

NON SIAMO RATTI di 70kg

Come pesci nell'acqua, viviamo immersi in un mondo di sostanze chimiche di sintesi ideate, prodotte e commercializzate dall'uomo. Un sistema per accertare se queste sostanze sono pericolose per noi e per l'ambiente, è stato formulato circa 80 anni fa. Ma poi...

Poi, dopo alcuni decenni di fervore nell'incorporare le ultime scoperte scientifiche, il quadro normativo che regola la tossicologia è caduto in un sonno profondo.

Lo sostiene in un articolo che ha fatto scalpore (*Toxicology for the twenty-first century, Nature, 9 luglio 2009*), Thomas Hartung, ex direttore dell'ECVAM, il Centro europeo per la validazione dei metodi alternativi alla vivisezione. Secondo Hartung, che abbiamo incontrato a Roma durante il VII Congresso mondiale sui metodi sostitutivi, l'attuale legislazione è, come Biancaneve, sprofondata in un pernicioso sonno senza risveglio. E la mela avvelenata all'origine dei guai che affliggono il settore sono le cosiddette "linee guida internazionali".

IL PREZZO DA PAGARE. In realtà - dice Hartung - concordare un sistema di armonizzazione internazionale fu a suo tempo un'idea vincente, sia perché facilitava la vita a produttori e rivenditori, sia perché contribuiva a eliminare alcune barriere commerciali. Ma per applicare questo sistema concordato, si è pagato un prezzo: lento e farraginoso, il meccanismo di costruzione del consenso internazionale ha soffocato ogni capacità di autocritica e impedito il processo di

modernizzazione della tossicologia.

Non esiste nessun altro settore scientifico al mondo i cui protocolli sperimentali siano rimasti inalterati per oltre quarant'anni. Eppure le richieste di sicurezza dei consumatori sono sempre più pressanti. Tanto pressanti da ispirare il più gigantesco piano di valutazione delle sostanze chimiche mai formulato: è il REACH (di cui parliamo ampiamente in questo numero del giornale alle pagine, 5, 16, 23), che ha l'ambizioso scopo di "recuperare il tempo perduto" e cioè sottoporre a test tutte le sostanze chimiche in che erano in circolazione in Europa prima del 1981 e non hanno mai superato alcun esame di sicurezza. Per dare un'idea della situazione nella quale viene a cadere il REACH, basta pensare che secondo le stime le sostanze da testare sono il 97% di tutte le sostanze ancora in uso e più del 99% del volume di quelle prodotte. Ecco perché - sostiene Hartung - il REACH potrebbe essere il principe che sveglia Biancaneve ridestando a nuova vita alla tossicologia. A patto, però, che tutto ciò che è vecchio, inutile e dannoso venga messo da parte.

IDENTIFICARE IL PROBLEMA. Che cosa c'è che non va nell'at-



tuale approccio tossicologico? C'è che lo studio ideale capace di dirci se un agente chimico è pericoloso per gli umani richiederebbe due cose inattuabili: primo, un numero di individui abbastanza ampio da rappresentare tutte le differenze che caratterizzano le persone; secondo, la possibilità di esporli a loro insaputa all'agente in questione in condizioni realistiche. Basta deviare di poco da queste condizioni sperimentali - che sono insieme non etiche e impraticabili -, e lo studio fornirà solo una approssimazione della situazione reale: trattasi infatti di un modello.

A questo punto - prosegue Hartung - la domanda cruciale è: fino che punto sono utili i modelli in uso, che sono per la maggior parte modelli animali? Quanto sono veritieri e quanto ingannevoli?

Dal momento che nella sperimentazione animale vengono spesi 10 miliardi di euro all'anno - oltre 2 miliardi dei quali per studi tossicologici -, e dal momento che in questi test vengono sacrificati oltre 100 milioni di animali al servizio di un mercato che movimentata merci e prodotti per più di 5,6 trilioni di euro, la domanda è più che pertinente. E rimanda a quattro questioni di fondo.

