



SOSTITUIRE LA SPERIMENTAZIONE ANIMALE: COME E QUANDO?

Thomas Hartung^{1,2*}

¹Centro per le Alternative ai Test sugli animali (CAAT), Università Johns Hopkins, Baltimora, MD, Stati Uniti

²Centro per le Alternative ai Test sugli animali in Europa (CAAT-Europa), Università di Konstanz, Konstanz, Germania

GIOVANI REVISORI:

INTER-
NATIONAL
SCHOOL
OF
LAUSANNE



ETÀ: 11–12

Uno dei dibattiti principali nella nostra società è se far soffrire o meno gli animali per il progresso scientifico e lo sviluppo dei prodotti. Qui di seguito illustriamo quattro esempi di esperimenti sugli animali introdotti in passato per tutelare i pazienti e i consumatori e discutiamo le opportunità e le difficoltà che comporta rimpiazzare tali esperimenti sugli animali. In passato non avevamo molte alternative a disposizione, ma le nostre conoscenze e opzioni sono esponenzialmente aumentate nel corso del secolo trascorso. Le tecniche di laboratorio odierne, tra cui la coltura cellulare, le tecnologie delle cellule staminali umane e la bioingegneria, consentono agli scienziati di riprodurre in laboratorio minuscoli organi funzionanti e di comprendere come funzionano il corpo quando è in salute o malato. Siamo infatti in grado di ricreare la struttura e le funzionalità degli organi con le cellule sane e addirittura combinare i diversi organi con modelli umani su chip. Comprendere meglio come il corpo funzioni quando è sano o malato, consentirà agli scienziati di superare l'uso di animali in molti casi,

il che migliorerà sia l'accuratezza degli esperimenti scientifici, sia il benessere degli animali.

LA SPERIMENTAZIONE ANIMALE È CONTROVERSA

Si discute animatamente se dovremmo permettere che gli animali da laboratorio soffrano per finalità scientifiche e lo sviluppo di prodotti quali cosmetici, farmaci e pesticidi: circa la metà degli americani e il 60% degli europei si oppongono alla sperimentazione animale, ma le persone hanno opinioni diverse su ciò che dovrebbe e non dovrebbe essere permesso. Oltre 60 anni fa, i due scienziati Bill Russel e Rex Burch hanno ideato il principio delle 3 R (ridurre, rimpiazzare, rifinire) è il modello al quale gli scienziati devono fare riferimento quando progettano ed eseguono uno studio animale. Anziché vietare o consentire completamente la ricerca sugli animali, hanno invitato la scienza a fare il possibile per **rimpiazzare** la sperimentazione animale. Laddove ciò *non* sia possibile, gli scienziati sono incoraggiati a **ridurre** il numero di animali usati e **refinire** gli esperimenti per ridurre al minimo la sofferenza degli animali. Russel e Burch hanno affermato che «Rifinire non è mai abbastanza, dovremmo sempre mirare a ridurre e, se possibile, rimpiazzare».

Quando Russel e Burch idearono il principio delle 3 R, non esistevano molte alternative alla sperimentazione animale; ma le conoscenze delle scienze biologiche raddoppiano ogni sette anni, quindi ora sappiamo oltre 1000 volte più di allora! Gli scienziati conoscono molto meglio la coltura cellulare in laboratorio e, servendoci delle tecnologie di **cellule staminali** umane e della **bioingegneria** ora possiamo riprodurre in laboratorio la struttura e la funzione di alcuni organi e addirittura combinare più organi creati in laboratorio per realizzare un apparato «umano». Comprendere come funzioni il corpo sano e quello malato, a livello cellulare e molecolare, consente agli scienziati di concentrarsi sui meccanismi che regolano il corpo umano. Tali conoscenze aiuteranno i ricercatori ad ideare esperimenti che siano più accurati di quelli svolti sugli animali: talvolta gli animali reagiscono come gli umani ai farmaci o alle sostanze chimiche, ma non sempre.

CELLULE STAMINALI

L'ovulo fecondato e le prime cellule in via di sviluppo possono generare molti tipi diversi di cellule. Nel 2006 è stata scoperta la riprogrammazione delle cellule adulte in cellule staminali, consentendo di creare la maggior parte dei tessuti umani.

