

SPERIMENTAZIONE SOSTITUTIVA

di Roberta Bartocci

Cenni storici

L'origine del dibattito sui metodi alternativi alla sperimentazione animale risale al 1959, momento in cui lo zoologo William Russell e ed il microbiologo Rex Burch teorizzarono un impiego più "umano" degli animali utilizzati nei laboratori. Le conclusioni del loro studio, presentato in occasione del meeting della American Association of Laboratory Animal Science a Washington D.C., sono riassunti nel principio delle **3 R** (Replacement, Reducement, Refinement). In virtù di questo principio, le normative internazionali e nazionali in materia di sperimentazione animale ed in genere il mondo scientifico, intendono per metodo alternativo non solo il metodo che, di fatto, sostituisce l'impiego di animali tout court (replacement), ma anche tutte quelle procedure, che pur utilizzando animali, ricorrono a tecniche meno invasive (refinement) o semplicemente riducono il numero di animali normalmente impiegati (reducement). Qui di seguito, si prenderà in considerazione il termine alternativo solo nel senso di replacement, quindi sostituzione degli animali e verrà considerato sinonimo di "sostitutivo", termine in effetti più appropriato. E' possibile suddividere i metodi alternativi in due grandi categorie: metodi non biologici e metodi biologici. Del primo gruppo fanno parte la ricerca *in silico*, i metodi chimici, tutte le indagini di tipo statistico, come l'epidemiologia e la metanalisi; sono invece metodi biologici, quelli che impiegano microrganismi, cellule, tessuti o organi.

Perché i metodi alternativi, a differenza degli esperimenti su animali, sono metodi scientifici. Si considerino due fondamentali presupposti: la **definizione di modello sperimentale** e **l'interpretazione dei dati sperimentali**. Per modello sperimentale si intende la riproduzione del fenomeno oggetto dello studio dalla quale sono state eliminate delle variabili, in modo da renderlo più semplicemente analizzabile; nessun animale, di qualsiasi specie esso sia, può considerarsi un "uomo semplificato", quindi anche una coltura cellulare di topo o ratto non può che dare indicazioni sulla specie e solo su quella da cui proviene. Ne consegue anche che una coltura cellulare di cellule umane, volendo indagare una patologia o un qualsiasi meccanismo umano, è viceversa un metodo scientifico di fare ricerca, rispondendo alla definizione data di modello sperimentale. In secondo luogo, essendo quella tra animale ed uomo un'analogia, nessuna ipotesi di lavoro può essere dimostrata o confutata semplicemente sulla base di essa, da qui l'impossibilità oggettiva di trasferire i dati ottenuti dall'animale non umano a quello umano.

Metodi non biologici. Le **indagini epidemiologiche** sono studi finalizzati ad individuare la relazione tra una patologia e la sua causa individuando così il possibile fattore scatenante (un classico esempio è l'elevata incidenza di cancro al polmone in popolazioni di fumatori rispetto ad una di non fumatori). Purtroppo questo potente strumento di ricerca non viene adeguatamente considerato, infatti esiste la pessima abitudine da parte di molti ricercatori di voler trasferire in laboratorio, ovvero sugli animali, ciò che è già stato osservato sull'uomo. Si pretende non solo di riprodurre la patologia oggetto dello studio in un animale, metodo già di per sé artificioso e non scientifico, ma anche di estrapolare i risultati ottenuti sull'animale all'uomo. Le ragioni di questo modo di agire da parte dei ricercatori sono soprattutto di ordine pratico, dal momento che gli animali non umani sono facilmente maneggevoli e controllabili rispetto agli umani, nella maggior parte dei casi hanno un ciclo vitale notevolmente più breve, quindi questo rapido "turnover" di soggetti sperimentali consente anche di produrre più velocemente pubblicazioni, ovvero di fare carriera, cosa che lo studio su esseri umani non permette in maniera altrettanto rapida. Altre indagini di tipo statistico mirano a prendere in esame le pubblicazioni già esistenti su un dato argomento di interesse medico—

