo mette in atto, o mostra una forma alternativa di quel comportamento?" Si studia cioè la funzione adattativa di un certo comportamento. Ad esempio un coniglio che scappa sottoterra quando vede un uccello da preda mette in atto un comportamento più vantaggioso rispetto a un altro individuo che invece si immobilizza sul terreno, e quindi può essere facilmente catturato da un predatore aereo. Una terza domanda invece è: "Come funziona?" In questo caso, ci si chiede: "Quali sono i meccanismi nervosi o fisiologici che portano all'espressione di un dato comportamento?". Un esempio possono essere gli studi che sono stati fatti per capire, a livello di connessioni neurali, come funziona il comportamento predatorio del rospo, dal momento in cui lo stimolo visivo colpiva la retina, fino ai centri del cervello dai quali partiva l'ordine di estroflettere la lingua e catturare la preda. Un'ultima domanda riguarda la filogenesi di un dato comportamento: "Qual è stata l'evoluzione di quel dato comportamento?". Quindi anche qui si studia lo sviluppo di un dato comportamento nel tempo, però su tempi più lunghi, cioè nel passaggio da una specie all'altra. Ad esempio, si è cercato di capire qual è la forma ancestrale di un comportamento nuziale, in particolare l'offerta di un dono alimentare da

parte del maschio alla femmina nel momento dell'accoppiamento, studiando le diverse forme nelle quali appare questo comportamento in diverse specie di insetti appartenenti alla stessa famiglia.

Queste quattro domande sono tutte ugualmente importanti, perché ogni volta che si è posta troppa enfasi su un tipo di domande rispetto alle altre si è arrivati a una visione incompleta e parziale del comportamento animale.

Comunque, saltando diverse tappe, vorrei brevemente indicarvi tre sviluppi importanti che si sono avuti in anni recenti nel campo dello studio del comportamento animale.

Nel 1975 è stato pubblicato da due studiosi britannici, John Krebs e Nick Davies, un libro dedicato all'ecologia comportamentale, dove i due studiosi mettevano in risalto l'intreccio indissolubile tra comportamento, evoluzione e ambiente (4). L'ecologia comportamentale si focalizza sul comportamento degli individui e su un bilancio costi-benefici che porta, o non porta, un animale a mostrare un certo comportamento. È chiaro che le domande riguardano popolazioni studiate in un contesto naturale.

Nello stesso anno veniva pubblicato il famosissimo "Sociobiology" di Edward Wilson, grande biologo del comportamento, in particolare esperto di formiche. Questo è stato un libro che ha rappresentato un punto di partenza fondamentale per tutta quella scuola di pensiero denominata, appunto, "sociobiologia". I sociobiologi, in sostanza, ponevano l'accento sulla possibile funzione adattativa di un certo comportamento, mettendo anche l'enfasi sull'influenza del patrimonio genetico e della selezione naturale nel portare un individuo a mostrare o meno un dato comportamento (5). Uno dei momenti più originali di questo approccio fu di includere in questa visione adattativa anche il comportamento dell'essere umano, dando l'avvio a una serie infinita di dibattiti e polemiche.

Infine nel 1976 uno studioso americano, Donald Griffin, pose la domanda se gli animali avessero qualche forma di coscienza (6). Questa non è una domanda banale, perché fino a poco tempo prima si pensava che l'etologia non avesse i mezzi teorici e metodologici per affrontare questo tipo di domanda. Non si può entrare nella testa di un animale e quindi non si può studiare che cosa prova o cosa sa di se stesso rispetto al mondo esterno. Lo stesso Tinbergen giudicava questo tipo di domande come non scientifiche perché, ad esempio, non era possibile affrontarle con una metodologia sperimentale. Oggi l'atteggiamento è cambiato e si moltiplicano le pubblicazioni che hanno come tema l'etologia cognitiva. Di cosa si occupa l'etologia cognitiva? Mark Bekoff, uno dei maggiori esperti nel campo, afferma: "Intendiamo sottolineare l'importanza di studiare il pensiero animale da un punto di vista empirico, evolutivo, comparativo ed ecologico. Gli argomenti concernenti la continuità evolutiva valgono non soltanto negli studi comparativi del rene, dello stomaco e del cuore, ma anche e parimenti nello studio del pensiero e del cervello degli animali. È inoltre importante che le nozioni elaborate da coloro che conducono studi sul pensiero animale si prestino alla ricerca empirica" (7).

Sperimentazione animale e legislazione

L'uso degli animali come modelli sperimentali in ricerca biomedica in Italia è regolamentato dal DLvo n. 116 del 1992, che è il recepimento di una direttiva della Comunità Europea sulla protezione degli animali da laboratorio. Secondo questo

decreto non è permesso condurre sperimentazione su cani, gatti e scimmie, a meno che non si verificano particolari condizioni per le quali è possibile chiedere una deroga al Ministero della Salute che consente di portare avanti la sperimentazione. Quali sono queste condizioni? L'esperimento deve: 1) essere suscettibile di far progredire le conoscenze relative alla biologia e alla medicina sperimentale; 2) essere volto al chiarimento della patogenesi delle malattie umane e la messa a punto di adeguate misure di terapia e prevenzione; 3) essere finalizzato allo sviluppo, produzione e prova di qualità di prodotti farmaceutici; 4) essere dedicato alla protezione dell'ambiente naturale nell'interesse della salute e del benessere dell'uomo e degli animali. In questo decreto non è dato per scontato l'uso degli animali come unico modo per procedere nella ricerca biomedica. Questa legge recepisce, lo spirito di una regola di procedura nella sperimentazione animale che è stata proposta da due studiosi inglesi, William Russel e Rex Burch, nel 1959 nel loro libro fondamentale: "The Principles of Humane Experimental Technique". Questa regola viene definita come "Modello delle 3R". Le tre R stanno per: *Replacement*, *Reduction*, *Refinement* (8).

Replacement richiede al ricercatore di vagliare attentamente tutte le possibili alternative all'utilizzo di animali per soddisfare gli scopi di una data ricerca. Se non è possibile condurre l'esperimento *in vitro*, si richiede che venga privilegiato l'utilizzo di animali dallo sistema nervoso relativamente meno complesso. Se non c'è valida alternativa all'utilizzo, per esempio, di un animale complesso quale un mammifero per un dato protocollo sperimentale.

Reduction si appella alla necessità di ridurre al minimo il numero dei soggetti utilizzati. A questo proposito oggi sono disponibili test statistici in grado di prevedere il numero minimo di soggetti indispensabili per applicare un particolare test statistico, dove la figura del ricercatore biostatistico diventa quindi un elemento chiave all'interno di un gruppo di ricerca.

Infine, *Refinement* si riferisce al dovere di ogni ricercatore che utilizza animali per i propri esperimenti di scegliere in maniera oculata il protocollo sperimentale da adottare, in modo da minimizzare la sofferenza dei soggetti impiegati. Inoltre, si richiede una costante attenzione ai bisogni di benessere e al mantenimento degli animali da esperimento ospitati negli stabulari.

Nonostante i miglioramenti, ancora molto c'è da fare per migliorare questa legge specialmente per quanto riguarda i primati non umani. Infatti, le raccomandazioni riguardanti la stabulazione dei primati non umani sono decisamente insoddisfacenti (Allegato 5, Articolo II, DLvo 116/92). A questa direttiva europea, della quale la nostra direttiva rappresenta un recepimento, sta lavorando la Comunità Europea, per migliorare proprio quei passi della legge dedicati alla cura dei primati. Tutto ciò accade per la pressione alla quale i legislatori europei sono soggetti su questo specifico tema, sia da parte di un certo settore della comunità scientifica, sia da parte dei non-scienziati.

Due modi di intervento dell'etiologia nel campo della sperimentazione animale

Due i tipi di contributi legati alla sperimentazione animale che l'etologia può offrire. Un primo contributo riguarda la liceità o meno di condurre esperimenti sugli animali, considerando la possibilità che questi hanno di provare sofferenza fisica e psicologica. Questa nasce anche dal fatto che noi attribuiamo agli animali delle emozioni, cioè la capacità di provare esperienze soggettive. Tradizionalmente, questa

capacità è stata attribuita agli animali più vicini a noi, tipo le grandi scimmie. Ciò ha portato tra l'altro alla proposta del "Progetto Grande Scimmia", presentato nel 1993 dai due filosofi Peter Singer e Paola Cavalieri, nel quale si chiede l'allargamento della "comunità degli eguali" anche alle scimmie antropomorfe (9). Questo porterebbe al riconoscimento di tutta una serie di diritti che al momento sono riconosciuti solo agli esseri umani. Comunque, specialmente negli ultimi anni, la possibilità di provare esperienze soggettive è stata allargata a differenti specie, oltre che ai primati non-umani. Il problema di base è ben illustrato da questa famosa domanda posta dal filosofo Bentham nel 1789: "La domanda non è se gli animali possono ragionare, e nemmeno se possono parlare. La domanda è se possono soffrire" (10). Bentham era contro l'atteggiamento comune di quei tempi per il quale gli animali si trovavano al di fuori della sfera morale, perché non in grado di usare linguaggio o logica. Oggi molti ricercatori, quando si parla di benessere animale, mettono l'accento sul concetto di esperienza soggettiva dell'animale.

Gli etologi, mediante studi di etologia cognitiva o di altro tipo, possono contribuire allo studio delle sensazioni soggettive degli animali, che includono piacere e dolore, e quindi contribuire al dibattito etico sull'utilizzo degli animali in ricerca.

Un secondo tipo di contributo dell'etologia al problema della sperimentazione animale si rifà direttamente al concetto di *Refinement* della regola delle "3R". In passato questo concetto si riferiva esclusivamente al ridefinire le condizioni nelle quali si veniva a trovare l'animale sperimentale durante lo svolgimento del protocollo sperimentale. Quindi, si doveva cercare di condurre un esperimento minimizzando il più possibile i momenti di sconforto provocati all'animale. Oggi invece il concetto di *Refinement* ha un significato più ampio, e si rifà anche alla necessità di ridefinire, in termini di un maggiore benessere dell'animale, anche quelle che sono le condizioni di stabulazione al di fuori del protocollo sperimentale.

Ad esempio, la scimmia marmoset o uistiti (*Callithrix jacchus*), viene utilizzata in studi di tossicologia e neurologia, in particolare per studi di malattie che hanno a che fare con la degenerazione del sistema nervoso. È un animale da laboratorio che sta diventando sempre più popolare, dato che occupa poco spazio e si riproduce in cattività molto facilmente. La scimmia marmoset è una piccola scimmia sudamericana, che abita in ambiente di foresta (Figura 1 e Figura 2).



Figura 1 - Gruppo sociale di scimmie Marmoset (*Callithrix jacchus*)



Figura 2 - Giovane maschio di scimmia Marmoset (*Callithrix jacchus*)

È arboricola e discende raramente al suolo. Una caratteristica importante della dieta di questa scimmia è la presenza costante di resine che estrae da diverse specie di alberi. In natura questi animali passano molto tempo impegnati in questa attività di foraggiamento. Per tale ragione si potrebbero inserire nelle gabbie in cui questi animali sono ospitati dei tronchetti in cui siano stati praticati fori che vengono riempiti periodicamente di gomma arabica, o di melassa. A questi animali deve essere data la possibilità di impregnare con il loro odore l'ambiente circostante, e quindi bisogna fornirgli nidi e strutture di legno da marcare con l'urina. In particolare, in natura questi animali hanno ritualizzato un comportamento di tipo alimentare, praticano piccoli fori nella corteccia degli alberi per succhiare gli essudati vegetali. Questo comportamento, pur mantenendo anche la sua funzione alimentare, è diventato parte del comportamento sociale, in relazione alla forte territorialità di questa specie. Infatti, la scimmia pratica un foro nella corteccia, e vi deposita una goccia di urina per marcare il territorio. Noi siamo stati molto contenti di essere riusciti a replicare questo comportamento nella nostra colonia (Figura 3).

Quindi, la pulizia quotidiana delle gabbie deve tenere conto del fatto che queste scimmie danno enorme importanza agli odori, e perciò le strutture delle gabbie devono essere pulite e disinfettate con moderazione, in modo da preservare l'odore caratteristico degli animali che abitano quella particolare gabbia. Si dà per scontata la presenza in gabbia di rami, rametti, posatoi, frasche e di altri elementi che rendano simile a quello naturale l'ambiente di stabulazione. Non si pensa di ricreare la foresta in cattività, ma non è nemmeno detto che la completa pulizia e asetticità dell'ambiente di cattività sia la scelta migliore. Dal punto di vista sociale, questi animali sono tendenzialmente monogami, e quindi si dovrebbe organizzare una composizione in gabbie per unità famigliari. I figli più grandi, lasciati in gabbia con i genitori, potranno aiutare questi nelle cure parentali delle future figliate. Per concludere, questi animali sono molto territoriali ed è consigliabile pensare a degli schermi che nascondano visivamente le differenti famiglie fra di loro. Odori e suoni diffusi sono invece un motivo di arricchimento per la colonia.



Figura 3 - Scimmie Marmoset, della colonia del reparto di psicologia comportamentale, mentre sono impegnate nella risoluzione di un problema manuale

Ci vuole poco per migliorare sensibilmente la condizione di cattività dei primati non-umani. Questo sforzo porta ad animali che stanno meglio, sia fisicamente che psicologicamente, e ciò significa incrementare automaticamente la qualità della ricerca. Gli studi di etologia, in questo caso in particolare quelli in natura, possono darci informazioni utili per permettere all'animale di esprimere in cattività un repertorio comportamentale che sia simile il più possibile al repertorio comportamentale esibito in natura. Ci sono diverse scuole di pensiero relative a quale possa essere la ragione principale di uno stato di malessere per un animale in cattività. Penso che il non poter esibire una serie di comportamenti che sono il risultato di un lungo cammino

evolutive possa essere fonte di frustrazione per un particolare animale. Su quali siano questi comportamenti l'etologo può dare delle indicazioni e può contribuire alla discussione sugli aspetti etici della sperimentazioni animale nel momento in cui la domanda "Gli animali sono in grado di provare emozioni?" è diventata rispettabile in ambito scientifico.

Riferimenti bibliografici

1. Visalberghi E, Trinca L. Tool use in capuchin monkeys: distinguishing between performing and understanding. *Primates* 1989; 30: S11-S21.
2. Eibl-Eibesfeldt I. *I fondamenti dell'etologia*. Milano: Adelphi; 1995.
3. Huntingford F. *The study of animal behaviour*. London: Chapman & Hall; 1984.
4. Krebs JR, Davies NB. *Ecologia e comportamento animale*. Torino: Boringhieri; 1987.
5. Wilson EO. *Sociobiologia. La nuova sintesi*. Bologna: Zanichelli; 1975.
6. Griffin DR. *Menti animali*. Torino: Bollati Boringhieri; 1999.
7. Beckoff M. *Dalla parte degli animali. Etologia della mente e del cuore*. Roma: Franco Muzzio Editore; 2002.
8. Russell WMS, Burch RL. *The principles of Humane Experimental Technique*. South Mimms (England): University Federation for Animal Welfare; 1959.
9. Cavalieri P, Singer P. *The Great Ape Project*. London: Fourth Estate; 1993.
10. Bentham J. *An introduction to the Principles of Morals and Legislation*. Oxford: Clarendon Press; 1996.

PROBLEMATICHE ETICHE NELLE SCIENZE DELLA VITA

Laura Guidoni

Laboratorio di Fisica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Nel secolo che si è appena concluso la branca delle scienze che spazia dalla medicina alla biologia molecolare ha visto svilupparsi in modo imprevedibile e veloce le conoscenze e il controllo dei fenomeni naturali e, allo stesso tempo, affacciarsi importanti quesiti su ciò che sia lecito o non lecito fare. Da qui la necessità di riflessioni sulle applicazioni delle nuove conoscenze scientifiche che invadono sia la sfera delle convinzioni personali sia gli ambiti dei diritti e doveri della società civile. Questa nuova situazione ha spinto a cercare di identificare basi universali e condivise che possano costituire un riferimento sicuro in relazione a queste nuove potenzialità e, quindi, alla nascita della bioetica. Ogni avanzamento scientifico che possa porre problemi sul piano etico, deve essere oggetto di studio e di riflessioni con la cooperazione di filosofi, teologi, moralisti, giuristi, biologi, genetisti, medici, tecnici di varie branche, in un incontro interdisciplinare e interculturale.

Il termine bioetica (*bios-ethos*) è un neologismo che risale alla pubblicazione del libro del medico Van Renssealer Potter nel 1970 "Bioethics: a bridge to the future" (1). In seguito è stato usato con crescente frequenza. Una definizione di quella che è diventata una vera e propria disciplina si trova nell'Encyclopaedia of Bioethics, WT Reich, pubblicata dal Kennedy Institute for Bioethics (2). La bioetica è "lo studio sistematico del comportamento umano nell'area delle scienze della vita e della cura della salute, in quanto il detto comportamento è esaminato alla luce dei valori e dei principi della morale". Al di là delle definizioni, bioetica è soprattutto una riflessione organica su vari problemi morali, giuridici, sociali sollevati dallo straordinario sviluppo compiuto dalla medicina e dalle altre scienze, in particolare la biologia, che hanno a oggetto la vita. La giornalista scientifica Gianna Milano, nel suo libro Dizionario di Bioetica (3), sottolinea la necessità per lo scienziato di ripristinare i rapporti fra valori morali, cultura umanistica e scienze della vita.

