

Intervista alla prof. [Anna Maria Bassi](#) (*)

Vincitrice nella categoria “Ricercatori e Innovatori” della prima edizione del Premio AnimaLAV per le persone che si sono distinte per l'impegno in difesa degli animali

(*)Contract Professor at Department of Experimental Medicine- University of Genoa Italy

Il “[Premio AnimaLAV](#)” è un riconoscimento che LAV ha assegnato per il 2024 (il 12 marzo scorso) a «coloro che si sono distinti per azioni e scelte, portate avanti con coraggio, che hanno avuto un impatto importante e positivo sugli animali». I vincitori sono stati selezionati all'interno di quattro categorie: Cittadinanza Attiva, Giornalisti e Opinion Leader, Istituzioni e Giustizia, Ricercatori e Innovatori. Per quest'ultima ma non ultima categoria il premio è andato alla professoressa Bassi del Dipartimento di Medicina Sperimentale dell'Università di Genova.

La motivazione del riconoscimento ad Anna Maria Bassi? Questa: «Con la sua attività di docente e ricercatrice, Anna Maria ha contribuito a far entrare nelle università la ricerca senza animali. Ha ispirato giovani studenti e futuri ricercatori, dimostrando che un altro tipo di ricerca è possibile nonché necessario».

Noi di [OSA, “Oltre la Sperimentazione Animale”](#), siamo felici di questo riconoscimento a una docente e ricercatrice che batte la pista dei [Non Animal Methods](#), per la affermazione dei quali è nata e si impegna anche la nostra associazione. Abbiamo voluto intervistarla per farci raccontare da lei la sua storia professionale e anche le sue impressioni sul polso della situazione ‘sostituzione dei modelli animali’ nella ricerca biomedica, che è la prima e fondamentale delle 3R che teoricamente dovrebbe guidare i ricercatori secondo la normativa contemporanea nazionale e internazionale (*Rimpiazzo/sostituzione degli animali, Riduzione del loro numero, Raffinamento/perfezionamento delle condizioni di gestione e sperimentazione tali da limitare le loro sofferenze*).

‘Roba da animalisti e non da scienziati’, qualcuno potrebbe pensare?

Eh no! Ecco per esempio l'entusiasmo con cui è stata accolta e diffusa la notizia da [ESTIV \(European Society of Toxicology In Vitro\)](#), nota come la *NAMs Society*: «Siamo onorati di annunciare che uno dei nostri stimati membri, parte integrante di ESTIV dal 2000, è stato premiato con il prestigioso Premio AnimaLAV nella categoria Ricercatori e Innovatori! Il suo eccezionale contributo al progresso della ricerca attraverso innovativi modelli in vitro e la sua dedizione nel coltivare la prossima generazione di ricercatori le hanno fatto guadagnare questo meritato onore. (...)»

Insomma, non dimenticate mai che la ricerca senza animali ha solide motivazioni scientifiche e non solo etiche, ed esiste un'importante fetta di ricercatori che se ne occupa e che è fiera di farlo.

La prima reazione a caldo, Professoressa?

Emozionata e grata. Intanto perché sono lieta si sia voluto dimostrare – parafrasando le parole del Presidente Felicetti nel presentare la categoria dei ricercatori – che anche nell'ambito della ricerca c'è chi pensa al benessere animale, ricercatori che non usano animali, perché se no si pensa “ricerca uguale uso di animali”. Mi ha fatto molto piacere che sia stato presentato quest'altro aspetto della ricerca scientifica. E sono orgogliosa di essere uno di tali ricercatori. Sono anche felice e orgogliosa che la Dr. [Helena Kandarova](#), la Presidente di [ESTIV, Società Europea di Tossicologia in Vitro](#), dopo pochi minuti dalla notizia su LinkedIn mi abbia fatto i complimenti e ne abbia dato notizia sul sito ESTIV dedicandomi parole bellissime.

E, come ho fatto anche dal palco, metto subito in chiaro che non sono una socia LAV né di nessun'altra associazione animalista, non perché io non mi senta amica degli animali, ma perché ci tengo a mantenere la mia indipendenza, perché dev'essere chiaro che quando critico certi modi di fare ricerca – denunciando per esempio che è assurdo studiare il topo con l'Alzheimer – e mi batto per metodi di rilevanza umana, lo faccio in scienza e coscienza, da scienziata.

Sappiamo che ha avuto l'opportunità di raccontare il suo lavoro dal palco della premiazione. Può sintetizzarlo anche per noi?

