



Ricerche e testo di
Adrian Stallwood

SCIENZA CORROTTA

Il mondo da incubo dei topi geneticamente modificati

Questo Rapporto mette a nudo, per la prima volta, la vera portata e la scandalosa natura di ciò che avviene nei laboratori con i topi GM: una disfatta per l'uomo e per la buona scienza

SCIENZA CORROTTA

Il mondo da incubo dei topi GM



Inchiesta e testo

di **Adrian Stallwood**

Adrian Stallwood si è laureato in medicina nel 1995 presso la St. Bartholomew's Hospital Medical School di Londra. È specializzato in medicina d'emergenza-urgenza e insegna medicina clinica agli studenti della Cardiff University. Vive con la sua famiglia nel Pembrokeshire.

Vedi anche il video **Science Corrupted** che documenta alcuni degli esperimenti di cui si parla in questo rapporto

<<http://www.animalaid.org.uk/GMmice>

Publicato per gentile concessione di Animal Aid, The Old Chapel, Bradford Street, Tonbridge, Kent, TN9 1AW
info@animalaid.org.uk
www.animalaid.org.uk

Traduzione dall'inglese e editing a cura di Vanna Brocca per Leal/Stop Vivisection

STAMPA
Grafiche
Parole Nuove srl
via Garibaldi 58
20047 Brugherio.
Novembre 2014

CONTENUTI

IN BREVE	1
INTRODUZIONE	3
SEZIONE 1 – I TOPI CONTANO	5
SEZIONE 2 – BREVE STORIA DELLA MANIPOLAZIONE GENETICA DEI TOPI	7
Il linguaggio della genetica e la manipolazione genetica degli animali	7
La storia dei topi da laboratorio	7
I primi passi della manipolazione genetica	9
Il sequenziamento del genoma	9
I programmi di mutagenesi del topo	9
Un topo GM per ogni malattia	10
SEZIONE 3 – L'UTILIZZO DI TOPI GM NEL REGNO UNITO	11
I principali utilizzatori e allevatori di topi GM	11
SEZIONE 4 – CREAZIONE E ALLEVAMENTO DI UNA COLONIA DI TOPI GM	12
La creazione dei topi GM	12
Microiniezioni nel pronucleo	12
<i>Gene targeting</i> nelle cellule staminali embrionali	13
Creazione e mantenimento di colonie GM	13
SEZIONE 5 – LA SOFFERENZA DEI TOPI GM	15
La sofferenza dei topi GM nella fase di creazione	15
La sofferenza dei topi GM nella fase di riproduzione e mantenimento delle colonie	16
La soppressione di milioni di animali "di scarto" durante la riproduzione	16
"Fenotipi sofferenti" – programmati per soffrire pene atroci	17
"Effetti collaterali" angoscianti e letali della manipolazione genetica.....	18
I topi GM come soggetti sperimentali – sofferenza e morte traumatica	20
La "normale" sofferenza dei topi nella vita di laboratorio e durante il trasporto	23
Violazioni ufficiali e inchieste sotto copertura	23
SEZIONE 6 – I MODELLI DI TOPO GM E IL LORO FALLIMENTO IN CAMPO MEDICO ..25	
Perché i topi GM non aiutano lo sviluppo della medicina umana.....	26
L'incapacità di predire che cosa succederà agli esseri umani	28
La malattia di Alzheimer	28
Le malattie cardiovascolari	30
Il cancro	31
Le malattie respiratorie	34
La necessità di un maggiore controllo pubblico	34
SEZIONE 7 – COME RENDERE INVISIBILI MILIONI DI TOPI GM: LA PRESSIONE DELLE LOBBY INDUSTRIALI	35
La spinta alla deregulation	35
CONCLUSIONE Un immane, inutile, crudelissimo sperpero di denaro	37
RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI	38

“... è un settore sperimentale che continua a produrre farmaci inefficaci e trial clinici disastrosi, lasciando inevase le immense speranze di guarigione di centinaia di migliaia di malati e di chi si prende cura di loro...”

IN BREVE

Il numero di topi geneticamente modificati (GM) che vengono creati, allevati, utilizzati e uccisi nella sperimentazione animale ha raggiunto proporzioni inimmaginabili. Si tratta di cifre in continuo aumento sia nel Regno Unito sia nel resto del mondo.

Sensibili e vulnerabili, milioni di topi vanno incontro ogni anno a un'infinita catena di sofferenze. Esse cominciano con le procedure altamente invasive necessarie per creare nuove linee di animali GM, proseguono nelle fasi del mantenimento delle colonie e degli esperimenti in sé, e si concludono con una morte traumatica. Il livello di sofferenza è incomparabilmente più intenso di quello inflitto in qualsiasi altra area di sperimentazione. Come se non bastasse, si sa che utilizzare topi GM per riprodurre le patologie umane non ha aperto la strada ad alcun significativo avanzamento medico. E' un settore sperimentale che continua a produrre farmaci inefficaci e trial clinici disastrosi, lasciando inevase le immense speranze di guarigione di centinaia di migliaia di malati e di chi si prende cura di loro.

Scienza corrotta raccoglie numerose testimonianze di esperti, articoli di ricerca e analisi critiche, soffermandosi in particolare sui seguenti aspetti:

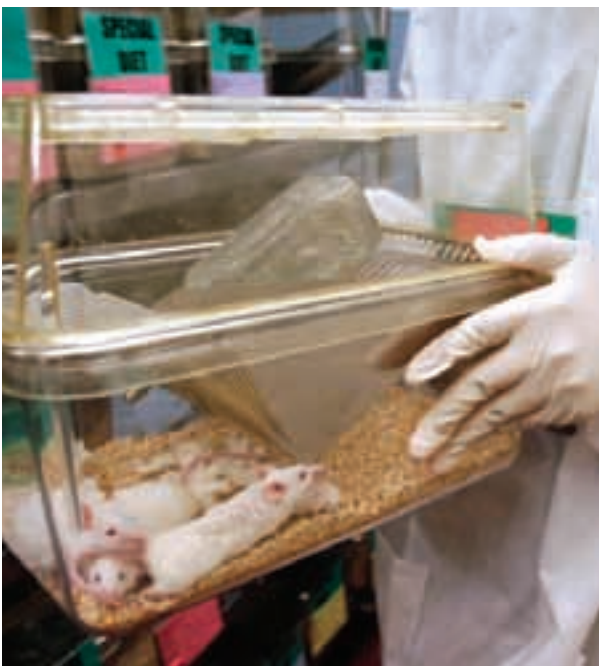
- I topi sono piccoli mammiferi intelligenti e complessi, che sperimentano la sofferenza in modo paragonabile agli esseri umani. La loro vita emotiva comprende una molteplicità di affetti quali l'eccitazione, il piacere per i contatti sociali, l'empatia per i propri simili ma anche la paura e la disperazione. Le gabbie dei laboratori nelle quali vivono e muoiono rappresentano un ambiente ostile ed alieno, pieno di fattori stressanti.
- Il ricorso ai topi come “strumenti” di ricerca e sperimentazione risale all'inizio del secolo scorso, quando nacquero negli Stati Uniti i primi laboratori che li utilizzavano in modo esclusivo su grande scala. I topi sono diventati molto popolari come oggetto di sperimentazione perché sono facili da allevare e da stipare in poco spazio non per via di somiglianze genetiche con l'uomo.
- L'ultimo decennio ha registrato un ulteriore drammatico aumento nell'uso dei topi geneticamente modificati. Diversi consorzi multinazionali hanno creato migliaia di nuove linee tentando di realizzare “modelli murini” per quasi ogni tipo di patologia umana, inclusi l'Alzheimer, le cardiopatie, le malattie polmonari e l'obesità. Nel 2011, nel Regno Unito sono stati avviati oltre 1,85 milioni di esperimenti su topi il cui corredo genetico era stato alterato (topi geneticamente modificati e topi con mutazioni dannose spesso indotte



con l'uso di veleni). Oggi le Università realizzano molti più esperimenti sugli animali di tutti gli altri settori messi assieme.

- Le due categorie di topi più utilizzate sono i topi “transgenici” e i topi “knockout”. Gli animali transgenici sono quelli modificati con l'inserimento di un gene proveniente da un altro organismo. Gli animali knockout sono quelli nei quali vengono “silenziati” uno o più geni. In base a ipotesi altamente speculative, sono state indotte mutazioni del tutto casuali in altri milioni di topi tramite intossicazione chimica.
- Le due tecniche più comunemente usate per creare nuove linee di topi geneticamente modificati (GM) sono le microiniezioni di Dna nel pronucleo e la sostituzione mirata di frammenti di Dna (gene targeting). Entrambe comportano diverse procedure invasive e dolorose, ivi incluse complesse operazioni chirurgiche, castrazione e mutilazione delle orecchie o della coda. Come se non bastasse, trattandosi di procedure intrinsecamente imprecise, comportano la morte di centinaia di animali per produrre un solo “capostipite”.
- La maggior parte delle procedure realizzate per ottenere mutazioni e organismi GM sono rozze e imprevedibili, e registrano un'altissima percentuale di fallimenti. Molti topi muoiono per via di gravi “effetti collaterali”. Sono stati creati topi che sanguinano a morte ancora *in utero*. Molti dei piccoli che sopravvivono alla nascita soffrono di idrocefalia, palatoschisi o altre gravi deformazioni del capo e devono essere soppressi prima che muoiano di fame. Altri muoiono soffocati per l'ostruzione delle vie respiratorie o perché hanno polmoni non abbastanza sviluppati; altri ancora soffrono di gravi anomalie organiche oppure muoiono di disidratazione per l'insufficiente sviluppo del tessuto epiteliale. Alcuni topi obesi sono così pesanti che cadendo sulla schiena non riescono più a raddrizzarsi. Altri topi, infine, sono stati accidentalmente creati privi di arti e con il muso deforme.

- Il successivo mantenimento di una determinata colonia di topi GM per soddisfare le richieste degli sperimentatori è un processo né semplice né indolore. Comporta la manipolazione dei cicli riproduttivi, del comportamento, delle condizioni di vita e dello stato di salute di milioni di animali. Soppressioni di massa programmate si rendono necessarie per garantire che le colonie restino “produttive”. Ogni anno nel Regno Unito a milioni di topi “eccedenti” o “di scarto” viene crudelmente spezzato il collo oppure vengono gassati con il biossido di carbonio.
- Vengono creati topi con “fenotipi dannosi”, destinati a manifestare dolorose o angosciose alterazioni dello stato fisico e mentale. Esistono topi progettati per sviluppare patologie circolatorie letali, colpiti da gonfiore generalizzato e dispnea prima di morire. Altri soffrono di tumore. I topi che nascono afflitti da epilessia muoiono entro la decima settimana di vita, stremati dai continui attacchi, dalla malnutrizione e dalla concomitante disidratazione. I topi usati come modelli di patologie neurologiche soffrono di tremori e perdono il controllo dei propri movimenti. Sono stati progettati topi disturbati al punto da mordere se stessi ferendosi persino al muso, altri sono afflitti da un’ansia così acuta che tentano perennemente di nascondersi.
- In molti casi, i topi GM vengono sottoposti a ulteriori operazioni chirurgiche, avvelenamenti, diete innaturali, traumi e stress psicologici. Ci sono topi che ricevono scosse elettriche attraverso terminali inseriti nei vasi sanguigni del cervello, topi costretti a inalare il fumo delle sigarette, topi il cui cuore può cedere da un momento all’altro in seguito ad attacchi provocati artificialmente, e topi che muoiono in seguito alle incessanti crisi epilettiche



indotte tramite iniezioni di acido nell’addome. Ci sono esperimenti psichiatrici nei quali i topi vengono chiusi in cilindri pieni di acqua e si aspetta che smettano di nuotare avendo perso ogni speranza di restare a galla. Altri test prevedono che siano deprivati dell’acqua da bere o sottoposti a scosse elettriche, che madri e figli vengano separati e lasciati squittire per l’angoscia, che subiscano l’inserimento di sonde anali, che vengano esposti a predatori; che il loro olfatto sia distrutto per via chirurgica, provocando così terrore cronico e smarrimento.

- Gli allevamenti di topi GM ospitano un grandissimo numero di animali rendendo molto frequenti i casi di incuria o incompetenza da parte degli addetti. Esempi tratti da inchieste realizzate sotto copertura o pubblicati nei rapporti del Home Office ci descrivono topi che vengono annegati, uccisi mediante surriscaldamento, lasciati morire di fame, abbandonati negli scanner, utilizzati per esercitazioni di taglio e sutura.
- I modelli di topi GM rappresentano un approccio alla salute umana scientificamente mediocre per diversi motivi: perché non tengono conto delle insormontabili differenze inter-specie e della complessità del corredo genetico; perché fanno affidamento su modelli di malattia inaccurati e fuorvianti; perché vengono in larga misura trainati dalla ricerca di base, fondata su null’altro che la “curiosità” dei ricercatori.
- E’ difficile reperire testimonianze concrete sull’utilità dei modelli di topi GM mentre il loro fallimento è palese per quanto riguarda il cancro, l’Alzheimer, le patologie cardiocircolatorie e quelle respiratorie, che sono le più importanti cause di sofferenza e mortalità dell’uomo. Si può dunque affermare con sufficiente sicurezza che la sperimentazione sui topi GM ha sottratto ingenti finanziamenti a metodi di ricerca più umani e promettenti per contrastare l’impatto delle malattie che affliggono gli esseri umani.

Le conseguenze che ne trae *Scienza Corrotta* sono che la manipolazione genetica dei topi si sta rivelando un’impresa tanto costosa quanto crudele, un’immensa fonte di sperpero, le conseguenze del quale ricadono in eguale misura sui pazienti umani e sugli animali.

Le statistiche annuali del Home Office illuminano solo una frazione della reale sofferenza inflitta ai topi nel corso di questa vanagloriosa impresa. Soppressi in modo violento in quanto “eccedenze”, a milioni di topi non viene neppure accordata la dignità di un riconoscimento statistico. E la stessa sorte toccherà in futuro ad altri milioni di topi GM con fenotipi giudicati “non-sofferenti”. Come se non fossero mai esistiti. *Scienza Corrotta* è il primo passo di una campagna destinata a rendere visibile la loro immensa sofferenza e a far sì, in ultima istanza, che essa abbia termine.

INTRODUZIONE

Il desiderio di liberare l'umanità da imperfezioni e malattie ha dato luogo, nel corso dei secoli, a importanti iniziative sul terreno della salute pubblica e ci ha regalato scoperte mediche decisive - ma ci ha spinti anche a misure estreme e disperate. Gli esempi spaziano dai chirurghi medievali armati di magie e ferri roventi ai fautori dell'eugenetica dei primi decenni del XX secolo, convinti che fosse possibile purificare il corredo genetico dell'uomo impedendo ai disabili e ai deboli di mente di riprodursi.