In realtà queste istanze hanno preso avvio in modo drammatico dalla nuova consapevolezza della società civile che si è andata affermando con il Processo di Norimberga, che in qualche modo sancisce la nascita dei principi di responsabilità e autodeterminazione. Con la condanna delle ricerche scientifiche condotte sui prigionieri e sulle prigioniere nei campi di sterminio, ricerche condotte con la pretesa di lavorare per il bene della scienza e comunque su persone la cui aspettativa di vita era nulla, ha avuto inizio un processo di evoluzione nei rapporti fra ricerca e società che include il diritto di autodeterminazione, il principio di responsabilità e il dovere del rispetto degli individui coinvolti. Questi principi sono contenuti nel Codice di Norimberga (Nürnberg Code, 1949), in cui si legge "il consenso volontario dell'individuo è irrinunciabile". Di pari passo si riaffermavano i diritti umani, con l'accordo a livello mondiale sul testo della Dichiarazione universale dei Diritti umani (ONU Assemblea Generale - Risoluzione 217 A (III) del 10 dicembre 1948), incentrata sulla "dignità e valore della persona umana".

Nasce anche un nuovo rapporto medico paziente. Precedentemente il rapporto era essenzialmente di tipo paternalistico, cioè il medico si occupava del paziente senza necessariamente coinvolgerlo nelle decisioni terapeutiche, fatto che a volte comportava decisioni non condivise da parte del paziente. La crisi della figura del medico paternalista con il passaggio dall'autorità del "medico" all'autorevolezza della "evidenza scientifica", hanno trasformato anche le modalità con cui i processi terapeutici vengono verificati. Questa verifica delle nuove strategie terapeutiche viene condotta sempre più frequentemente mediante studi randomizzati. Punto critico in tali studi il rispetto per la volontà e il diritto di autodeterminazione del paziente, e cioè la valorizzazione dei suoi desideri, dei suoi bisogni, della sua libertà di scelta, cruciali per realizzare correttamente il percorso terapeutico; questi devono essere salvaguardati per garantire la correttezza dello studio, sia sul piano etico che giuridico.

Oggi si è quindi affermato un modello in cui l'autonomia del paziente e il suo diritto all'informazione e alla scelta sono riconosciuti, sia pure in una situazione asimmetrica, in quanto la valutazione dello stato di salute, la conoscenza della malattia e le possibili terapie sono note soprattutto al medico. Tuttavia al paziente è riconosciuto il diritto di scelta che nella pratica si fonda su un corretto rapporto con il medico.

La ricerca medica moderna ha dunque adottato un metodo basato sulla sperimentazione scientifica, codificato in modo diverso dal passato. Dato che i progressi clinici sono verificati mediante la medicina basata sull'evidenza sperimentale (Evidence Based Medicine), che coinvolge un numero rilevante di pazienti, è ancora più importante che vi sia un'adesione volontaria e che sia rispettato il diritto di scelta. Il codice internazionale che regola la ricerca biomedica è la Dichiarazione di Helsinki, stilata dall'Associazione Internazionale dei Medici (WMA) nel 1964 e da allora continuamente rinnovata per i necessari adeguamenti in relazione all'evolversi delle conoscenze mediche e alla comparsa di nuove patologie, come l'AIDS. L'ultima versione del suddetto codice internazionale è del 2002 ed è disponibile in Internet all'indirizzo: www.wma.net

La Dichiarazione di Helsinki, nata in ambito medico e rivolta ai medici e agli altri partecipanti, riguarda la ricerca medica che coinvolge esseri umani, include la ricerca su materiale umano identificabile e la ricerca su dati identificabili. Nella Dichiarazione è stabilito che la salute e il bene del paziente sono prioritari, che il bene collettivo non può prevalere sul bene del singolo, e viene espresso il concetto che il progresso medico passa attraverso la ricerca. Inoltre, si occupa in modo particolare della tutela dei soggetti vulnerabili, cioè le persone che non sono in grado per diversi motivi di esercitare tutti i loro diritti e di scegliere liberamente, come i bambini, le persone con difetti di comprensione, i prigionieri e le donne.

In questo panorama va considerato anche il cosiddetto Belmont Report (4), un documento nordamericano nato in ambito bioetico, che, per quanto considerato oggi in parte superato perché eccessivamente schematico, contiene alcuni concetti fondamentali che sono tuttora alla base dei principi ispiratori della Dichiarazione di Helsinki nella sua versione più aggiornata. I principi sono: rispetto per gli individui, beneficio e giustizia.

Gli strumenti della tutela che vengono comunemente individuati sono la verifica della qualità della ricerca da parte di un comitato di revisione indipendente, la conformità ai codici etici condivisi, la valutazione del rapporto rischi/benefici, l'esi-

stenza di protocolli scritti, la presenza di un consenso volontario. Nascono quindi organismi esterni di tutela, i comitati etici o i comitati di revisione dell'istituzione, a seconda dell'ambito in cui operano, che hanno anche il compito di valutare se la sperimentazione sia condotta secondo le raccomandazioni degli organismi internazionali di riferimento, oltre che secondo le leggi locali. Gli organismi internazionali di riferimento sono, oltre all'Associazione medica mondiale (WMA), il Consiglio per le Organizzazioni Internazionali delle Scienze Mediche (CIOMS), che ha recentemente revisionato le sue linee guida per la ricerca biomedica (www.cioms.ch) e l'International Bioethics Committee (IBC) dell'UNESCO, che, oltre ad avere stilato la Dichiarazione Universale del Genoma Umano e dei Diritti Umani, fatta propria per acclamazione dall'assemblea Generale dell'ONU l'11 novembre 1997, ha recentemente proposto di concordare un codice universale di bioetica, in consultazione con settori pubblici e privati, la comunità scientifica e rappresentanti della società civile durante il Convegno annuale dell'IBC, Montreal 2002 (5). Questa importante iniziativa sancisce per la prima volta la necessità di aprire il dibattito fra due mondi che rischiano spesso di contrapporsi: la comunità degli scienziati che si dedicano alla ricerca di nuove conoscenze, possibilmente utili per il progresso, e la società civile, cioè coloro che, nel bene e nel male, usufruiranno delle applicazioni delle scoperte. Questo principio ha un valore che va oltre i confini della ricerca medica e rappresenta una novità nel metodo e nel merito nell'evoluzione della bioetica.

Per completare il quadro, è importante sottolineare che le tutele dei cittadini nel caso della sperimentazione clinica dei medicinali sono state garantite da leggi nazionali (Decreto del Ministro della Sanità 15 luglio 1997 pubblicato nel Supplemento Ordinario n. 162 alla *Gazzetta Ufficiale* n. 191 del 18 agosto 1997 relativo al "Recepimento delle linee guida dell'Unione Europea (UE) di Buona Pratica Clinica per la esecuzione delle sperimentazioni cliniche dei medicinali") (6). La normativa italiana in materia si basa su una direttiva europea che viene normalmente identificata come la direttiva sulle Good Clinical Practices. La direttiva è stata aggiornata recentemente (Direttiva 2001/20/CE) (7) ed è in via di recepimento nella legislazione dei vari Stati europei, allo scopo di garantire modalità analoghe nel salvaguardare i diritti e la dignità dei cittadini coinvolti in sperimentazioni cliniche. In Italia il recepimento è avvenuto mediante il DL n. 211, 24 giugno 2003 (8).

Infine, il Consiglio d'Europa, che è l'organismo di riferimento della cosiddetta Europa allargata, ha concordato un documento di riferimento generale, la cosiddetta Convenzione di Oviedo, che sarà probabilmente recepito dagli Stati che partecipano all'UE. L'Italia ha ratificato la Convenzione, anche se il testo non è ancora operativo, mediante una legge dello Stato (9).

Si è visto finora come siano garantite le tutele rispetto a possibili violazioni dei diritti delle persone in relazione alla ricerca biomedica che coinvolge direttamente gli esseri umani. È comunque evidente che alcune tutele, come quelle della sperimentazioni cliniche dei medicinali, sono garantite per legge, mentre altre sono affidate all'adesione più o meno volontaria a linee guida internazionali o a codici deontologici ispirati alla Dichiarazione di Helsinki.

Vediamo ora come l'evoluzione della coscienza di responsabilità collettiva che ha prodotto questi codici possa essere applicata all'individuazione di tutele nel campo degli sviluppi delle biotecnologie, le cui applicazioni non sono confinate al settore della biomedicina.

Innanzitutto i problemi posti dalle applicazioni delle biotecnologie possono essere distinti in problematiche insite nell'idea del prodotto biotecnologico e problematiche di gestione generale delle nuove applicazioni. Fra queste ultime le due più complesse sono quelle legate alla brevettabilità degli organismi viventi e al principio di precauzione. Inoltre, sono fortemente critici i problemi del diritto all'autodeterminazione, l'identificazione delle responsabilità e la predisposizione di organi di controllo esterno.

Fra le problematiche del primo tipo, legate al rifiuto o all'accettazione del prodotto per sé, vanno considerati i seguenti punti critici: il confine fra prodotti "naturali" o sintetici, la liceità dell'incrocio di specie, in particolare fra animali e vegetali. Inoltre va ricordato che in tutte le culture il cibo ha sempre avuto una valenza simbolica (siamo ciò che mangiamo).

Le problematiche di gestione delle applicazioni appaiono più complesse in quanto, uscendo da un ambito di approvazione morale, la valutazione del rapporto rischi/benefici deve prendere in considerazione il fatto che i rischi potrebbero varcare i confini delle nazioni e che vi possono essere conseguenze sulle popolazioni future. Fra questi rischi hanno un grande rilievo la perdita della biodiversità, la perdita di controllo sulle specie prodotte, il problema della proprietà intellettuale, l'instaurarsi di allergie non prevedibili.

Una delle questioni più dibattute al momento è quello della possibilità di brevettare nuove specie ottenute per manipolazione genetica, cioè la brevettabilità del vivente. Vi sono differenze rilevanti fra la posizione europea e quella statunitense, anche perché nel mondo europeo si fa differenza fra "scoperta" e "invenzione", mentre negli Stati Uniti si tende a identificarli come un unico momento. D'altronde, la protezione della proprietà intellettuale può essere compresa solo considerando l'importanza assunta dai recenti sviluppi della tecnologia e dalla portata del profitto economico a essi legati. Attualmente l'UE si è espressa mediante una direttiva comunitaria sulla protezione giuridica delle invenzioni biotecnologiche, nota come "direttiva sulla brevettabilità della vita". La necessità di non essere tagliati fuori dai profitti che scaturiranno dalla commercializzazione dei prodotti biotecnologici brevettati, in un'economia forzosamente globale, può rendere inapplicabili le regole in essa definite.

Un'altra questione che accompagna le polemiche legate alla diffusione dei prodotti biotecnologici è il principio di precauzione. Questo è stato specificamente definito nella Convenzione sulla diversità biologica, firmata a Rio de Janeiro nel giugno 1992 (Principio di Precauzione e Protocollo sulla Biosicurezza) e approvata dalla Comunità economica europea con la Decisione del Consiglio del 25 ottobre 1993.

La legislazione nazionale è quasi totalmente derivata da quella comunitaria, che si articola su tre piani: direttive sulla biosicurezza n. 219 e n. 220 del 1990, rispettivamente sull'impiego confinato di microrganismi, recentemente modificata dalla Dir. 98/81, e sul rilascio deliberato di OGM (10, 11), Regolamenti sull'etichettatura dei prodotti commerciali (12) e la Direttiva sulla brevettabilità di geni, organismi e prodotti biotecnologici (n. 44 del 1998) (13).

L'onere della prova è identificato in modo diverso rispetto alla sperimentazione clinica. Spetta all'utilizzatore, ai cittadini o alle associazioni di consumatori, dimostrare il pericolo associato a un processo o a un prodotto dopo che questo è stato immesso sul mercato. In ambito europeo, tuttavia, dove l'attenzione su questi problemi è grande, è utile ricordare la risoluzione del Parlamento europeo sul Principio

di precauzione (14 dicembre 2000) “Il Parlamento auspica orientamenti chiari sull'applicazione del Principio di precauzione, che dovrebbe essere invocato ogniqualvolta, in base a informazioni incerte, vi sono motivi ragionevoli di inquietudine circa il possibile sopravvenire di effetti potenzialmente pericolosi per l'ambiente o la salute umana, animale o vegetale”.

Nel Bollettino Unione Europea 1/2 2000 (14) si legge: «Il principio di precauzione non è definito dal trattato che ne parla esplicitamente solo in riferimento alla protezione dell'ambiente, ma la Commissione ritiene che la sua portata sia, in pratica, molto più ampia e si estenda anche alla tutela della salute umana, animale e vegetale. La Commissione sottolinea che il principio di precauzione dovrebbe essere considerato nell'ambito di una strategia strutturata di analisi dei rischi, comprendente valutazione, gestione e comunicazione del rischio stesso, e intende alimentare la riflessione in corso in questo settore a livello sia comunitario che internazionale. Il ricorso al principio di precauzione trova applicazione qualora i dati scientifici siano insufficienti, inconcludenti o incerti e la valutazione scientifica indichi che possibili effetti possano essere inaccettabili e incoerenti con l'elevato livello di protezione prescelto dall'UE”.

Per tornare al parallelismo con l'evoluzione delle tutele relative alla sperimentazione in medicina, è evidente la difficoltà di applicare il diritto di autodeterminazione, che si basa sul diritto all'informazione, che in questo caso è relativamente facile garantire mediante disposizioni di legge (ad esempio l'obbligo dell'etichettatura), e sul diritto di scegliere, che può essere più difficile da assicurare nei fatti.

Le tutele dei diritti dei cittadini possono essere garantite mediante l'identificazione delle responsabilità e dalla creazione di comitati scientifici esterni. Dovrebbero essere considerati con particolare attenzione i rischi in relazione ai danni all'ambiente e alle generazioni future. Ciò comporta la necessità di un livello politico delle decisioni. A questo proposito può essere utile ricordare che, a livello nazionale, due organismi di consulenza della Presidenza del Consiglio, il Comitato Nazionale di Bioetica (CNB) e il Comitato per la Biosicurezza e le Biotecnologie (CNBB), in un documento congiunto, hanno puntualizzato i problemi aperti, libertà di ricerca e responsabilità degli scienziati, rischio biologico, sicurezza dei prodotti e dei processi, biodiversità, individuando raccomandazioni e proposte di intervento. Nel documento, reperibile sul sito del CNB (<http://palazzochigi.it/bioetica/index.htm>) vengono discussi alcuni aspetti etici rilevanti correlati agli sviluppi delle biotecnologie: promozione dell'equità, tutela della biodiversità e impatto ambientale, autonomia e diritto all'informazione, brevettabilità dei viventi, la dignità umana, rapporti fra scienza, diritto ed etica, il dovere della trasparenza e il ruolo dei comitati etici.

Il problema risulta quindi complesso e la discussione è solo agli inizi. Vi è necessità di approfondimenti sull'autonomia della ricerca e sulle sue fonti di finanziamento, mentre soprattutto in questo campo è critico il rapporto scienza-politica o, in altre parole, del governo della ricerca scientifica, o ancora del rapporto fra consenso democratico e autonomia della ricerca. L'attenzione degli organismi internazionali quali l'UNESCO e la presenza di un dibattito interculturale è quanto mai necessaria. L'UNESCO ha infatti organizzato la prima Conferenza internazionale sulla scienza (World Conference on Science, UNESCO Budapest, 1999 - www.unesco.org/science), che ha prodotto una dichiarazione sulla scienza e sull'uso della conoscenza scientifica, che spazia su tutte le applicazioni, sottolineando che il futuro è legato alla nostra capacità di preservare i sistemi che supportano la vita e di far

sopravvivere tutte le forme di vita. La scienza deve essere al servizio dell'umanità e, attraverso la comprensione della natura e della società, garantirci una migliore qualità della vita e un ambiente sostenibile e sano per le generazioni presenti e future.

Riferimenti bibliografici

1. Van Rensselaer Potter. *Bioethics. Bridge to the Future*. Prentice Hall; 1971.
2. Reich WT. *Encyclopedia of Bioethics*. New York: McMillan Free Press; 1978.
3. Milano G. *Dizionario di Bioetica*. Milano: Feltrinelli; 1997.
4. National Commission for the Protection of Subjects of Biomedical and Behavioral Research. *The Belmont Report: Ethical Principles and Guidelines for the Protection of Human Subjects of Research*. Washington (DC): U.S. Department of Health and Human Services; 1979. Disponibile all'indirizzo <http://ohrp.osophs.dhhs.gov/humansubjects/guidance/belmont.htm>
5. *Proceedings of the Nineth Session of IBC of UNESCO*. Montreal (Canada), November 26-28, 2002.
6. Decreto del Ministro della Sanità 15 luglio 1997, Supplemento Ordinario n. 162. Recepimento delle linee guida dell'UE di Buona Pratica Clinica per la esecuzione delle sperimentazioni cliniche dei medicinali, *Gazzetta Ufficiale* n. 191 del 18 agosto 1997.
7. Direttiva 2001/20/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio 4 aprile 2001. Ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati membri relative all'applicazione della buona pratica clinica nell'esecuzione della sperimentazione clinica di medicinali ad uso umano", *Gazzetta Ufficiale* delle Comunità europee, legge 121/34 del 1° maggio 2001.
8. DLvo n. 211 del 24 giugno 2003. Attuazione della direttiva 2001/20/CE relativa all'applicazione della buona pratica clinica nell'esecuzione delle sperimentazioni cliniche di medicinali per uso clinico. *Gazzetta Ufficiale* n. 184 del 9 agosto 2003 - Supplemento Ordinario n. 130.
9. Legge n. 145 del 28 marzo 2001. Ratifica ed esecuzione della Convenzione del Consiglio d'Europa per la protezione dei diritti dell'uomo e della dignità dell'essere umano riguardo all'applicazione della biologia e della medicina: Convenzione sui diritti dell'uomo e sulla biomedicina nonché del Protocollo addizionale n. 168 del 12 gennaio 1998 sul divieto di clonazione di esseri umani. *Gazzetta Ufficiale* n. 95 del 24 aprile 2001.
10. Direttiva 90/219/CEE 23 aprile 1990. Direttiva del Consiglio sull'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati. *Gazzetta Ufficiale* delle Comunità europee.
11. Direttiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio 12 marzo 2001 sull'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati e che abroga la direttiva 90/220/CEE del Consiglio, *Gazzetta Ufficiale* delle Comunità europee Legge 106/37 del 17 aprile 2001.
12. DLvo n. 68 del 25 febbraio 2000. Attuazione della direttiva 97/4/CE, che modifica la direttiva 79/112/CEE, in materia di etichettatura, presentazione e pubblicità dei prodotti alimentari destinati al consumatore finale.
13. Direttiva 98/44/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio 6 luglio 1998 sulla protezione giuridica delle invenzioni biotecnologiche. *Gazzetta Ufficiale* delle Comunità europee Legge 213 del 30 luglio 1998,
14. Bollettino Unione Europea del 1° febbraio 2000, par 1.4.6.