Sono 40 anni che faccio ricerca utilizzando come modello le colture cellulari, e ho organizzato corsi teorico-pratici per dare consistenza concreta alla didattica accademica per i corsi di Laurea in Medicina, Biologia e Dottorati di ricerca in [UniGE](#). Al mio laboratorio, con la Dr. Susy Penco ci siamo per così dire 'inventate' questi brevi corsi teorico-pratici sull'utilizzo delle colture cellulari per allestire i test di tossicità per esempio in cosmetologia, in accordo con quanto richiesto dalle normative europee. Per queste attività, nel 2013 il mio Team ha vinto il [Premio LUSH](#) (che premia le persone, i gruppi e le iniziative che lottano per porre fine ai test sugli animali). I corsi sono incentrati sul lavoro pratico e le dimostrazioni/lezioni di alcuni *specialist* (i consulenti scientifici di un'azienda) volte a fornire le conoscenze di base o migliorare le conoscenze esistenti sui metodi alternativi. Ogni edizione del corso prevede un aggiornamento sulle innovazioni in vitro con particolare attenzione ai modelli 3D. Nelle prime edizioni le mie collaboratrici preparavano le piastre con le cellule, predisponendo anche le fasi che la durata del corso non avrebbe permesso ai partecipanti di sperimentare materialmente con le proprie mani. Nelle ultime edizioni abbiamo avuto il supporto prezioso di esperti di aziende leader nel settore dei modelli/reagenti da utilizzare per allestire modelli in vitro. Gli specialisti oltre a tenere relazioni aggiornate sull'utilizzo dei loro prodotti, hanno contribuito in prima persona nei moduli pratici, dando ad ogni partecipante la possibilità di utilizzare i modelli e i kit, di testare, "pipettare", mettere la sostanza, produrre un risultato, vedere il risultato, interpretare il risultato, e grazie a questa esperienza concreta, come di fatto abbiamo visto accadere, loro stessi possono proporre/utilizzare quanto sperimentato con mano, nei laboratori di ricerca in vitro. Per esempio la [MatTek Life Sciences](#), azienda all'avanguardia nell'ingegneria dei tessuti e leader mondiale nella produzione di modelli innovativi di tessuti umani ricostruiti in 3D, ci ha fornito non solo il supporto dei loro specialisti, ma anche i modelli di tessuti umani, come cute, occhio, intestino ecc. su cui ogni partecipante ha avuto modo di eseguire i test di tossicità. Per fare un altro esempio di prezioso supporto da parte di ditte leader, grazie agli specialisti dell'azienda italiana [lvTech](#) srl, che sviluppa modelli in-vitro avanzati in 5D, i partecipanti hanno potuto allestire sistemi di camere di coltura trasparenti e modulari che, grazie alla tecnologia millifluidica, possono mimare la interconnessione che avviene in vivo tra tessuti/organi diversi, per creare dei modelli fisio-patologici in-vitro, predittivi della realtà umana. La tipologia di questi moduli pratici è importante perché se non vedi fare e non fai tu stesso con le tue mani non impari a fare le cose e non prendi l'abbrivio per farle a tua volta.

Questo l'ho provato anch'io anni fa, quando ho allestito il laboratorio per la biologia molecolare: ma finché non sono andata a un corso in una ditta, non osavo partire, non osavo fare da sola tutto; poi invece, grazie all'aver provato in quel corso a fare io ma con gli specialisti dietro, ho potuto incominciare io stessa.

Ora sono in pensione, ma ho ancora un contratto con l'Università, a titolo gratuito, e resto grandemente affascinata dalle potenzialità di oggi, cosicché vorrei continuare a occuparmene fino a che ne avrò la possibilità. In Italia le potenzialità le abbiamo, ciò che manca sono i finanziamenti e anche il coraggio di intraprendere queste strade nuove. **Siamo molto avanti, più di quanto non**

pensiamo, nel senso che troppo pochi sono informati e sanno cosa c'è già in campo, cosa si può provare a fare e come farlo. E chi non lo sa, per forza va avanti coi propri protocolli senza sganciarsi da ciò con cui ha familiarità. È provando, sperimentando, lanciandosi nel nuovo, che si può arrivare a produrre il nuovo.

Col mio gruppo e con insostituibili collaborazioni transdisciplinari, abbiamo messo a punto un innovativo modello di cellule trabecolari umane in vitro 3D su una piattaforma millifluidica come strumento per migliorare lo studio del glaucoma. Questo modello fisiologicamente rilevante potrebbe essere il gold standard per chiarire le fasi patologiche coinvolte nell'insorgenza del glaucoma. Il nostro modello e i protocolli utilizzati sono oggetto di numerose pubblicazioni internazionali. Purtroppo molti gruppi di ricerca continuano a usare il ratto, il coniglio ecc. per studiare il glaucoma (cioè continueranno a far venire un'imitazione di glaucoma a un roditore iniettandogli soluzione fisiologica oppure delle piccole sfere dentro l'occhio, cose orripilanti). Bisogna che i ricercatori si rendano conto che qualunque modello di malattia umana ricreato su animali che non ne sono naturalmente affetti, sarà sempre soltanto nient'altro che un artefatto. Il glaucoma rappresenta un gruppo di malattie neurodegenerative dove si assiste alla morte progressiva lenta di cellule retinali, per cui ora stiamo cercando di implementare il modello aggiungendo cellule umane retiniche ottenute differenziando cellule umane staminali; è uno studio molto complesso perché di cellule retiniche ce ne sono di tanti tipi, sei o sette. Se riusciremo nel nostro intento, e i dati preliminari ottenuti ad oggi sono molto promettenti, questo modello di cellule retiniche potrebbe essere utile per studiare nuove strategie per la neuroprotezione. Di questi nostri modelli andrò a parlare al [Congresso di ESTIV a Praga in giugno](#).