La stessa ambizione persiste ai nostri giorni, come pure la convinzione che i crudeli eccessi del passato non avranno modo di ripetersi. La storia - pensiamo - ci ha reso saggi, e i potenti mezzi di cui ora disponiamo non verranno utilizzati senza il consenso della società.

Al cuore del moderno progetto di liberazione dalla malattia c'è il Dna, la molecola dove si trovano le istruzioni che presiedono allo sviluppo e al funzionamento di tutti gli organismi viventi conosciuti. Gli specialisti possono leggere e manipolare il Dna fino al punto da riconfigurare la vita stessa. Ci dicono che sono in grado di produrre "modelli murini" su misura capaci di funzionare come accurati surrogati degli esseri umani colpiti da malattia. E che le cure per il cancro, l'Alzheimer, il morbo di Parkinson, le malattie cardiache, l'epilessia e altre patologie ancora sono a portata di mano.

Ma come rivela questa inchiesta - unica nel suo genere e rigorosamente fondata su dati di prova - la rivoluzione dei topi GM non ci sta affatto portando alla Terra Promessa. Questo perché il progetto si basa sulla falsa premessa scientifica che i modelli animali possano efficacemente sostituire studi specie-specifici per l'uomo, cosa non vera. A ciò si aggiunge l'atroce trattamento inflitto a quegli stessi "modelli di malattia". Il grado e la portata della sofferenza che viene inflitta ai topi sono a dir poco ripugnanti. Traendo le nostre informazioni dai documenti che i ricercatori pubblicano sulle riviste specializzate, riportiamo i casi di animali geneticamente programmati per morire a causa delle continue crisi epilettiche o per violente emorragie interne dovute alla rottura di un'arteria. Altri non riescono a smettere di leccarsi strappandosi la pelle a brani la pelle o mordono fino a straziarli i propri compagni di prigionia. Per molti topi, il tormento procurato dalla progettazione genetica non è che l'inizio. Poi vengono gli esperimenti, un settore nel quale i ricercatori GM si dimostrano oltremodo creativi.

Le femmine di topo GM vengono avvelenate con il sale per indurre un ictus e patiscono i disturbi più diversi prima di morire di emorragia cerebrale. Per gli studi sulla depressione i topi vengono messi in un contenitore di acqua fredda e osservati per diversi minuti mentre, nel frenetico tentativo di salvarsi dall'annegamento, passano dalla disperazione al senso di sconfitta e infine all'immobilità. Nei "modelli di epilessia" gli attacchi vengono provocati lanciando velocemente e ripetutamente gli animali in aria. Con altri topi viene raggiunto lo stesso effetto con iniezioni di sostanze chimiche nell'addome. Alcuni di questi ultimi muoiono a causa di convulsioni ininterrotte. Altri topi GM vengono privati dell'acqua o esposti a predatori, subiscono sonde rettali ed elettroshock.

Ha importanza tutto questo? Meritano considerazione i topi, non essendo altro che roditori? E ancora: se ciò che

abbiamo descritto portasse all'uomo rilevanti benefici, non basterebbe a controbilanciare la sofferenza dei topi? La risposta al primo quesito si trova in apertura della nostra inchiesta. I topi saranno anche piccoli, ma la loro capacità di soffrire è sviluppata al pari di quella di qualsiasi altro mammifero, uomo compreso.

La risposta al secondo quesito rimanda invece al titolo del nostro rapporto: *Scienza Corrotta*. Riteniamo infatti che l'uso deliberato di tali e tante macabre crudeltà - nel solo Regno Unito milioni di topi GM vengono allevati, smaltiti, utilizzati negli esperimenti - sia un potente fattore di corruzione della cultura che le autorizza e le approva.

Ma anche se dovessimo giudicare l'impresa dei topi GM sulla sola base della convenienza, neppure in questo caso supererebbe l'esame. Una lettura spassionata della letteratura scientifica dimostra che la rivoluzione dei topi GM non dà i risultati cercati. Né potrebbe farlo. I topi possono anche condividere con gli esseri umani l'80% dei geni, ma le modalità con le quali funzionano e vengono espressi sono chiaramente diverse. Perciò, aggiungere o eliminare un gene o due (le principali alterazioni inflitte ai topi GM) non conduce i lavoratori del settore là dove vorrebbero andare. Per quanto importanti, i geni rappresentano una minuscola frazione (circa il 2 per cento) del Dna che governa lo sviluppo e il funzionamento di un individuo. Tempo fa, i ricercatori consideravano priva di valore la porzione di Dna non organizzata in sequenze di geni. Ora, al contrario, riconoscono che la regolazione dell'espressione genica è fondamentale ... benché ancora misteriosa nella sua essenza.

I topi non sono surrogati affidabili delle malattie umane anche per altri motivi. Uno di questi è che i ricercatori non sono in grado di riprodurre nei modelli animali condizioni patologiche simili a quelle dei pazienti umani. Un altro è che è impossibile predire se le terapie e i farmaci sperimentati sui topi funzioneranno allo stesso modo nell'uomo.

Non c'è da stupirsi, quindi, se un lungo elenco di possibili farmaci sperimentati con successo sui topi GM si sono poi rivelati inutili o dannosi quando sono stati testati su individui malati di Alzheimer, cancro, morbo di Parkinson e patologie cardiovascolari.

Una figura chiave nello sviluppo industriale del modello murino di malattia è stato Clarence Cook Little (1888-1971). Little era un genetista specializzato in oncologia che all'inizio della sua carriera allevò e vendette migliaia di topi selezionati per la ricerca sul cancro. Nel 1929 fondò, nel Maine, il Jackson Laboratory, che nel 1944, sotto la sua costante direzione, consegnava ogni settimana 9.000 topi ad altri laboratori. Oggi il Jackson Laboratory ha 1.400 dipendenti e

offre 5.000 ceppi di topi, per lo più GM, ai centri di ricerca di tutto il mondo.

Little coltivava un altro interesse degno di nota, l'eugenetica.* Nel 1929 (lo stesso anno in cui fondò il Jackson Laboratory) fu nominato presidente della American Eugenics Society (AES). Durante il suo mandato, la AES si battè per la promulgazione di leggi sulla sterilizzazione e la segregazione dei deboli di mente, sostenne la necessità di norme per la segregazione razziale d'un lato e di misure a sostegno della natalità delle famiglie delle classi medie o superiori dall'altro, e chiese programmi di controllo delle nascite per i poveri e i disabili.

Evocando la figura di Little, questo rapporto non intende sostenere che la rivoluzione dei topi GM annunci una nuova era di eugenetica promossa dall'alto, a livello statale. Il moderno progetto di eliminare le debolezze strutturali del genoma umano trae infatti alimento dal desiderio degli stessi consumatori. Ma se è vero che i gravi eccessi degli anni Venti e Trenta del secolo scorso non si ripeteranno, possiamo tuttavia avvertire un eco preoccupante di quei primi tempi nell'ambiziosa frenesia che sostiene il progetto dei topi GM; nella smodata e roboante retorica; e nella crudele indifferenza con la quale i suoi obiettivi vengono perseguiti. E così come dietro l'eugenetica dei primi decenni del secolo scorso c'erano schierate, a sostenerla, importanti forze culturali, intellettuali, politiche e industriali, lo stesso avviene oggi con il "progetto topi GM".

Little e i suoi contemporanei crearono diversi ceppi di topi - ad esempio, topi inclini a sviluppare il cancro o altre patologie - incrociando animali geneticamente imparentati tra loro oppure sviluppandoli a partire da animali che manifestavano utili imperfezioni e/o malformazioni.

Nel 1974, tre anni dopo la morte di Little, fecero la loro comparsa i primi animali transgenici creati con l'inserimento di un gene proveniente da un altro organismo. Poi fu la volta del primo topo "knockout", messo a punto eliminando o "silenziando" un gene del topo medesimo.

Pubblicata nel 2002, la prima bozza di sequenza del genoma del topo diede il via a una massiccia collaborazione internazionale per "silenziare" i 20.000 i geni del topo, uno alla volta, per vedere che cosa ne risultava. Milioni di topi sono già stati uccisi per attuare questo progetto.

La maggior parte dei topi GM vengono tuttora creati con il metodo transgenico o con il metodo "knockout". Ma c'è una terza via: la mutagenesi. I colossali programmi di mutagenesi del topo, sviluppati dagli anni Novanta in innumerevoli centri di ricerca del mondo, sono solo un'ulteriore prova del processo di de-sensibilizzazione che colpisce alcuni sperimentatori di laboratorio, e consente loro di manipolare gli animali come fossero *materiale* insensibile anziché esseri senzienti.

In questi programmi di mutagenesi realizzati nei laboratori di tutto il mondo milioni di topi maschi sono stati sistematicamente avvelenati con iniezioni di sostanze chimiche praticate nell'addome al fine di modificare il loro Dna. Gli agenti chimici erano destinati a danneggiare lo sperma dei topi, in modo tale che quando si accoppiavano, i loro piccoli nascevano con malformazioni casuali, che i ricercatori non erano in grado di predire in anticipo.

La maggior parte di questi topolini nati deformati non avevano alcun interesse agli occhi dei ricercatori come possibili "modelli di malattia". Altri, invece, furono selezionati per creare nuove linee di animali. La percentuale di "scarti" può essere dedotta considerando, ad esempio, che un solo centro del Regno Unito, per salvare 500 topi quali "mutanti" utilizzabili ne "setacciò" ben 26.000. I topi inservibili furono uccisi col gas o spezzando loro il collo.

Qualsiasi sia il metodo utilizzato per produrre topi GM - transgenesi, mutagenesi, knockout - la stragrande maggioranza della progenie vien uccisa. Questo sia perché i topolini nascono con malformazioni non programmate (arti mancanti o deformati, cachessia, idrocefalia, edema cardiaco) sia perché a posteriori la deformità programmata viene giudicata poco interessante. Oppure, molto semplicemente, vengono uccisi perché in soprannumero rispetto alle necessità. Molti di questi topi "spazzatura" non ricevono neppure un minimo riconoscimento burocratico rimanendo esclusi dalle statistiche ufficiali.

Quando abbiamo cominciato a raccogliere il materiale per questo rapporto, prevedevamo di trovare - sulla scorta di quanto generalmente si sa - dati ed esempi molto spiacevoli. Ma la verità che abbiamo scoperto è assai più odiosa e traumatizzante di quanto potessimo immaginare.

Il fatto è che l'industria che produce e fa esperimenti sui topi GM ha creato un universo di ferocia incontrollata, dove le normali considerazioni di ordine morale da cui nascono la compassione e l'empatia non sembrano avere dimora. Fino a questo momento, il discorso pubblico sul tema degli animali geneticamente modificati ha ripreso il "racconto" che ce ne fanno gli sperimentatori stessi. Il loro messaggio è che la rivoluzione dei topi GM è sia moralmente accettabile sia straordinariamente utile per la nostra salute. In questo rapporto noi raccontiamo un'altra verità.

La logica di ciò che riveliamo in queste pagine è semplice: la produzione e l'utilizzo di topi geneticamente modificati non meritano l'appoggio del pubblico

Andrew Tyler, direttore di Animal Aid

Vedi anche il breve filmato *Science Corrupted*, che mostra alcuni degli esperimenti descritti in questo rapporto: <<http://www.animalaid.org.uk/GMmice>

* Tra il 1954 e il 1969, Little ricoprì un ruolo scientifico in quello che passò poi a chiamarsi Council for Tobacco Research - una voce importante dell'industria del tabacco. Pur avendo dedicato tanti anni alla ricerca sul cancro (utilizzando in massima parte topi), ebbe a dichiarare che "fumare non può essere considerato la causa del cancro polmonare, tutt'al più un concomitante fattore secondario". Nel 1969, cinque anni dopo il "Surgeon Report" che definiva i danni causati dal fumo, Little insisteva: "... non è stato dimostrato alcun chiaro rapporto causale tra il fumo e una qualsiasi patologia".

“... l'idea che i topi siano animali “primitivi” traspare dalle argomentazioni di chi difende il loro uso nella ricerca...”

SEZIONE UNO | topi contano



Snazzy era un graziosissimo topolino dal naso rosa e il mantello grigio. All'inizio, nei primi due mesi, era molto timido e cercava solo di stare bene al riparo nella sua gabbietta. Abbastanza presto, però, fummo in grado di guardare un film di due ore tenendolo in grembo addormentato. Adorava le coccole e quando lo svegliavamo ci leccava le dita pulendole e strofinandole a fondo.

Lavoravo per un'anziana signora di 89 anni, che aveva un'amica della sua stessa età. Quando quest'ultima venne a stare con noi, chiese a una vicina di fare un salto tutti giorni a casa sua per lasciare sei arachidi su un piattino nella dispensa. La vicina promise di farlo ma volle sapere il perché. “Sono per il topolino di campagna che fa una capatina tutti i giorni. E' di ottime maniere, lascia i gusci vuoti impilati da una parte e non tocca nient'altro”. La vicina non credette a una sola parola, ma ebbe presto la prova che si sbagliava. Un topolino assai educato passò a far visita, mangiò le sei arachidi e lasciò i gusci ordinatamente impilati da una parte.

Avevo un topolino che odiava essere rimesso nella sua gabbietta (adesso non tengo più animali in gabbia) e quando lo facevo si arrabbiava molto... Un giorno, infilai un dito tra le sbarre per accarezzarlo, ma lui me lo addentò con forza e mi voltò la schiena tenendosi fuori portata...

Una volta, la mia topolina Madeleine si ammalò così gravemente che rischiò di morire, e doveti portarla dal veterinario che le prescrisse un antibiotico. Per lo più gli altri topi la ignorarono, eccetto Anastasia, che le rimase sempre vicino leccandola in modo affettuoso. In passato, Madeleine era solita maltrattare Anastasia ma una volta guarita smise di farle del male. Con ogni evidenza aveva gradito l'affetto e la vicinanza che Anastasia le aveva dimostrato.

Vivevo con George e Dylan, due topolini dolcissimi salvati da morte sicura. Se ne stavano sempre sulle mie spalle o in testa oppure, se indossavo una felpa, dentro al cappuccio. Ciascuno aveva la sua personalità. George era più grande e un po' prepotente mentre Dylan era piuttosto timido e ritroso. Quando mancarono, mi si spezzò il cuore.

Uno dei miei primi topolini fu Daisy. Un giorno, purtroppo, il suo compagno morì e nelle due settimane successive, restando quasi sempre insieme, il nostro rapporto si rafforzò moltissimo. Bianca e marrone, era una creatura dolcissima e quando le misi accanto dei topolini nati da poco, li prese subito a benvolere, leccandoli e facendo in modo che capissero chi era il capo. Daisy adorava stare fuori dalla gabbia e la coglievamo spesso mentre scavava la terra del vaso in salotto. Anche se lo mettevamo in alto, ci arrivava lo stesso e trovavamo terra ovunque!