IL PROBLEM-BASED LEARNING (PBL) NELLA SCUOLA: UN'ALTERNATIVA ALLA DIDATTICA TRADIZIONALE

Lo studio delle biotecnologie al liceo ginnasio "Virgilio"

Silvia Giannella

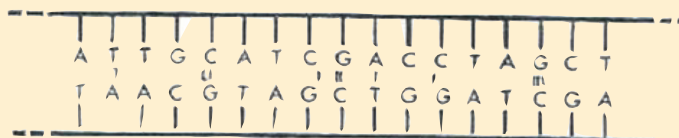
Liceo ginnasio "Virgilio", Roma

Ho proposto di affrontare lo studio delle biotecnologie utilizzando il metodo dell'apprendimento per problemi agli alunni della prima liceo scientifico (sperimentazione Brocca), la stessa classe che l'anno precedente aveva lavorato sulle nuove droghe utilizzando lo stesso metodo (1). La classe ha acconsentito con entusiasmo e ha lavorato con impegno rispettando le scadenze stabilite. Racconterò brevemente come abbiamo proceduto.

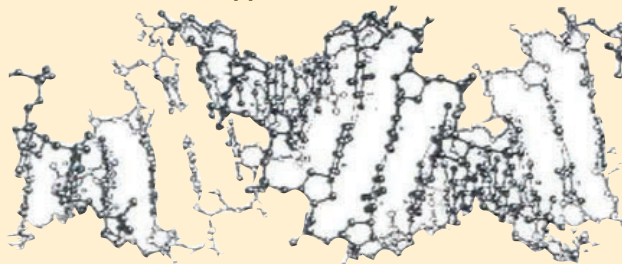
Ho fatto da facilitatore e ho presentato il seguente "Problem-Based Learning" PBL (2):

Il direttore della rivista "SO: scienza oggi" ti interpella come esperto nel settore e ti sottopone le due rappresentazioni del DNA riprodotto qui sotto. Ti chiede di scegliere quella più adatta per illustrare un articolo di prossima pubblicazione, dedicato alle applicazioni biotecnologiche che hanno consentito la produzione da parte delle piante di vaccini destinati all'uomo.

Rappresentazione A



Rappresentazione B



Quale rappresentazione scegli e perché?

Gli studenti avevano già svolto, nella parte precedente del programma scolastico, gli argomenti che costituiscono i prerequisiti per affrontare le tematiche biotecnologiche: la struttura del DNA, la sintesi delle proteine, la genetica classica.

Dalla discussione lunga e articolata tra gli studenti sono emerse le seguenti riflessioni:

- la scelta della figura dipende dal livello dell'articolo (se è una rivista scientifica di divulgazione oppure per esperti);
- vanno bene tutte e due, una per la copertina e una nell'articolo;
- è migliore la prima, spiega bene la struttura, è più semplice da capire;
- è migliore la seconda perché più completa grazie alla presenza dell'aspetto tridimensionale;
- la prima è troppo sintetica, la seconda è troppo complessa;
- per far capire come si può far produrre alle piante un vaccino, interessa solo la sequenza delle basi, non la posizione degli zuccheri e dei fosfati; quindi risulta migliore la prima.

Gli studenti hanno poi individuato i seguenti problemi:

- Come si forma un vaccino con le biotecnologie?
- Quali modifiche genetiche permettono di far produrre vaccini o farmaci alle piante?

Per rispondere a questi interrogativi e, più in generale, per conoscere i principali temi relativi alle biotecnologie, gli studenti si sono divisi in gruppi; ogni gruppo ha approfondito un tema specifico (gli Organismi Geneticamente Modificati, la clonazione, la farmaceutica, la bioetica). Il lavoro è stato svolto sia a scuola - durante le ore di biologia - sia a casa. Le fonti bibliografiche sono state la biblioteca della scuola, discretamente fornita di testi specifici e di recente pubblicazione, e Internet.

Il lavoro ha avuto la durata di circa due mesi e alla fine è stato prodotto un CD-Rom (Figura 1 e Figura 2) che è stato poi presentato direttamente dagli studenti all'Istituto Superiore di Sanità, in presenza di altre classi di scuola secondaria e degli esperti dell'Istituto.

Vorrei far presente che il lavoro degli studenti conteneva errori e imprecisioni che io ho deciso di non correggere prima della presentazione ufficiale, perché mi è sembrato opportuno rispettare lo spirito della metodologia, che consiste in un lavoro autonomo di cui gli studenti devono assumersi la responsabilità fino in fondo.

Da un'analisi dell'esperienza effettuata si possono mettere in evidenza alcuni aspetti significativi che riguardano, non solo gli alunni, ma anche l'insegnante e gli esperti esterni.

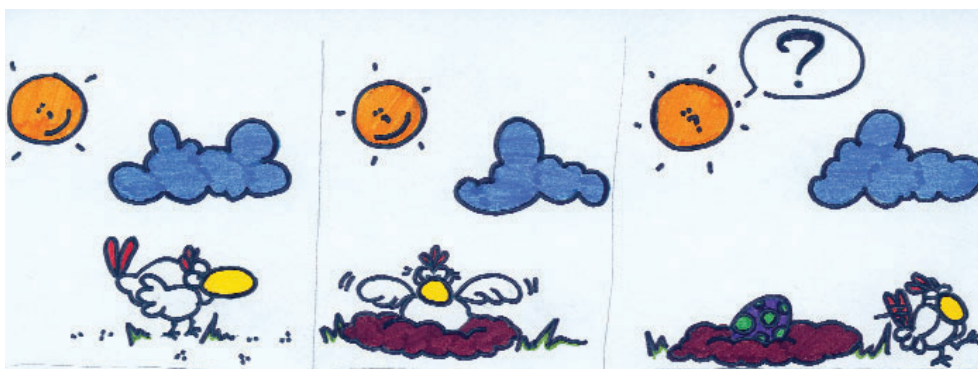


Figura 1 - Fumetto tratto dal CD-Rom degli studenti della 1^a I del liceo ginnasio "Virgilio" di Roma

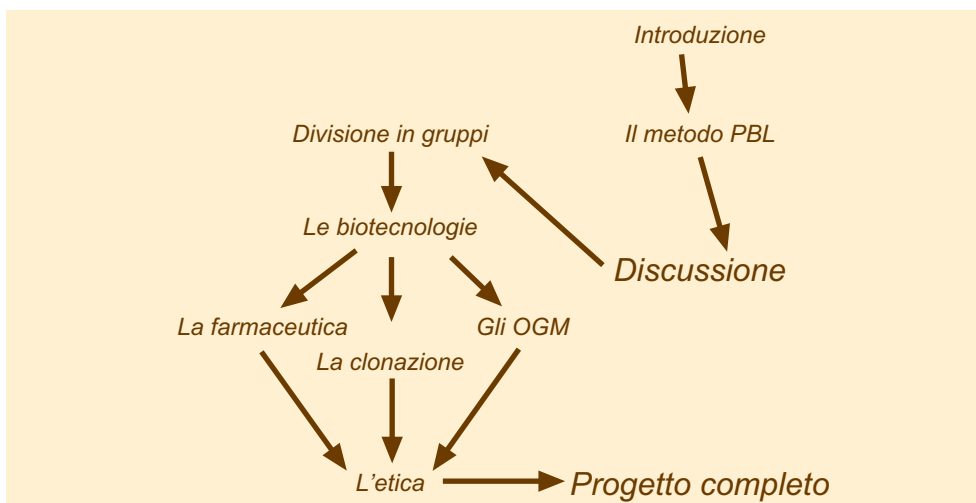


Figura 2 - Mappa tratta dal CD-Rom degli studenti della 1^a I del liceo ginnasio "Virgilio" di Roma

Per gli alunni l'aspetto fondamentale, che essi stessi hanno apprezzato più di tutto, è proprio quello di essere protagonisti del proprio apprendimento, responsabili dell'organizzazione e responsabili della scelta dei contenuti.

Per l'insegnante utilizzare questo metodo permette di uscire da un ruolo standardizzato del docente visto come unico referente, al quale gli studenti si rivolgono per la soluzione dei problemi. Un docente che ha in mano le redini della classe e quindi gestisce tutto. Infatti, nella normale routine scolastica l'intervento degli alunni è ridotto quasi a nulla se non a ripetere una lezione che spesso, purtroppo, dopo due o tre mesi, viene completamente dimenticata.

Per gli esperti esterni, la valenza del rinnovamento rappresentato da questa metodologia è forse ancora più rilevante. Capita spesso che gli insegnanti insieme ai loro alunni vadano ad ascoltare conferenze presso enti di ricerca e che gli studenti, sebbene motivati, non riescano a capire la gran parte delle relazioni scientifiche. Ciò accade a causa dei contenuti troppo specialistici o a causa di un linguaggio troppo complesso. Certamente non è facile rivolgersi contemporaneamente agli insegnanti e agli alunni; in ogni caso spesso non si riesce a scegliere il registro adatto per poter comunicare con tutti. Per gli esperti, con l'utilizzo del PBL, diventa una necessità misurarsi con nuovi interlocutori, gli studenti: infatti gli alunni hanno bisogno di capire gli argomenti di cui si stanno occupando, perché devono svolgere un lavoro autonomo su quegli stessi argomenti.

Un altro aspetto fondamentale relativo agli esperti esterni è la funzione di terzo che essi svolgono inserendosi in un rapporto tradizionalmente a due: classe-docente. Si tratta di un momento di rottura importante, l'intervento dell'esperto che fa parte del lavoro, e in tal modo entra in una relazione così esclusiva com'è quella tra l'insegnante e la propria classe. Si tratta di un interlocutore nuovo che ha una doppia funzione: quella di fornire delle informazioni e quella di essere la persona a cui si deve dar conto del lavoro svolto.

Vorrei ancora mettere in evidenza alcuni aspetti positivi e negativi relativi all'uso del metodo PBL nella scuola. Per ciò che riguarda gli aspetti negativi, a

parte i soliti problemi di spazio e di tempo che caratterizzano la scuola italiana, vorrei soffermarmi sulla difficoltà nelle verifiche. Infatti, utilizzando questa metodologia bisognerebbe avere degli strumenti di verifica che permettano di raccogliere dati relativi sia ai contenuti sia sul metodo; sarebbe necessario cioè rilevare quegli aspetti relazionali (ruolo più o meno attivo nel gruppo, numero e qualità degli interventi) che rappresentano la peculiarità e l'aspetto innovativo del metodo. Nella mia esperienza è stata effettuata un'indagine oggettiva sui contenuti appresi, ma per l'altro aspetto si è trattato di una verifica del tutto soggettiva basata fondamentalmente sulle mie osservazioni e impressioni e quindi non quantificabile.

Gli aspetti positivi del metodo possono essere così schematizzati:

- il PBL permette di trattare temi molto problematici e attuali, ma concettualmente complessi; questo è sicuramente il caso delle biotecnologie, così come era il caso dell'argomento trattato nell'anno precedente, le nuove droghe. L'argomento droghe viene normalmente affrontato nelle scuole ricorrendo all'intervento di esperti, quali medici, psicologi, ricercatori. Generalmente però non si ottengono risultati apprezzabili in termini di una reale sensibilizzazione dei giovani rispetto al problema. Invece ho notato che nel lavoro svolto utilizzando il PBL è stato di fondamentale importanza l'atteggiamento attivo e partecipativo degli studenti, perché il fatto di aver acquisito personalmente i dati li ha sensibilizzati realmente rispetto al problema della droga;
- permette l'attivazione di conoscenze pregresse;
- rende l'alunno protagonista della sua formazione;
- può affiancare la didattica tradizionale; infatti, non è pensabile sostituire questo metodo alla didattica tradizionale, ma può essere utile introdurre nel corso dell'anno scolastico un modulo organizzato con il PBL - preferibilmente in alcuni momenti critici della didattica, o perché la classe attraversa un periodo di crisi e non partecipa più attivamente alle lezioni;
- può costituire un modulo a se stante disciplinare o interdisciplinare;
- permette di attivare nuovi canali di comunicazione tra gli studenti e tra studenti e insegnante: è il caso, per esempio, di classi problematiche o di blocchi temporanei nella comunicazione tra la classe e l'insegnante.

Spesso si pensa che questi metodi innovativi debbano essere sperimentati in classi particolarmente attente e capaci; è vero, secondo me, l'esatto contrario: nelle classi in cui i ragazzi lavorano e partecipano attivamente al lavoro scolastico, quando cioè le cose vanno già bene, non c'è la necessità di intervenire con delle novità. Invece, nei casi in cui nelle classi esistano grossi problemi di indisciplina, oppure di rapporto con l'insegnante, può essere determinante lavorare in modo nuovo per sbloccare una situazione difficile.

A volte può verificarsi il caso che non sia l'intera classe a essere problematica, ma solo alcuni alunni, i quali rifiutano un insegnante in particolare, oppure che non si sentono ben inseriti nella classe, oppure che abbiano un basso grado di autostima. Questi sono solo alcuni esempi in cui può essere utile tentare di introdurre un'innovazione nella didattica.

Ma veniamo al lavoro prodotto dagli alunni. Di seguito sono presentate la prima e l'ultima pagina del CD-Rom prodotto dagli studenti (Figura 3 e Figura 4). La prima è la pagina introduttiva in cui gli alunni presentano una mappa che riassume il lavoro svolto e i principali argomenti su cui la classe ha lavorato divisa in gruppi.

Nell'ultima pagina viene presentata la soluzione che è stata data al problema posto inizialmente e viene proposta una storia conclusiva un po' scherzosa. In Figura 5 è riportato un fumetto dal CD-Rom creato dagli alunni.

Progetto a scopo divulgativo sulle biotecnologie		
Menù ↓	La soluzione	Menù ↓
Mappa concettuale	Per dare una soluzione a questo problema bisogna conoscere le tecniche di tagli del DNA e gli enzimi di restrizione, che tagliano il DNA in particolari siti. Per spiegare questo processo l'immagine più comoda è sicuramente la prima, una schematizzazione di un frammento di DNA	Mappa concettuale
Le biotecnologie nella storia		Le biotecnologie nella storia
La farmaceutica	Noi abbiamo proposto una seconda storia, un po' scherzosa ma utile come spunto per approfondire le nostre conoscenze sulle biotecnologie	La farmaceutica

Figura 3 - Prima pagina del CD-Rom prodotta dagli studenti della I sezione I, liceo ginnasio "Virgilio" di Roma

Progetto a scopo divulgativo sulle biotecnologie		
Gli OGM	Biancaneve e i sette cloni	Gli OGM
La clonazione	Mentre i sette nani sono nella miniera, giunge da Biancaneve la strega cattiva che le offre la mela transgenica avvelenata che aveva coltivato per togliere di mezzo la giovane ragazza ed essere la più bella del reame.	La clonazione
L'etica	Ma Biancaneve che aveva vagamente sentito parlare di Organismi Geneticamente Modificati, era diffidente e rifiutò di mangiare la mela. La vecchina allora se ne andò, le cose rimasero come stavano e Biancaneve continuò tranquilla la sua esistenza dai sette nani.	L'etica
Le storie	Avrà fatto bene Biancaneve a essere diffidente e a non mangiare la mela transgenica? Lo conoscerà lo stesso il principe e vivrà felice e contenta o spazzerà e cucinerà per i 7 nani per tutta la vita?	Le storie
Bibliografia		Bibliografia

Figura 4 - Ultima pagina del CD-Rom prodotta dagli studenti della 1^a I del liceo ginnasio "Virgilio" di Roma

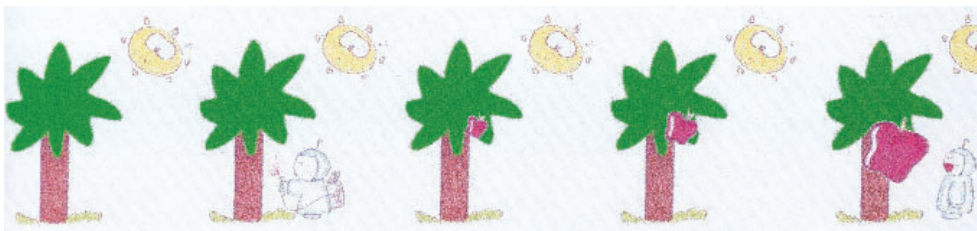


Figura 5 - Fumetto tratto dal CD-Rom degli studenti della 1^a I del liceo ginnasio “Virgilio” di Roma

Le Biotecnologie

Per concludere, vorrei accennare a un progetto che è attualmente in corso di svolgimento nel liceo Virgilio e che è stato pensato proprio per non disperdere i risultati positivi raggiunti con il lavoro appena illustrato.