Professoressa Bassi, sento spesso paventare che i Nuovi Approcci Metodologici possano venire vanificati se i ricercatori li impiegheranno su cellule animali anziché umane: che ne pensa?

Da più di 20 anni noi ci occupiamo solo di cellule umane, ma è ovvio che se uno studia in campo veterinario userà cellule, che so, del cavallo o della pecora... l'importante è che si lavori sempre a livello specie-specifico. Su questo non deve esserci alcun dubbio: **io sono per la specie-specificità**, assolutamente. Già addirittura dovremmo arrivare alla **personalizzazione**, perché fra due persone, perfino tra fratelli, le risposte sono diverse. Intanto, siamo umani, lavoriamo con le cellule umane, perché è inutile che vada a usare cellule di coniglio o topo: non mi danno le stesse risposte. Non a caso le aziende farmaceutiche vogliono testare – o subappaltare i test di – un farmaco sul topo, ma anche sul ratto perché le risposte sono diverse, piuttosto che sul coniglio. Cioè, lo sanno benissimo anche loro che ci sono differenze specie-specifiche. Qualcuno può dubitare che, a maggior ragione, ci siano differenze con l'uomo? È un tipo di esperimenti del tutto inutili per noi esseri umani.

Oltretutto, il discorso di base è che noi siamo esposti non a una sostanza alla volta e in modo acuto, bensì a migliaia di agenti stressanti esterni, cioè c'è in ballo l' **esposoma**, una questione, e un termine, adesso molto 'frequentato' all'estero e meno in Italia: in parole povere è tutto ciò che da fuori influenza il nostro DNA, le nostre risposte, anche il nostro adattamento a vivere in determinate condizioni ambientali. Con l'animale non puoi esaminare questo potente fattore di determinazione, l'animale sta chiuso in una gabbietta: potrà anche trattarsi di stabulari bellissimi tanto da guadagnarsi il titolo di 'cliniche dei topi' di cui vanno fieri gli sperimentatori su topi e i loro sostenitori, ma non potranno mai simulare l'esposoma. C'è perfino chi prova a riprodurre i ritmi circadiani impostando le luci in modo da imitare i ritmi notte e giorno, chi si sforza di riprodurre all'interno dello stabulario il tasso di umidità dell'aria registrato fuori, e così via. Ma sono tutti

soltanto degli **artefatti**. Non è possibile dire “Io gli faccio venire questa malattia perché gli ho messo dentro il gene sbagliato”. Come la faccenda del maiale con la (finta) SLA. Ma questa è un’altra storia. Ciò che conta è capire che la ricerca deve essere specie-specifica. E che ci sono gli strumenti per farlo.

Il maiale con la SLA?

Sì, è un triste esempio di come certa sperimentazione ricorrendo a modelli animali di malattia umana sia improduttiva. Mi ricordo di avere assistito alla presentazione di uno studio sulla SLA (Sclerosi Laterale Amiotrofica) di una decina d’anni fa, svolto in collaborazione tra l’Istituto di ricerche farmacologiche Mario Negri e l’Istituto zooprofilattico di Torino, che aveva ricevuto finanziamenti europei. I ricercatori ottennero un certo numero di maiali geneticamente modificati con il gene ‘SOD’ responsabile della malattia, riscontrato in forme famigliari di SLA che però sono una piccola percentuale di casi di SLA (7-10%). Le altre forme di SLA dipendono da altri fattori esterni, ambientali. I maiali modificati avevano quindi due alleli¹ sani del gene, e in più avevano questo gene ‘mutato’, e soltanto il “maiale 176” – mi ricordo ancora il suo numero – aveva presentato i sintomi della SLA. Il filmato documentava il decorso della mobilità alterata di “176”, l’evoluzione visibile della malattia e, quando hanno visto che stava peggiorando, gli hanno inserito degli elettrodi per studiare i suoi movimenti e infine, quando il maiale ormai non riusciva quasi più a muoversi, è stato soppresso. Poi gli hanno fatto la biopsia dei muscoli, e qui arriva l’interessante. L’aspetto istologico di questi muscoli non era assolutamente quello che si riscontra nell’uomo! C’erano dei segni di infiammazione quando invece nella SLA vera (non artefatta) non c’è infiammazione bensì una mancanza di passaggio di stimolo, dal nervo ai muscoli. Dunque, si sono chiesti: “Dov’è che abbiamo sbagliato?”