**Assumiamo le sostanze
in modo diverso
dai roditori,
le metabolizziamo
in modo diverso,
e viviamo molto più a lungo
di loro, sviluppando
sia malattie
sia adattamenti evolutivi
che ci consentono
di combatterle**

I. SIAMO TUTTI ANIMALI, MA... Come e in quale misura i modelli animali riflettono le reazioni umane? E' del tutto evidente che l'uso degli animali ha dei limiti: non siamo ratti di 70 Kg, sostiene Hartung. Infatti, assumiamo le sostanze in modo diverso; le metabolizziamo in modo diverso; viviamo più a lungo di loro (consentendo che alcune malattie si sviluppino e mettendo in campo adattamenti evolutivi che ci permettono di combatterle); e siamo esposti a un numero di fattori ambientali assai maggiore e diverso. E ciononostante, pochissimi studi si sono presi la briga di misurare l'accuratezza dei modelli animali.

In uno di questi studi, i risultati dei modelli animali sono stati confrontati con le informazioni provenienti dai centri antiveleni: paragonare d'un lato la dose di una sostanza chimica che risulta letale al 50% (LD50) dei topi sottoposti a test e dall'altro la concentrazione letale della medesima sostanza nel sangue degli esseri umani, ha mostrato una correlazione davvero bassa (coefficiente di correlazione dello 0,56; *osservazioni non pubblicate da uno studio di validazione internazionale*). Parimenti, in un altro studio, il 40% delle sostanze chimiche che irritavano la pelle dei conigli sono risultate non-irritanti nei test con gli umani.

In assenza di dati affidabili, si può affrontare il problema in termini più generali, cercando di capire fino a che punto una specie animale funzioni da modello per un'altra. Esperimenti molto simili tra loro, e con le stesse sostanze chimiche, sono stati condotti su specie diverse di animali e non c'è nessun motivo di credere che topi, ratti e conigli riescano a predire le risposte di un'altra specie in misura minore di quanto non succeda con gli uomini. Ebbene, i risultati di questi studi mostrano una comunanza di reazioni tra le diverse specie animali per il 53%-60% delle sostanze chimiche.

Risultati analoghi sono stati ottenuti con preparati farmacologici (che hanno funzioni opposte a quelle delle sostanze chimiche) somministrati agli umani.

In uno di questi studi, gli effetti tossici registrati negli uomini furono correttamente previsti dai test con i roditori solo nel 43% dei casi oppure nel 63% se venivano aggiunte altre specie. Bisogna dedurre che molti effetti avversi non possono venire accertati con questa tipologia di test tradizionali. Lo stesso succede nell'industria farmaceutica, dove il 20% dei nuovi preparati viene scartato come tossico solo durante i test clinici sugli umani. Senza contare che il 6,7% delle persone ospedalizzate vanno soggette a reazioni avverse (una su venti delle quali fatale), mostrando quali e quanti limiti abbia la pretesa di predire la tossicità di un composto sulla base di test pre-clinici con gli animali.

2. DOSI MASSIME TOLLERABILI.

La seconda questione ha a che fare con l'approccio altamente conservativo dei test tossicologici in uso: per limitare il costo e il numero di animali utilizzati, gli studi per l'accertamento della tossicità di una sostanza sono di norma eseguiti con la dose massima tollerabile di quella stessa sostanza. Sono dosi anche mille volte superiori alle dosi con le quali gli esseri umani entreranno in contatto (p.e. in termini di milligrammi per peso corporeo). E' una strategia che comporta un gran numero di "falsi positivi" (risultanze solo apparentemente positive, di fatto nulle), un fenomeno molto diffuso che contribuisce a indebolire ulteriormente la correlazione tra ciò che il modello animale ci dice e quanto accade effettivamente agli esseri umani.

