

# 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 inattin- gibili: 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 condi- zioni 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 sperimenta- zione animale vengono spesi 10 miliardi di euro all'anno- oltre 2 miliardi dei quali per studi tossicolo- gici -, e dal momento che in questi test vengono sacrificati oltre 100 milioni di animali al servizio di un mercato che movimentata merci e pro- dotti 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 diver- so; le metabolizziamo in modo diver- so; viviamo più a lungo di loro (con- sentendo che alcune malattie si svilup- pino e mettendo in campo adattamen- ti evolutivi che ci permettono di com- batterle); e siamo esposti a un nume- ro 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 antiveneni: 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 concen- trazione letale della medesima sostan- za 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 internazio- nale*). 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 rea- zioni 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 immane 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-correctivi 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 anormale: 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.