Insieme alla commissione che si occupa di educazione alla salute, abbiamo organizzato un progetto rivolto alle 2^o classi del biennio di studi liceali; le classi sono quattro, una per ogni indirizzo di studi (classico, scientifico, linguistico e internazionale).

Il progetto si propone di far conoscere agli studenti appartenenti alla fascia d'età considerata maggiormente “sensibile” e recettiva le problematiche relative all'uso delle droghe sintetiche.

Il metodo utilizzato è quello del “Problem-Based Learning” (PBL) ed è stato proposto alle classi da gruppi di studenti dell'attuale 2^o liceo sezione I, che ha lavorato per due anni con questo metodo e che è la classe descritta nella parte precedente di questa relazione.

Gruppi di studenti sono andati nelle singole classi a spiegare il metodo, il ruolo del facilitatore e a far lavorare ciascuna classe divisa in gruppi. Il loro compito è stato quello di fare da facilitatori, lanciare l'attività, dividere le classi in gruppi e dare loro dei limiti di tempo per eseguire il compito assegnato.

Dopo poco più di un mese di lavoro, le classi, riunite insieme, in presenza dei loro insegnanti e della classe proponente, hanno illustrato il risultato del loro studio.

Un primo bilancio dell'esperienza effettuata può dirsi positivo anche se non sono mancati elementi scarsamente soddisfacenti e situazioni impreviste che hanno richiesto aggiustamenti in corso d'opera: ne citerò alcuni. Il progetto prevedeva inizialmente il coinvolgimento di altre discipline, come, ad esempio, l'educazione fisica, per permettere di affrontare il problema dell'uso di droghe nell'attività sportiva (il doping, gli anabolizzanti); per motivi legati a varie difficoltà organizzative non è stato possibile effettuare il progetto come previsto inizialmente, non siamo riusciti perciò a sviluppare un modulo interdisciplinare. All'incontro finale hanno comunque partecipato docenti di varie discipline e ciò ha giovato sicuramente alla riuscita dell'iniziativa. Inoltre, delle quattro classi coinvolte, tre hanno svolto il lavoro nei tempi prefissati, la quarta classe si è sottratta all'impegno preso.

In ogni caso si è trattato di un primo tentativo di lavorare in un modo diverso prima nell'ambito di una classe e poi estendendo il lavoro a più classi della stessa scuola. Le due caratteristiche di maggiore innovazione che emergono dalle espe-

rienze esposte sono, da una parte, la forte responsabilizzazione degli studenti nel gestire il proprio lavoro e, dall'altra, la promozione di un'iniziativa di lavoro tra pari, in quanto sono stati gli stessi alunni a proporre e gestire il lavoro di altri studenti.

Riferimenti bibliografici

1. Giannella S. L'apprendimento per problemi nell'esperienza della V ginnasio I del Liceo Virgilio di Roma. *Le nuove droghe: spunti per un'azione didattica*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2002. p. 40-5.
2. Bandiera M, Pacetti M. *La metodologia didattica orientativa: da "PBL" (Problem-Based Learning) a "PPA". (Problemi per apprendere)* 1998; UeS;1: 64-70.

LE BIOTECNOLOGIE: UN'ESPERIENZA IN CLASSE

Lucia Amico, Isabella Albanese e Giuseppina Mannino

Liceo classico "Ruggero Settimo", Caltanissetta

Come è nata l'esperienza

Avevamo partecipato circa due anni fa al progetto promosso dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) sul tema "Le nuove droghe" (1) con risultati positivi. L'esperienza infatti ha interessato sia gli alunni sia noi docenti. Il metodo PBL è stato accolto con favore dai ragazzi - come è emerso dalle opinioni espresse nei questionari finali di gradimento - e ha soprattutto permesso di superare il nozionismo, sviluppando in loro capacità di riflessione. Di conseguenza abbiamo aderito al progetto dell'ISS, ancorato questa volta agli aspetti scientifici ed etici delle biotecnologie in medicina.

L'azione didattica

Il lavoro è stato svolto in due classi in tempi diversi (negli anni scolastici 2001-02 e 2002-03).

Nel primo anno ha partecipato la V B (attuale I B). Il lavoro è stato preceduto da una spiegazione sul metodo "Problem-Based Learning" (PBL). Il punto di partenza è stato la visione del film Jurassic Park e il problema consisteva nello stabilire e individuare eventuali errori nella terminologia scientifica utilizzata per spiegare la ricomparsa dei dinosauri nella nostra epoca.

Un caso da risolvere

Nel film Jurassic Park i visitatori del parco vengono invitati a vedere un filmato, nel quale si spiega come sia stato possibile riportare in vita i dinosauri. Sebbene fantascientifica, la spiegazione ha una sua logica ma contiene degli errori nell'uso della terminologia specifica:

"Questa resina fossile, che noi abbiamo chiamato ambra, ha atteso milioni di anni con la sua zanzara dentro... fino all'arrivo degli scienziati del Jurassic Park. Servendosi di tecnologie fantascientifiche gli scienziati hanno estratto il sangue conservato nelle zanzare e... tombola! DNA di dinosauro! Un intero filamento di DNA contiene tre milioni di codici genetici! Se guardiamo delle schermate come questa (sul video appaiono delle sequenze di DNA ogni secondo), per otto ore al giorno, impiegheremo due anni per vedere un intero filamento di DNA... È proprio lungo! E siccome è molto vecchio è anche pieno di interruzioni... ed è qui che la nostra ingegneria genetica entra in gioco. Supercomputer e sequenziatori di geni elaborano il filamento nel giro di pochi minuti e la grafica della realtà virtuale ci mostra le interruzioni nella sequenza del DNA. Ci siamo serviti del DNA completo di un rospo per riempire le interruzioni e completare il codice. E ora possiamo creare un baby dinosauro..."

Il testo contiene errori, puoi indicare quali sono?

Posto il problema abbiamo raccolto le varie ipotesi espresse dai ragazzi, le abbiamo sistematizzate e abbiamo divisi gli alunni in 3 gruppi, ogni gruppo coordinato da un insegnante nel ruolo di facilitatore. In maniera del tutto autonoma è poi partita la ricerca dei ragazzi. Gli studenti, dopo uno studio approfondito sul DNA (struttura, duplicazione e metodi di analisi), hanno concentrato la loro attenzione sulle tecniche del DNA ricombinante e sulle applicazioni in medicina, agricoltura ambiente e industria. Arrivando alla conclusione che un essere vivente non è soltanto un insieme di geni manipolabili e che scienza e fantascienza sono confuse in assenza di conoscenze di base. I ragazzi hanno anche cercato di documentarsi sugli aspetti bioetici, raccogliendo, sull'argomento, le considerazioni espresse da personaggi della Chiesa, del mondo lavoro e della scuola. Un CD-Rom dal titolo *Dubium initium sapientiae* riporta il lavoro svolto. Alla fine dell'anno scolastico i ragazzi hanno esposto l'esperienza realizzata, in un convegno presso l'ISS, dove hanno partecipato anche altre scolaresche e ricercatori dell'ISS esperti del settore.

Successivamente gli studenti nel maggio hanno dato una dimostrazione dei risultati e delle potenzialità del metodo seguito presentando il lavoro svolto agli insegnanti delle scuole di Caltanissetta, che partecipavano al corso "Le biotecnologie in medicina: aspetti scientifici ed etici. Spunti per un'azione didattica", tenutosi presso la nostra scuola nei giorni 1° e 2 aprile 2003. L'iniziativa, alla quale sono stati dedicati articoli nella stampa locale (Figura 1), ha suscitato molto interesse nei presenti.

L'intervento didattico sulle biotecnologie in medicina è stato proposto quest'anno alla V B, con un diverso spunto, il problema "Un colloquio delicato" (vedi p. 28).

Il metodo didattico seguito è stato lo stesso già adottato: i ragazzi divisi in 3 gruppi e coordinati ciascuno da un insegnante facilitatore, hanno lavorato e affrontato con entusiasmo argomenti non facili, documentandosi con serietà e interesse sulle malattie ereditarie in generale, sulla fibrosi cistica, sulla tipologia delle analisi da effettuare in gravidanza, sulla terapia genica e sulla bioetica. Infine hanno prodotto un CD-Rom dal titolo "L'esperienza è la madre della scienza" (Alcmane) (Figura 2). Il lavoro è stato poi presentato ad altre scolaresche e a ricercatori esperti in occasione del convegno della settimana delle scienze che si è tenuto presso l'ISS il 6 maggio 2003. Anche in questa occasione gli studenti hanno esposto con molta chiarezza e padronanza gli argomenti della loro ricerca facendosi apprezzare per la serietà del loro impegno.

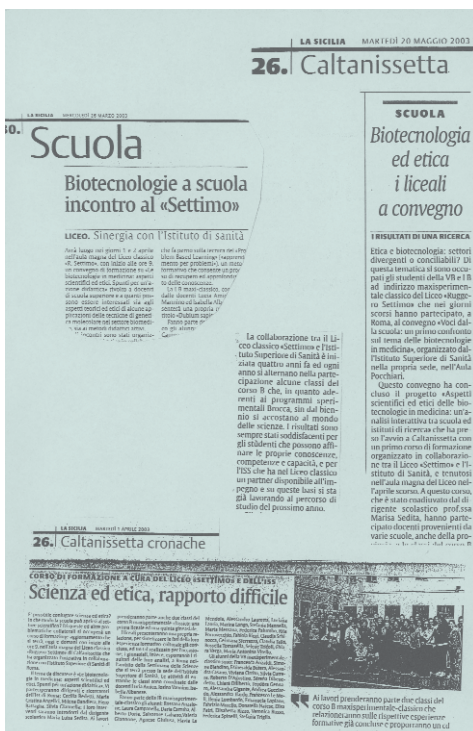


Figura 1 - Articoli stampa



Figura 2 - Vignetta tratta dal CD-Rom realizzato dalla V B del liceo classico “Ruggero Settimo” di Caltanissetta

Verifica del lavoro svolto

Entrambe le classi hanno lavorato in maniera autonoma e questo spesso ha creato in loro dei problemi nell'organizzazione e nella scelta delle priorità da trattare (potrebbe essere più importante questo argomento o quello?). Non è sempre stato facile orientarsi giacché si trattava di temi di attualità che, per la prima volta, non erano stati preceduti da spiegazioni da parte dell'insegnante. Tuttavia sono riusciti a svolgere il lavoro in maniera esaustiva e soprattutto si sono sentiti protagonisti del loro processo di crescita. Inoltre, lavorare in piccoli gruppi ha favorito lo sviluppo di atteggiamenti costruttivi creando tra loro un clima di collaborazione.

Valutazione

A lavoro ultimato proponiamo le nostre considerazioni soprattutto sul metodo adottato, il PBL, cogliendone vari aspetti.

Aspetti positivi:

- permette di affrontare il problema senza avere conoscenze specifiche;
- autonomia di lavoro da parte degli studenti;
- forte coinvolgimento;
- utilizzo di fonti diverse di informazione;
- maggiore consapevolezza rispetto all'uso e all'abuso delle biotecnologie;
- possibilità di lavorare in gruppo;
- maggiore motivazione allo studio rispetto ai metodi tradizionali;
- maggiore flessibilità nella discussione;
- potenziamento delle capacità di analisi ed elaborazione;
- acquisizione di un metodo spendibile in qualsiasi contesto scolastico ed extra-scolastico.

Aspetti negativi:

- difficoltà di applicare il metodo ad ogni argomento di studio;
- rischio di interpretazioni sbagliate o troppo generiche a causa del ruolo di facilitatore dell'insegnante;
- poco tempo a disposizione;
- difficoltà nell'organizzazione;
- difficoltà nel ricercare e selezionare le informazioni provenienti da diverse fonti.

Conclusioni

La validità dell'esperienza sul piano didattico si evince dall'entusiasmo, interesse e partecipazione degli alunni sia nel lavoro di ricerca, di informazioni, sia nella stesura dell'ipertesto.

Hanno potuto sviscerare i problemi in chiave pluridisciplinare, poiché all'azione didattica hanno contribuito docenti di diverse discipline (scienze e lettere).

La produzione del lavoro in forma di ipertesto ha poi permesso loro di acquisire padronanza nelle tecnologie informatiche.

Infine, consideriamo la nostra esperienza un avvio semplice, ma concreto all'opera che la scuola è impegnata ad affrontare nel corso dei prossimi anni in base alle direttive ministeriali, opera la cui riuscita dipende dalla preparazione professionale di noi docenti. Una preparazione che dovremo mantenere perennemente aggiornata sul piano non solo disciplinare, ma anche etico, sociale, civile e metodologico.

Riferimenti bibliografici

1. Amico L, Mannino G. Apprendere con consapevolezza: il PBL e le nuove droghe. In: C. Bedetti, M.C. Barbaro, A. Bertini (Ed.). *Le nuove droghe. spunti per un'azione didattica*. Roma, Istituto Superiore di Sanità, 2002; p. 32-7.

IL METODO PROBLEM-BASED LEARNING (PBL) COME OPPORTUNITÀ DI INTEGRAZIONE TRA SCUOLA E ISTITUTI DI RICERCA

Luciana Bartolini

Liceo classico "Visconti", Roma

Riflettendo a posteriori sulle motivazioni che mi hanno portato ad aderire al progetto "Le biotecnologie in medicina: aspetti scientifici ed etici. Spunti per un'azione didattica" promosso dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), riconosco che due sono state preminenti:

- il desiderio di sperimentare l'efficacia didattica del metodo "Problem-Based Learning" (PBL);
- l'opportunità di verificare quanto questa pratica incida nell'orientare lo studente verso scelte universitarie di ambito scientifico.

Il mio interesse in questo caso era particolarmente vivo per il ruolo di docente delegato all'orientamento da me ricoperto nella scuola di appartenenza, il liceo classico "Visconti" di Roma.

Rispetto al secondo punto, poiché ho condiviso questa esperienza con la classe II E che non è classe terminale non sono ancora in possesso di elementi sufficienti a esprimere una valutazione. Mi piace tuttavia riportare la testimonianza scritta di tre studentesse "... con questa ricerca alcuni di noi hanno ricevuto altri spunti per la futura scelta universitaria e, magari un giorno, chissà, saremo noi a proporre un testo per un concorso in biotecnologie"!

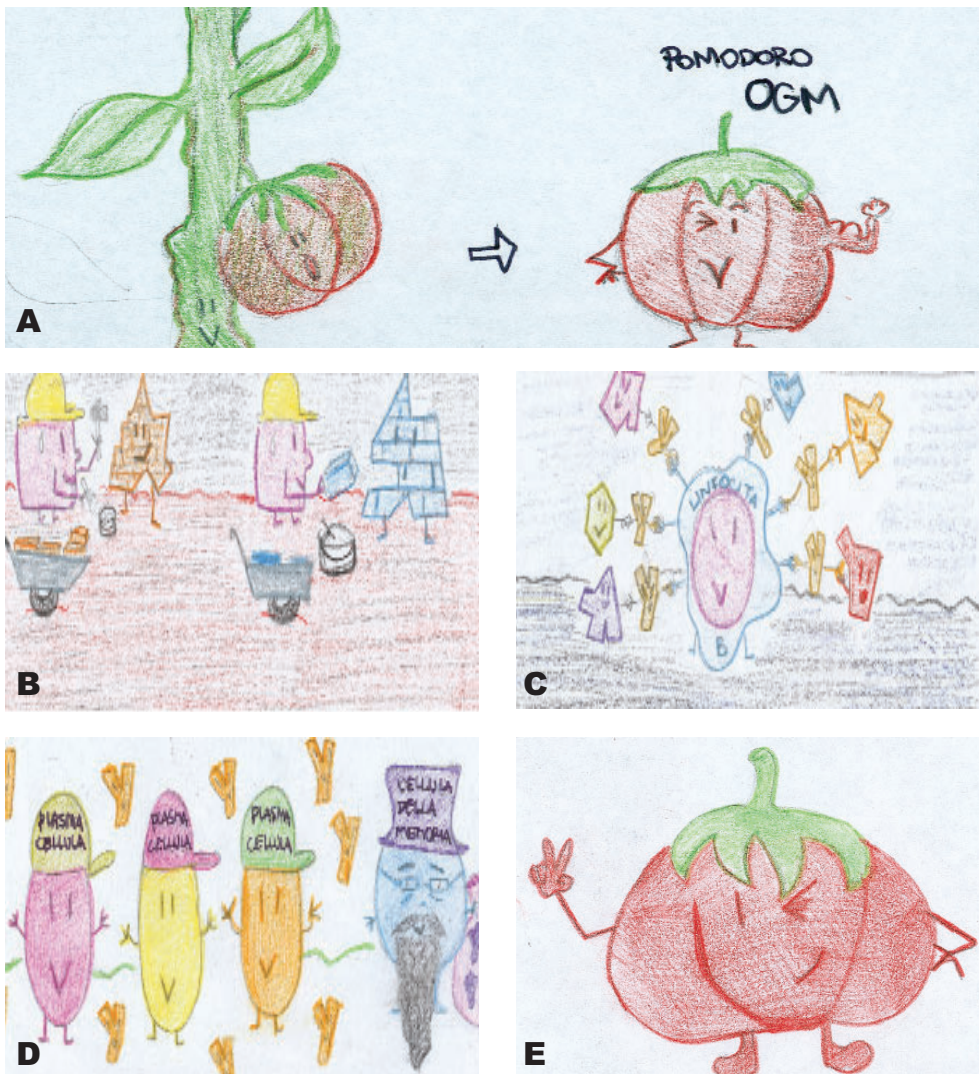
Fase di progettazione

Il corso di aggiornamento organizzato il 4 e il 5 novembre 2002 presso l'ISS ha fornito presupposti teorici ed esperienziali riguardo alla metodologia di applicazione del PBL, oltre a spunti di riflessione sulle implicazioni etiche legate allo sviluppo delle tecniche di genetica molecolare.