3. STATISTICHE E ASTROLOGIA.

La ricerca di molteplici endpoints (l'endpoint è la misura dell'esito clinico dalla quale, attraverso algoritmi statistici, si ricava la risposta che si cerca) contribuisce a moltiplicare il numero dei falsi positivi. Quando si studia un ventaglio sufficientemente ampio di eventi è immancabile che alla fine si ottenga un certo numero di correlazioni positive. Questo fatto è stato elegantemente illustrato da uno studio che cercava di stabilire quali correla-

zioni ci fossero tra segno zodiacale e malattie nelle cartelle cliniche di 10 milioni di cittadini canadesi. Ebbene, risultò che i nati sotto il segno del Leone avevano molte più probabilità degli altri di soffrire di emorragia gastrica mentre ai nati del Sagittario capitarono più fratture dell'omero di tutti gli altri nel periodo considerato... La spiegazione di come si sia potuti arrivare a questi risultati è semplice: infatti, erano state prese in considerazione ben 223 patologie mediche, e quando si passano in rassegna così tante variabili è inevitabile che si finisca col trovare una serie di "addensamenti" statistici apparentemente, ma solo apparentemente, significativi. Lo stesso accade nei test tossicologici, che misurano di default un gran numero di endpoints: circa 40 endpoints in



uno studio di tossicità con dosi ripetute (studi a lungo termine nei quali gli animali sono esposti a un agente chimico per periodi da un mese a un anno e ne vengono studiati gli effetti su molteplici organi); e 80 negli studi di tossicità per la riproduzione.

Inevitabilmente, alcuni endpoints risulteranno positivi, e le dimensioni dei gruppi studiati sono troppo piccole per consentire qualsivoglia correzione statistica. Così - spiega Hartung - tutti i risultati positivi dovranno essere registrati come veri positivi (anche se

non lo sono), e questo ha **conseguenze pesanti anche per coloro che più tardi dovranno riprodurre la presunta tossicità di una sostanza per validare un metodo alternativo.** I "falsi positivi", infatti, sono difficili da riprodurre quando si utilizza un test diverso, senza animali. Come se non bastasse, è improbabile che un risultato positivo possa essere dichiarato con certezza "vero" o "falso" anche perché la maggior parte dei test obbligatori vengono eseguiti una sola volta. Ne consegue che i classici meccanismi auto-correttivi della scienza qui non esistono come non esiste alcuno scambio di informazioni tra i laboratori.

4. EFFETTI AVVERSI.

Malgrado l'uso di studi altamente precauzionali, oltre l'87% delle sostanze testate negli ultimi 25 anni non sono risultate tossiche; il 93% non irrita la pelle e solo il 2%-3% altera il ciclo riproduttivo. Questo significa che gli studi tossicologici mirano a individuare dei pericoli piuttosto rari con dei modelli imperfetti. Con quali conseguenze? Prendiamo un caso specifico nel quadro tracciato dal REACH, e cioè assumiamo che il 2,5% delle sostanze prodotte in quantitativi superiori alle 100t/a (5.500 sostanze) siano tossiche per il sistema riproduttivo umano (1). Si tratta di 138 sostanze, che i test hanno il compito di identificare. Sappiamo che per gli studi su due generazioni, la concordanza tra le specie è del 60% (percentuale che diminuisce ulteriormente quando si usano altissime dosi precauzionali). Ne consegue che studiando 5.500 sostanze con test che hanno una accuratezza del 60%, verranno trovate 83 delle 138 sostanze pericolose ipotizzate. Nello stesso tempo, però, si otterranno circa 2.145 falsi positivi pari al 40% delle sostanze. Le procedure standard da seguire in casi come questi porteranno a un risultato finale abnorme: verrebbero infatti identificate solo 116 delle 138 sostanze effettivamente tossiche (84% del totale) ma nello stesso tempo 3.454 sostanze "innocue" verrebbero bollate come tossiche. Con quali conseguenze è facile immaginare...

(1) Bremer S. et al, *Current Pharmaceutical Design*, 13, 3047-58.

Fino a un recente passato la validità dell'impiego degli animali nella ricerca scientifica non era messa in dubbio da quasi nessuno. Facevano eccezione gli animalisti, le cui argomentazioni, però, poggiavano su motivazioni etiche, e qualche raro scienziato illuminato come Pietro Croce, che era arrivato da solo alla conclusione che la vivisezione è una pratica priva di valore scientifico.