BIOINGEGNERIA

Il ramo dell'ingegneria che usa biologia, fisica, matematica e ingegneria per risolvere i problemi biologici e medici.

STORIA: SPERIMENTAZIONE ANIMALE PER RISOLVERE I PROBLEMI DELLA RICERCA

Questo paragrafo descriverà quattro dei diversi problemi di sicurezza medica del passato, allora risolti con la sperimentazione animale. Questi casi storici hanno plasmato il modo in cui abbiamo garantito fino ad oggi la sicurezza dei farmaci e dei prodotti destinati ai consumatori e possono aiutarci a comprendere i progressi compiuti con le nuove tecnologie.

PIROGENI

Un gruppo di sostanze microbiche solo parzialmente note che vengono riconosciute dal sistema immunitario umano, provocando febbre e infiammazione. Tale riconoscimento di contaminazione microbica è utilizzato nei test di attivazione dei monociti.

STERILIZZAZIONE

Un metodo che uccide i microbi mediante calore secco o vapore, radiazioni o sostanze chimiche.

Pirogeni

Il termine **pirogeno** deriva da un termine greco che indica qualcosa che genera fuoco. Oggi lo utilizziamo per riferirci a qualcosa che provoca febbre. Circa 150 anni fa, gli scienziati hanno iniziato a sintetizzare i farmaci, tra cui alcuni da iniettare nel corpo. Nel loro caso, i medici hanno spesso osservato nei pazienti la comparsa di febbre successivamente all'iniezione del farmaco, spesso addirittura reazioni potenzialmente letali. Hanno denominato pirogeni le sostanze sconosciute che provocavano la febbre. Nel 1912 venne inventato il test dei pirogeni sui conigli: nei conigli venne iniettata dieci volte la quantità di farmaco da utilizzare negli umani. Se il coniglio non sviluppava febbre, il farmaco era considerato sicuro per l'utilizzo umano. Oggi sappiamo che tali pirogeni sono dovuti alla contaminazione batterica durante la produzione del farmaco, nemmeno sterminare i microbi con la **sterilizzazione** li elimina. Quando il sistema immunitario del paziente riconosce i pirogeni batterici reagisce con la febbre.

Irritazione oculare

Gli occhi sono particolarmente sensibili alle sostanze chimiche. Novant'anni fa, negli Stati Uniti, un cosmetico utilizzato per tingere le ciglia (nome commerciale Lash Lure) ha provocato oltre 3.000 casi di irritazione oculare, cinque casi di cecità e una morte. È stato quindi sviluppato il test oculare sui conigli per evitare che ciò accadesse di nuovo. Una goccia di sostanza chimica viene applicata direttamente nell'occhio del coniglio e l'animale viene tenuto sotto osservazione per alcuni giorni.