Rientrata a scuola ho riferito sui temi trattati nel suddetto corso chiedendo alla classe II E la disponibilità a impegnarsi in un lavoro che avrebbe avuto queste caratteristiche:

- lavoro sperimentale;
- articolato sulle biotecnologie;
- da svolgersi anche in orario extracurricolare ;
- gestito da loro stessi;
- in collaborazione con l'ISS;
- con produzione di relazione finale.

In questo momento non ho ritenuto necessario entrare nel merito dell'operatività secondo il PBL, mentre ho ritenuto di dover essere molto chiara nel definire l'impegno al quale erano chiamati nel caso avessero accettato, poiché a questo paradigma sono sempre stati improntati i nostri rapporti, che sono di reciproco rispetto e fiducia.



Vignette tratte dal fumetto creato dagli alunni della II E del liceo classico "Visconti" di Roma, sulla produzione di vaccini transgenici

Due studentesse presenti alle relazioni esposte nel secondo giorno presso l'ISS, hanno dato subito la loro adesione, assumendo contemporaneamente il ruolo di mediatori con il resto della classe. Durante la discussione è emersa qualche riserva in relazione a impegni extracurricolari proposti da altri docenti. In conclusione la classe ha aderito alla proposta.

Fase attuativa

I tempi di attuazione non sono stati immediatamente successivi alla proposta, per l'approssimarsi delle verifiche scritte curricolari e la chiusura del trimestre. Dopo la pausa natalizia ho ripreso l'argomento questa volta presentando il meto-

do PBL come strumento didattico innovativo che lascia allo studente la libertà di dirigere la sua formazione organizzando le conoscenze attorno a un argomento secondo una costruzione logica personale. Le fasi sono: Chiarire i termini del problema; definire il problema; analizzare il problema; sistematizzare le ipotesi; formulare obiettivi di apprendimento; studio individuale; sintetizzazione/comprendimento del problema.

Ho proposto quindi il problema di “Un colloquio delicato”, sia sotto forma di narrazione che come *concept cartoon* (vedi p. 18 e p. 28). Nel primo caso, al termine, sono espresse delle domande che circoscrivono il problema e guidano nella direzione delle risposte. Nel secondo caso gli studenti vengono stimolati a proporre sull’argomento delle questioni che troveranno risposta nelle loro ricerche.

Sebbene ci fosse una buona dose di curiosità attorno alla nuova proposta didattica e il desiderio di sperimentarsi, il lavoro procedeva stentatamente. A una precisa domanda sulla caduta di entusiasmo mi è stato risposto, dapprima, adducendo improbabili difficoltà organizzative poi, più sinceramente, che avevano l’impressione di lavorare su argomenti già trattati: “Le malattie a trasmissione mendeliana e le analisi da fare in gravidanza sono già state trattate l’anno scorso e riprese all’inizio di quest’anno”.

Inaspettatamente le vicende politiche che maturavano in Iraq, il rischio di attacchi terroristici batteriologici hanno prospettato un problema dal forte impatto emotivo:

Se si dovesse diffondere il virus del vaiolo, quali difese potremmo opporre?

Il coinvolgimento della classe su questa tematica è stato tale da farmi pensare che quello poteva essere il “nostro problema”. Si trattava di vedere se poteva essere accettato dall’ISS in sostituzione del tema proposto.

Il lavoro, avuta l’approvazione il lavoro si è sviluppato in un clima di grande vivacità: tre studentesse hanno assunto il ruolo di facilitatori all’interno del gruppo di classe e di *trait d’union* con l’ISS.

Da parte mia ho assunto subito un ruolo esterno lasciando agli studenti la facoltà di analizzare il problema, di delineare gli ambiti e gli strumenti della ricerca secondo una linea coerente; il mio intervento si sarebbe limitato a controllare di tanto in tanto l’avanzamento del lavoro e la sua condivisione nella classe.

I ragazzi hanno trovato inizialmente qualche difficoltà nella raccolta del materiale documentario, nonostante l’argomento potesse lasciare supporre il contrario. Si sono quindi rivolti ai curatori del progetto presso l’ISS dai quali hanno ricevuto oltre a spunti tematici e documenti, soprattutto “attenzione come se non fossimo studenti del liceo”. La visita ai laboratori e i contatti con i ricercatori hanno favorito una diversa visione della scienza applicata e dai colloqui i ragazzi sono tornati “gasatissimi”.

Le ricerche, a partire dall’analisi delle conoscenze pregresse sui virus, si sono sviluppate secondo questi temi:

- i vaccini tradizionali;
- preparazione e uso dei vaccini;
- il virus del vaiolo e la malattia;
- il vaccino antivaioloso: cenni storici, preparazione e complicità.

A questo punto la ricerca avrebbe potuto considerarsi conclusa, ma dalla frequentazione con i ricercatori dell'ISS gli studenti erano venuti a conoscenza degli studi in corso per ottenere vaccini sicuri per l'uomo da piante transgeniche e hanno voluto proseguire la ricerca su questa linea:

- inserimento di un gene esogeno nel DNA di un organismo;
- piante trasgeniche: campi di applicazione;
- preparazione di vaccini commestibili;
- benefici e meccanismo d'azione di un vaccino a DNA;
- e infine
- conseguenze dall'applicazione di vaccini ottenuti con mezzi transgenici nel terzo mondo.

Nella seconda fase della ricerca si è inserito uno studente della classe II A, nella quale anche insegno, particolarmente interessato a queste tematiche.

Le singole relazioni sono state presentate a discussione in classe, quindi nella veste definitiva sono state esposte nel seminario conclusivo presso l'ISS.

Per lo svolgimento del lavoro ci si è avvalsi di libri di testo, ricerche di biblioteca, riviste scientifiche, enciclopedie, siti Internet e pubblicazioni fornite dall'ISS.

Le sollecitazioni indotte dal progetto ISS hanno avuto un'appendice nella partecipazione di due studentesse al progetto d'Istituto del Liceo Visconti. Il tema annuale era "Giustizia e ragione" e le studentesse hanno presentato una relazione sul tema "Problemi giuridici ed etici posti dalle biotecnologie".

Segue schema su punti di forza e di debolezza del lavoro, dal punto di vista degli studenti e dell'insegnante.

Secondo gli studenti	
Punti di forza	Punti critici
<ul style="list-style-type: none"> • Accettare la sfida con se stessi • Impegnarsi in argomenti di attualità • Impegnarsi in uno studio più motivato • Trovare stimolo alla fantasia • Incrementare le conoscenze • Sapersi relazionare con gli esperti • Saper rendere accessibile e sintetico un lavoro scientifico • Sapersi organizzare • Sapersi confrontare con studenti di altre scuole 	<ul style="list-style-type: none"> • Difficoltà a entrare nell'argomento • Difficoltà nel limitare l'estensione della ricerca • Poco tempo a disposizione nella fase finale
Secondo l'insegnante	
Punti di forza	Punti critici
<ul style="list-style-type: none"> • Favorisce l'acquisizione di una metodologia personale • Sviluppa <ul style="list-style-type: none"> Le abilità logiche L'assunzione di responsabilità La crescita nell'autostima La capacità di collaborazione L'autoefficienza nei processi di valutazione • Le abilità comunicative • Può mettere in luce abilità non rilevate • Accresce il rapporto empatico tra docente e studenti 	<ul style="list-style-type: none"> • Difficoltà nella scelta del tema • Difficoltà nel limitare l'estensione della ricerca e dell'entusiasmo • Poco tempo per organizzare il report

BIOTECNOLOGIE E PROBLEM-BASED LEARNING (PBL) IN UN ISTITUTO TECNICO

Anna Maria D'Andrea e Luciano Filippeschi

Istituto Tecnico Industriale (ITI) "Tito Sarrocchi", Siena

L'esperienza realizzata nella V Chimici dell'Istituto Tecnico Industriale (ITI) "Tito Sarrocchi" si inserisce nel progetto "Biotech a scuola", ed è nata da un corso di aggiornamento organizzato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) sulle biotecnologie e sulle metodologie didattiche. Il percorso di apprendimento per problemi (PBL) è stato coordinato dalla docente di chimica organica, delle fermentazioni e microbiologia che aveva anche partecipato al corso sopraccitato. Il progetto multimediale è stato seguito dal professore assistente di laboratorio. Gli alunni coinvolti hanno lavorato per quattro mesi producendo al termine un CD-Rom e un poster finalizzati a illustrare l'attività sperimentale. Il poster è stato esposto durante la "XIII Settimana della cultura scientifica e tecnologica" a scuola e successivamente all'ISS durante il seminario "Voci dalla Scuola: un primo confronto sul tema delle biotecnologie in medicina". In tale occasione, i ragazzi hanno anche illustrato il loro lavoro presentando la relazione dal titolo "Prestazioni eccezionali (produzione di una proteina ricombinante)".

Prestazioni eccezionali

Alberto, ciclista dilettante ha avuto una carriera senza onori e senza lodi. Però in occasione di una corsa particolarmente impegnativa ha avuto prestazioni eccezionali. Dopo i festeggiamenti, come è regola per i vincitori di gare, vengono prelevate le sue urine e viene fatto un prelievo di sangue. Dopo qualche giorno Alberto è squalificato perché gli è stato riscontrato un ematocrito altissimo. Il medico commenta: "È un disgraziato, rischiava una trombosi". Ai miei tempi solo i corridori più famosi facevano queste cose. Ora con questa maledetta ingegneria genetica, anche i ragazzi sono esposti a rischi altissimi.

Tu come spiegheresti le prestazioni eccezionali di Alberto?

Viene di seguito presentato uno schema della realizzazione del progetto.

Come si è lavorato

- Lettura e analisi del problema;
- discussione con il docente/facilitatore su: cosa c'entra l'ingegneria genetica, quali sono le sostanze che danno maggiori prestazioni sportive, l'eritropoietina (EPO) e come viene prodotta;
- suddivisione degli studenti e dei compiti;
- lavoro teorico (ematocrito, trombosi, tecniche del DNA ricombinante, colture cellulari);
- lavoro pratico-sperimentale in laboratorio;
- preparazione del CD-Rom e del poster.

Obiettivi formativi specifici

Conoscenze e competenze acquisite:

- Struttura del DNA;
- ingegneria genetica;
- produzione di una proteina;
- metodi di caratterizzazione e identificazione;
- studio dei terreni colturali;
- parametri chimico-fisici che determinano la crescita batterica;
- tecniche di separazione cromatografie della proteina.

Schema del percorso di lavoro

- L'Epo è una proteina
- Storia
- Struttura (Figura 1)
- Funzione
- Produzione
- I vettori molecolari
- Le cellule ospiti
- Espressione e produzione

Laboratorio

- Amplificazione *Escherichia coli* ricombinante passando dalla piastra alla beuta.
- Aggiunta dell'induttore e curva di crescita (Figura 2).

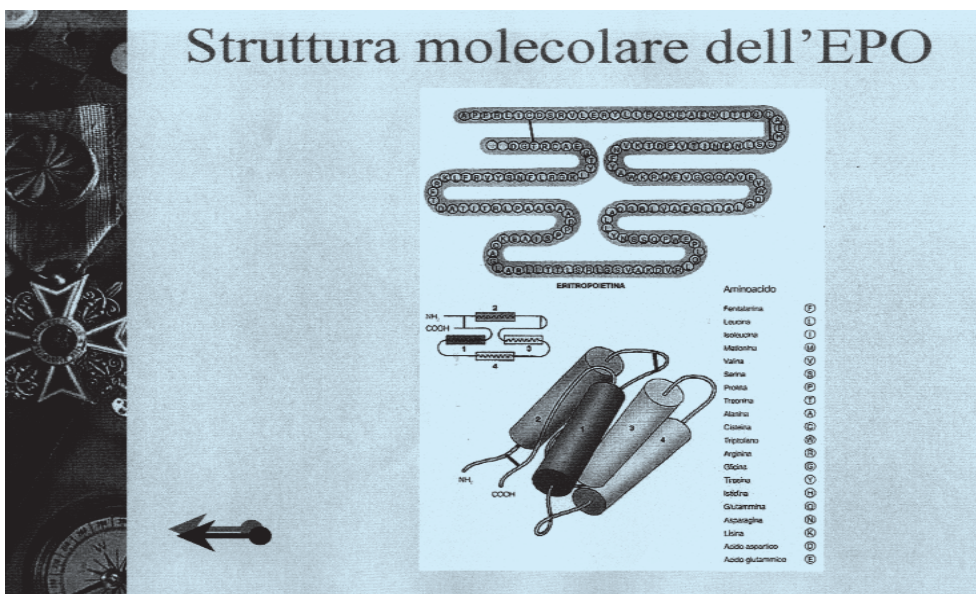


Figura 1 - Struttura molecolare dell'EPO. Immagini tratte dal CD-Rom realizzato dalla V chimici dell'ITI "Tito Sarrocchi" di Siena

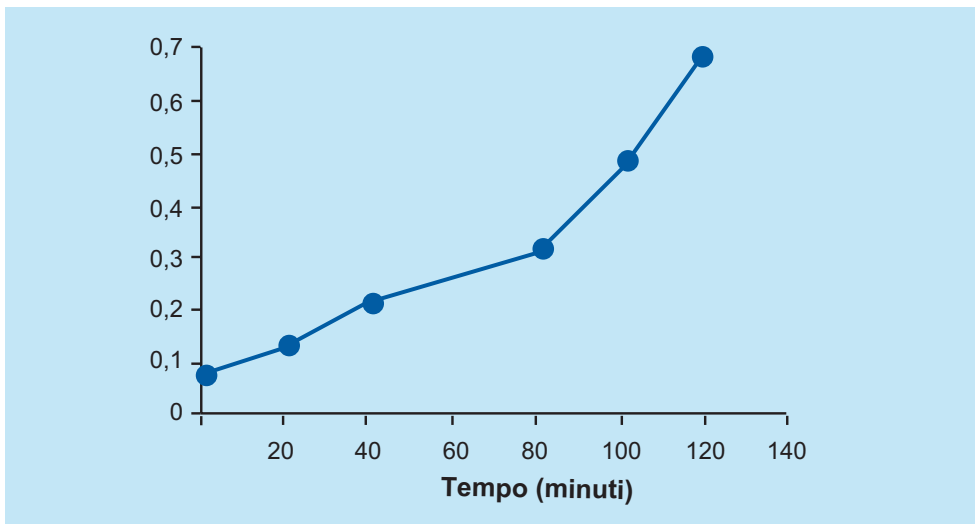


Figura 2 - Curva di crescita batterica tratta dal CD-Rom realizzato dalla V chimici dell'ITI "Tito Sarrocchi" di Siena

- Lisi batterica, separazione tramite centrifuga e controllo dell'andamento del processo (Figura 3).
- Purificazione cromatografica, scelta delle frazioni a maggiore concentrazione proteica, identificazione tramite *SDS Page* e *Western blot*.
- Come si determina il peso molecolare di una proteina e come essa viene identificata.

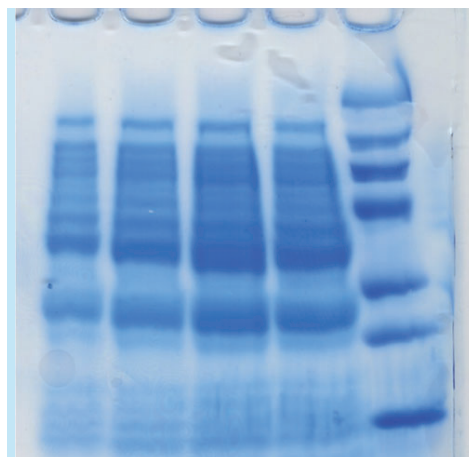


Figura 3 - Gel colorato con blu Comassie per controllare tramite marker, caricato nell'ultimo pozzetto, il peso molecolare della proteina in fase di produzione tratto dal CD-Rom realizzato dalla V chimici dell'ITI "Tito Sarrocchi" di Siena

Conclusioni

Gli alunni hanno raggiunto gli obiettivi specifici stabiliti e hanno imparato a ricercare e a selezionare le informazioni. Hanno appreso poi nuove tecniche analitiche basate sulle biotecnologie quali l'*SDS Page* (elettroforesi verticale delle proteine in sodio dodecil solfato) e il *Western Blotting* (identificazione delle proteine con anticorpo monoclonale).

Inoltre gli alunni, lavorando in gruppo nel rispetto reciproco, hanno acquisito abilità informatiche e sviluppato capacità di esposizione orale, grafica e scritta. Hanno partecipato con notevole gradimento sia alle fasi del percorso di apprendimento sia alla comunicazione finale dei risultati del loro lavoro. La classe ha lavorato quasi sempre in orario scolastico utilizzando tuttavia anche ore di altre discipline (religione e italiano).

LE BIOTECNOLOGIE... QUALE FUTURO? ...UNA NUOVA STRADA DA PERCORRERE

**Breve nota sull'attività svolta nell'ambito
dell'esperienza didattica del Problem-Based Learning (PBL)**

Candida Di Iorio e Lidia Salines

Istituto Tecnico per le Attività Sociali (ITAS) "S. Pertini", Campobasso

Nei due indirizzi del nostro Istituto, salute e ambiente, la progettazione modulare è ormai consolidata e con essa il metodo di insegnamento multidisciplinare: da quello tradizionale, totalmente ricettivo per lo studente, si è passati a quello interattivo interdisciplinare che consente agli allievi di affrontare lo studio dei contenuti delle singole materie in una visione globale, non frammentaria.