Negli ultimi cinque anni, invece, si sono levate voci di dissenso anche nel mondo della ricerca medica, e diversi articoli volti a dimostrare la mancanza di validità scientifica della vivisezione sono stati pubblicati su riviste come *Nature*, *British Medical Journal*, *New Scientist*, *Nature Genetics*, *Annals of Neurology*. Sul risultato di queste ricerche ho già scritto in passato su *La voce dei senza voce*, credo quindi sia più utile presentare alcune riflessioni

aspetti qualitativi e quantitativi delle ricerche che si eseguono attualmente.

In biologia la valutazione qualitativa serve a determinare se si possiede una certa funzione o un certo organo. Ad esempio, qualitativamente gli esseri umani e i conigli hanno un cuore e quindi da questo punto di vista sono uguali. Inoltre il cuore svolge la stessa funzione in entrambe le specie, ossia serve a fare circolare il sangue che trasporta l'ossigeno e permette alle cellule e quindi anche all'animale di vivere. La stessa considerazione vale anche per le altre specie. Pertanto, da un punto di vista qualitativo esistono innegabilmente delle analogie tra tutte le specie animali, esseri umani compresi. Se quindi ci fermassimo a questa valutazione potremmo concludere che apparentemente le ricerche sugli animali possiedono un valore scientifico.

ciò deve essere inferiore a 100, altrimenti ci troviamo di fronte a una situazione patologica che si chiama tachicardia e che, se protratta nel tempo, è in grado di provocare danni gravi alla funzionalità cardiaca. E' altresì vero che in ogni animale gli occhi servono per vedere; tuttavia molte specie vedono in bianco e nero, altre vedono a distanze che per noi esseri umani sono impossibili, oppure, come i gatti, vedono anche con pochissima luce. Tornando alla valutazione della potenziale tossicità delle sostanze per la nostra specie, possiamo dire che basta la presenza o l'assenza, ad esempio, di un enzima tra una specie animale e la nostra per cambiare completamente il risultato dell'esperimento.

Così tra i 3/4 e i 4/5 dei farmaci sicuri nei test sugli animali non sono commercializzati perché si dimostrano tossici

Legge REACH:

COME NON IMPARARE DAGLI ERRORI DEL PASSATO

che riguardano lo scellerato regolamento REACH avviato dall'Unione europea per testare tutte quelle sostanze la cui potenziale tossicità per la nostra specie non è mai stata valutata in passato.

Il fine del progetto REACH è sicuramente condivisibile.

Tuttavia, in maniera sconcertante, nonostante i ripetuti pronunciamenti della comunità scientifica contro l'uso degli animali nella ricerca, chi ha redatto i protocolli del REACH ha deciso di basare gran parte delle proprie valutazioni ancora sui test con gli animali. Per comprendere l'assurdità di utilizzare altre specie per capire come sono metabolizzate le sostanze nella nostra specie e quindi per valutare la loro potenziale tossicità, occorre fare alcune riflessioni sugli

Se però analizziamo anche gli aspetti quantitativi, ossia valutiamo come ad esempio un certo organo svolge la sua funzione, giungiamo a conclusioni diametralmente opposte.

Da un punto di vista quantitativo, una qualsiasi funzione viene espressa in maniera differente da specie a specie, poiché ogni specie ha un proprio patrimonio genetico responsabile del funzionamento dell'organismo nel suo complesso, e quindi i risultati ottenuti tra specie differenti non sono confrontabili. Torniamo quindi all'esempio del cuore del coniglio, che svolge la stessa funzione del cuore di un essere umano. Di diverso, tuttavia, c'è che la frequenza cardiaca del coniglio è normalmente di 120-150 battiti al minuto, mentre nella nostra spe-

durante la sperimentazione umana, e la metà di quelli che superano quest'ultima si dimostrano gravemente tossici per la nostra specie solo dopo la commercializzazione.

Ciò provoca la morte di circa 100.000 persone all'anno solo negli Usa. Quindi almeno nel 90% dei casi, sostanze innocue negli animali risultano tossiche per l'uomo proprio perché gli aspetti quantitativi non sono confrontabili.

Alla luce di questi dati e delle ricerche che dimostrano in maniera incontrovertibile il fallimento del cosiddetto modello animale, continuare ad affidarsi - come fa il REACH - a questo tipo di studi significa non avere fatto tesoro degli errori del passato e quindi prendere in giro la gente.