Tossicità impreviste

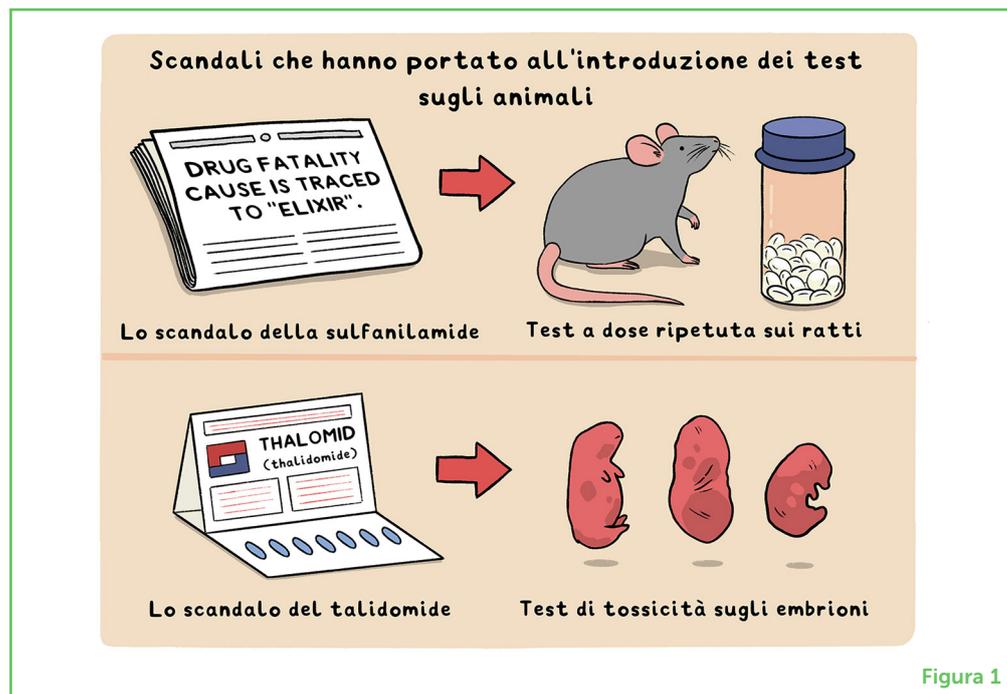
Nel 1936, oltre 100 bambini americani sono morti a causa di uno sciroppo per la tosse. L'antibiotico contenuto nello sciroppo era stato utilizzato per anni senza alcun problema, ma una sostanza chiamata glicole, utilizzata per disciogliere l'antibiotico, era tossica (**Figura 1**). Ciò ha dato il via al cosiddetto test a dose ripetuta, ovvero il farmaco viene somministrato per 28 o addirittura 90 giorni per via orale, per inalazione o sulla cute, generalmente a ratti e cani. Come e quanto a lungo la sostanza venga applicata dipende dall'uso del farmaco o, oggi giorno, anche delle sostanze chimiche. Successivamente gli animali vengono soppressi e gli organi vengono analizzati per studiare i possibili effetti.

Test di embriotossicità

Alla fine degli anni 50, un'azienda farmaceutica tedesca ha iniziato a distribuire un farmaco chiamato talidomide, che divenne molto popolare per contrastare le «nausee mattutine»: le nausee frequenti da cui sono affette le donne in gravidanza. Circa 2.000 feti morirono a causa del farmaco e oltre 10.000 bambini nacquero con malformazioni agli arti (**Figura 1**). Venne quindi introdotto un

Figura 1

Gli scandali che hanno portato all'introduzione della sperimentazione animale.



approfondito test di tossicità sugli embrioni, il cosiddetto **test di embriotossicità**, utilizzando 3.200 ratti e 2.100 conigli (Figura 1).

TEST PIROGENO SUI GRANCHI A FERRO DI CAVALLO

Test pirogeno basato sul sangue di questa specie di granchi (limulide) che coagula in risposta ad un importante gruppo di pirogeni.