Nell'area dell'integrazione, un'area a completa progettazione dell'Istituto "S. Pertini" anche nell'articolazione del quadro orario, lo studente affronta lo studio e la soluzione di problemi inerenti all'indirizzo applicando le conoscenze e le abilità apprese nel percorso curriculare e acquisendo nuove competenze spendibili nel campo extrascolastico.

Affrontare lo studio di problematiche attuali, lavorando in gruppo, non è quindi per noi nuovo ma il metodo PBL ha costituito per la classe e le insegnanti stesse una strategia didattica innovativa che, affiancata a quella modulare, ha permesso una seria riflessione sugli interventi dell'uomo sulla vita in tutte le sue forme. L'attività è stata realizzata nella classe IV D, indirizzo salute, partendo dallo studio del problema a carattere biotecnologico riportato nella Figura.

Gli studenti hanno accolto con entusiasmo la proposta di realizzare un progetto in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) che avrebbe consentito loro (nell'incontro finale di Roma presso l'ISS) di confrontarsi con le realtà scolastiche di altre regioni.

La fase preliminare del lavoro è stata dedicata alla illustrazione del metodo PBL e all'acquisizione del nuovo metodo.

La classe si è organizzata in quattro gruppi ciascuno dei quali ha scelto l'argomento su cui lavorare:

- Il primo gruppo ha ricercato notizie sulle origini delle biotecnologie;
- il secondo gruppo ha raccolto informazioni sull'utilizzazione delle biotecnologie in campo medico, farmaceutico, agricolo e ambientale;
- il terzo gruppo ha ricercato informazioni relative alla tecnologia del DNA ricombinante;
- il quarto gruppo ha acquisito informazioni relative ai vantaggi e agli svantaggi delle biotecnologie;

L'intera classe poi si è soffermata e ha raccolto informazioni e opinioni relative al problema etico, dibattuto da differenti punti di vista.

Facendo seguito al suddetto lavoro di ricerca, gli allievi hanno sintetizzato i concetti fondamentali, riuscendo, tra l'altro, a tradurre in immagini i concetti.



Figura - Concept cartoon realizzato dalla V D dell'ITAS "S. Pertini" di Campobasso

La ricerca e la selezione dei contenuti ha costituito un momento attivo poiché sin dalle prime fasi ogni studente ha discusso con i compagni del gruppo e con quelli degli altri gruppi i risultati del proprio lavoro.

Il lavoro, prodotto da ciascun gruppo, è stato esaminato, discusso e assemblato dall'intera classe.

L'attività è stata talmente gratificante che gli studenti hanno deciso di realizzare un CD-Rom dal titolo "Le biotecnologie: quale futuro?" e due poster: uno intitolato "Dal DNA al genoma umano" che percorre storicamente le fasi dalla scoperta della doppia elica alle applicazioni odierne, e l'altro intitolato "Le biotecnologie quale futuro? ...Una nuova strada da percorrere" che sintetizza il lavoro del CD-Rom.

Gli allievi hanno maturato la consapevolezza che la scuola non è il luogo dove si ricevono informazioni in modo passivo, ma dove è possibile, attraverso l'individuazione, la riflessione e la successiva analisi di un problema, sviluppare capacità autonome di ricerca, spirito critico, capacità di autogestione e di responsabilità.

Le insegnanti hanno trovato un interattivo canale di comunicazione attraverso un lavoro "gomito a gomito" .

Il PBL alle insegnanti partecipanti ha permesso di:

- fornire agli studenti un insegnamento efficace ed esemplificare l'interazione cooperativa;
- essere creative nella progettazione iniziale e *in itinere* del lavoro;
- assistersi a vicenda;
- dividersi le attività e poi confrontarle con senso critico e democratico;
- accettare la visione dell'altra sul proprio lavoro svolto;
- considerare i problemi sorti, proporre alternative per scegliere la più idonea;
- aumentare la stima e la fiducia reciprocamente;

- favorire relazioni sociali extrascolastiche.

Non pochi sono stati i momenti in cui tutto sembrava crollare: in una prima fase si sono evidenziati momenti di scarsa organicità e poco costruttivi, scaturiti sicuramente dalla nuova metodologia, ma superati, a diversi livelli. Vinti l'impaccio e la vergogna nell'esprimere la propria opinione ognuno si è sentito protagonista e capace di dare un contributo e ha imparato a mettere da parte personalismi e a controllare le proprie emotività per raggiungere l'obiettivo prefissato.

Il PBL ha quindi permesso all'insegnante di:

- rivestire il ruolo di "ingegnere" educativo;
- utilizzare il gruppo come strategia didattica;
- insegnare norme cooperative;
- programmare il lavoro di gruppo per fasi;
- assegnare un ruolo per ogni alunno;
- delegare e formare la squadra;
- modificare le aspettative per sviluppare le competenze e favorire la partecipazione dei più deboli;
- prevenire la tendenza al predominio;
- potenziare l'attitudine ad ascoltare e riascoltare con pazienza più che a essere ascoltato;
- valorizzare le competenze didattico-culturali dei più e dei meno capaci attraverso la discussione democratica;
- gestire abilità diversificate.

Il PBL ha consentito agli studenti di:

- cimentarsi in una ricerca-azione;
- abituarsi a osservare con atteggiamento critico;
- leggere testi scientifici specializzati e vagliare le informazioni;
- analizzare un problema e riportare soluzioni;
- scegliere e accettare il controllore e il relatore in base a criteri stabiliti e suggeriti dalle insegnanti;
- aumentare la fiducia verso i compagni;
- superare la timidezza e la paura di sbagliare acquisendo una maggiore fiducia in se stessi;
- assumersi le proprie responsabilità;
- imparare a rispettare le consegne;
- acquisire consapevolezza del ruolo del gruppo in un lavoro a mosaico;
- scoprire il gusto della discussione democratica attraverso le domande e le risposte.

Il campo etico è stato quello più dibattuto sia per la problematica attuale sia perché è stato necessario indirizzare gli studenti poco allenati a cogliere l'aspetto persuasivo occulto dei messaggi, ad una lettura critica delle informazioni che i mass media ci propinano ogni giorno costruendo l'opinione di massa che diventa la pubblica interpretazione dei fatti che tutti devono accettare.

Forte motivazione, collaborazione e impegno sono stati, pertanto, gli elementi caratterizzanti il lavoro svolto dai discenti.

La riflessione sulle possibilità di intervento dell'uomo sulla vita in tutte le sue forme ci ha guidato nel presente lavoro sulle biotecnologie. La ricerca scientifica e la conseguente applicazione sono state e sono tutt'ora oggetto di vivace confronto che coinvolge non solo gli operatori del settore, ma chiunque, a diver-

si livelli, si interessi di questa complessa problematica che investe, oltre al campo scientifico la sfera della morale e della società. In particolare si discute sulla possibilità e ancora più sul “diritto” che l’uomo ha di modificare il mondo dei viventi.

Noi abbiamo affrontato lo studio con atteggiamento privo di pregiudizi, ma anche con la consapevolezza che le valutazioni di carattere morale e sociale devono sempre accompagnare le scelte dell’uomo e guidarne l’operato. È importante, pertanto, sviluppare una coscienza collettiva, vigile, che guidi ad accogliere e usare le biotecnologie in modo oculato evitandone l’uso indiscriminato.

Albert Einstein così affermava: “Quando vengono trattati problemi legati alla vita umana, dobbiamo stare molto attenti a non sovrastimare la scienza ed i metodi scientifici; non dobbiamo dare per scontato che gli esperti siano gli unici ad avere il diritto di trattare questioni che riguardano l’organizzazione della società”.

“C’ERA UNA VOLTA... L’AMBIENTE!”

Progetto didattico svolto all’Istituto Tecnico per le Attività Sociali
“S. Pertini”, Campobasso

Anna Rita Massarella

Istituto Tecnico per le Attività Sociali (ITAS) “S. Pertini”, Campobasso

Sono convinta che nessuna metodologia si possa considerare la panacea per tutti i mali della scuola, ma penso che la didattica tradizionale, a cui è affidato il compito di sviluppare nell’allievo conoscenze e competenze disciplinari, possa essere integrata con forme di didattica attiva per sviluppare capacità e comportamenti orientati alla interdisciplinarietà e al lavoro di gruppo.

Così, dopo gli incontri con gli esperti e i ricercatori dell’Istituto Superiore di Sanità (ISS) - durante il corso di aggiornamento “Le biotecnologie in medicina: aspetti scientifici ed etici. Spunti per un’azione didattica”- ho accolto volentieri l’invito a sperimentare in classe l’applicazione del metodo “Problem-Based-Learning” (PBL).

Con la collaborazione dell’insegnante di lingua straniera ho progettato, per gli allievi della classe IV C dell’ITAS del triennio a indirizzo Ambiente, un intervento didattico con gli spunti tematici e le metodologie suggerite.

Il progetto didattico “C’era una volta ...l’ambiente!” è schematizzato come segue:

Finalità: Acquisizione autonoma da parte degli allievi di conoscenze legate alle biotecnologie applicate alla risoluzione di problemi ambientali

Obiettivi cognitivi specifici: Raccogliere informazioni e acquisire un’adeguata conoscenza sull’argomento alla base del problema proposto

Obiettivi formativi: Promuovere la socializzazione tra gli allievi per mezzo del lavoro di gruppo e imparare a rapportarsi con docenti e compagni in situazioni non strettamente scolastiche

Attività didattica: Lavoro di gruppo applicando il metodo basato sui *concept cartoons*; ricerca, discussione e analisi critica dei documenti degli allievi allo scopo di “risolvere un problema “ individuando le tesi esatte e quelle errate in piena autonomia; assistenza tutoriale dei docenti

Risorse utilizzate: Biblioteca dell’istituto, biblioteca provinciale, biblioteca dell’università, laboratorio d’informatica, Internet

Prodotti: Relazioni sugli argomenti; disegni; ipertesto per la presentazione all’ISS; poster per la presentazione all’ISS

Valutazione:

Descrittori - motivazione e partecipazione, conoscenza dei contenuti, qualità dei prodotti, competenze acquisite

Oggetto della valutazione - relazioni, ipertesto

Strumenti di valutazione - osservazione in classe degli allievi, correzione degli elaborati (solo al termine dell’attività)

Il problema proposto con una vignetta

Sono stati illustrati ai ragazzi l'attività didattica, il metodo PBL e soprattutto il ruolo di facilitatori che gli insegnanti avrebbero avuto durante gli incontri che, per esigenze di programmazione didattica, si sono svolti nelle ore pomeridiane.

Con una vignetta (Figura), come suggerito dal metodo *concept-cartoon*, applicazione semplificata del PBL, ho chiesto agli allievi di immaginare e verificare le diverse possibilità di recupero ambientale dopo un inquinamento da idrocarburi e di giustificare le loro posizioni a riguardo.

Gli allievi hanno condotto il dialogo scaturito dalla lettura della vignetta, hanno raccontato le loro esperienze e le proprie osservazioni e preso posizione sugli interventi dei loro compagni, esprimendo dubbi e formulando ipotesi. Tutti hanno avuto qualcosa da dire!

Durante questo primo dialogo anche noi insegnanti abbiamo formulato delle domande per invitarli alla collaborazione creativa e per invogliarli a pensare e non semplicemente a fornire una risposta nozionistica. A questo scopo l'argomento della genetica e delle biotecnologie, che per la formazione scolastica degli studenti in ambito di prevenzione, tutela e salvaguardia dell'ambiente, sarebbe stato oggetto di studio curricolare nel quarto anno, non è stato trattato completamente in classe ma lasciato da "scoprire" agli allievi.



Figura - La vignetta è stata modificata graficamente dagli allievi durante l'elaborazione dell'ipertesto prodotto per la presentazione presso l'ISS

Lo studio autonomo

I ragazzi si sono divisi in quattro piccoli gruppi, considerando che la classe è costituita da diciassette allievi, e hanno individuato diversi argomenti da approfondire per avvalorare o meno le ipotesi proposte dai personaggi della vignetta.

Gli argomenti di studio hanno riguardato:

- gli effetti immediati e a lungo termine dell'inquinamento delle acque da idrocarburi;
- i possibili rimedi chimici;
- le applicazioni delle biotecnologie nelle problematiche ambientali:
 - il biomonitoraggio di contaminanti;
 - il biorisanamento di ambienti contaminati;
 - i microrganismi e le biotecnologie;
 - i vantaggi e svantaggi dei trattamenti microbiologici.

Gli studenti si sono quindi impegnati nella ricerca di documenti e riviste specializzate sia nella biblioteca della scuola sia in quella cittadina e anche utilizzando Internet. La lettura dei documenti e la scelta delle informazioni utili li ha coinvolti tutti tanto che non sono mancati scambi di vedute molto intensi. Durante i successivi incontri i diversi gruppi hanno condiviso i risultati della loro ricerca e a questo punto, trovato l'accordo sui risultati ottenuti, si sono dedicati alla costruzione di un ipertesto di presentazione e alla realizzazione di un poster presentato in occasione del convegno che si è tenuto a Roma presso l'ISS il 9 maggio 2003.

Impressioni sull'esperienza

I problemi pratici legati a un'esperienza di questo tipo sono molti: l'orario delle lezioni, i vincoli economici e, non ultimo, la difficoltà del controllo dei contenuti appresi.

Al contrario i vantaggi sono molti: la motivazione è maggiore perché l'attività risponde meglio alla curiosità dell'alunno e ne propone l'autonomia nello studio e la padronanza critica dei contenuti disciplinari appresi con approdo a nuove combinazioni e relazioni tra gli stessi.

L'esperienza degli allievi è stata importante sul piano cognitivo, espressivo e comunicativo anche quando hanno affrontato la costruzione dell'ipertesto e quella di un poster per la presentazione del loro lavoro all'incontro conclusivo che si è tenuto a Roma presso l'ISS. Sono stati indotti, infatti, a un profondo cambiamento nel processare le informazioni interdisciplinari fino a quel momento apprese, riorganizzandole e connettendole insieme in una base comune.

Al termine dell'esperienza posso esprimere, sia la mia soddisfazione per l'attenzione e la creatività nella ricerca della soluzione alla proposta di una situazione problematica dimostrata dall'intera classe, sia quella degli allievi per essere riusciti a rappresentare in modo convincente il loro autonomo percorso di studio, le ipotesi e i risultati raggiunti.

INCURIOSIRE E MOTIVARE

Rita Restante

Istituto Professionale “Enrico Berlinguer”, Acilia (Roma)

Insegno in un istituto professionale, dove il libro di testo e lo studio difficilmente appaiono collegabili al piacere della scoperta e della crescita culturale. Ho cercato, quindi, fin dall’inizio dell’anno scolastico, attraverso una serie di strategie, di trasmettere il senso del valore delle conoscenze e della comprensione di ciò che ci circonda e che avesse attinenza con la mia disciplina.

Il metodo Problem-Based Learning (PBL), conosciuto in seguito alla frequentazione di un corso di formazione presso l’Istituto Superiore di Sanità (ISS), mi è sembrato uno strumento in più per cercare di affrontare la mia realtà. Non ho avuto, quindi, difficoltà a interrompere la normale attività didattica per dedicarmi a questa esperienza.

Una volta fissata la finalità, ho definito le capacità e le competenze che, secondo me, sarebbero dovute scaturire da questo progetto una volta portato a termine dagli studenti (Tabella).

A gennaio ho parlato, alla classe, del PBL e ho proposto, secondo quanto prevede questo metodo di apprendimento, il problema dal titolo “Un colloquio delicato” (vedi p. 28), affrontato nel corso “Le biotecnologie in medicina: aspetti scientifici ed etici. Spunti per un’azione didattica” organizzato dall’ISS il 4-5 novembre 2002.

Tabella - Schema riassuntivo del progetto

Problema PBL:	Un colloquio delicato
Finalità:	Utilizzare il PBL per raggiungere una chiara e semplice comprensione dei principi che regolano la trasmissione delle malattie ereditarie e dei principi applicativi delle biotecnologie in medicina, e avere, quindi, la consapevolezza di alcuni aspetti che riguardano la nostra salute
Prerequisiti:	Leggere e interpretare un testo scientifico semplice
Capacità:	L’alunno è in grado di analizzare la situazione problematica proposta: <ul style="list-style-type: none">• motivando i meccanismi che regolano la trasmissione delle malattie genetiche mendeliane• riconoscendo l’importanza dell’identificazione, all’interno di una famiglia, di patologie che rendono una coppia a rischio• utilizzando le informazioni sulle biotecnologie per motivare la scelta di alcune indagini di laboratorio a scopo diagnostico
Contenuti:	<ul style="list-style-type: none">• Malattie genetiche ed eredità mendeliana;• La fibrosi cistica e la diagnosi prenatale;• Le biotecnologie e il trattamento delle malattie genetiche

segue

continua

Competenze		Descrittori di abilità
1	A	• DNA
	B	• Elementi di genetica
	C	• Le malattie genetiche
2	A	• Il calcolo della probabilità applicato all'eredità
3	A	• Le biotecnologie: principi e applicazioni
	B	• Terapia genica
Metodi e strumenti		Studio autonomo Testi scientifici Internet
Tempo		2 mesi

Gli studenti nell'affrontare questa tematica non potevano attivare conoscenze pregresse, pertanto si è lavorato partendo da conoscenze basate su luoghi comuni e sul "sentito dire".

Ciononostante, durante la prima fase del lavoro che doveva portare a sistematizzare le ipotesi, abbiamo ottenuto risultati accettabili.

Dalla discussione in classe sono emersi i seguenti punti da approfondire:

- Che cos'è la fibrosi cistica, quali effetti provoca e se è curabile;
- se è ereditaria;
- stabilire come si trasmette all'interno della famiglia;
- che cos'è la diagnosi prenatale e se è pericolosa per il feto;
- in che cosa consiste la terapia genica.