Poche settimane dopo che l'avevamo presa con noi, notai una piccola protuberanza sull'addome di Florence. Risultò che aveva qualcosa di simile a un'ernia, ragion per cui fu velocemente operata e quindi lasciata a riposo perché si riprendesse. Florence non amava che la maneggiassi e avreste dovuto vedere la sua reazione quando tornai dal veterinario per riprenderla. Quando udì la mia voce sporse la testolina fuori dalla coperta e si eccitò moltissimo. Quella sera passò un mucchio di tempo fuori dalla gabbia a saltellare, come fanno i topi quando sono felici o eccitati. Prese persino a saltellarmi addosso. Florence visse a lungo malgrado diverse malattie. Ma continuò a detestare, fino alla fine, che la tenessi in mano.

Sono storie che illustrano la natura intelligente, complessa e sensibile dei topi. L'idea che siano animali "primitivi" traspare ancor oggi dalle argomentazioni di chi difende il loro uso nella ricerca. La verità è che resoconti di prima mano, studi fondati su una rigorosa osservazione e, purtroppo, anche la ricerca più crudele concorrono a stabilire che i topi sono creature altamente sviluppate e sensibili, cosa che rende l'abuso istituzionalizzato che si fa di loro ancora più inaccettabile.

I topi di allevamento geneticamente modificati che vengono utilizzati nei laboratori discendono principalmente dal *Mus Musculus* o topo domestico. Gli animali da laboratorio non sono meno percettivi o vulnerabili della loro controparte che vive libera. L'ambiente sterile nel quale soggiornano e muoiono è altamente ostile e pieno di fattori che li mettono sotto stress prima ancora di subire il trauma della sperimentazione.

I topi selvatici sono per natura curiosi ed estremamente attivi dal tramonto all'alba. Sono onnivori e percorrono anche vasti territori in cerca di cibo (un topo può perlustrare fino a 30 luoghi diversi per notte, e consumare fino a 200 piccoli pasti). La loro tana può essere un semplice nido costruito in un tunnel come pure una complessa rete di locali sotterranei. Essendo animali esposti agli attacchi di molti predatori, tendono a restare il più possibile vicino a un riparo, rifuggendo dagli spazi aperti e insicuri. Il contatto con gli esseri umani è fortemente stressante a meno che non vi vengano adeguatamente abituati, ed essere afferrati e maneggiati è per loro sempre fonte di grande agitazione. Nei laboratori vengono generalmente afferrati per la coda, ciò che è per loro fonte di grave angoscia.¹

Sono animali gregari e costituiscono complesse reti sociali, comunicando tra loro con il tatto, l'odorato e il suono. Affidandosi ai segnali olfattivi, hanno un sistema di marcatura del territorio molto sofisticato. Dotati di un eccellente udito, sono in grado di captare anche gli ultrasuoni. La loro socievolezza è tale che anche un piccolo periodo di isolamento compromette seriamente il loro benessere. Senza compagnia, soffrono di noia, di ansia e spesso si ammalano.²

Il corteggiamento, l'accoppiamento e la crescita dei piccoli sono altrettanti esempi di comportamento complesso e affascinante. Per corteggiare le femmine, i maschi utilizzano vocalizzi ultrasonici, vere e proprie "canzoni d'amore".³ A loro volta, le femmine si puliscono vigorosamente per dimostrare il proprio interesse. I piccoli di topo nascono sordi, ciechi e senza pelo e per sopravvivere hanno bisogno di molte cure. Il comportamento materno (costruzione del nido, mantenimento dei piccoli al caldo e uniti) è perciò cruciale. L'odore dei cuccioli risveglia nelle madri l'istinto all'accudimento. Per identificare i propri piccoli esse utilizzano sensi diversi, inclusi specifici odori trasmessi attraverso il latte o le urine. Interferire con questi segnali

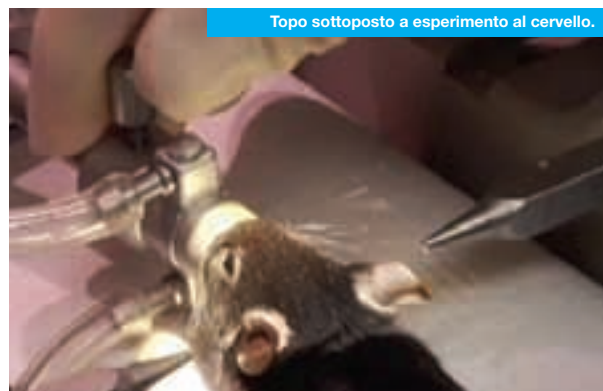
olfattivi sia manipolando gli animali sia cambiandoli di gabbia può spezzare questa necessaria propensione alla cura materna.

I topi sono creature intelligenti con un sistema nervoso analogo a quello degli altri mammiferi, altamente evoluto e sofisticato. Dal punto di vista fisiologico, sperimentano la sofferenza nello stesso identico modo degli esseri umani. Paradossalmente, gli sperimentatori animali hanno ritenuto necessario "provare" quello che innumerevoli osservazioni etiche e riguarde avevano già dimostrato: che i topi hanno una ricca vita emozionale, sperimentano la paura, la disperazione, l'eccitazione e il piacere dei contatti sociali.

Qualcuno che nel corso degli anni ha convissuto con tanti topi diversi la mette così: "Possono essere diversi da noi per aspetto e dimensioni, ma hanno personalità molto simili a quelle degli esseri umani. Alcuni sono timidi, altri fiduciosi e avventurosi, talora sono golosi (e inclini a mettere su peso!) oppure naturalmente amichevoli mentre altri si comportano da bulle. Sono piccole, amabili creature che la gente considera sporche e inutili, sbagliando radicalmente giudizio".

Sottoponendoli a esperimento, i ricercatori hanno "rigorosamente dimostrato in un contesto scientifico" che i topi empatizzano tra loro e sono consapevoli del dolore e della sofferenza dei propri compagni. In un esperimento del 2006, un'equipe canadese iniettò dell'acido nelle zampe di alcuni topi adulti.⁴ Scopirono che un topo così trattato "si contorceva più violentemente per il dolore se anche il suo o la sua partner aveva subito lo stesso trattamento e si contorceva per il dolore". In un altro esperimento, messi alla prova con forti rumori o scosse elettriche, i topi emisero segnali di richiesta di soccorso. Altri topi impararono ad associare questi richiami con qualcosa di spiacevole.⁵

Come altre vittime di predatori, i topi hanno l'innata tendenza a nascondere gli eventuali segni di sofferenza o angoscia. Questo li rende totalmente inadatti alla produzione di massa e alle costrizioni descritte in questo rapporto. Si possono ammalare e peggiorare rapidamente senza dare segni evidenti di sofferenza.



“... [i topi] continuano a essere trattati come “strumenti” di lavoro biologici, pubblicizzati nei cataloghi e spediti come pacchi in tutto il mondo...”

SEZIONE DUE Breve storia della manipolazione genetica dei topi

Malgrado le innumerevoli prove della sua esistenza, alla sofferenza dei topi si è prestata pochissima o nessuna attenzione allo scopo di renderli bene accetti alla popolazione quali “strumenti” di ricerca. Fin dall’inizio, il loro utilizzo come soggetti di sperimentazione si è intrecciato con la radicale manipolazione del corredo genetico e dei cicli vitali. Perciò, prima di analizzare le loro traversie nei laboratori, puntualizziamo in queste pagine alcuni termini che attengono alla manipolazione genetica.

Il linguaggio della genetica e la manipolazione genetica degli animali

Il **Dna** (acido desossiribonucleico) è l’alfabeto biochimico che costituisce i **geni**. Questi ultimi sono porzioni discrete di Dna che contengono le istruzioni necessarie per dar forma a un organismo vivente. **Genoma** (o genotipo) è l’intero corredo genico di un organismo. Per descrivere le caratteristiche peculiari di un animale (a che cosa assomiglia e che cosa fa) si usa il termine **fenotipo**. Il fenotipo di un organismo comprende lo sviluppo, la conformazione fisica e il comportamento di quello stesso organismo ed è il risultato non soltanto dei suoi geni ma del loro intreccio con i fattori ambientali.

Il processo in virtù del quale i geni dettano le modalità di costruzione delle proteine cellulari è detto **espressione genica**. I geni vengono classificati come ‘strutturali’ o ‘regolatori’ in base alla loro funzione. I **geni strutturali** codificano per le proteine che costituiscono cellule e organi, e per gli enzimi che esplicano reazioni indispensabili alla vita. I **geni regolatori** controllano invece l’espressione dei geni strutturali e di altri geni regolatori, modulando i loro livelli di attività.

L’espressione genica è un processo di estrema complessità, dove anche le più piccole variazioni possono avere effetti di grande portata. Le proteine prodotte dai geni non agiscono isolatamente; tra queste e le altre componenti cellulari c’è all’opera un’intricata e pressoché infinita rete di interazioni che può alterarne drasticamente le funzioni. Inoltre, molte proteine interagiscono con altri geni regolatori. Un gene può dare origine a molte proteine diverse, che a loro volta presiedono a una molteplicità di funzioni e interazioni.

Gli animali geneticamente modificati (GM) hanno subito una qualche forma di manipolazione artificiale del Dna. L’espressione “GM” include anche gli animali clonati, creati a partire da uno stesso prototipo e virtualmente identici. Le due principali categorie di animali GM sono quella degli animali “**transgenici**” e quella degli animali “**knockout**”, che



La struttura a doppia elica del Dna.

rappresentano un settore della ricerca biomedica contemporanea in vasta e rapida espansione. I primi sono animali manipolati per ospitare un gene “estraneo” proveniente da un altro organismo (“transgene”). Gli animali “knockout” vengono utilizzati, quanto meno in teoria, per studiare la funzione di un gene bloccandone l’espressione, e quindi osservando gli effetti della sua soppressione.

Il termine “**mutante**” viene spesso utilizzato in modo generico per indicare qualunque tipo di animale GM. Noi invece lo useremo solo per indicare animali i cui geni sono stati modificati in modo strutturale, andando ben oltre i semplici inserimenti o soppressioni di geni. Queste alterazioni – mutazioni – possono sia verificarsi spontaneamente sia venire indotte con sostanze chimiche. Le statistiche del governo britannico operano una distinzione tra gli animali geneticamente modificati in modo artificiale e quelli afflitti da mutazioni spontanee ma dannose.

Come abbiamo scritto in un precedente rapporto di Animal Aid⁶ “determinare o alterare la funzione di un gene per produrre animali geneticamente modificati è un’operazione per sua natura complessa, difficile, imprecisa, violenta, passibile di innumerevoli errori”.

La storia dei topi da laboratorio

I primi passi verso i laboratori specializzati nelle ricerche sui topi risalgono all’inizio del secolo scorso, negli Stati Uniti. La pratica dell’accoppiamento sistematico tra animali strettamente imparentati fu messa a punto da due personaggi chiave. Allora come adesso, i topi offrivano diversi vantaggi: alloggiarli e nutrirli in massa costa relativamente poco; sono piccoli, facili da prendere e maneggiare; sono docili; hanno cucciolate di opportune



dimensioni; e possono venire spediti agevolmente dagli stabilimenti dove vengono allevati ai laboratori di ricerca.

I topi non furono scelti come soggetti sperimentali per la loro somiglianza genetica con l'uomo - oltre tutto, la natura dei rispettivi genomi era del tutto sconosciuta a quei tempi. Furono scelti perché era conveniente farlo.

Insegnante in pensione del Massachusetts, Miss Abbie Lathrop cominciò ad allevare topi come animali da compagnia ma divenne una sperimentatrice a tempo pieno allorché i laboratori cominciarono ad acquistare i suoi animali.⁷ Notò che il suo programma di accoppiamenti endogamici dava luogo al manifestarsi di "lesioni cutanee" che le istituzioni accademiche diagnosticarono come cancro. Allora, in collaborazione con l'Università della Pennsylvania, realizzò una serie di esperimenti incrociando tra loro topi affetti da tumore alla mammella. La descrizione della sua impresa evoca una puppy farm dei nostri giorni: "Dal 1910 circa fino alla sua morte nel 1918, le baracche di Miss Lathrop ospitarono più di 11 mila topi, diverse centinaia di cavie, conigli, ratti, occasionalmente anche furetti e canarini. I topi venivano stipati in strette cassette di legno riempite di paglia, e venivano nutriti con una dieta a base di gallette e avena". La cronaca di un giornale locale, datata 1913, mostra quale scarsa considerazione etica

venisse accordata a quegli animali:

"In una delle gabbie dell'allevamento di topi di Miss Lathrop's si può vedere un vivace animaletto con un'escrescenza sulla spalla grande quanto una noce. Ha i giorni contati perché la massa cancerosa colpirà un punto vitale in breve tempo, e a causa della scarsa resistenza delle creature che si trovano ai livelli più bassi della scala evolutiva, è molto probabile che soccomba".⁸

Un contemporaneo di Miss Lathrop, Clarence Cook Little, avviò a sua volta un grande allevamento di topi endogamici guidato dal suo interesse per la genetica.⁹ Tra le altre cose, Little era presidente della American Eugenics Society, componente di rilievo del movimento che si batteva per la selezione riproduttiva e la sterilizzazione forzata degli esseri umani "difettosi".¹⁰ Little fondò il Jackson Laboratory, che oggi è uno dei più grandi produttori al mondo di topi GM, e credeva che allevare topi potesse fornire lumi sul processo di "creazione dell'uomo". Nel giro di tre anni, a partire dal 1909, produsse più di 10 mila topi, sopprimendo sistematicamente gli animali più deboli. Il sopra menzionato interesse accademico per i topi affetti da cancro garantì a Little un fiorente mercato per le vittime da lui allevate - egli "offriva a poco prezzo grandi scorte di piccoli pazienti per il bene della sperimentazione".¹¹

Seguirono decenni di allevamenti programmati, il cui fine dichiarato era molto spesso la cura del cancro. La selezione endogamica (incroci tra consanguinei) spinta all'estremo produsse mutazioni naturali con individui inclini a sviluppare innumerevoli patologie, anche di tipo maligno. I topi affetti da immunodeficienza grave mista (SCID) sono, per esempio, sfortunati mutanti il cui



Abbie Lathrop, pioniera dell'allevamento di topi da laboratorio.



Clarence Cook Little (al centro), fornitore di topi su larga scala e noto sostenitore dell'eugenetica.

sistema immunitario è stato quasi completamente messo fuori gioco. I ricercatori sul cancro hanno sfruttato per decenni assenza di difese trapiantando tumori umani nel loro organismo nella speranza di sviluppare nuovi farmaci per gli esseri umani.