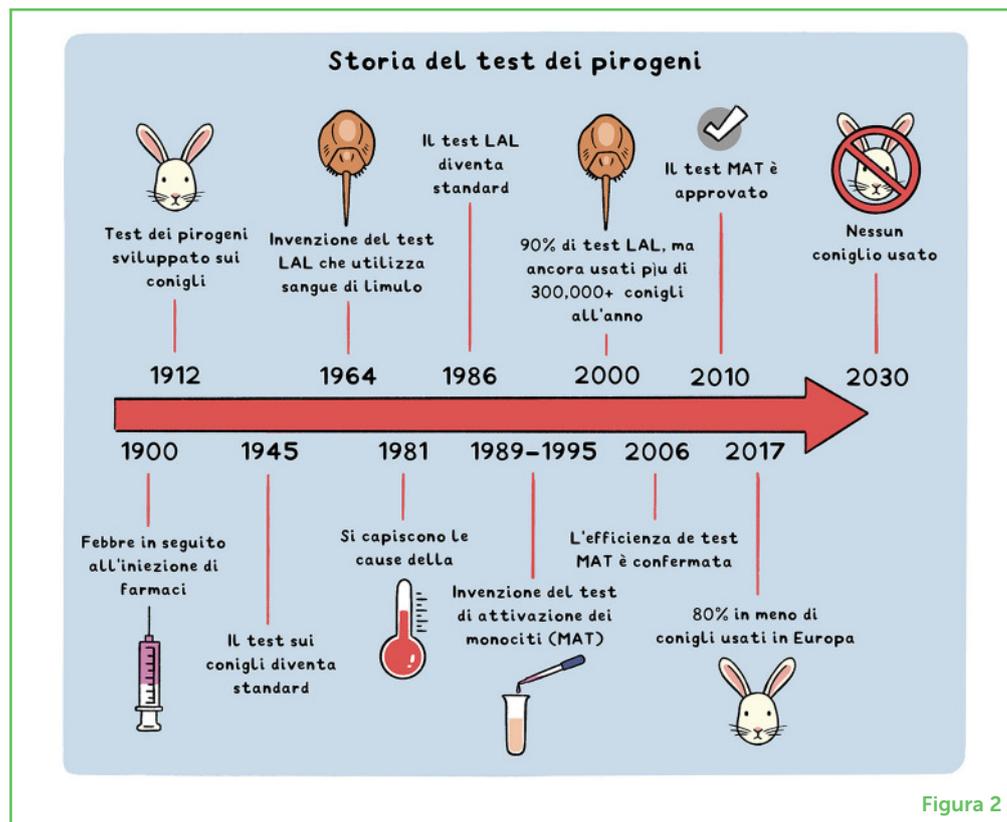
In tutti questi casi, la soluzione scientifica era utilizzare un animale di piccola taglia per accertarsi che i farmaci e altre sostanze chimiche fossero sicuri per l'utilizzo umano. Ma l'impiego di animali per riprodurre ciò che potrebbe accadere nelle persone è tutt'altro che perfetto: topi e ratti riescono a prevedere le reazioni reciproche ai farmaci con un'attendibilità spesso non superiore al 60% e talvolta, determinate specie di ratti, reagiscono in modo completamente diverso dalle altre in tali esperimenti.

RIMPIAZZARE LA SPERIMENTAZIONE ANIMALE: UN ESEMPIO PIROGENO

Gli scienziati scoprirono per la prima volta negli anni 50 che la contaminazione batterica dei farmaci provocava la febbre (Figura 2). Negli anni 60 si scoprì che le stesse sostanze batteriche avevano un effetto coagulante sul sangue dei granchi a ferro di cavallo. Ciò incoraggiò lo sviluppo di un nuovo esperimento basato sul campionamento del sangue di granchi a ferro di cavallo, che rimpiazzò il 90% dei test sui conigli, a partire dagli anni 80. Quindi, nel 1995 venne sviluppato un altro esperimento basato sull'evoluzione delle conoscenze del sistema immunitario umano: in particolare, globuli bianchi chiamati **monociti** che trasmettono i segnali chimici che inducono la febbre. Tali esperimenti vengono ora chiamati test di attivazione dei monociti e si tratta di esperimenti di laboratorio che misurano quanto una sostanza sia contaminata da pirogeni, in

Figura 2

Storia dei test pirogeni.