Le informazioni di base sulla fibrosi cistica, malattie genetiche e diagnosi prenatale sono state ricavate da opuscoli a carattere divulgativo forniti dall'Istituto "G. Mendel" e dall'Associazione famiglie fibrosi cistica (Figura).

Per quanto riguarda la terapia genica, a scuola non c'era niente di adatto, così i miei studenti hanno raccolto le informazioni necessarie consultando diverse pagine web.

Infine ho dato la mia disponibilità, sia per fornire chiarimenti, che per svolgere eventuali lezioni su tematiche poco conosciute.

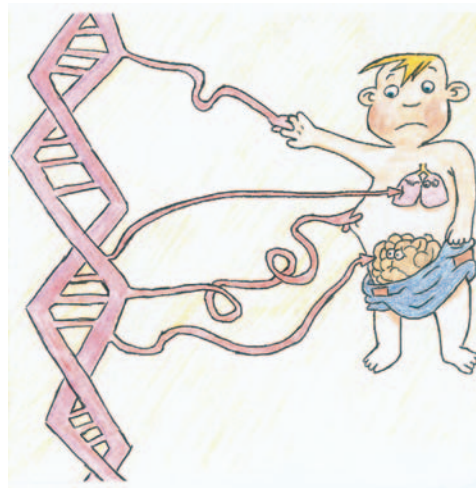
La classe è stata, quindi, divisa in gruppi, ognuno con una tematica da approfondire.

Dopo una settimana, dall'inizio del lavoro autonomo, quasi tutta la classe ha rinunciato e solo sei studenti hanno continuato il lavoro intrapreso.

Il prodotto finale di questo progetto è stata una relazione sintetica, ma sostanzialmente esauriente su tutte le ipotesi formulate, ma nessuno degli argomenti trattati è stato approfondito.

Considerazioni dell'insegnante

L'aspetto più interessante e per certi aspetti sconcertante di questa esperienza è stato l'atteggiamento degli studenti nei confronti delle problematiche affrontate. Non hanno, dal loro punto di vista, mai avuto dubbi o incertezze nella compren-



Vignette tratte dalla relazione presentata dai ragazzi dell'Istituto Professionale "Enrico Berlinguer" di Acilia (Roma) nel convegno conclusivo del progetto presso l'Istituto Superiore di Sanità

ne degli argomenti, posizione questa che mi ha lasciata perplessa fin dall'inizio, in quanto, sapevo bene che non avevano, ad esempio, le conoscenze minime di genetica generale per comprendere appieno ciò che stavano studiando.

Per indagare su quanto sospettavo, ho organizzato una "prova generale", pregando i compagni di classe di prestare molta attenzione su quanto era esposto e di fare domande su qualsiasi aspetto della relazione. Da tale verifica è emersa immediatamente la scarsa comprensione degli argomenti trattati; il gruppo, quindi, preso atto della debolezza di alcune loro argomentazioni, ha ricominciato il lavoro per colmare le lacune evidenziate. Ritengo che, quanto riscontrato, sia dovuto al fatto che l'atteggiamento prevalente dei miei studenti di fronte a qualsiasi testo, scolastico o meno, sia quello di non porsi domande, accettando senza riserve tutto ciò che trovano scritto.

Sono arrivata, quindi, alla conclusione che questo percorso formativo, per me, doveva rappresentare il “contenitore” da cui partire per progettare un’azione didattica seguendo lo schema indicato (Tabella).

L’esperienza è stata in ogni modo positiva, dopo l’incontro avuto presso l’ISS, in classe sono state poste domande suscitate dai lavori presentati dalle altre scuole ed è emersa la necessità di saperne di più su quanto era stato affrontato durante la realizzazione di questo progetto.

Inoltre, gli studenti che non hanno partecipato, hanno espresso il desiderio di affrontare un’altra problematica seguendo lo stesso metodo.

L'APPRENDIMENTO PER PROBLEMI IN III LICEO SCIENTIFICO AL "SARROCCHI" DI SIENA

Maria Risitano

Liceo scientifico tecnologico "T. Sarrocchi", Siena

La classe prescelta per partecipare al progetto dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) è stata la III del liceo scientifico tecnologico per la congruità della tematica proposta con quanto affrontato in quest'anno di corso (la genetica dagli esperimenti di Mendel alle biotecnologie, con le problematiche connesse).

Un primo problema è stato trovare la giusta collocazione del Problem-Based Learning (PBL), dovendo conciliare lo sviluppo del programma e la scadenza costituita dalla presentazione del lavoro al seminario che si è svolto il 9 maggio 2003 presso l'ISS. Alla fine il momento più adatto è sembrato quello in cui, dopo aver concluso la genetica classica, dovevamo inoltrarci nello studio della chimica del gene.

Alla classe, divisa in due gruppi di sette persone è stato proposto il problema PBL (vedi p. 28).

Nel ruolo di facilitatore ho aiutato a superare qualche momento di perplessità circa il da farsi e, sia per il tempo relativo a disposizione, sia per la vastità e complessità dei contenuti del problema, ho scelto di privilegiare l'aspetto metodologico piuttosto che l'acquisizione di molte conoscenze tecniche, spingendo a curare soprattutto l'*iter* di risoluzione del problema stesso.

Pertanto, insieme ai ragazzi, si è cercato di mettere a fuoco i nodi salienti da sciogliere e di individuare i passi da compiere, che sono schematizzati nella Tabella 1.

Successivamente, i ragazzi hanno ricercato il materiale, sul libro di testo, su enciclopedie mediche e su Internet.

Tabella 1 - Scaletta dell'intervento didattico

- Lettura del problema
 - Analisi dei dati in possesso
 - Individuazione dei dati mancanti e formulazione di domande mirate soprattutto a definire gli aspetti rilevanti della malattia (caratteristiche generali, ereditarietà, diagnosi, cure tradizionali e terapia genica, ecc.)
- Acquisizione di informazioni sulla fibrosi cistica, sulla terapia genica, sui test diagnostici
- In rapporto a quanto emerso, ricerca e calcolo di probabilità che il bambino sia affetto
- Acquisizione di informazioni su possibili analisi del DNA per determinare le condizioni di portatore sano della madre
- In base ai risultati, valutazione di una possibile terapia genica o di altro tipo per il bambino

I risultati della ricerca sono stati discussi per scegliere quali materiali potessero essere i più adatti e completi, per fare una selezione dei contenuti da inserire ed elaborare quanto appreso (in quest'ultima fase c'è stata una suddivisione del lavoro per temi fra i componenti del gruppo).

Nello scegliere i materiali è stato cercato quello che in modo più esauriente, ma anche sintetico e diretto rispondeva alle domande poste dal problema, senza inoltrarsi in dettagli complessi e anche difficili.

I risultati dei due gruppi sono stati integrati in un unico di lavoro e i ragazzi sono passati alla realizzazione del CD-Rom, inserendo testi, schemi, immagini per la presentazione presso l'ISS.

Poco prima del seminario, è stato stabilito da loro stessi il criterio per la presentazione ed è stata curata e provata la presentazione stessa.

Le impressioni degli studenti

A completamento del lavoro, sono state espresse, discusse, rappresentate su lucidi dagli studenti alcune valutazioni sugli aspetti positivi e negativi dell'esperienza, che sono state presentate al seminario a conclusione della presentazione della relazione "Un problema delicato... dalle biotecnologie una nuova speranza" e che vengono di seguito schematizzate nella Tabella 2.

Tabella 2 - Le opinioni degli studenti

Lati positivi	Lati negativi e difficoltà
<ul style="list-style-type: none"> • Utilizzo di un nuovo metodo di studio <ul style="list-style-type: none"> Documentazione e ricerca personale Utilizzo del PC e acquisizione di manualità in alcuni programmi Rielaborazione dei dati trovati • Interazione con i compagni <ul style="list-style-type: none"> Condivisione di idee e strumenti Divisione e organizzazione del lavoro Confronto dei propri materiali con gli altri e decisione collettiva sui dati da utilizzare Saper lavorare in gruppo • Pianificazione ed esposizione del progetto <ul style="list-style-type: none"> Estrazione dei dati salienti Schematizzazione • Nascita di un interesse maggiore e visione più concreta degli argomenti studiati • Migliore apprendimento dell'argomento grazie alla ricerca, all'elaborazione e allo studio personale 	<ul style="list-style-type: none"> • Utilizzo di molte ore scolastiche ed extrascolastiche <ul style="list-style-type: none"> Difficoltà nella gestione del lavoro data dalla ricerca collettiva Approccio didattico inizialmente difficile Nuovo metodo di lavoro Nuovi argomenti più specifici nel campo delle biotecnologie

Le impressioni dell'insegnante

Ritengo che poco ci sia da aggiungere a una valutazione così puntuale e sincera, se non per sottolineare gli aspetti di questo metodo che credo più meritevoli di attenzione per la loro ricaduta didattica, quali lo stimolo a lavorare insieme, condi-

videndo idee, strumenti, responsabilità, la motivazione allo studio determinata dalla concretizzazione dei contenuti studiati, che vengono inseriti in un contesto vicino alla realtà degli studenti, nonché la messa in atto di processi di apprendimento più validi e duraturi.

Effettivamente, è sempre in qualche modo sorprendente vedere come, cambiando il contesto in cui si opera, anche studenti non proprio “modello” per attenzione e partecipazione attiva, si diano da fare mettendo a disposizione del gruppo qualche abilità altrimenti nascosta e dimostrando un certo senso di responsabilità.

Queste considerazioni porterebbero alla conclusione di un utilizzo di routine del metodo che però va incontro, a mio avviso, ad alcune difficoltà.

Innanzitutto questa appena raccontata era un’iniziativa sperimentale che prevedeva lo sbocco della presentazione al seminario: se, da una parte, questo ci ha condizionato sotto il profilo del tempo, ha costituito un indubbio stimolo, una meta a cui tendere e quindi ha aiutato a completare il lavoro. Resta da vedere quanto questo sarebbe ripetibile nella prassi ordinaria, senza che vi fosse assuefazione e, con essa una certa tendenza alla dispersione. Inoltre, come rilevato dai ragazzi, per un lavoro fatto bene occorre tempo, organizzazione, lavoro a casa oltre che a scuola (specie davanti a contenuti complessi) e tutto questo trova non pochi ostacoli, considerando lo stile di vita degli studenti di oggi e le richieste di impegno da parte delle altre discipline. Né è da trascurare la difficoltà di “inventare” problemi da proporre che siano adatti, coinvolgenti, ecc.

Penso, in conclusione, che una sperimentazione come questa sia utile e vada continuata: innanzitutto perché, mettendo in comune le competenze e le esperienze di realtà diverse costituisce un’importante occasione di arricchimento per tutti. Poi perché offre agli studenti oltre alla possibilità di un nuovo approccio allo studio, l’opportunità di affacciarsi, da protagonisti, su un mondo diverso da quello frequentato, toccando con mano quanto avviene nel mondo scientifico e ricavandone elementi di riflessione e di orientamento oltre che un’indubbia gratificazione.

Quanto all’applicazione in ambito scolastico, si potrebbe pensare all’individuazione di alcune importanti tematiche (anche pluridisciplinari), come sono state queste sulle biotecnologie, o in passato sulle dipendenze, per introdurre lo studio avvalendosi di questa tecnica, integrandola per gli approfondimenti con la didattica tradizionale.

LO STUDIO DELLE BIOTECNOLOGIE ALL'ISTITUTO DI ISTRUZIONE SECONDARIA "PAOLO BAFFI"

Maria Luisa Tibaldeschi e Manuela Marini

Istituto di Istruzione Secondaria "Paolo Baffi", Fregene (Roma)

L'azione didattica è stata rivolta alle classi seconde della sede centrale del nostro Istituto: Il A Igea, Il B Igea, Il A Erica e il punto di forza del progetto è consistito nel lavorare a classi aperte, formando gruppi operativi provenienti dalle tre scolaresche.

Gli alunni hanno svolto liberamente l'argomento di studio sulla base degli interessi e delle preconoscenze individuali.

La didattica si è svolta per gran parte delle ore destinate al laboratorio multimediale, e alla tecnologia dell'informazione e della comunicazione (TIC) per l'aspetto della comunicazione dei tre problemi.

Dopo l'introduzione sul metodo, ai ragazzi sono stati proposti tre problemi sulle applicazioni mediche delle biotecnologie e ogni gruppo ha scelto il problema sul quale impegnarsi. La traccia di lavoro del progetto è schematizzata in Figura.

Nella Tabella 1 sono riportati i testi dei problemi.

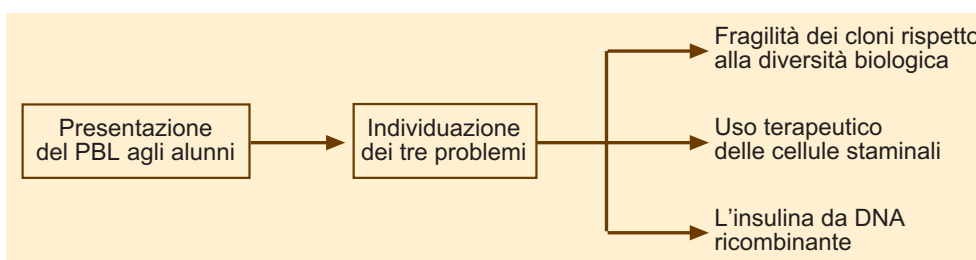


Figura - Traccia del lavoro del progetto

Tabella 1 - Problemi "PBL"

Fragile è il clone - Forte la diversità

Circola sui giornali in questi giorni, la notizia che soprattutto in Asia, e si teme, che il fenomeno potrebbe estendersi all'America Latina, la produzione di banane, uno degli alimenti più importanti per le popolazioni povere, è minacciata da una grave malattia e di conseguenza il frutto potrebbe essere in procinto di sparire dal loro "paniere".

Perché la colpa di questo problema potrebbe essere attribuita ai genetisti?

Perché i genetisti hanno favorito poche varietà di piante sterili come la Cavendish?

Pensi che i biotecnologi abbiano in mano le chiavi scientifiche per risolvere il problema?

segue

continua

La signora rosa

Rosa è una donna di 34 anni, mamma di un bambino di 6 anni, affetto da leucemia mieloide acuta.

I medici dell'Ospedale Cardarelli di Napoli hanno consigliato il trapianto di midollo per salvare il piccolo Daniele dalla morte.

Un midollo compatibile con quello di Daniele non c'è.

Rosa e il marito decidono di avere un secondo figlio, perché hanno sentito parlare della tecnica di utilizzazione delle cellule staminali, prelevate dal cordone ombelicale per una possibile terapia.

Ritieni giusta la decisione di Rosa e del marito?

Come le cellule staminali possono sostituire il trapianto?

Insulina a basso costo

Sono il dott. Santonicola, un responsabile del settore sanitario nazionale di un paese X. Nel mio paese c'è un'incidenza elevata di patologie diabetiche.

Molti malati sono insulino-dipendenti.

Sono stato contattato da una multinazionale farmaceutica che mi offre una biotecnologia sperimentata ed economica per aumentare il tenore di vita di un diabetico insulino-dipendente.

Ora posso decidere cosa fare, ma ho bisogno di capire.

Mi pongo alcune domande:

Perché mi propongono una terapia diabetica a un costo così basso?

Non sarà mica pericolosa?

Ci saranno requisiti di qualità sufficienti?

Metodologia di lavoro

I ragazzi hanno cercato su Internet le informazioni che hanno successivamente selezionato e utilizzato per rispondere ai quesiti posti dal problema scelto.

È seguito un nuovo dibattito all'interno di ogni gruppo, dove noi, docenti facilitatori, abbiamo avuto l'opportunità di verificare il grado di familiarità, creatività e competenza nei confronti delle problematiche.

Questo metodo di lavoro è risultato fondamentale per creare delle sinergie tra gli alunni, che hanno poi dato origine a strategie didattiche concretizzate nel prodotto grafico multimediale.

Nella Tabella 2 abbiamo riassunto gli aspetti positivi e negativi, i limiti del metodo e le difficoltà della nostra esperienza.

Tabella 2 - Aspetti positivi e difficoltà incontrate nella nostra esperienza

Aspetti positivi	Limiti
<ul style="list-style-type: none">• Sinergia operativa• Apprendimento coinvolgente e divertente• Accesso multimediale alle fonti delle informazioni e all'organizzazione del lavoro• Realizzazione di un lavoro personale e creativo	<ul style="list-style-type: none">• Difficoltà organizzativa, soprattutto nel momento della soluzione delle informazioni in aula multimediale• Tempi di lavoro ristretti• Non sufficiente la collaborazione e lo stile di lavoro tra i docenti• Validità del PBL per la sollecitazione all'apertura di un dibattito ma non sempre per la soluzione dei problemi

Si è sentita la necessità di maggiori contatti con esperti delle tematiche trattate per porre certezze alle domande che sorgono spontaneamente o attraverso lo studio agli alunni.

GLI STUDENTI DELLE SCUOLE SUPERIORI E LE BIOTECNOLOGIE

Maria Cristina Barbaro e Anna Bertini

Segreteria per le Attività Culturali, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Nell'ambito del progetto "Aspetti scientifici ed etici delle biotecnologie in medicina: un'analisi interattiva tra scuola e istituti di ricerca. Una collaborazione tra studenti, insegnanti e ricercatori per la produzione di unità documentarie e didattiche sulle applicazioni delle biotecnologie in medicina" è stato realizzato un questionario (Appendice) allo scopo di acquisire delle informazioni circa le opinioni e le conoscenze che studenti di età compresa tra i 15 e i 19 anni hanno in merito alle biotecnologie.