biologico, al fine di evitare la ripetizione di esperimenti o comunque per ottimizzare il numero di animali utilizzati; in questi casi, pur trattandosi di metodi che non fanno uso di animali, non si tratta di sostituzione vera e propria; un esempio è la **metanalisi. Metodologia QSAR (Relazione Quantitativa fra Struttura e Attività)**: si tratta di programmi impiegati per studiare la relazione tra sostanze chimiche (farmaci, pesticidi, additivi alimentari...etc) e cellule dell'organismo per verificare il loro possibile effetto sull'organismo umano. Il loro funzionamento si basa sulla conoscenza dei recettori presenti sulla superficie cellulare e sulla struttura chimica della sostanza da testare; inserendo questo tipo di nozioni nel programma è possibile prevedere l'effetto del chemical anziché iniettarlo in conigli, topi, ratti, cani e scimmie, provocando sofferenze tanto invalidanti (se non letali) quanto inutili. Altri metodi non biologici sono l'uso di **software** e **simulatori** per la didattica: programmi di anatomia, fisiologia, biochimica, farmacologia per studenti e simulatori per l'esercitazione dei chirurghi. Uno dei vantaggi di questi supporti è che l'operatore può ripetere l'operazione tutte le volte che questo si renda necessario, inoltre è stata dimostrata la maggiore efficacia didattica di queste tecniche rispetto alle prove su animali, oltre che un vantaggio economico e minore impatto ambientale (per approfondire l'argomento si rimanda alla seconda edizione di "From Guinea Pig to Computer Mouse" edito da interniche, www.interniche.org). Tra i **metodi chimici** vi sono quelli che testano sostanze chimiche su modelli artificiali di pelle umana, come Episkin, Epiderm, Corrositex, impiegati per valutare fenomeni come la corrosività e la fototossicità (per ulteriori informazioni: www.ecvam-sis.jrc.it e www.iss.it, www.frame.org.uk).

Metodi biologici. Sono i cosiddetti metodi *in vitro*, ovvero tecniche che prevedono la coltivazione di cellule, tessuti e organi costituenti materiale biologico di scarto proveniente da interventi chirurgici, biopsie, cadavere. Per ragioni sia etiche che scientifiche è opportuno che il materiale di provenienza sia specie – specifico rispetto al soggetto interesse dello studio, quindi tessuti e cellule umane se l’oggetto destinatario dello studio è l’uomo, tessuti o cellule animali se il soggetto non è un animale umano, da reperire però con gli stessi criteri di eticità garantiti per l’uomo, quindi, nel caso specifico, ambulatori e cliniche veterinarie o laboratori di analisi previo il consenso dell’affidatario dell’animale. Questi metodi trovano diverse applicazioni sia nella ricerca di base che applicata, quindi rispettivamente, sia per lo studio di meccanismi biologici e patologie, sia per testare gli effetti di una sostanza sull’organismo, visto che prima di poter immettere una sostanza sul mercato deve essere presentato un dossier tossicologico alle Autorità sanitarie. Il Decreto Legislativo 116/92, che recepisce la Direttiva Europea 86/609 in materia di sperimentazione animale, prevede che l’impiego di animali debba essere evitato quando vi siano a disposizione metodi alternativi e che lo sviluppo e la diffusione di questi venga incentivata. Sulla base di questo principio è nato l’ECVAM, il Centro Europeo per la Validazione dei Metodi Alternativi, che si occupa di valutare la scientificità di un metodo al fine di poterlo inserire nella normativa comunitaria come metodo utilizzabile ufficialmente (www.ecvam-sis.jrc.it). Attualmente sono stati validati quattro metodi *in vitro*: tre per lo studio del potenziale di corrosione cutanea e uno per la fototossicità (solo uno però è sostitutivo del tutto!). Altri nuovi metodi (test per la sensibilizzazione cutanea, per l’assorbimento cutaneo, tre saggi per l’embriotossicità, e un saggio di corrosione cutanea in aggiunta a quello già esistente) sono stati approvati da ECVAM, ma non ancora inseriti nell’allegato V della direttiva europea 67/548/EC in materia di sostanze e preparati pericolosi. Infatti l’ECVAM si occupa di certificare la validità scientifica del metodo, dopodiché essi devono essere ufficializzati attraverso la pubblicazione in Gazzetta Ufficiale, Europea prima e Nazionale in un secondo momento.

Stato dell’arte. Attualmente in Italia l’impiego dei metodi alternativi è stato decisamente blando soprattutto a causa della mancata incentivazione nella ricerca e sviluppo da parte delle Autorità insieme al diffuso disinteresse da parte degli utilizzatori di animali, che in questo senso hanno dimostrato e dimostrano un preoccupante atteggiamento di inerzia culturale. Da pochi mesi tuttavia, è stata costituita IPAM, la Piattaforma Italiana per i Metodi Alternativi (vedi Impronte dicembre 2003), organo che sta muovendo finalmente i primi passi nella giusta direzione per una ricerca etica e di alto valore scientifico.