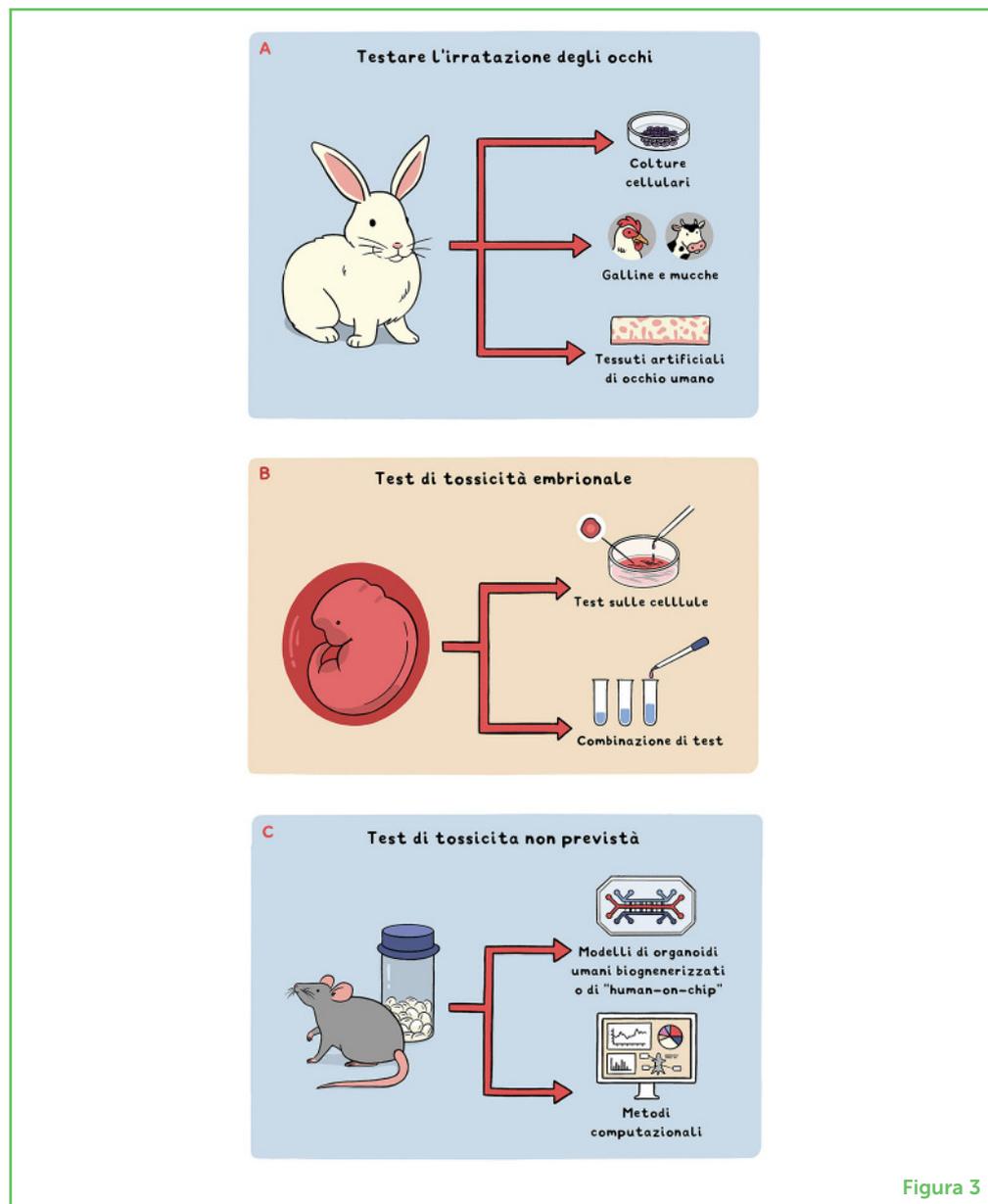
base alla reazione dei monociti. L'autore ha sviluppato uno di questi esperimenti e ha diretto uno studio internazionale assieme ad altri scienziati che avevano sviluppato esperimenti simili, dimostrando che tali esperimenti potevano rimpiazzare i test dei pirogeni sugli animali [1, 2]. In seguito ad un'approfondita verifica da parte di esperti, il test di attivazione dei monociti venne approvato nel 2006 e, negli anni successivi, accettato da molte agenzie a livello globale. Tuttavia, l'effettiva sostituzione della sperimentazione animale è ancora in corso: alla fine del 2017, in Europa era stato sostituito l'80% dei test dei pirogeni sui conigli e, nei quattro anni successivi, sono stati eliminati tutti gli esperimenti sui conigli in Europa. Ma altre parti del mondo non sono così avanzate. Passarono quindi circa 30 anni prima che il test sui granchi a ferro di cavallo sostituisse circa il 90% dei test sui conigli e altri 30 anni prima che i test di attivazione dei monociti rimpiazzassero la percentuale rimanente. Un processo troppo lento, ma stiamo imparando da quei pionieri! Una volta che gli scienziati hanno capito cosa accade nel corpo umano, possono applicare le loro conoscenze in sistemi sperimentali non condotti sugli animali.

PROGRESSO IN ALTRE AREE

I test di irritazione oculare hanno assistito ad un progresso enorme (Figura 3A). Molti nuovi esperimenti impiegano semplici colture cellulari prelevate dagli occhi di galline o mucche, che vengono sopresse per essere mangiate. Sono anche state sviluppate ed

Figura 3

(A–C) Progressi nella sostituzione della sperimentazione animale.



approvate strutture oculari umane bioingegnerizzate. Purtroppo, nessuno di questi esperimenti può ancora rimpiazzare quelli condotti sui conigli. Alcuni riescono solo a trovare sostanze altamente tossiche, altri solo sostanze innocue. Alcuni esperimenti funzionano solo con determinati tipi di sostanze chimiche. Ma varie combinazioni di nuovi esperimenti *possono* rimpiazzarli per la maggior parte degli impieghi.