Per i contenuti ci si è ispirati alla indagine svolta nel novembre 1999 a livello europeo dall'*International Research Group on Biotechnology and the Public* in merito alle idee che i cittadini del continente hanno sulle biotecnologie e delle relative applicazioni di queste nei campi dell'ambiente, della medicina e dell'alimentazione¹.

Strumento di indagine

La somministrazione del "Questionario sulle biotecnologie" nelle scuole è iniziata nel marzo 2002.

Il canale scelto per la divulgazione è stato quello di consegnare il questionario ai docenti di scienze che hanno partecipato ai corsi organizzati all'Istituto Superiore di Sanità (ISS) nell'ambito del progetto sulle biotecnologie.

Le scuole che hanno partecipato rispondendo a questa iniziativa sono state le seguenti: Liceo ginnasio statale "Augusto" di Roma, Istituto di istruzione superiore "Paolo Baffi" di Fregene, Istituto professionale di stato per l'industria e l'artigianato "Duca d'Aosta" di Roma, Istituto professionale di stato per l'industria e l'artigianato "Europa" di Roma, Liceo scientifico "Marconi" di Colleferro, Liceo scientifico "Peano" di Monterotondo, Istituto tecnico per le attività sociali "Pertini" e "Manzù" di Campobasso, Liceo classico maxisperimentale "Ruggero Settimo" di Caltanissetta, Istituto di istruzione superiore "Salvemini-Lagrange" di Roma, Istituto professionale di stato per l'industria edile "Sisto V" di Roma, Liceo ginnasio "Virgilio" di Roma.

Risultati

I questionari consegnati ai professori sono stati 476. In seguito alla diffusione, ne sono pervenuti all'ISS 421, dei quali 29 non validi (consegnati non compilati, compilati solo parzialmente, compilati a caso). Il tasso di rispondenza è stato dell'82%.

¹*Biotechnology and the European Public*, Nature Biotechnology, Vol. 18 - Settembre 2000, pp935-938

I questionari ritenuti validi possono essere quindi così ripartiti: il 44% proviene da istituti tecnici/professionali, il 18% da licei scientifici e il 38% da licei classici (Figura 1).

Il questionario è composto da dieci domande di rapida compilazione, espresse in un linguaggio chiaro e accessibile al target. Alcune sono domande chiuse su scala ordinale, altre a risposta multipla danno la possibilità di scelta tra più risposte. Le ultime due domande sono miste (chiuse e aperte) e comprendono uno spazio per riferire e motivare liberamente l'opinione espressa.

Globalmente gli studenti che hanno partecipato all'iniziativa ritengono di avere un grado di informazione medio-basso sul tema delle biotecnologie (Appendice - Domanda 1).

Una lieve differenza affiora per quanto riguarda i ragazzi del liceo scientifico tra i quali, nonostante la maggioranza consideri il proprio grado di informazione sulle biotecnologie medio-basso, c'è un 20% che ritiene di avere una conoscenza abbastanza approfondita in merito, contro il 12% dei ragazzi degli istituti tecnici /professionali e il 6% degli studenti del liceo classico.

Le principali fonti di informazione sono rappresentate dagli insegnanti e dai libri di testo, dai mass media e dalle riviste scientifiche. Per i ragazzi del liceo classico la famiglia svolge una funzione molto importante. Internet e gli amici sono considerati fonti apprezzabili rispettivamente dal 7% e dal 6% dei ragazzi (Figura 2).

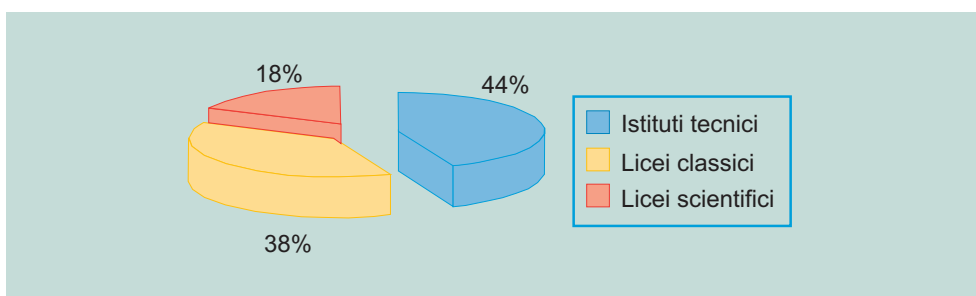


Figura 1 - Provenienza dei questionari per tipologia di istituto scolastico

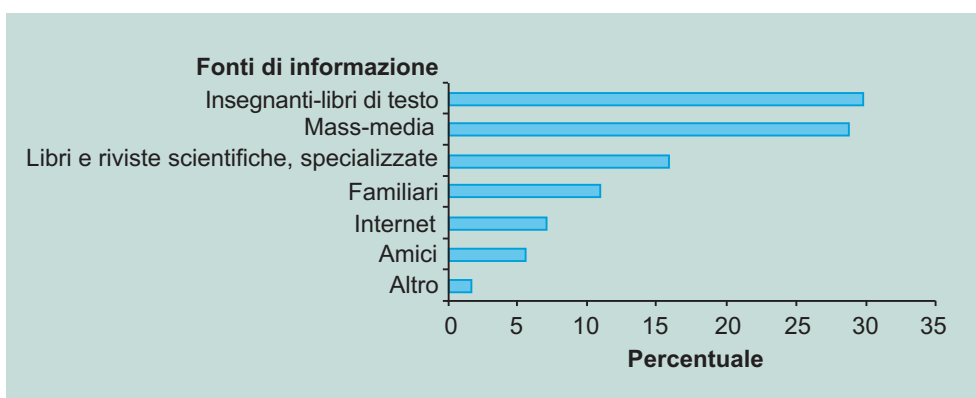


Figura 2 - Domanda 2, a risposta multipla: "Indica le principali fonti della tua informazione" (Appendice)

Dall'analisi delle risposte alla domanda 3 sulle biotecnologie e la qualità della vita (Appendice - Domanda 3), solo una minima percentuale assume una posizione assolutamente decisa scegliendo sulla scala ordinale le risposte 1 e 5 (1= nessun miglioramento; 5 = miglioramento rilevante e decisivo). Il 45% dei ragazzi si colloca in una posizione intermedia. Il dato potrebbe derivare da un'obiettivo difficoltà a esprimere previsioni sugli esiti della ricerca biotecnologica considerata in astratto nel suo complesso, difficoltà resa ancor più grande da una mancanza di conoscenze (Figura 3).

Passando invece agli specifici ambiti applicativi, la tendenza generale è quella di considerare positive queste nuove tecnologie se applicate nel campo della medicina. Interessante è il supporto che viene dato alle biotecnologie quando gli organismi animali e vegetali, o i microrganismi, sono geneticamente modificati per scopi medici (vaccini o farmaci). Al contrario affiora un'opposizione massiccia quando si parla di alimenti transgenici e di clonazione animale. Quindi, tra le applicazioni delle biotecnologie i test per la diagnosi delle malattie genetiche viene considerata la più utile ed eticamente accettabile, seguita dalle terapie geniche, dalla produzione di molecole (farmaci e vaccini) da parte di organismi animali e vegetali geneticamente modificati, dalla produzione di molecole (farmaci) da parte di microrganismi geneticamente modificati (Appendice - Domanda 4). Dall'analisi delle risposte alla domanda 5 ("Se ritieni che tra le applicazioni elencate al punto 4 ve ne siano di potenzialmente nocive per la salute dell'uomo, indica quali") si osserva che gli alimenti transgenici e la clonazione animale sono considerati nocivi per la salute dell'uomo rispettivamente per il 42% e il 31% degli studenti (Appendice - Domanda 5).

La domanda 6 del questionario (Figura 4) riguarda l'opinione sulla clonazione animale: il 57% dei ragazzi la considera una pratica innaturale, il 18% pensa che possa comportare rischi non accettabili, mentre, al contrario, c'è un 14% che ritiene possa prefigurare sviluppi positivi.

La clonazione animale e gli alimenti transgenici sono argomenti molto dibattuti fuori dal contesto scolastico. In particolare il cibo e l'alimentazione rappresentano una realtà fondamentale della vita, comune a tutti. Non stupisce perciò il fatto che i giovani che hanno partecipato all'iniziativa abbiano delle idee abbastanza decise in merito. I cibi geneticamente modificati sono guardati con

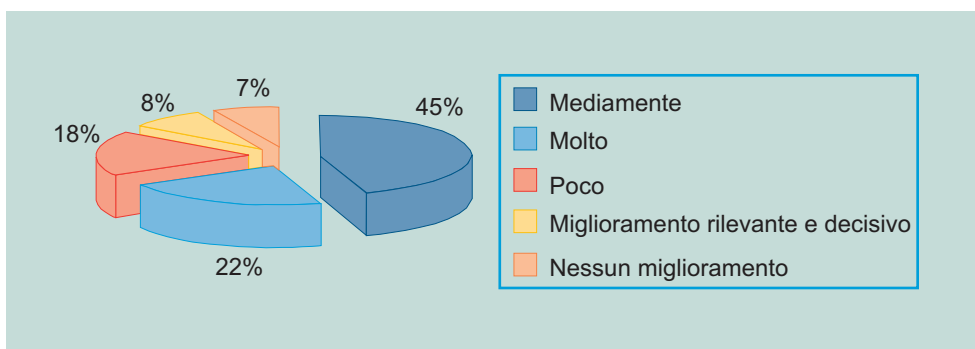


Figura 3 - Domanda 3: "Quanto ritieni che le biotecnologie miglioreranno la qualità della vita nei prossimi venti anni?" (Appendice)

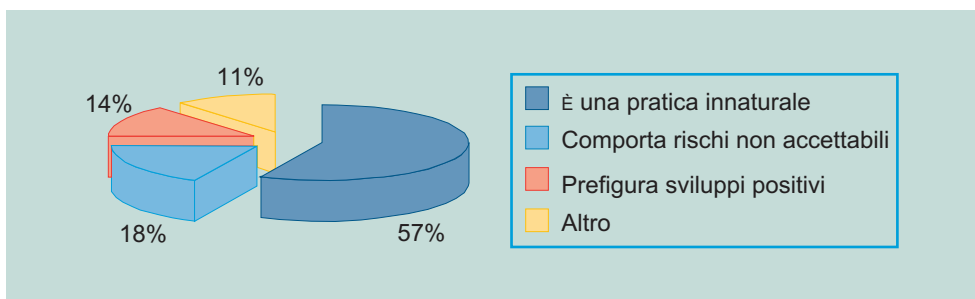


Figura 4 - Domanda 6: “Esprimi la tua opinione sulla clonazione animale” (Appendice)

sospetto e timore, sia per quanto riguarda la salute dell'uomo, sia per i risvolti nocivi che queste alterazioni potrebbero apportare all'ambiente. La diffidenza espressa potrebbe derivare anche da una carenza di informazioni precise su questo argomento. Il 69% dei ragazzi non mangerebbe alimenti transgenici e il 33% crede che un frutto geneticamente modificato potrebbe determinare, mangiandolo, alterazioni ai geni (Figura 5 e Figura 6).

Per quanto riguarda le ultime due domande (“Ritieni che alimenti geneticamente modificati possano essere vantaggiosamente utilizzati come foraggio per animali?” e “Ritieni che la diffusione di alimenti geneticamente modificati potrebbe determinare l'alterazione di equilibri naturali?”) i ragazzi nel 76% dei casi non ritengono

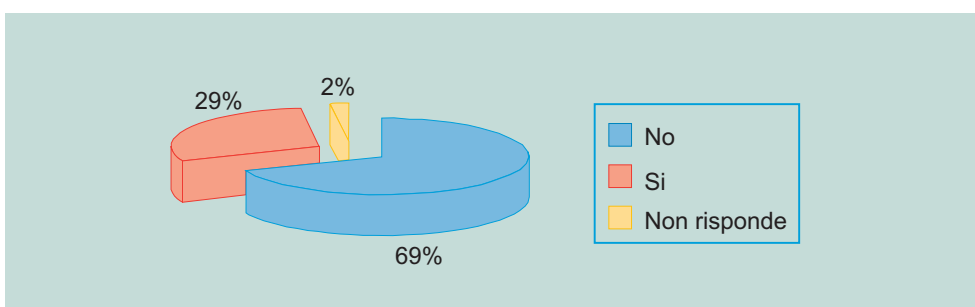


Figura 5 - Domanda 7: “Mangeresti alimenti geneticamente modificati?” (Appendice)

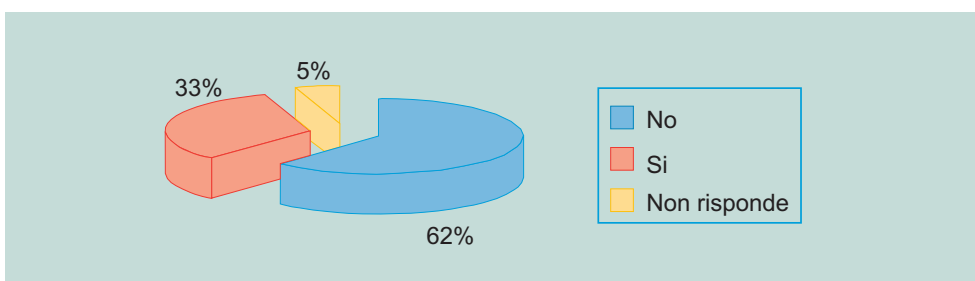


Figura 6 - Domanda 8: “Ritieni che un frutto geneticamente modificato potrebbe determinare, se tu lo mangiassi, l'alterazione di un qualche tuo gene?” (Appendice)

che sia vantaggioso utilizzare alimenti transgenici come foraggio animale e nell'85% dei casi affermano che la diffusione di alimenti geneticamente modificati potrebbe alterare gli equilibri naturali.

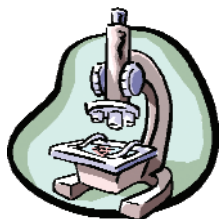
Alle domande aperte connesse, le opinioni raccolte riguardano tutte il rischio di nocività per la salute degli animali e quindi di riflesso per l'uomo, e il pericolo di un'eventuale ripercussione sull'ambiente naturale.

Conclusioni

In conclusione, è risultato evidente che non esistono differenze rilevanti di percezione o consapevolezza sulle biotecnologie in relazione alla provenienza scolastica, ed è anzi spiccata nel complesso una certa uniformità di visione, comprensione e conoscenza (almeno precedentemente all'intervento dei professori in classe).

I ragazzi generalmente hanno mostrato interesse per l'oggetto dell'indagine. Dai risultati dell'analisi del questionario si comprende come l'argomento, probabilmente perché non trattato ancora in tutte le classi nel periodo della somministrazione del questionario, presenta per i giovani alcuni lati oscuri e poco comprensibili, incertezze espresse liberamente grazie alle ultime due domande aperte e osservabili generalmente attraverso le 4 domande finali (7, 8, 9, 10) dove, non essendo prevista la risposta "altro", si sono registrate il maggior numero di mancate risposte.

In ogni caso i ragazzi hanno partecipato con entusiasmo all'iniziativa rispondendo alle domande anche in maniera decisa, in particolare su temi scottanti come gli alimenti transgenici e la clonazione animale, oggetto questi di ripetuti dibattiti fuori dal contesto scolastico e trattati in maniera massiccia dai mass-media.



APPENDICE

Questionario somministrato per valutare le opinioni in merito alle biotecnologie degli studenti che hanno aderito al progetto

- 1) Valuta il grado della tua informazione sulle biotecnologie in una scala da 1 a 5 (1 corrisponde a nessuna informazione, 5 a una informazione approfondita)

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

- 2) Indica le principali fonti della tua informazione:

- Familiari (a casa)
 - Insegnanti e libri di testo (a scuola)
 - Amici
 - Mass-media (TV, radio, giornali, ecc.)
 - Internet
 - Libri e riviste scientifiche, specializzate
 - Altro (*specificare*)
-
-

- 3) Quanto ritieni che le biotecnologie miglioreranno la qualità della vita nei prossimi venti anni? Valutalo in una scala da 1 a 5 (1 corrisponde a nessun miglioramento, 5 a un miglioramento rilevante e decisivo)

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

- 4) Quale tra le seguenti applicazioni delle biotecnologie ritieni sia utile ed eticamente accettabile? (Puoi indicarne una o più di una)

- Alimenti transgenici
- Clonazione animale
- Produzione di molecole (farmaci) da parte di microrganismi geneticamente modificati
- Produzione di molecole (farmaci e vaccini) da parte di organismi animali e vegetali geneticamente modificati
- Terapie geniche
- Test per la diagnosi di malattie genetiche

- 5) Se ritieni che tra le applicazioni elencate al punto 4 ve ne siano di potenzialmente nocive per la salute dell'uomo, indica quali:

- 6) Esprimi la tua opinione sulla clonazione animale:

- Comporta rischi non accettabili
 Prefigura sviluppi positivi
 È una pratica innaturale
 Altro (*specificare*)

- 7) Mangeresti alimenti geneticamente modificati?

sì no

- 8) Ritieni che un frutto geneticamente modificato potrebbe determinare, se tu lo mangiassi, l'alterazione di un qualche tuo gene?

sì no

- 9) Ritieni che alimenti geneticamente modificati possano essere vantaggiosamente utilizzati come foraggio per gli animali?

sì no

Spiega perché:

- 10) Ritieni che la diffusione di alimenti geneticamente modificati potrebbe determinare l'alterazione di equilibri naturali?

sì no

Spiega perché:



Istituto Superiore di Sanità

Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma

Presidente: Enrico Garaci

Tel. +39-06 49901

Fax +39-06 49 387 118

Telex 610071 ISTSAN I

Telegr. ISTISAN - 00161 Roma

www.iss.it

Finito di stampare nel mese di dicembre 2003
dal Centro Stampa De Vittoria srl
Via degli Aurunci, 19 Roma