Ebbene, noi possiamo notare due cose: primo, probabilmente è dipeso dal fatto che per inserire il gene “sbagliato” hanno usato la tecnica dei vettori virali, e quindi col virus gli hanno creato tale processo infiammatorio. Secondo: se abbiamo già due alleli che funzionano per quel gene, e gliene andiamo a inserire un altro, cioè un terzo allele, ossia qualcosa in più, allora qualcosa di strano succederà per forza. Insomma, quel modello non è “la realtà”, è “un artefatto”. Utile? Non mi sembra proprio.

Dobbiamo abituarci a valutare l’utilità degli studi prima di compierli, ma anche dopo: a cosa è servito questo studio? A dire poi che l’aspetto istologico di questi muscoli non è assolutamente quello che si riscontra nell’uomo?

E dovremmo **anche abituarci a chiederci: che cosa si sarebbe potuto fare, invece?** Usare delle cellule staminali della stessa specie animale. Se mettiamo per es. delle cellule del coniglio o dell’uomo dentro un macaco, è chiaro che poi abbiamo un rigetto, chiaro che si avrà una risposta diversa, lo sappiamo già dai trapianti d’organo tra esseri umani: i trapianti di organi non è che funzionino prendendo organi a qualsiasi persona passi per strada! Richiedono una compatibilità che non è garantita neppure dall’appartenenza alla stessa specie. E allora cosa volete che capiti con xenotrapianti, cioè col trapianto di organi, cellule o tessuti tra specie animali differenti? **La specie-specificità** dovrebbe essere la regola aurea.

Da quanto tempo la pensa così? Dalle origini del suo lavoro o è una posizione che ha maturato con l’esperienza?

In pratica strada facendo, quando ho visto le differenze nelle risposte metaboliche a stimoli identici in cellule in coltura derivate da tumori epatici del topo e del ratto. Poi ottenemmo le prime cellule

umane di epatoma² e vedemmo che le risposte e – attenzione! – **anche la tempistica delle risposte umane** erano ancora diverse. È stato così che io a un certo punto mi son detta: «Be', ma allora lavoriamo con le cellule umane! Di fatto, che io trovi che nel ratto una sostanza funzioni in un certo modo e nel topo no, per l'uomo a cosa serve? Non c'è una ricaduta, perché io mi occupo di medicina umana», e i tumori del topo e del ratto non solo non sono sovrapponibili fra di loro, ma non sono tumori veri, sono solo degli artefatti, sono letteralmente finti, "indotti", ma questo è un altro discorso. E quindi da quel momento io e [Susy Penco](#), senza soldi, siamo partite e appena abbiamo potuto ci siamo scrollate le zavorre metodologiche di professori ancorati a modelli obsoleti che prevedevano cose per noi assurde da fare, e siamo andate avanti su questa strada, [human-based](#): solo cellule umane, il più possibile.

In che senso la tempistica delle risposte umane influenza i risultati rispetto al riscontro su cellule animali?

Stavamo testando, con una collega farmacologa, dei residui di pesticidi che sembravano non dare effetto per quanto riguardava le cellule umane. Ma poi accadde qualcosa di molto interessante (e ne facemmo un bello studio, che abbiamo anche pubblicato, perché avevamo in parallelo i chirurghi che ci davano degli epatociti umani da intervento chirurgico). Accadde per combinazione, perché **le cose migliori vengono fuori per sbaglio, come la penicillina**. Una volta queste cellule umane ci arrivarono di venerdì e quello stesso giorno le mettemmo in coltura, anche se la nostra responsabile, Prof.ssa Margherita Ferro, perdonò quello spreco commentando "Ma intanto non farà nulla per l'uomo".

E invece... al lunedì le cellule erano ancora vive anche se con un aspetto un po' diverso dalle colture di controllo, per cui provammo a fare gli esperimenti e scoprimmo che era stato indotto un sistema di attivazione dei cancerogeni. Come mai stavolta avevamo osservato nelle cellule epatiche umane una reazione a questi residui di pesticidi, apparentemente non cancerogeni? Perché le avevamo lasciate per tre giorni, un tempo più lungo. Vale a dire che mentre nel topo e nel ratto l'effetto lo osservavamo già dopo 24 ore di esposizione, invece nelle cellule umane l'effetto si aveva dopo 72 ore! E questo era un dato importante.

Perché? È collegato al fatto che abbiamo una durata della vita molto diversa?

È possibile che anche questa sia una determinante significativa nel decretare l'inutilità di un modello murino per studiare la biologia umana, ma soprattutto c'è la questione dell'esposoma, il fatto che le cellule umane, anche di fegato, sono esposte a più sostanze, mentre invece il topo e il ratto più che il loro mangime non assumono, quindi anche questo fa la differenza.