Il test di embriotossicità è l'esperimento più complesso in termini di quantità di animali necessari. Alcuni esperimenti richiedono oltre 5.000 ratti e conigli e i loro embrioni. Il progresso volto a rimpiazzare gli animali nei test di embriotossicità è lento, principalmente perché lo sviluppo degli embrioni è estremamente complesso e dipende dalla specie. Solo tre sostanze chimiche su cinque sperimentate

ORGANOIDI

Colture cellulari che riproducono la struttura e la funzione degli organi, spesso da cellule staminali, tridimensionali e su chip, ovvero dispositivi che consentono la perfusione di organoidi singoli o multipli, spesso con sensori o pompe integrati.

MODELLI UMANI SU CHIP

Combinazioni di minuscoli modelli di organi, ovvero «corpo su chip» o «multiorgano su chip». È un settore in continua evoluzione e modelli di dieci e più organi sono già stati conservati per quattro settimane.

INTELLIGENZA ARTIFICIALE (IA)

Programmi informatici che svolgono funzioni simulando l'intelligenza umana. Ciò comprende l'apprendimento automatico, che interpreta enormi gruppi di dati, l'analisi delle immagini o l'elaborazione del linguaggio umano orale o scritto (elaborazione del linguaggio naturale).

in una specie hanno prodotto gli stessi risultati in specie diverse. Un enorme progresso negli scorsi anni ha riguardato lo sviluppo delle cellule staminali, che consentono agli scienziati di approfondire le loro conoscenze sui primi stadi di sviluppo degli embrioni umani (Figura 3B). Lo sviluppo di esperimenti sulle cellule staminali sta portando gli scienziati sulla giusta strada per rimpiazzare la sperimentazione animale.

Le tossicità impreviste sono ancora un problema cruciale. Come possiamo prevedere l'imprevisto? Il corpo umano è composto da centinaia di tessuti e ciascuno di essi potrebbe essere l'obiettivo! Tuttavia, è sempre più evidente che gli animali spesso reagiscono alle sostanze tossiche diversamente rispetto agli umani, quindi non possiamo far altro che sviluppare nuovi esperimenti rilevanti per gli umani (Figura 3C). La moderna coltura cellulare ha compiuto passi da gigante: la bioingegneria ci consente di riprodurre in laboratorio la struttura (la composizione dell'organo) e la funzione degli organi del corpo. Tali **organoidi** possono essere combinati su chip e collegati da piccoli canali riempiti di liquido che fungono da vasi sanguigni. Questi **modelli umani su chip** sono entusiasmanti perché permettono agli scienziati di studiare le reazioni in apparati che imitano quelli umani. Contemporaneamente, l'**intelligenza artificiale (IA)**, cioè la maggiore capacità dei computer di imparare e analizzare i dati, ci sta aiutando a combinare le conoscenze apprese negli scorsi decenni. Milioni di relazioni scientifiche e tonnellate di dati raccolti dagli esperimenti possono essere combinati dai sistemi di IA per prevedere gli effetti imprevisti delle sostanze sul corpo umano, evitando quindi la sperimentazione animale. Quindi, i progressi delle prestazioni informatiche stanno aiutando gli scienziati a delineare ciò che accade al corpo e a comprendere enormi quantità di dati per prevedere gli effetti tossici.

LA SFIDA FUTURA

Questi esempi dimostrano che la scienza è in continua evoluzione. Mentre questo articolo si concentra sulla sicurezza dei farmaci, si potrebbero citare aneddoti simili in altri campi di ricerca. I nuovi metodi di simulazione al computer e di laboratorio possono essere impiegati indipendentemente e sono ancora più efficaci se combinati. Questi nuovi approcci sono spesso altrettanto validi o migliori delle tradizionali sperimentazioni animali. La difficoltà ora è cambiare la nostra tendenza a fare affidamento sulla sperimentazione animale per le valutazioni della sicurezza e per la produzione di nuovi prodotti. Recenti progressi hanno reso i processi sperimentali più rilevanti per il corpo umano e, soprattutto, più umani.