I primi passi della manipolazione genetica

Tuttavia, prima ancora che facesse la sua comparsa il topo SCID, era evidente che eventuali trattamenti efficaci nella cura di topi mutanti o inbred (ottenuti con accoppiamenti endogamici per almeno 20 generazioni) molto raramente risultavano utili per gli esseri umani, e i ricercatori erano alla continua ricerca di “strumenti” animali migliori. Nel 1974, il biologo tedesco Jaenisch creò il primo animale transgenico. Lo ottenne inserendo del Dna estraneo in un virus e approfittando della capacità del virus di penetrare fino al nucleo cellulare dell'embrione del topo. Nuove tecniche messe a punto nei primi anni Ottanta consentirono di trasmettere le modificazioni ottenute nei topi adulti alla loro progenie (i dettagli di queste tecniche nella prossima sezione) e divenne così possibile creare linee di topi transgenici in laboratorio.

Il primo “oncotopo” geneticamente predisposto a sviluppare il cancro fu inventato alla metà degli anni Ottanta. Tra molte polemiche, l'equipe di ricercatori che lo

Sebbene nella letteratura scientifica i termini “linea” e “ceppo” siano spesso usati come sinonimi, in questo Rapporto noi intendiamo per ceppo una popolazione endogamica di topi non-GM, e per linea una popolazione di topi GM

aveva brevettato ne cedette la licenza alla DuPont Corporation.¹² Nel 1989, un gruppo di ricerca britannico riuscì a utilizzare cellule staminali dell'embrione del topo per creare un topo “knockout”.

Il sequenziamento del genoma

L'interesse accademico per la genetica riprese slancio con la decisione di mappare l'intero genoma umano nei primi anni Novanta. Una prima bozza del sequenziamento - completa al 90% - fu pubblicata nel 2001 dall'International Human Genome Sequencing Consortium, seguita dalla mappa completa nell'aprile del 2003. In entrambe le occasioni furono rilasciate altisonanti dichiarazioni circa il pressoché miracoloso potere informativo di questa impresa. Francis Collins, l'allora direttore del National Human Genome Research Institute degli Stati Uniti, non lesinò l'entusiasmo: ‘E’ un testo medico rivoluzionario, con intuizioni che daranno ai servizi medici nuovi e immensi poteri nell'affrontare, prevenire e curare le malattie’.¹³ Nel 1991 il progetto era già costato 2,7 miliardi di dollari¹⁴ un terzo dei quali stanziato dal UK Wellcome Trust.¹⁵

Nel 1999, con il progetto genoma umano ormai a buon punto, tre grandi centri di ricerca genetica lanciarono il Mouse Genome Sequencing Consortium (Consorzio per il sequenziamento del genoma del topo) che crebbe rapidamente e nel 2002 pubblicò il sequenziamento del genoma di un ceppo di topo molto utilizzato, il C57BL/6J. Nel 2011 si conoscevano già le sequenze geniche di altri 17 ceppi. Oggi i ricercatori sono sommersi da una massa di informazioni genetiche le implicazioni delle quali sono ben lontane dall'essere chiare.

I programmi di mutagenesi del topo

Parallelamente alla ricerca sul genoma umano (e precedentemente agli studi sistematici sul topo “knockout” che descriveremo più avanti) sono stati avviati gli esperimenti - tuttora in corso - per deformare il corredo genetico dei topi e quindi stare a vedere che cosa succede. Per realizzare questi programmi di mutagenesi si iniettano nell'addome dei topi maschi degli agenti chimici in grado di intaccare gravemente il Dna. Ne risulta danneggiato lo sperma delle vittime come pure altre cellule dell'organismo che sviluppano tumori. I successivi accoppiamenti portano alla nascita di individui gravati da una grande varietà di alterazioni genetiche. I topi con un fenotipo “interessante” vengono quindi selezionati per ulteriori esperimenti, per cercare di identificare quali delle migliaia di geni del loro corredo naturale sono stati modificati, e se queste modifiche sono la causa delle loro sofferenze.

Questa tecnica, alquanto rozza, viene tuttora utilizzata in innumerevoli programmi di ricerca che hanno comportato il sistematico avvelenamento di milioni di topi. A questo scopo, l'agente chimico più usato è l'N-etil-N-nitrosourea che ha una rilevante capacità di danneggiare il Dna. Sono state create centinaia di linee di topi mutanti che hanno

comportato, ogni volta, l'eliminazione di tutti gli animali nati fisicamente deformati o con disturbi del comportamento. A titolo di esempio, un solo centro del Regno Unito, il Mammalian Genetics Unit di Harwell (vedi a pagina 16), alla fine del millennio scorso aveva già "prodotto e 'setacciato' più di 26 mila topi, salvando soltanto 500 nuovi topi mutanti".¹⁶

Al pari delle tecniche GM che troverete descritte nelle prossime pagine, questi progetti di mutagenesi di massa comportano sia la morte accidentale sia la deliberata soppressione di massa di moltissimi animali. La maggior parte della progenie viene infatti uccisa immediatamente perché non offre nulla di "nuovo" da studiare. Del rimanente uno-due per cento di topolini considerati di qualche interesse, solo un quarto mostrerà d'avere una nuova mutazione e verrà salvato. Nel frattempo, altre mutazioni avranno già ucciso spontaneamente gli embrioni e i neonati di topo sia nella fase prenatale sia in quella postnatale. E come se non bastasse, bisogna sapere che qualsiasi programma di manipolazione genetica comporta l'uccisione di un grandissimo numero di topi considerati "in sovrannumero" (vedi a pagina 16).

Un topo GM per ogni malattia

Come si vede, il processo di mercificazione dei topi da laboratorio viene ininterrottamente perseguito da più di un secolo. Oggi li si continua a trattare come meri "strumenti" biologici, pubblicizzati come prodotti nei cataloghi commerciali, e spediti come merce in tutto il mondo. Questo processo si è paurosamente intensificato nel nuovo millennio con la nascita di potenti consorzi internazionali incaricati di creare migliaia di nuove linee GM. Parallelamente, una moltitudine di laboratori sia pubblici sia privati hanno provveduto a inventare "modelli di topo" geneticamente modificati praticamente per ogni patologia umana esistente, dalla calvizie al comune raffreddore passando per l'Alzheimer e il cancro. I topi vengono utilizzati per una molteplicità di propositi, dalla ricerca di

base (vedi a pagina 28) alla sperimentazione di possibili nuovi rimedi.

In modo piuttosto prevedibile, ancor prima che il genoma C57BL/6J venisse pubblicato, i ricercatori stavano mettendo a punto nuovi progetti per "silenziare" ciascuno dei circa 20 mila geni del topo. L'International Mouse Knockout Consortium ha dato il via a questo colossale piano di ricerca nel 2006, usando cellule staminali embrionali. In capo al 2012, con un investimento di 100 milioni di dollari, il progetto aveva creato più di 2.100 nuove linee¹⁷ ed era ormai prossimo al completamento. Milioni di topi sono stati usati e uccisi in tutto il mondo al servizio di questo obiettivo.

Nel 2002, un ricercatore del Wellcome Trust commentò l'impresa con grande entusiasmo: "La valanga del sequenziamento genomico sarà seguita da un'esplosione di topi mutanti, che richiederanno nuove strutture per ospitare e valutare in termini di fenotipo questa risorsa genetica globale".¹⁸

Si può dire senza timore di smentite che gli sperimentatori non sanno prevedere le conseguenze delle modificazioni genetiche che inducono nei topi, e men che meno sanno se risulteranno di qualche utilità per il progresso medico. Lo stesso ricercatore di cui sopra ebbe a dire che "un fenotipo knockout spesso mette brutalmente in evidenza la nostra ignoranza collettiva circa le funzioni dei geni".¹⁹ Un genetista americano dichiarò nel 2011 che "silenziare il gene di un topo è semplice se paragonato all'improbabile compito di capire qual è la funzione di tutti quei geni".²⁰ Di qui la "necessità" di un altro costosissimo progetto – l'International Mouse Phenotyping Consortium – costituito nel 2011 il cui compito iniziale è analizzare 5 mila topi knockout nel giro di cinque anni. L'obiettivo più a lungo termine, da completarsi entro il 2021, è la creazione di una linea fenotipica particolare per ogni gene che i topi possiedono. Secondo le previsioni questo progetto dovrebbe costare intorno ai seicento milioni di dollari.²¹

In tutto il mondo si moltiplicano le cosiddette "Mouse clinics" che cercano di attirare finanziamenti per intraprendere questo genere di analisi. Ma l'incredibile ammontare di risorse convogliate sui topi knockout è quanto meno eguagliato dai fondi investiti per sperimentare sui loro cugini transgenici.

E' difficile trovare statistiche aggiornate sul numero di linee GM esistenti. Un articolo di *Nature* del 2004 intitolato "I genetisti si stanno preparando a un diluvio di topi mutanti" prevedeva che nei due decenni successivi sarebbero state create oltre 300 mila nuove linee di topi.²² Da solo, il Jackson Laboratory offre più di 5.000 linee geneticamente differenziate. Nella prossima sezione esamineremo quanti topi GM siano stati e siano utilizzati nel Regno Unito, a cominciare dalle statistiche degli anni Settanta.



“... dal finire degli anni Ottanta, il settore universitario ha condotto un numero progressivamente crescente di esperimenti sugli animali...”



SEZIONE TRE

L'utilizzo di topi GM nel Regno Unito

Nel Regno Unito, gli esperimenti su animali hanno toccato l'apice nei primi anni Settanta quando sono state condotte più di 5,5 milioni di procedure in ambito regolatorio (si definisce procedura un'azione che può causare dolore, sofferenza, angoscia o danno permanente). Per quasi tutto quel decennio, il numero di procedure annue ha superato i 5 milioni per poi diminuire in modo costante fino agli anni Novanta. A partire da quel momento, il trend decrescente si è invertito e nel 2011 sono stati avviati più di 3,79 milioni di esperimenti su animali.²³ E' la cifra più alta registrata dall'introduzione dell'Animals (Scientific Procedures) Act nel 1986.

L'incremento degli ultimi 25 anni è dovuto in massima parte all'uso di animali GM, che sono per lo più topi. Nel 2009 gli esperimenti su animali geneticamente modificati hanno superato per la prima volta quelli condotti su animali normali.

E' un dato di fatto che tutti gli esperimenti condotti sui topi sono drasticamente aumentati, da 1,45 milioni di procedure nel 1995 a quasi 2,68 milioni nel 2011, anno in cui il 70 % degli esperimenti ha riguardato topi geneticamente modificati.

Attualmente i topi geneticamente modificati vengono usati molto più dei topi con mutazioni dannose, e quasi il doppio dei topi normali. Nel 2011 essi sono stati impiegati in 1,5 milioni di procedure, due terzi delle quali finalizzate alla riproduzione. Il restante mezzo milione di esperimenti sono stati in maggioranza registrati alla voce "ricerca di base" (vedi la sezione 5).

E' importante a questo punto sottolineare la differenza tra ricerca "di base" e ricerca "applicata". La prima è dettata dalla curiosità. La ricerca applicata, al contrario, si focalizza su questioni pratiche come la scoperta e la convalida di trattamenti medici. Solo una piccola percentuale delle procedure che impiegano topi GM (2% nel 2011) riguarda la ricerca applicata.

I principali utilizzatori e allevatori di topi GM

Nel 2011, nel Regno Unito le procedure condotte su topi GM provenienti dall'interno dello stesso stabilimento sono state 1,47 milioni; 47.000 procedure hanno utilizzato topi GM provenienti da un altro allevamento autorizzato del Regno Unito; 3.000 procedure hanno impiegato topi provenienti da altri paesi dell'Unione europea e altre 9.000 procedure hanno usato topi provenienti da ancora più lontano.

Pertanto, quasi 60.000 topi GM sono stati spediti lontano dagli stabilimenti dove sono stati allevati - un numero degno di nota considerando quanto il trasporto sia per loro stressante.

Dalla fine degli anni Ottanta a oggi il settore universitario ha preso il sopravvento realizzando un numero sempre più grande di procedure sia in assoluto sia in termini percentuali: oltre il 50% nel 2011. Pur non fornendo descrizioni dettagliate degli esperimenti animali condotti nei laboratori universitari, il Home Office scrive che "il settore commerciale e quello universitario mostrano trend divergenti, cosa che con ogni probabilità riflette l'aumento della ricerca di base universitaria che fa usi di animali geneticamente modificati".²⁴ Capire che cosa significa e che cosa comporta il primato accademico nel settore dei test con i topi è determinante per farsi un quadro esatto della situazione.

E' probabile che le Università che non allevano topi in proprio abbiano allacciato stretti rapporti con i due principali allevatori commerciali del Regno Unito: Harlan Ltd e Charles River Ltd.

Nata nel 1947, la Charles River ha il suo quartiere generale negli Stati Uniti ma controlla più di sessanta "stabilimenti" in 16 paesi del mondo. Possiede un'ampia filiale a Margate, nel Kent, dove alleva topi, ratti, gerbilli, cavie, criceti, conigli e polli da laboratorio. Ha chiuso il 2011 con un fatturato di 1,14 miliardi di dollari. In quello stesso anno, ha sottoscritto un accordo per commercializzare e distribuire gli animali GM sviluppati dalla società farmaceutica Pfizer.²⁵

La Harlan, fondata nel 1931, è un'altra grande multinazionale statunitense con quattro filiali nel Regno Unito. Oltre ad animali geneticamente modificati fornisce primati (bertucce), cani (beagle), gatti, conigli, cavie, ratti, topi, gerbilli e criceti da laboratorio. Realizza anche ricerche a contratto che comportano l'avvelenamento di animali (studi di tossicologia). Stando a *The Guardian*, lo stabilimento di Blackthorn, nell'Oxfordshire ospita 52.000 ratti e topi "destinati a essere utilizzati in esperimenti medici", 6.000 dei quali vengono spediti ogni settimana. Tra i suoi "clienti ci sono colossi farmaceutici come la GlaxoSmithKline e centri accademici quali la University College London e il King's College London".²⁶

“... [il processo] comporta la manipolazione dei cicli riproduttivi, del comportamento, delle condizioni di vita e della salute di milioni di animali...”

SEZIONE QUATTRO Creazione e sviluppo di una colonia di topi GM

Sulla base dei dati illustrati nella sezione 3 si può definire l'attuale processo di creazione e utilizzo dei topi GM un mastodonte in corsa con pochissimi ricercatori inclini a mettere un piede sul freno. In risposta alle inevitabili preoccupazioni circa l'enorme sofferenza animale che ne consegue sono state prodotte molte raccomandazioni e linee guida. Esse segnalano che gli “studi GM” sono causa di dolore, sofferenza e angoscia, e rappresentano pertanto legittime aree di pubblico interesse nonché, spesso, disagio.