Per illustrare la portata di questa considerazione, mi torna in mente una ricerca relativa a un acido biliare (l'acido ursodesossicolico) usualmente somministrato a soggetti a cui è stata asportata la cistifellea, sede dell'accumulo degli acidi e sali biliari, che servono a emulsionare i grassi alimentari. Questa molecola era elencata da anni nella lista dei farmaci teratogeni³, pertanto la donna che in gravidanza manifestava l'ittero non poteva prendere questo farmaco e alla fine il feto moriva (perché l'ittero è pericoloso per lo sviluppo fetale, provoca danni cerebrali, danni letali...). Mi fu commissionato di fare un aggiornamento sulla teratogenicità, la cui determinazione afferiva ai primi studi fatti negli anni '70 proprio a Genova. Perciò andai a intervistare il collega, il quale mi confermò che – all'epoca era appena laureato – aveva dato l'acido biliare alla topina e alla ratta incinte e avevano riscontrato effetti teratogeni nella progenie. Di lì era stato deciso che questo sale biliare non andava dato alla donna gravida che non aveva più la cistifellea, ma il problema era che se le veniva l'ittero, si presentava un alto tasso di mortalità fetale o, alla nascita, gravi segni di

prematurità fetale, soprattutto a livello cerebrale. Dunque, dovevo occuparmi dell'aggiornamento commissionatomi (eravamo nel 2011), per stabilire se fosse ancora dimostrata o no la sua teratogenicità. Setaccio la bibliografia online, e scopro che proprio un paio d'anni prima ginecologi australiani e neozelandesi avevano dato alle donne in gravidanza questo tipo di acido e i bambini nascevano sani. E quindi in Australia e in Nuova Zelanda l'avevano tolto dalla lista dei teratogeni e invece in Europa e in America il suo uso era ancora tabù.

Lo relazionai per la ditta committente, che me ne domandò una spiegazione. Allora: un sale biliare serve a che cosa? Serve a emulsionare i grassi, e noi abbiamo un tipo di alimentazione che lo richiede, ma il topo e il ratto non mangiano i grassi, non mangiano il fritto misto o l'insalata con l'olio, quindi se gli diamo qualcosa di cui non ha bisogno, ecco che poi potrà venire fuori un effetto teratogeno. Questo, in soldoni, ciò che feci emergere nella mia relazione. La mia fu una ricerca fatta interamente online, eppure mi permise di risolvere una questione: quel sale biliare non doveva più essere considerato teratogeno e permetteva di salvare madre e figlio nel caso di ittero. Invece all'animale non serviva e per questo gli causava un problema: per fare un paragone, è come se ti dessi un farmaco antipertensivo ma tu non ne hai bisogno, hai la pressione a posto: se lo assumi, qualcosa ti fa, come minimo ti viene un collasso. È questo il principio. Quindi, gli esperimenti fatti negli animali è chiaro che qualche effetto strano lo daranno, come in questo caso in cui gli animali non hanno necessità di assumere questo sale biliare, o poco, perché non hanno un'alimentazione così ricca di grassi come la nostra.

Ma perché in Australia e Nuova Zelanda l'hanno tolto dalla lista dei teratogeni?

Perché hanno visto che all'atto pratico non creava problemi nei neonati. Oggi anche in Italia l'acido ursodesossicolico è il farmaco di prima scelta in caso di ittero in gravidanza.

Ma allora vuol dire che alle gestanti con ittero lo somministravano lo stesso anche se nei topi e nei ratti era dannoso, era teratogeno? Anche questa mi pare un'informazione importante!

Sì... probabilmente qualche ginecologo avrà detto "Sì, ho visto cosa fa nel topo e nel ratto, ma io provo a darglielo perché questa donna rischia di perdere il bambino", e poi i bambini nascevano sani, anzi, nascono sani, con l'indice di Apgar (indicatore dello stato di salute del bambino appena nato) normale; evidentemente, ginecologi che non hanno creduto granché al modello animale. E per fortuna!

Questa sfiducia nei modelli animali, una sana sfiducia, è in continua crescita, nel senso che ci sono sempre più prove e documenti della non trasferibilità ai pazienti umani. Ciò che manca è una proporzionale crescita di fiducia nei modelli non animali, nonostante questi siano in continua crescita e miglioramento. È un problema soprattutto italiano. **Un problema di immobilismo e di scarsa collaborazione tra ambiti di competenze.** All'estero per fortuna non è così. Ma rischiamo di rimanere indietro, e anche di perdere i nostri ricercatori più innovativi, che vanno a cercare altrove il tipo di ricerca che da noi gli è preclusa, come ha fatto una delle mie ex allieve.

Perché questo immobilismo, secondo lei?

C'è ancora difficoltà a convertire le persone che hanno paura a cambiare i protocolli. Uscire dal protocollo, lo vedo anche nel mio Istituto, suscita la paura di sbagliare. Cioè, è la mentalità del "se mia mamma faceva il ragù in quel modo, io continuo a farlo così". Allora io comincio a far osservare che la pentola... le vecchie pentole di terracotta o peggio di alluminio non vanno bene. Ma... "No, mia mamma usava questa...". Ecco, è la stessa cosa, anche con colleghi più giovani di me. Bisogna riuscire a combattere questi [preconcetti](#).