RINGRAZIAMENTI

Ringraziamo Chiara Sulpizio per il suo contributo e assistenza nella lettura e correzione della versione italiana.

ULTERIORI LETTURE

Goldberg, A., and Hartung, T. 2006. Protecting more than animals. *Sci. Am.* 294:84–91. doi: 10.1038/scientificamerican0106-84

Hartung, T. 2018. "Alternatives to animal testing," in *Toxicology and Risk Assessment: A Comprehensive Introduction, 2nd edn*, eds H. Greim, and R. Snyder (Hoboken, NJ: Wiley). p. 461–47.

RIFERIMENTI

1. Hartung, T. 2015. The human whole blood pyrogen test - lessons learned in twenty years. *ALTEX*. 32:79–100. doi: 10.14573/altex.1503241
2. Hartung, T. 2021. Pyrogen testing revisited on occasion of the 25th anniversary of the whole blood test. *ALTEX*. 38:3–19. doi: 10.14573/altex.2101051

EDITORE: Robert T. Knight

MENTORE SCIENTIFICO: Christopher R. Cederroth

CITAZIONE: Hartung T (2023) Sostituire la sperimentazione animale: come e quando? *Front. Young Minds*. doi: 10.3389/frym.2022.959496-it

TRADOTTO E ADATTATO DA: Hartung T (2022) Replacing animal testing: how and when? *Front. Young Minds*. 10:959496. doi: 10.3389/frym.2022.959496

CONFLITTO DI INTERESSE: Gli autori dichiarano che questo lavoro di ricerca è stato condotto in assenza di qualunque relazione commerciale o finanziaria che potrebbe costituire un conflitto di interesse.

COPYRIGHT © 2022 © 2023 Hartung. Questo è un articolo ad accesso libero distribuito secondo i termini della licenza Creative Commons Attribution (CC BY). L'utilizzo, la distribuzione o la riproduzione in altri forum è permessa, a condizione che l'(gli) autore(i) originale(i) e il(i) titolare(i) del diritto d'autore siano accreditati e che la pubblicazione originale all'interno del giornale sia citata, in conformità alle pratiche accademiche accettate. Tutti le utilizzazioni, distribuzioni o riproduzioni non conformi a queste condizioni sono interdette.



GIOVANI REVISORI

INTERNATIONAL SCHOOL OF LAUSANNE, ETÀ: 11–12

L'ISL è una IB World School sotto la supervisione dell'International Baccalaureate (IB), indipendente e senza scopo di lucro. Dal 1962, siamo cresciuti fino a contare quasi 1000 studenti, dai 3 ai 18 anni, provenienti da oltre 60 nazioni. Crediamo in valori forti, nel coraggio di pensare in modo indipendente e nella cooperazione attraverso i confini culturali, idee che costituiscono il cuore di un approccio progressivo all'apprendimento.

AUTORE

THOMAS HARTUNG



Thomas Hartung ha speso più di tre decenni della sua carriera nella promozione di tecnologie che possano rimpiazzare i test sugli animali. Dal 2002 al 2008 è stato a capo del Centro Europeo per la Validazione dei Metodi Alternativi (agli esperimenti animali) della Commissione Europea in Italia, e dal 2009 dirige i Centri Alternativi ai Test sugli Animali di Stati Uniti D'America (US) ed Europa. È attivo in diversi campi scientifici: iniziando con studi di biochimica, medicina umana e matematica/informatica, è divenuto dottore (Medico - Dottore di Ricerca) e poi Professore di Farmacologia e Tossicologia. Egli ha poi esteso il suo lavoro nel campo dell'immunologia, microbiologia e ingegneria. Tutt'oggi egli ha due cattedre all'Università John Hopkins e all'Università di Georgetown negli Stati Uniti D'America e allo stesso tempo presso l'Università di Konstanz in Germania. È attualmente l'Editore Capo del giornale Scientifico *Frontiers in Artificial Intelligence*. *THartung@jhu.edu