La creazione di topi GM

Prima di esaminare come e quanto i topi soffrano a ogni tappa della sperimentazione GM, bisogna chiarire in modo semplice di che cosa stiamo parlando. La prima fase, uguale sia nella sperimentazione knockout sia in quella transgenica, consiste nella creazione - spesso fondata su un bricolage altamente speculativo - di nuovi animali con un inedito profilo genetico. Questo obiettivo viene perseguito inserendo frazioni di Dna modificato nel genoma del topo. Nel caso dei topi knockout, il materiale inserito è una copia del gene bersaglio con un segmento cancellato o in altro modo alterato così da disabilitarne la funzione. Questi topi “fondatori” sono quindi allevati in modo tale che le alterazioni genetiche di cui sono portatori vengano fedelmente trasmesse alla progenie. Allorquando si conferma l'esistenza di una nuova e stabile linea di topi GM, i piccoli possono venire allevati in massa nei laboratori del mondo ed essere utilizzati nei più diversi esperimenti.

Questa fase iniziale della creazione comporta diverse procedure molto invasive. Prevede anche la morte di centinaia di animali per produrre un solo “fondatore”. Ogni anno nel Regno Unito, milioni di animali vengono uccisi in questo modo e quindi, spesso, buttati nella spazzatura (vedi a pagina 17). La portata di questo massacro è tale da lasciare alcuni dei tecnici di laboratorio responsabili dell'operazione “fisicamente ed emotivamente stremati”.²⁷

Le due tecniche più usate per creare topi GM sono le microiniezioni pronucleari e il “gene targeting” nelle cellule staminali embrionali (ES). (Altri metodi come l'uso dei virus non sono molto diffusi e qui non ne parleremo). Entrambe queste tecniche sono tanto inefficaci quanto rilevanti per l'immenso spreco di vita che provocano.



Le microiniezioni nel pronucleo

Questa tecnica consiste nell'iniettare alle femmine di topo potenti dosi di ormoni per provocare una super ovulazione (produzione di un numero di ovuli artificialmente alto) e quindi lasciare che si accoppino. La mattina dopo l'incontro con un maschio, le femmine inseminate vengono sopresse. Una parte dei loro organi riproduttivi viene rimossa e si raccolgono gli embrioni in nuce. In questa fase, il materiale genico proveniente dall'uovo e dallo sperma sono visibili separatamente all'interno degli embrioni, nella forma di due strutture dette pronuclei. Del materiale genico estraneo - chiamato costrutto o transgene - viene quindi iniettato in uno dei pronuclei utilizzando un microscopio e un minuscolo ago.

Un certo numero di embrioni così trattati viene quindi trapiantato in femmine “pseudogravide”, stato che viene indotto somministrando loro degli ormoni e facendole accoppiare con maschi sterili (di norma vasectomizzati). Questi accorgimenti servono a ingannare l'organismo delle topoline inducendole a “pensare” di essere gravide, preparando così il loro utero al trapianto degli embrioni GM. Un gran numero di topi femmina viene allevato esclusivamente a questo scopo.

Circa tre settimane più tardi vengono alla luce i pochi piccoli sopravvissuti al trattamento. La maggior parte degli embrioni, infatti, è già deceduta *in utero*, sia per l'effetto di letali mutazioni genetiche sia, più semplicemente, per l'estrema violenza del processo. In genere non più del 20-30 per cento degli embrioni arriva a termine.

Solo una frazione dei topi che sopravvivono alla nascita risulterà geneticamente modificata con successo, di solito la percentuale si aggira tra il 10% e il 20%. Questo dipende dal fatto che il transgene iniettato non si integra come da programma negli embrioni fertilizzati: alcuni piccoli ne hanno troppe copie, e altri nessuna. Tutti i piccoli di topo devono perciò essere studiati sul piano genetico e subiscono il taglio di una parte della coda o dell'orecchio per offrire un campione di tessuto analizzabile. Gli animali che risultano modificati in modo soddisfacente per i ricercatori vengono tenuti in vita per la riproduzione; gli altri vengono distrutti in quanto "fallimenti". Complessivamente, nel corso di questo processo muoiono il 95% degli embrioni procreati.²⁸

Il "gene targeting" nelle cellule staminali embrionali

Questo metodo utilizza cellule staminali embrionali (ES) che hanno il potenziale di svilupparsi in qualsiasi genere di tessuto specializzato ma non di formare un animale intero. Per ottenere queste cellule, le femmine di topo possono di nuovo accoppiarsi e diventare gravide. Dopo breve tempo, vengono uccise, e dai loro embrioni si ottengono le cellule staminali che vengono incubate *in vitro* prima dell'introduzione del transgene.

Il passaggio successivo richiede che vengano uccise ancora più topoline gravide per ottenere degli embrioni di solo pochi giorni noti come blastocisti. Le cellule ES ingegnerizzate vengono introdotte in questi blastocisti di un centinaio di cellule circa, e il mix cellulare che ne risulta viene chirurgicamente impiantato nelle topoline pseudogravide. Tra il 15% e il 25% di questi embrioni manipolati sopravviverà fino alla nascita.

Dei sopravvissuti, circa metà saranno chimere, così chiamate perché il loro corpo deriva sia dalle cellule ES transgeniche sia dalle cellule dei blastocisti. Spesso le cellule iniziali sono ottenute da animali con mantelli di colore diverso oltre che background genetici differenti. Perciò è possibile capire immediatamente quali animali sono chimere transgeniche osservando la colorazione del mantello. Tutti gli animali non-chimerici vengono uccisi.

Ma ancora non è finita. Infatti solo alcuni dei topi così ottenuti hanno cellule ES nel proprio sistema riproduttivo; e soltanto questi sono in grado di trasmettere la modificazione alla prole. Si rendono perciò necessarie delle riproduzioni aggiuntive per ottenere le caratteristiche desiderate, e altri topi moriranno lungo il percorso. Considerando il gran numero di vite animali sopresse, questa tecnica non è certamente migliore delle microiniezioni.²⁹

Sviluppo e mantenimento delle colonie GM

Lo sviluppo di una colonia di animali GM prevede che i topi GM fondatori vengano incrociati con animali

geneticamente normali o topi 'wild type'. Una volta creata una linea di topi GM con le tecniche di cui sopra, si programmano gli incroci per mantenere le colonie e venire incontro alle necessità dei laboratori di sperimentazione. Non è un processo né semplice né indolore. Comporta infatti la radicale manipolazione dei cicli riproduttivi, del comportamento, delle condizioni di vita e della salute di milioni di animali. Questi programmi riproduttivi sono per molti aspetti l'equivalente degli allevamenti intensivi, con gli stessi macroscopici problemi di trascuratezza nei confronti degli animali, di inaudite sofferenze di massa, di indifferenza di fronte a pile di carcasse abbandonate.

Per consolidare una linea di topi GM è necessario che le nuove alterazioni genetiche vengano trasmesse di generazione in generazione. Spesso succede che nei topi "capostipiti" il transgene si sia integrato in un solo sito su un solo cromosoma. Quando questi topi vengono incrociati con animali "wild-type" e cioè non-GM, il 50% della prole sarà anch'essa "wild type" e verrà quindi soppressa. Si può dire, insomma, che l'uccisione routinaria degli animali "non riusciti" è una pratica essenziale al mantenimento delle colonie.

Con quali criteri vengono allevati i topi destinati alla sperimentazione lo si desume da un manuale del Jackson Laboratory.³⁰ I topi da laboratorio diventano sessualmente maturi tra la quinta e l'ottava settimana di vita anche se le femmine di alcuni ceppi possono concepire già al 23esimo giorno. Di norma si provvede a far accoppiare i topi tra la sesta e l'ottava settimana. Il periodo di gestazione dura circa tre settimane, di modo che una generazione di topi può essere prodotta in 12 settimane. La dimensione delle cucciolate (da 2/3 piccoli fino a 12 o più) varia col variare dei ceppi. In genere i topi si riproducono per sette/otto mesi mettendo al mondo quattro o più cucciolate.

Per indurre quante più femmine possibile a sincronizzare i propri cicli riproduttivi e a figliare cuccioli della stessa età, esse vengono stipate in spazi al limite della legalità. Vengono predisposte all'inseminazione esponendole a ormoni maschili o a trucioli di lettiera presi da una gabbia di maschi. Così stimolate, le femmine vengono infine introdotte nella gabbia di uno "stallone" tenuto in isolamento anche per due settimane.

Il Jackson Laboratory raccomanda di sfruttare al massimo le coppie più fertili prima di sopprimerle: "Se una coppia continua a figliare più a lungo della media, disfatene solo quando la femmina, trascorsi 60 giorni dall'ultimo parto, risulterà ancora ingravidata".³¹ Di norma, tuttavia, i topi destinati alla riproduzione dovrebbero essere "sostituiti prima che le loro capacità riproduttive comincino a declinare, ciò che comporta regolari uccisioni mensili o settimanali.



“... i topi, come altri animali-preda, non danno segni espliciti della propria sofferenza - sono naturalmente avvezzi a dissimulare ciò che patiscono...”

SEZIONE CINQUE

La sofferenza dei topi GM

I topi soggetti ai programmi di modificazione genetica soffrono per un'infinità di motivi. La lunga catena della sofferenza comincia per loro con le manipolazioni messe in atto per creare una nuova linea GM e con i perniciosi effetti dell'alterazione genetica; prosegue con le operazioni necessarie per sviluppare e stabilizzare una colonia; culmina con la sperimentazione e si conclude con la morte. Come se non bastasse, ai topi vengono inflitti una molteplicità di stress aggiuntivi dovuti all'ambiente artificiale del laboratorio e alle operazioni di trasporto interno o verso laboratori lontani. Ne daremo qualche esempio alla fine di questa sezione insieme con la descrizione di quali crudeltà essi subiscano per via di incompetenza, trascuratezza, sotterfugi.

Un'indagine ancora molto citata del Joint Working Group del 2003, guidata dalla Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals (RSPCA), afferma che “dal punto di vista del benessere animale, l'uso di topi GM solleva forti preoccupazioni sia per il numero di animali coinvolti sia per le operazioni chirurgiche e di altra natura che devono subire sia, ancora, per i deleteri effetti che la manipolazione genetica può avere”.³² Malgrado questa osservazione, molte delle procedure incluse nel processo di produzione e mantenimento degli animali GM sono ancora ufficialmente classificate alla voce “intensità leggera”.

Al pari di altri animali-preda, i topi, notoriamente, non danno mai segni espliciti della propria sofferenza – sono naturalmente avvezzi a dissimulare ciò che patiscono. Capire il loro stato di angoscia è pertanto difficile, ancor più se si considera che durante il giorno, vale a dire durante le ore lavorative, essi tendono normalmente alla quiete. La quantità stessa di topi GM ammassati in alcuni stabilimenti significa che il loro benessere è inevitabilmente compromesso. Un'inchiesta della RSPCA del 2003 sui centri di sperimentazione descrive uno stabilimento nel quale i tecnici dovevano controllare 500 gabbie di quattro o cinque topi ciascuna tutti i giorni, il che fa circa 10 secondi per topo sia pure contando sei ore piene di lavoro.³³ Il sovraffollamento non è un problema del passato come rivelano alcune recenti indagini sotto copertura.

La sofferenza nella fase di creazione dei topi GM

Vale la pena di guardare più in dettaglio quali sofferenze patiscono i topi durante le procedure iniziali del processo di modificazione genetica. Nel novero delle operazioni chirurgiche necessarie per generare nuovi topi transgenici e knockout non ce n'è una che non sia dolorosa e angosciante. Benché le operazioni chirurgiche più complesse siano generalmente



Operazione chirurgica a un topo per predisporlo a un ictus tramite l'inserimento di un filo metallico nei vasi sanguigni del cervello.

eseguite in anestesia generale, questo è di per sé stressante. Come se non bastasse, l'inchiesta della RSPCA sopra menzionata ha individuato una forte “componente di discriminazione di specie e di taglia dal momento che i roditori talvolta ricevevano minore considerazione degli animali più grandi”.³⁴ A titolo d'esempio, un centro di sperimentazione universitario era solito non somministrare antidolorifici prima o dopo un trasferimento di embrione in utero. Un altro centro somministrava antidolorifici post operatori soltanto ad animali di specie più grandi.

- Le iniezioni di ormoni (gonadotropina) necessarie per stimolare l'iperproduzione di ovuli vengono somministrate in profondità nella cavità addominale. Il rapporto del Working Group sopra menzionato avverte che “le iniezioni intraperitoneali sono difficili da eseguire nei topi per via delle ridotte dimensioni e bisognerebbe fare la massima attenzione... per evitare di bucare i visceri addominali”.³⁵
- Il trasferimento degli embrioni in utero avviene con operazioni chirurgiche complesse e con notevole dolore post operatorio.
- All'inizio del processo, quando l'attenzione si concentra sulle femmine pseudo gravide, i maschi fondatori devono subire una vesectomia se non sono già sterili. Nel 2005, la procedura più utilizzata comportava una vasta incisione addominale e una “importante manipolazione del contenuto addominale”.³⁶ Questo può portare infezioni post chirurgiche catastrofiche (a maggior ragione dal momento che non sempre le procedure vengono eseguite in condizioni di asetticità), comporta maggiori probabilità di riapertura della ferita e richiede la somministrazione di antidolorifici possibilmente per più di 24 ore. Oggi esiste una versione perfezionata (refinement) di questa procedura: un'incisione

dello scroto simile a quella praticata sugli uomini. Ma non è chiaro quanto sia diffuso il suo utilizzo.