Il mio motto invece – per me e per i miei allievi - è sempre stato «**La miglior ricerca è quella che farò domani**». Bisogna cercare sempre di andare avanti, di aggiornarsi, cosa che non è sempre facile, eppure le nuove strade sono aperte. E in questo campo si rivelano [migliori di quelle vecchie](#) e più precise e predittive. Senza contare che i principali problemi di salute umana sono tutti lì in attesa di risposta, come le malattie neurodegenerative, che dopo anni di studi su topi scimmie e quant'altro, sono senza cure, e la cui presa in carico è solitamente sintomatica, palliativa e multidisciplinare.

I tempi sono molto cambiati. Quando ho cominciato io, e ancora 10-15 anni fa quando è andata in pensione Margherita Ferro, la nostra maestra (mia e di Susy Penco), che credeva fermamente nei modelli in vitro, le sue idee purtroppo erano considerate troppo pionieristiche; invece oggi la ricerca è davvero molto avanti, **adesso è proprio il momento del grande salto**, bisogna che la gente capisca.

Ma se la vediamo come un piano inclinato, siamo già a un punto in cui fra poco si inclina del tutto e va giù, verso la ricerca senza animali, o siamo ancora molto molto per aria, secondo il suo punto di vista?

Secondo me forse un po' si sta abbassando. Vedo per esempio gli sviluppi rapidi e promettenti dei modelli allestiti da **bioingegneri**: stanno facendo veramente tantissimo, l'importante è creare questi gruppi di lavoro sempre interdisciplinari, perché nessuno di noi è omnicompetente. L'ultimo finanziamento che abbiamo ricevuto l'abbiamo vinto per due progetti (di tossicologia in vitro) che comportano la partecipazione del biologo, del fisico, del chimico, geologo, ecc.. Ognuno mette le proprie competenze al servizio degli altri, e i bioingegneri sono secondo me il trait d'union fra tutti noi perché loro a domanda rispondono concretamente (producendo modelli), e lo fanno con risposte flessibili che modificano continuamente secondo le richieste e i problemi che gli vengono sottoposti. Per esempio, noi senza i bioingegneri di Pisa, non avremmo mai messo su il nostro modello importante di glaucoma. L'oculista aveva descritto il problema a me e al bioingegnere, che aveva un modello che poteva in parte rispondere alle richieste. Questa collaborazione è preziosa perché la piattaforma in vitro può essere migliorata, a seconda della problematica che si deve affrontare.

Prendete ad es. [Tommaso Sbrana](#), l'allievo della Prof. [Arti Ahluwalia](#), bioingegnera dell'Università di Pisa, il quale adesso con la sua ditta (*IVTech srl*) costituisce una realtà importante. Per esempio, lui ha coniato un termine "5D", che significa mettere insieme dei tessuti diversi. Quanta strada è stata fatta rispetto alle colture bidimensionali, eppure, quanti pensano ancora a quelle, quando sentono parlare di colture cellulari!

Si è passati alla coltura 3D, che è quella tridimensionale.

Poi alla 4D, che si ha quando immetti una cosa in più, cioè immetti un sistema per far circolare il terreno di coltura, che quindi simula ciò che succede in vivo, e di fatto noi abbiamo visto la differenza di risposta. Perché se io tengo le cellule dentro una capsula (anche se sono in 3D), dopo 24-48 ore, o 72 al massimo, muoiono; ma se invece il terreno lo faccio circolare, glielo metto sempre fresco, allora sopravvivono per settimane: e quello è il 4D.

Il 5D si ha quando aggiungi a questa piattaforma cellule di un altro tessuto/organo, cioè metti in comunicazione i due sistemi attraverso la circolazione del terreno di un tipo cellulare con un altro tipo di cui so che fisiologicamente hanno interazioni – per esempio metto insieme cellule di trabecolato oculare (del nostro modello di glaucoma) con cellule nervose – allora vedi altri effetti, altri risultati.

E l'allungamento dei tempi è fondamentale: i disturbi della maculopatia, o i disturbi del glaucoma (per continuare con lo stesso esempio), compaiono col passare del tempo in seguito a esposizioni pregresse e al fatto che le cellule non sono morte, ma in qualche modo cercano di 'difendersi', però intanto vanno verso un processo degenerativo o ancora peggio possono andare verso il tumore (una cellula tumorale è una cellula che ha imparato a diventare eterna quindi che ha resistito ai cancerogeni: i cancerogeni sono tossici, le cellule che resistono mettono in atto un meccanismo che alla fine poi le fa diventare cellule eterne).

Anche quando c'è un **esperimento d'applicazione di uno stimolo stressante alle cellule**, non ci si può basare su quello che succede nelle 24 ore, perché se io mi ammalo per essermi esposta a una sostanza, non muoio immediatamente (a meno che non sia la centrale nucleare di Chernobyl o situazione affine), se nella vita reale sono esposta a questa sostanza, non lo sono tutti i giorni 24 ore su 24! Quindi, quando testo le sostanze devo usare concentrazioni sub-tossiche per vedere l'effetto nel tempo: un processo degenerativo, un tumore comparirà dopo un po', perché queste cellule si adattano allo stress. Sul fenomeno dell' **adattamento delle cellule**, ho un esempio letteralmente illuminante, che imparai da un tossicologo spagnolo: (agli inizi della biologia molecolare, anni '90) ci fece vedere i primi *micro array*, che sono delle piccole membrane dove hai tanti spot, cioè tante macchie diciamo, relative a tante attività enzimatiche, proteine. Ci mostrò come grazie a questa tecnologia, con poco materiale si poteva vedere quello che succede nelle varie ore; fece vedere proprio questo: che nelle prime ore la cellula è "spaventata", e accende tanti segnali, poi molti di questi segnali si spengono perché la cellula ha imparato che cosa veramente le serve. E lui fece questo esempio: è come quando in casa senti un rumore. Che cosa fai? Accendi tutte le luci, vai a vedere in tutte le stanze ... poi scopri che in bagno non c'è nessuno, spegni; anche di là non c'è nessuno e spegni, e lasci accesa che so, solo la luce del giardino, e la cellula fa lo stesso. Ed è appunto ciò che abbiamo visto anche nel nostro modello bioingegnerizzato di glaucoma.

Il futuro dunque dipende dalla bioingegneria?

Serve comunque collaborazione interdisciplinare. I bioingegneri stanno facendo grandi cose, ma hanno bisogno del biomedico che gli dà degli input, dei suggerimenti su come sfruttare il loro modello. Per esempio, il bioingegnere ti mette su il modello e poi ti dice, "ok, io ti ho simulato un muscolo". Poi tocca al biomedico dire: "Simuliamo la condizione di mancanza di ossigeno?". In effetti, con quel sistema dei bioreattori – l'ing. Sbrana lo fa vedere spesso nelle sue presentazioni – il muscolo scheletrico messo in condizioni statiche poi degenera, invece in condizioni dinamiche col terreno che circola rimane uguale all'istologico di un muscolo vero funzionante. Abbiamo visto modelli bellissimi come questo, al [meeting del Centro 3R a Milano](#).

E poi c'è stato un gruppo che ha fatto vedere perfino il battito cardiaco con cellule muscolari cardiache, bellissimo.

E ho visto il lavoro di un gruppo che sta facendo il modello della barriera ematoencefalica, che noi volevamo incominciare a fare anni fa ma poi ci siamo accorti che non avevamo abbastanza soldi e quant'altro, invece questi ragazzi ci stanno lavorando.

Ora si tratta di diffondere il verbo, di far capire che ci sono queste nuove metodologie. Guai se invece dici "No, io ho paura, non voglio partire con cose nuove, ho paura di non farcela, ho paura che sia costoso, o peggio di scoprire risultati diversi da quelli che ho ottenuto con il modello animale..." Invece mantenere animali e stabulari costa molto di più. Tutto sta a partire, a uscire dall'immobilismo.

Ancora una domanda: come si deve chiamarli questi nuovi modelli? “Sostitutivi”? “Alternativi”?
Addirittura solo “complementari” come pretenderebbero i fautori della sperimentazione su animali?
“NAMs”?

Neanche l’etichetta NAMs basta a fare chiarezza e a uscire dall’ambiguità. Ma facciamo un passo indietro: in realtà **nessun modello animale è stato validato**, questo è un altro concetto importante da non dimenticare mai, mentre **invece i modelli in vitro, per essere utilizzati in accordo con i regolamenti internazionali, sono validati**. Il che vuol dire per esempio che io ti metto a disposizione questo protocollo, tu lo segui fedelmente usando il modello della MatTek o [Episkin](#) per esempio, per l’irritazione cutanea o oculare, con sostanze di controllo (positive o negative) devi ottenere un risultato identico a quello indicato. In questo modo, si testa un composto di cui non si conosce il potenziale tossico, in parallelo a un composto noto positivo e negativo, sono sicura che il dato che ottengo sarà veramente predittivo di rischio o meno per la salute umana (la crisi invece per la riproducibilità dei modelli animali è stra-nota).

I NAM non sono complementari all’animale, sono proprio **modelli diversi**, per cui non chiamiamoli sostitutivi e nemmeno alternativi: sono **“modelli non animali”** punto.

Perché mai dovrebbe interessarci fare paragoni col topo e il ratto? Non ha proprio alcun significato logico. E dunque non si devono chiamare alternativi o sostitutivi perché questo richiama il paragone col topo. Invece sono metodi-non-animali. Non mi interessano il topo o il ratto; se ciò che cerco è qualcosa per l’uomo, guardiamo l’uomo, l’evidenza clinica, la patologia, il malato, il paziente. Visto che le patologie e i meccanismi con cui si innescano gli effetti collaterali sono abbastanza noti, perché studiati in vivo nell’uomo, allora cerchiamo di ricreare questo ambiente.