- Il patrimonio genetico di ogni singolo individuo appartenente a una colonia di topi GM deve essere analizzato secondo un processo (genotipizzazione) che richiede una biopsia tissutale. Una pratica ancora molto diffusa consiste nel tagliare la punta della coda del topo con il bisturi o con le forbici. Ci sono studi che provano in modo inequivocabile quanto sia dolorosa questa pratica: gli ultimi cinque millimetri di coda (la lunghezza comunemente rimossa) contengono tendini e numerose terminazioni nervose e vertebrali. Il taglio della coda procura sia un dolore acuto sia un dolore cronico persistente, che in alcune razze può durare anche diversi mesi.³⁷ Se per incuria o mancanza di tecnica viene asportato un pezzo di coda troppo lungo, nei topi possono anche insorgere problemi di equilibrio e di andatura. Anche se nel 2005 la biopsia dell'orecchio è stata riconosciuta come una tecnica scientificamente superiore, il Home Office è tuttora disposto ad autorizzare il taglio della coda "caso per caso". Alcuni sperimentatori hanno fatto pressione sul Home Office per stralciare le procedure di genotipizzazione dalle nuove norme del Regno Unito sul welfare animale.³⁸
- Non bastassero le biopsie tissutali, ancora stress e angoscia vengono inflitti agli animali con le pratiche invasive utilizzate per l'identificazione. Allo scopo, sarebbe sufficiente utilizzare le caratteristiche osservabili come il colore del manto, ma il più delle volte si opta invece per la mutilazione dell'orecchio, praticandovi tagli o molteplici punzonature. La procedura viene eseguita utilizzando un apposito perforatore o delle forbici dritte a punta fine, e può malamente strappare il tessuto dell'orecchio se realizzata con scarsa attenzione. Ciononostante, queste pratiche sono esenti per legge da qualsiasi tipo di controllo e continueranno ad esserlo anche con la nuova direttiva 2010/63/UE poiché si sostiene che esse causano "solo angoscia e dolore passeggeri".

La sofferenza dei topi GM durante la riproduzione

I topi subiscono molteplici forme di stress e a volte anche ferite fisiche a causa del sistema totalmente artificiale utilizzato per la riproduzione delle linee GM. Al fine di massimizzare la produzione di un numero innaturalmente elevato di ovuli, topoline prepuberi di tre-cinque settimane vengono fatte accoppiare con maschi "stalloni" più vecchi e più grandi, e quindi sopresse. Vulnerabili come sono, questi animali possono subire diversi danni durante l'accoppiamento. Perciò il Working Group suggerisce di "non usare maschi troppo grossi o aggressivi per evitare che le femmine abbiano a soffrirne".³⁹ Ma è una raccomandazione che non ha alcun valore legale.

Anche i "riproduttori" usati sia per la creazione sia per il

mantenimento delle colonie non sono altro che strumenti di lavoro, al pari di altri. Se non funzionano in modo soddisfacente, vengono sommariamente uccisi. Devono essere "alloggiati singolarmente per evitare lotte e ferite".⁴⁰ La Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals (RSPCA) osserva che alloggiare animali sociali senza compagni "limita gravemente la possibilità degli animali di esprimere il loro naturale comportamento e dunque incide negativamente sul loro benessere".⁴¹

Nel 2006, un'indagine sotto copertura della National Anti-Vivisection Society (NAVS) ha trovato la Mammalian Genetics Unit di Harwell⁴² in flagrante violazione di tutte le norme sul welfare. Assunto da questo "centro internazionale per la genetica del topo" gestito dal Medical Research Council e in grado di ospitare 65.000 topi, l'investigatore della NAVS riportò "problemi di 'sovraffollamento', incapacità di gestione della colonia e diverse altre inadeguatezze dello staff tali da rendere il controllo delle colonie pressoché impossibile". Tra i casi riportati ci furono: segnali di copulazione passati inavvertiti così da sfociare in cucciolate non previste; un topo maschio "montato" dal padre; la sofferenza delle femmine di appena tre settimane e mezzo costrette ad accoppiarsi con maschi più vecchi e grandi tre volte tanto.

L'investigatore della NAVS cercò di ritardare la morte di alcuni piccoli lasciandoli insieme con le madri un po' più a lungo ma fu redarguito con l'intimazione di accettare il fatto che "alcuni moriranno".

La soppressione di milioni di animali "in soprannumero"

L'industria dei topi GM è responsabile della nascita e della distruzione di creature viventi su una scala scandalosamente smisurata. Tuttavia, secondo la legge inglese l'uccisione di un animale con un metodo consentito (vedi: 'Schedule 1') non è una "procedura" e di conseguenza non figura nelle statistiche del Home Office. La "sovrapproduzione" di roditori da laboratorio viene data per scontata e non sono previste sanzioni per questo irresponsabile massacro di massa. Il tributo di morti invisibili è nell'ordine di milioni di animali.

I metodi per sopprimere i roditori elencati sia nel precedente sia nell'attuale ordinamento legislativo britannico sulla sperimentazione animale comprendono la morte per inalazione di biossido di carbonio, la dislocazione del collo e un colpo diretto alla testa contro un tavolo o altra superficie di lavoro. Le indagini sotto copertura hanno più volte portato alla luce la verità sulla vita e sulla morte di tutti questi topi "in soprannumero" o "di scarto", ai quali non viene accordato neppure un riconoscimento statistico.

Il centro di ricerche della Charing Cross and Westminster Medical School (CXWMS) è un tragico esempio in fatto di "sovrapproduzione" e di uccisioni violente, come rivelato dalla National Anti-Vivisection Society (NAVS). Anche se l'investigazione risale al 1994 non c'è motivo di credere che

la carneficina si sia fermata. Il rapporto della NAVS, *Access Denied (Accesso proibito)*,⁴³ mette a nudo quale grosso problema fosse alla CXWMS uccidere gli animali con il gas. A causa di macchinari difettosi per via della grande quantità di animali da uccidere contemporaneamente, i topi spesso non morivano subito. In seguito a gasature incomplete, animali incoscienti ma vivi venivano inavvertitamente buttati nei sacchi della spazzatura insieme con i corpi dei loro compagni già morti.

“A raccogliere i corpi dei topi morti nella camera a gas si capiva subito che non era stata una bella morte. I corpi erano ammassati negli angoli uno sopra l'altro nell'inutile tentativo di sfuggire a ciò che stava succedendo. Avevano gli occhi aperti. Non ho mai visto un ratto o un topo morto nella camera a gas con gli occhi chiusi. Mentre il gas invade i polmoni asfissandoli, i topi vengono presi dal panico e corrono in tutte le direzioni arrampicandosi sopra ai compagni nel disperato tentativo di scappare. Lì si trova nella posizione in cui sono collassati, spesso ammassati gli uni sugli altri mentre cercano una via d'uscita che non esiste, oppure scavano agli angoli della gabbia di metallo. I polmoni pompano ancora aria e loro sbarrano gli occhi finché non muoiono”.

Documenti della CXWMS rivelano che su 52.435 roditori venuti alla luce, 'solo' 15.198 (meno di tre su dieci) furono usati nei test, che 3.889 morirono prima ancora di essere svezzati, e che 33.348 (il 68% di tutti i nati) furono uccisi, per lo più gasati, perché eccedevano le necessità sperimentali.

'Fenotipi sofferenti' – progettati per soffrire in modo atroce

Il fenotipo di un animale comprende le caratteristiche fisiche visibili, il funzionamento degli organi interni e il comportamento. Il rapporto del già citato Joint Working Group descrive i fenotipi sofferenti che possono scaturire dall'alterazione genetica: “anomalie morfologiche, fisiologiche, biochimiche e/o comportamentali che compromettono il loro benessere provocando o predisponendo i topi a dolore, a sofferenza e angoscia intensi anche protratti nel tempo. Il benessere dell'animale può risultare compromesso anche se gli effetti dell'alterazione genetica sul fenotipo sono impercettibili”. In altre parole, ai topi GM si possono provocare deformità fisiche o alterazioni funzionali degli organi interni come pure modificazioni della mente e del comportamento. I topi con fenotipi sofferenti vengono programmati per patire forme estreme di dolore, radicate - è il caso di dirlo - nei loro stessi geni. È importante rendersi conto che i topi vengono straziati in questo modo ancor prima di essere sottoposti ai traumatici esperimenti che descriveremo più avanti in questo rapporto.

Ad oggi, quasi ogni area del disagio e delle malattie dell'uomo - da quelle più banali a quelle terminali - è stata “modellata” nei topi GM. Di conseguenza non desta meraviglia che gli esempi di topi con alterazioni genetiche palesemente dannose si continuo a migliaia. Non esistono

dati certi su quale sia, in percentuale, il rapporto tra i topi con fenotipi sofferenti e topi con alterazioni genetiche che ufficialmente non provocano danni o sofferenza. La stima per difetto comunicatami a voce da un ricercatore è che il dieci per cento dei topi GM soffre nel modo sopra descritto.⁴⁴ Tuttavia, secondo un'analisi più sistematica, il 21 per cento delle linee patisce un disagio trascurabile, il 15 per cento un disagio grave, mentre il 30 per cento sperimenta un aumento della mortalità e della suscettibilità ad ammalarsi.⁴⁵ È molto difficile stabilire in forma ufficiale quali fenotipi vadano considerati sofferenti oppure no, ma su questo argomento torneremo nella parte conclusiva del rapporto.

Fino a poco tempo fa, il ratto era l'animale d'elezione per studiare le malattie cardiocircolatorie grazie a un “modello” di alta pressione che è stato sottoposto a un numero infinito di esperimenti. Oggi, invece, vengono utilizzati topi transgenici per modellare non solo l'ipertensione ma anche l'insufficienza cardiaca, l'infarto, le malattie del “muscolo” cardiaco, l'aterosclerosi (stenosi delle arterie), il colesterolo alto, l'ictus e l'obesità.

- **Malattie cardiovascolari:** gli stadi finali dell'insufficienza cardiaca congestizia provocano nei topi dispnea acuta, edema polmonare e gonfiore addominali. I topi knockout per la proteina muscolare LIM e quelli con iperespressione del fattore di necrosi tumorale alfa (TNF alfa) sono destinati a soffrire di gravi insufficienze cardiache quasi sempre letali.⁴⁶ Il topo knockout per il gene Col1a1 sviluppato dai ricercatori della British Heart Foundation è incline a morire improvvisamente per cospicue emorragie interne dovute alla rottura dell'aorta.⁴⁷
- **Obesità:** malgrado le ovvie origini alimentari e sociali, è un oggetto di studio prediletto dai ricercatori su animali. Il topo knockout per il recettore Mc4r mangia troppo, si ammalia e diventa obeso all'estremo, una forma patologica che i topi non conoscono in natura.⁴⁸
- **La ricerca sul cancro** resta centrale nei programmi sui topi GM. Benché trapiantare tumori umani in topi dal sistema immunologico artificialmente compromesso sia chiaramente irrilevante dal punto di vista clinico (si veda il rapporto di Animal Aid *Victims of Charity*, a pagina 7), sono stati creati migliaia di modelli di cancro GM con il loro strascico di incommensurabile sofferenza animale. Un documento del 2010, che esprime in larga misura gli interessi dell'industria e dei ricercatori sul cancro - *Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research*⁴⁹ -, ci dà più informazioni su come vengono utilizzati gli animali che non sul loro benessere. Gli scarni riferimenti alla sofferenza degli animali parlano di “rari” sintomi di infermità così gravi da richiedere l'immediata soppressione degli animali. È significativo che non ci siano indicazioni su come rilevare e valutare oggettivamente la sofferenza o l'angoscia animale nel



Applicazione di una crema depilatoria a un topo prima di un'operazione chirurgica per indurogli l'infarto.

corso degli esperimenti. Solo da poco il National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs) ha cominciato ad affrontare apertamente il tema, riconoscendo che i tumori degli animali “si presume causino loro sofferenza e/o angoscia”.⁵⁰

- Negli ultimi decenni sono stati sviluppati anche diversi modelli di **malattie respiratorie**. Un esperimento sull'enfisema ci descrive la fine di una femmina di topo così sofferente all'età di 8 settimane da dover essere soppressa.⁵¹ Ma prima di venire uccisa, fu lasciata per una settimana a consumarsi nello strazio, letargica e cianotica. All'esame post mortem i suoi polmoni risultarono gravemente compromessi con la totale perdita della normale morfologia anatomica. Altri topi “apparivano esternamente sani” malgrado soffrissero di gravi disfunzioni polmonari, cosa che conferma la difficoltà di individuare i “fenotipi sofferenti”. I topi transgenici prodotti per studiare il cancro dei polmoni sviluppano lesioni maligne tali che muoiono per arresto respiratorio.⁵²
- Provocare disagio e angoscia negli animali è spesso l'obiettivo esplicito degli **studi psichiatrici e neurocomportamentali**. Da molti decenni questo campo di sperimentazione si contraddistingue per l'intenzionale perseguimento del martirio animale e per l'irrelevanza dei suoi studi per l'uomo. Alcuni dei tormenti inflitti ai topi GM dipendono dai “test” per riprodurre la depressione (vedi oltre). Altri soffrono di malesseri artificialmente costruiti, come molti “modelli” di Disturbo ossessivo compulsivo (Doc). Per esempio, i topi mutanti *Hoxb8lox* puliscono ossessivamente il proprio manto e quello dei compagni in modo tale da provocare lesioni alla pelle e caduta del pelo.⁵³ E il topo knockout per il

recettore della serotonina “masticava in modo compulsivo sostanze non nutritive”.⁵⁴ I topi mutanti *Sapap3* “esibiscono comportamenti eccessivi e autolesionistici, incluse lesioni al muso autoprocurate” e ansia crescente.⁵⁵ I topi transgenici *D1CT-7* addentano e tirano ripetutamente la pelle dei compagni di prigionia durante le operazioni di pulizia, e fanno mostra di tic e di altri “comportamenti abnormi, come scavare e arrampicarsi”.⁵⁶ I topi artificialmente sofferenti di “gravi forme di ansia” cercano costantemente di nascondersi quando vengono messi nei labirinti o nelle scatole da test.⁵⁷

- **Epilessia:** Epilepsy Research UK ha finanziato un ricercatore per utilizzare topi knockout che soffrono di crisi epilettiche a partire dalle tre settimane di vita in poi⁵⁸ e che muoiono poco dopo aver raggiunto l'età adulta per via dei continui attacchi. Altri topi ampiamente usati per questo tipo di studi sviluppano alla stessa età le prime crisi convulsive, durante le quali “scrollano la testa, si drizzano sugli arti posteriori mentre quelli anteriori sono colpiti da ripetute contrazioni muscolari, soffrono di occasionale perdita della postura diritta e spasmi generalizzati a tutti gli arti”.⁵⁹ Quindi deperiscono, la loro crescita si arresta e muoiono intorno alla decima settimana a causa delle continue crisi epilettiche o per malnutrizione e disidratazione.
- **L'Alzheimer** e altre malattie neurodegenerative sono state ampiamente modellate nei topi GM. Secondo il Nuffield Council on Bioethics, gli animali “possono mostrare una grande varietà di sintomi neurologici, come tremiti e perdita del coordinamento muscolare. Queste malattie possono anche pregiudicare la capacità di interagire con altri animali nonché semplici comportamenti quali giocare, correre e arrampicarsi”.⁶⁰

Altri esempi di crudeli disabilità inflitte ai topi GM sono state osservate dall'investigatore della NAVS (National Anti-Vivisection Society) presso il centro MRC Harwell – “gravi deformazioni sia degli arti sia dei lobi polmonari; modelli di topo per la malattia di Huntington con masse dure nell'addome, forti tremori, immobilità, priapismo [doloroso indurimento del pene] e perdita fino al 30% del peso; cataratte e altri problemi agli occhi; topi mutanti con musi e nasi deformati causati da una crescita difettosa delle ossa; autolesionismo, per esempio animali che si strappano lembi di pelle con i denti; scompensi cardiaci congestizi che portarono un topo a gonfiarsi fino a tre volte tanto le dimensioni normali”.⁶¹

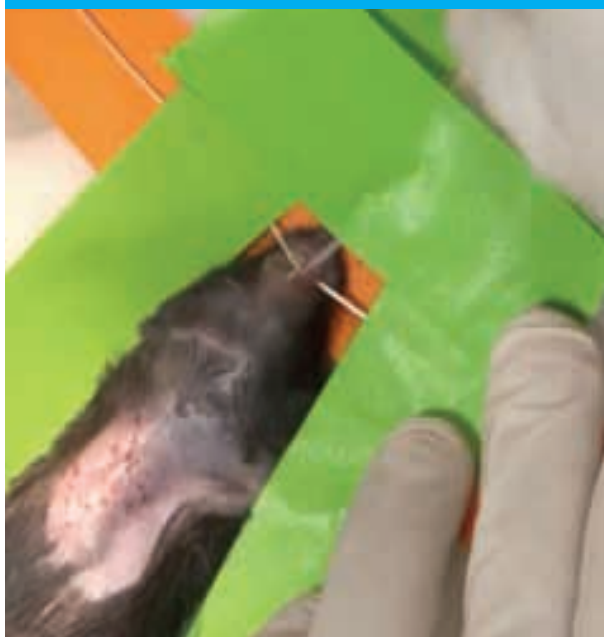
Effetti collaterali della manipolazione genetica angosciosi e letali

Molte vittime della manipolazione genetica soffrono di “effetti collaterali” imprevisti e imprevedibili che si aggiungono alle sofferenze inevitabilmente connesse con le malattie per cui sono stati progettati. Lo si deve all'intrinseca rozzezza delle tecniche impiegate e

all'ignoranza della complessa interconnessione dei processi di regolazione genetica. Sopprimere la funzione di un gene – come avviene nella creazione di “modelli” knock out – può avere vaste ripercussioni inattese. Una volta introdotti in un “ospite” estraneo, i transgeni possono attivare gli effetti voluti nel tessuto sbagliato oppure attivarli in un momento inopportuno, oppure ancora possono produrre effetti incontrollati che danneggiano organi che non hanno attinenza con l'obiettivo dell'operazione. L'inserimento di transgeni può danneggiare geni di cruciale importanza dell'ospite, rendendoli inutili, come anche i decisivi meccanismi di regolazione del DNA che attivano o disattivano i geni. Il Rapporto 2003 del Working Group segnala che gli effetti della transgenesi sono “variabili,



Un topo sul punto di avere un infarto indotto artificialmente tramite il legamento delle arterie coronariche.



imprevedibili, e influenzati da molteplici fattori”.⁶²

Gli effetti non programmati possono manifestarsi già nell'utero con la comparsa dei cosiddetti fenotipi embrionali letali. Quali esempi citiamo topi con emorragie mortali *in utero*, o topi usati per modellare la sindrome di Down che sviluppano malformazioni cardiache fatali durante la gestazione.⁶³ Piccoli che sopravvivono fino alla nascita possono soffrire di gravi anomalie dello sviluppo come per esempio idrocefalia (accumulo di liquido nel cervello) e palatoschisi (malformazione del palato).⁶⁴ Queste anomalie spesso significano che i topi che ne soffrono verranno uccisi oppure moriranno di fame se non riescono a succhiare il latte materno. Altri neonati GM con i polmoni non interamente sviluppati o con le vie respiratorie ostruite muoiono di asfissia, altri ancora hanno gli organi interni esposti (cosa che può indurre la madre a mangiarli vivi), o soffrono di forme di disidratazione mortali dovute alla perdita di acqua attraverso la pelle non sufficientemente sviluppata.⁶⁵ Alcune linee di topi GM hanno denti scadenti o ne sono privi, altri sono afflitti da deformità facciali tali da non riuscire a mangiare il cibo in grani.⁶⁶ Hanno bisogno di alimenti speciali, macinati o inumiditi. I topi artificialmente obesi sono spesso così pesanti da non riuscire a raggiungere le ciotole del cibo là dove vengono normalmente collocate oppure cadono all'indietro sulla schiena senza riuscire a raddrizzarsi. Altri topi sono stati senza volerlo prodotti privi di arti o con mascelle deformi e senza fronte. Non sorprende che l'etil-nitrosurea (ENU), il potente veleno chimico utilizzato nei programmi di mutagenesi, sia anche cancerogeno. Molti topi trattati con l'ENU soccombono perciò prematuramente e nel dolore a diversi tipi di cancro.⁶⁷

Talvolta anche i rapporti vitali tra madri e neonati vengono compromessi. Le alterazioni genetiche possono alterare la funzione delle ghiandole mammarie fino a rendere tossico o letale il latte trasmesso ai figli.⁶⁸ Le femmine di alcune linee GM non riescono ad accudire i piccoli o sono madri scadenti, e alcuni maschi diventano aggressivi al punto da attaccare i propri compagni e i propri piccoli.⁶⁹

Le manipolazioni genetiche possono determinare forte ansia e frustrazione, specie se i topi sono motivati a svolgere attività naturali impossibili o proibite nei laboratori.⁷⁰ Questo può condurli a sindromi d'angoscia che si esprimono in movimenti ripetitivi e privi di scopo. (stereotipi comportamentali, vedi a pagina 23).

Molte linee GM soffrono di problemi di fertilità, cosa che rende problematico il mantenimento delle colonie. Per esempio, alcuni topi sviluppano forme di leucemia non programmate e devono essere “sostituiti” quando arrivano ai sei mesi. Altri smettono di riprodursi prematuramente perché afflitti da ricorrenti cisti ovariche e tumori. Alcune femmine si ammalano di diabete quando hanno dodici settimane ma “la loro vita riproduttiva può essere protratta con iniezioni di Adjuvante di Freund (un'emulsione atrocemente dolorosa di microrganismi e antigeni) nei

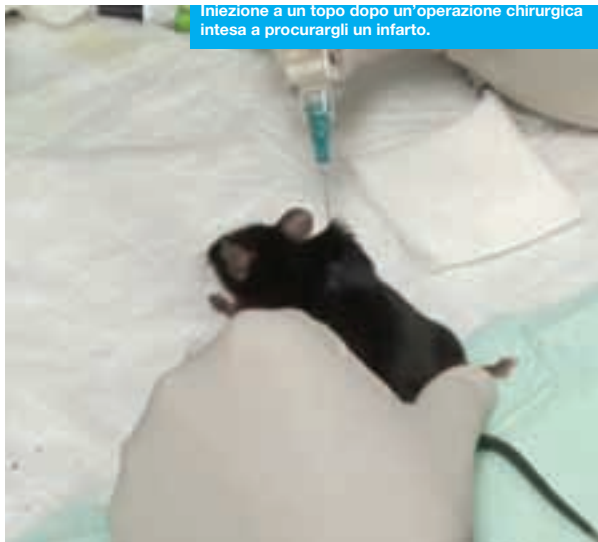
polpastrelli.⁷¹ Altri topi manifestano tremori e crisi epilettiche tra la nona e l'undicesima settimana, e il periodo riproduttivo dei maschi si riduce a non più di tre/quattro settimane.

I modelli di topo per la fibrosi cistica (FC) presentano alcuni elementi della malattia umana in modo così estremo e poco rappresentativo da essere scientificamente a dir poco problematici. Il 60% di alcune linee di topi mutanti FC muoiono appena dopo lo svezzamento, e quelli che sopravvivono soffrono di stenosi e ostruzioni dell'intestino, e di dolorose peritoniti.⁷² Ma per altri topi transgenici FC va anche peggio: solo il 40% di loro, infatti, arriva allo svezzamento mentre la maggior parte muore per ostruzione delle vie respiratorie e soffocamento.⁷³

Alcuni topi GM hanno una capacità di resistenza alle infezioni così compromessa da essere estremamente vulnerabili a ogni tipo di malattia letale. Il patogeno polmonare *Pneumocystis carinii* difficilmente colpisce la maggior parte dei topi, ma negli animali GM immunocompromessi può provocare la polmonite e la morte.⁷⁴ I topi trattati con l'agente ENU sono particolarmente suscettibili alle infezioni perché il veleno danneggia le cellule staminali, importanti per il loro sistema immunitario.⁷⁵ La conseguente necessità di tenerli in gabbie separate rappresenta una grave perturbazione per questi animali così socievoli.

I topi GM come soggetti sperimentali – sofferenza e morte traumatica

Qualche volta l'obiettivo di un progetto di ricerca è scoprire quali topi risultano dalla soppressione o dall'inserimento di un gene. Molto più spesso, però, la produzione e l'allevamento di topi GM rappresentano solo il preambolo di esperimenti successivi. In molti casi, i topi sono programmati per sviluppare specifiche patologie, ma solo se sottoposti a ulteriori operazioni chirurgiche, avvelenamenti, diete innaturali, traumi e sofferenze



psicologiche. Molte delle procedure sperimentali possono essere catalogate come ricerca di base, senza alcuna diretta rilevanza con la scoperta di trattamenti medici. Eccone alcuni esempi:

- Ai topi transgenici utilizzati dai ricercatori della Alzheimer's Society (vedi più avanti) fu procurato un ictus inserendo minuscoli fili metallici nei vasi sanguigni del cervello. Ad altri si inserivano dei dispositivi nelle carotidi per privare il loro cervello di ossigeno in modo permanente.⁷⁶
- L'Alzheimer's Society ha finanziato anche esperimenti nei quali topi transgenici venivano sottoposti a test natatori in un labirinto acquatico di Morris. Sono test nei quali si costringono i topi (che sono animali strettamente di terra) a nuotare in una vasca d'acqua finché non localizzano una piattaforma dove riposare. La piattaforma viene quindi nascosta e ai topi si chiede di ricordare dove si trovava intanto che nuotano freneticamente per sfuggire all'annegamento. Due "neuroscienziati membri" della lobby Understanding Animal Research sostennero nel 2011 che l'acqua delle vasche è tutt'altro che fredda e la procedura per niente crudele. Ma un gruppo di ricercatori finlandesi che affermano di avere sottoposto circa 3 mila topi transgenici a questo tipo di test dicono chiaramente che gli animali vengono esposti all'acqua fredda ("per rafforzare la loro motivazione a mettersi in salvo") e che "giovani topi in salute possono soffrire di grave ipotermia durante l'esperimento". Questo è dovuto alla loro piccola dimensione e al sottile strato di grasso sottocutaneo. I modelli di topi transgenici per l'Alzheimer sono ancora più vulnerabili all'ipotermia per via delle piccole dimensioni. Quanto alla crudeltà, il gruppo finlandese è categorico nell'affermare che il test comporta "ineludibile stress".⁷⁷
- Sia la British Heart Foundation che la British Lung Foundation hanno finanziato studi dove si costringevano topi knockout a inalare fumo di sigaretta e a subire ripetuti "lavaggi" dei polmoni per individuare l'infiammazione.⁷⁸ I topi venivano collocati in un contenitore di plexiglass, dove veniva pompato il fumo di sigarette Marlboro. Come se non bastasse, gli sperimentatori iniettarono "Estratto di fumo di sigaretta" nell'addome di alcuni di loro allo scopo di indurre la peritonite. Cinicamente, un ricercatore americano ha definito queste vittime "Topi Marlboro".⁷⁹
- Per gli esperimenti cardiovascolari sono stati creati dei topi inclini a soffrire di rottura del miocardio dopo un infarto indotto chirurgicamente. In un esperimento, i topi che non soffrirono di lacerazione morirono per difficoltà respiratorie nel giro di una settimana.⁸⁰ La British Heart Foundation ha di nuovo finanziato, recentemente, studi analoghi.⁸¹ Nella ricerca sull'ictus, femmine di topo GM furono avvelenate con il sale e altri agenti chimici per alzare la pressione sanguigna. Gli sperimentatori aspettarono quindi che le topoline sviluppassero i sintomi dell'ictus - difficoltà di movimento e altre disabilità - prima di ucciderle. Tutti gli animali avvelenati morirono di emorragia cerebrale nel giro di dieci giorni.⁸²



Topo sottoposto a un test di disperazione comportamentale. Immerso in un recipiente pieno d'acqua lotterà per sfuggire all'annegamento ma finirà con l'arrendersi.

- I “test” che l'establishment psichiatrico infligge ai topi oltre a essere grottesche parodie delle patologie umane sono incredibilmente crudeli. Eccone alcuni, tratti da una recensione scientifica del 2005:⁸³

“Molti modelli ed esperimenti per studiare la depressione nei topi prevedono che vengano esposti a situazioni stressanti. La più utilizzata di queste procedure sperimentali è con ogni probabilità il test del nuoto forzato (FST o forced swim test), che è un test di “disperazione comportamentale” noto anche come test di Porsolt. Il test prevede che si osservi e si cronometri in che modo i roditori collocati in un cilindro pieno di acqua cerchino inizialmente di mettersi in salvo con movimenti energici e come poi smettano progressivamente di muoversi. Un test analogo è quello in cui i topi vengono sospesi per la coda (TST o tail suspension test) e finiscono con l'arrendersi dopo alcuni minuti di inutile lotta per liberarsi”.