I NAM sono **Modelli Non Animali**, è questa la dicitura più appropriata e chiara.

Le parole contano, come dice sempre Susy Penco, e bisognerebbe almeno intendersi sul significato delle parole in uso, ma invece c’è una bella confusione, leggetevi per esempio [questo articolo](#) dove appunto si dice che abbiamo bisogno di una definizione coerente di NAM, che adesso non è coerente per niente. [QUI](#) la versione italiana dell’articolo, sul sito di OSA.

La confusione nasce innanzitutto dai margini nebulosi di riferimento alle 3R: infatti, ci sono differenze sostanziali a seconda che vengano chiamate “NAM” le metodologie che rimpiazzano i modelli animali secondo la prima R (*Replacement*), o che invece vengano incluse anche le strategie delle altre 2R, cioè la *Reduction* e il *Refinement* cioè il perfezionamento delle condizioni di stabulazione e sperimentazione miranti a ridurre la sofferenza degli animali. In parole povere, la R del *Replacement* prevede la sostituzione e dunque l’abbandono dei modelli animali, mentre le altre 2R li usano ancora. Quell’articolo documenta come la confusione sia messa in moto dalle definizioni e dall’uso dell’acronimo “NAM” da parte dell’ [EPA \(Environmental Protection Agency\)](#), della FDA (*Food and Drug Administration*) e dell’ NIH (*National Institutes of Health*).

Questa fumosità – che c’è anche da noi – è problematica per tutti, perché è d’ostacolo alle parti interessate – coloro che operano in campi correlati, i politici e il pubblico – quanto al poter accedere facilmente alle informazioni disponibili sui metodi di test rilevanti per l’uomo. Perfino chi già conosce e lavora con metodi non animali può essere messo fuori strada perché esistono pubblicazioni sottoposte a revisione paritaria che utilizzano tutte le versioni dell’acronimo NAM. Figuriamoci i non addetti ai lavori: può esserci chi è interessato a imparare metodi non animali perché è contrario, per motivi etici o scientifici, all’uso di animali nella ricerca. Oppure può esserci chi voglia anche solo informarsi su quali metodi vengono utilizzati e sviluppati per sostituire gli animali. Perciò anch’io sostengo, come concludono in quell’articolo, che “Versioni multiple dello

stesso acronimo ostacolano il progresso creando barriere inutili per coloro che sono interessati a conoscere tecnologie innovative che ci aiutino ad allontanarci dalla sperimentazione animale. (...) quando coloro che sono esperti in questo ambito non sono in grado di utilizzare un acronimo o una definizione coerente, ciò lo rende ancora più difficile per i nuovi arrivati nel campo. Una definizione standardizzata di NAM è fondamentale per promuovere l'accessibilità e l'educazione sulla ricerca rilevante per l'uomo".

Per concludere, c'è qualcosa che vorrebbe trasmetterci, un messaggio finale che sottolineerebbe, qualcosa che è sfuggito alle mie domande?

Potrei concludere come ho concluso al meeting del centro 3R a Milano, il 13 settembre scorso, dove ho presentato un intervento dal titolo «*Nuovi Approcci Metodologici senza animali nella valutazione della sicurezza normativa per il pericolo di rischi: **una lezione dal divieto di utilizzo degli animali nei test cosmetici***». Ho ripercorso la storia, irta di ostacoli sia pratici che giuridici, degli enormi progressi fatti nella cosmetica, mostrando come questo sia stato possibile (solo) quando la società e la comunità scientifica hanno messo in questione le prestazioni complessive, la sostenibilità, la pertinenza e l'etica del sistema tradizionale di test su animali. Ne è derivato un **cambiamento di paradigma** che dalla messa al bando dei test animali in poi è proseguita sempre più velocemente con la messa a punto e approvazione di NAMs sempre più precisi e perfezionati. Ma questo riguarda ed è possibile solo in ambito cosmetico? No, però questo richiede... Be', questo può essere l'inizio di un'altra intervista o un altro articolo, riparliamone pure. Qui serve una chiusa e direi che può essere l'esortazione a uscire dall'immobilismo anche in ambito biomedico: **l'inazione non è un'opzione!**

*Intervista a cura di Federica Nin
26 marzo 2024*

Note:

1. Gli alleli sono diverse versioni di un gene che si trovano in posizioni specifiche su cromosomi omologhi. Ogni individuo eredita due copie di ciascun gene, una dal genitore materno e una dal genitore paterno. Gli alleli possono essere uguali (omozigoti) o diversi (eterozigoti), e determinano le caratteristiche ereditarie di un individuo, come il colore degli occhi o il gruppo sanguigno. In sostanza, gli alleli sono le varianti genetiche che contribuiscono alla diversità tra gli individui della stessa specie.
2. Un epatoma è un termine generico utilizzato per indicare un tumore che si sviluppa nel fegato.
3. Teratogeno: che può causare anomalie o malformazioni fetali