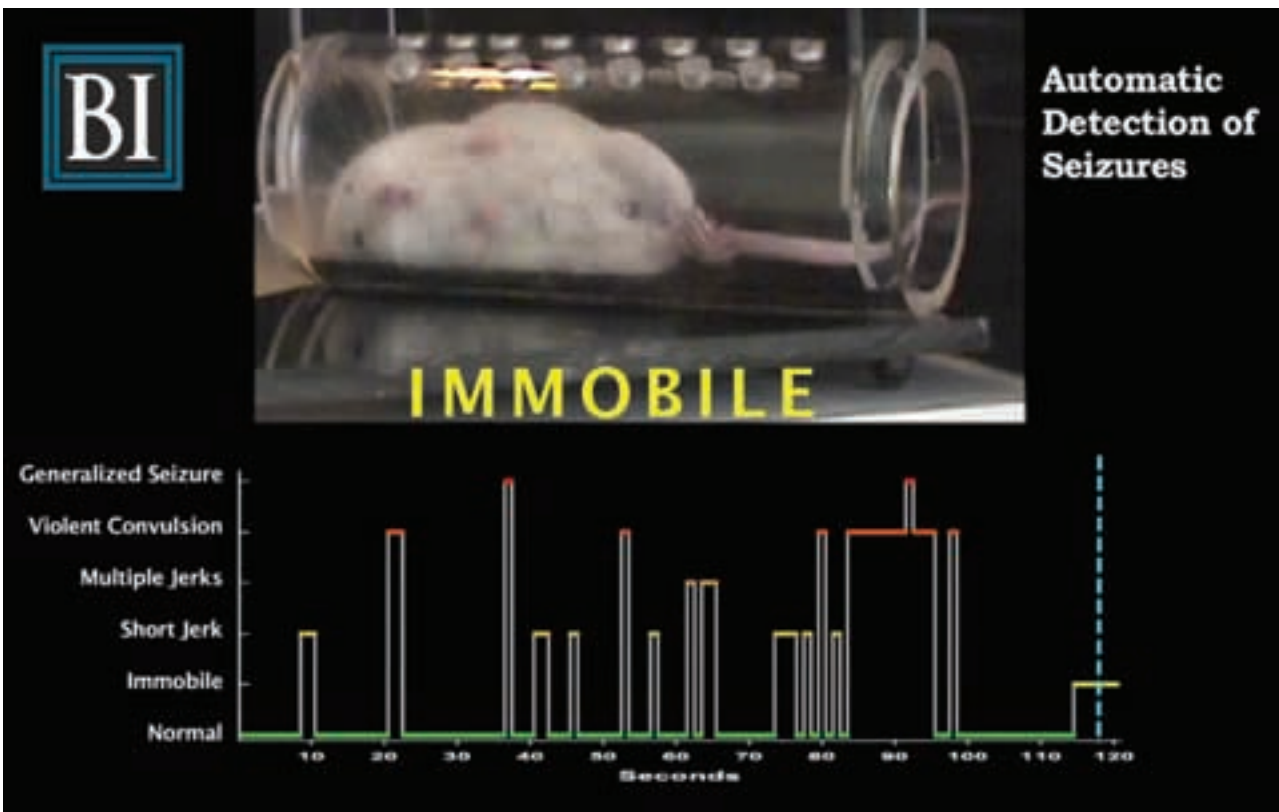
“Un altro modello si basa sull'esposizione del topo a ripetute ma imprevedibili fonti di stress (CMS o chronic mild stress model) quali lettieri bagnate, illuminazione perenne e privazione di cibo. Le procedure CMS provocano molteplici alterazioni di lungo periodo sia comportamentali che neurochimiche, immunologiche ed endocrinologiche, simili a quelle che si osservano nei pazienti depressi”.

I topi vengono privati dell'acqua, devono subire scosse elettriche e l'inserimento di sonde rettali. Altre crudeltà consistono nel separare le madri dai loro piccoli per farli squittire d'angoscia, esporli inermi ai predatori e distruggere il loro senso dell'odorato tramite rozze procedure chirurgiche. Quest'ultima pratica li rende cronicamente folli di paura, ritratti in se stessi e mentalmente disturbati.⁸⁴

- Ad alcuni modelli di topi GM si procurano crisi epilettiche tramite “lievi scosse ritmiche” ovvero facendoli rimbalzare in aria al ritmo di 256 cicli al minuto.⁸⁵ In un esperimento parzialmente finanziato dalla Epilepsy Research Foundation UK, s'impiegarono degli elettrodi permanenti sia nel cervello dei topi GM sia in quello dei topi di controllo per monitorare le rispettive onde cerebrali. Quindi si indussero negli animali gravi crisi epilettiche iniettando loro un acido nell'addome, e lasciandoli in preda alle convulsioni per un'ora prima di porre fine alla loro sofferenza. Alcuni dei topi GM morirono stroncati dalle inarrestabili convulsioni.⁸⁶ Nei rapporti degli sperimentatori si trovano parecchi riferimenti a topi GM uccisi dalle crisi epilettiche chimicamente indotte.

La “normale” sofferenza dei topi nei laboratori e durante il trasporto

Peccheremmo di omissione se non descrivessimo brevemente la sofferenza generalizzata dei topi - geneticamente modificati e non - confinati nei laboratori.



Strumento per misurare l'ampiezza di un attacco epilettico nei topi.

I topi sono creature altamente sociali e curiose, con un vasto repertorio di comportamenti naturali che vengono inibiti nell'ambiente del laboratorio. Hanno paura e si spaventano quando vengono trasportati anche solo nell'ambito dello stesso stabilimento, a maggior ragione nel caso di lunghi tragitti. Innumerevoli testimonianze ci dicono quale sia il carico di sofferenza che questi spostamenti coatti impongono loro.

A riprova di quale sia la situazione, un recente studio di Knight ⁸⁷ segnala che “per uniformare le condizioni sperimentali, e per facilitare l'accesso per le procedure sperimentali e per la pulizia degli alloggi, gli animali vengono chiusi in piccole gabbie con pochi o nessun oggetto di arricchimento ambientale”. Knight prosegue descrivendo la mancanza di illuminazione naturale (cosa che nei topi può rapidamente portare alla degenerazione dell'occhio e all'insorgere di cataratte)⁸⁸ e all'intenso rumore di fondo dei laboratori paragonabile al clamore di un treno della metropolitana.

Vivere in gabbia non consente ai topi di interagire socialmente in modo naturale. Nei laboratori, i topolini vengono generalmente separati dalle madri quando hanno appena tre settimane; in natura, essi non si allontanerebbero dal luogo di nascita prima delle sei settimane.⁸⁹ Alloggiamenti singoli sono la norma, specie per gli animali oggetto d'esperimento. Come se non bastasse, dal momento che un'epidemia infettiva all'interno di un laboratorio potrebbe richiedere la soppressione di intere colonie, per isolare gli animali “a rischio” si applicano procedure speciali, ed essi vivono in condizioni di deprivazione sensoriale estrema, in molti casi con sistemi di sicurezza tali da impedire persino il passaggio dei suoni e degli odori da una gabbia all'altra. Così imprigionati, i topi mancano di qualsiasi stimolo sociale.

Nei laboratori, molti topi soffrono di disturbi psicologici permanenti, come evidenziato dal “barbering” (strapparsi pelo e vibrisse) o da altre azioni compulsive quali il circling (percorrere in circolo il perimetro della gabbia), route-tracing (percorsi ripetitivi dentro la gabbia), back-flipping (capriole all'indietro) or bar biting (mordere le sbarre della gabbia). Si stima che questi comportamenti abnormi affliggano circa il 50% di tutti i topi confinati nei laboratori.⁹⁰ Il fatto di strapparsi manto e vibrisse (“barbering”) viene attribuito sia a fattori genetici sia alla noia. E' importante segnalare che questi effetti avversi spesso non vengono eliminati neppure con il limitato “arricchimento” standard delle gabbie in uso nella maggior parte dei laboratori. Un rapporto del 2010 sul benessere dei roditori da laboratorio chiarisce alla perfezione quale sia il punto: “L'attuale tendenza ad arricchire le gabbie è positiva, ma una gabbia non è poi granché ... Dentro una gabbia arricchita gli animali non hanno nessuna possibilità di decidere dove andare. Non possono andare a caccia di cibo né scavarsi una tana di propria scelta. Non possono esplorare l'ambiente né sottrarsi ai rumori molesti, agli

odori o alle luci”.⁹¹

Un gran numero di topi GM viene trasferito da uno stabilimento all'altro (vedi sezione due). Essere “spediti” rappresenta un'esperienza angosciosa per gli animali, e l'angoscia si moltiplica nel caso di alcuni topi GM già strutturalmente sofferenti.⁹² Persino brevi spostamenti possono sconvolgere questi animali alterandone la fisiologia. Uno studio del 1995 eseguito per monitorare i dosaggi ormonali e il comportamento dei topi, scoprì che gli animali non si erano ancora completamente ripresi quattro giorni dopo essere stati spostati da una stanza all'altra.⁹³ Malgrado le norme che regolamentano il trasporto degli animali, gli errori sono inevitabili. Una newsletter del 2003 indirizzata agli sperimentatori ammette candidamente:

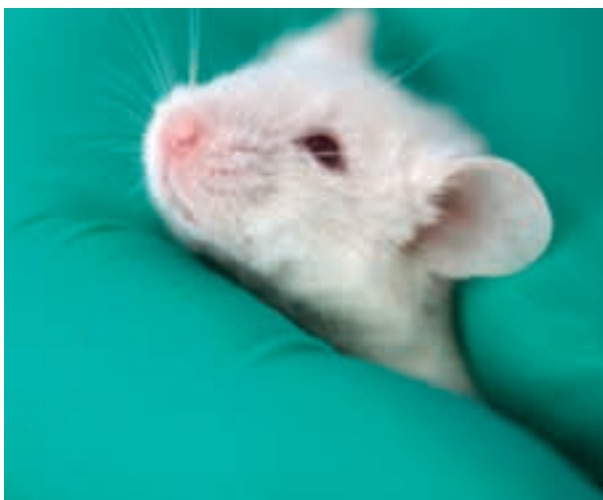
“Anche se il maltrattamento non è intenzionale, ci sono innumerevoli esempi di animali trattati con incuria durante i trasferimenti aerei. Casi di animali abbandonati per ore sulle piste dentro alle stive degli aerei; animali che vengono perduti o erroneamente smistati; animali esposti a temperature estreme; animali vittime di incidenti dovuti a trascuratezza, evitabili, sono ancora all'ordine del giorno”.⁹⁴

Ma anche le cosiddette procedure di “routine” hanno risvolti spiacevolissimi per i topi che le subiscono. Knight descrive come anche solo l'essere maneggiati, l'alimentazione forzata o le prese di sangue per le analisi terrorizzano gli animali da laboratorio, compresi i topi (che vengono tradizionalmente afferrati e sollevati per la coda). Ci sono resoconti che attestano come gli animali abbiano spesso sofferto di alterazioni fisiologiche e biochimiche “rapide, pronunciate e statisticamente significative, e cioè di marcate risposte da stress.

“Violazioni” ufficiali e inchieste sotto copertura

Nei centri specializzati in topi transgenici, dove vivono grandi popolazioni di animali selezionati, i fattori di stress sopra menzionati si moltiplicano e si aggravano. E qui più che altrove è probabile che gli animali incorrano nei maltrattamenti dovuti a negligenza e incuria documentati dalla National Anti-Vivisection Society (AVS) alla Charing Cross Medical School e al MRC Harwell. Le strazianti sofferenze dei topi nel primo dei due centri ci vengono così descritte dall'investigatore:

- “Mentre pulivo le gabbie ne ho trovata una con tre femmine di appena 30 giorni con il manto tutto chiazzato. Una era morta, le altre due malridotte, letargiche e in preda a violenti tremori. K. disse che con ogni probabilità la causa era un blocco nell'erogatore di acqua”.
- “Oggi mentre pulivo, ho trovato una topolina M9 selezionata per la riproduzione molto malridotta. Appena sotto la pelle si sentivano chiaramente le ossa. Aveva 91



giorni. Alla fine fu soppressa col gas perché non c'erano speranze di salvarla. Il suo problema era che le erano cresciuti i denti a dismisura e non riusciva a mangiare”.

- “Oggi non ho trovato molti animali morti. In una gabbia per due, ce n'era uno che sembrava fosse lì da decenni. Era rigido ma non a causa del rigor mortis bensì perché si era completamente disidratato”.
- “Ho scattato alcune foto di un topo T/O destinato a essere eliminato. Aveva profonde ferite sulla coda e sul corpo intorno alle zampe posteriori. Sanguinava copiosamente da una chiazza priva di pelo su una delle zampette anteriori e la coda era un ammasso di croste e sangue rappreso. Non si riuscivano a distinguere le dita delle zampe anteriori, tutto ciò che riuscivo a vedere erano grumi di sangue”.

La NAVS ne ha concluso che con questo tipo di routine “gli stati patologici vengono percepiti solo quando assumono forme molto gravi o gli animali vengono trovati morti. Quasi mai i roditori vengono curati perché rappresentano uno strumento di lavoro “usa e getta” estremamente a buon mercato”.⁹⁵ Più recentemente (2006), l'investigazione realizzata presso il centro di ricerche Harwell ha rilevato perdite d'acqua dentro alle gabbie dei topi, con conseguente grave raffreddamento, disagio o addirittura la morte. A una topolina, con il muso e i piedi di un rosa acceso, fu diagnosticata una grave ipotermia e quindi uccisa.

Fin qui abbiamo riportato casi di abuso messi in luce da inchieste sotto copertura. Ma gli stessi rapporti del Home Office pubblicati annualmente dall'Animals Scientific Procedures Inspectorate (ASPI) rilevano che i topi sono frequentemente oggetto di “infrazioni” alle norme riportate sulle licenze, e che quantomeno alcuni sperimentatori sono capaci di gravissima incuria”.⁹⁶ Resta il fatto che è impossibile misurare con quale frequenza questi atti si ripetano, data l'assoluta segretezza che con l'avallo della

legge occulta la sperimentazione animale, insieme con l'assenza di controllo pubblico.

Di seguito, altri esempi di sofferenza e morte dei topi riportati di recente dall'ASPI :

- In un programma di trasferimento embrionale, uno sperimentatore volendo scoprire come mai ci fossero così tanti problemi con la rimarginazione delle ferite, invece di chiedere consiglio ai colleghi cercò di scoprirlo da solo esercitandosi in diverse tecniche di sutura.
- Due topi furono lasciati per un intero weekend dentro un'apparecchiatura di diagnostica per immagini dove vennero trovati tre giorni dopo. Uno dei due era morto.
- 24 topi geneticamente modificati morirono e fu necessario sopprimerne altri 14 per il guasto di un sistema di controllo che portò la temperatura di una stanza a livelli intollerabili. L'allarme era stato disattivato e il mancato funzionamento della valvola di sicurezza fu attribuito a cattiva manutenzione.
- 25 topi morirono di denutrizione, e un altro morì per la crescita abnorme dei denti.
- In due diverse occasioni, 208 topi annegarono per il cattivo funzionamento del distributore di acqua potabile.
- Gli sperimentatori trasferirono illegalmente i topi di un progetto regolarmente registrato che stava per volgere al termine a un altro progetto. Etichettarono le gabbie in modo da coprire l'illegalità commessa ma dimenticarono di controllare lo stato dei topi, molti dei quali morirono di infezione.
- Parecchi topi furono trovati morti e altri dovettero essere soppressi perché le sofferenze loro inflitte avevano superato il limite di gravità stabilito nella licenza. La conseguente inchiesta del Home Office comprovò che lo sperimentatore aveva causato la morte di altri topi perché “aveva trascurato di prendersi la dovuta cura degli animali”.



“... la banale constatazione che gli esseri umani sono molto diversi dai topi ci dice chiaramente che i geni lavorano in modo diverso nelle diverse specie...”

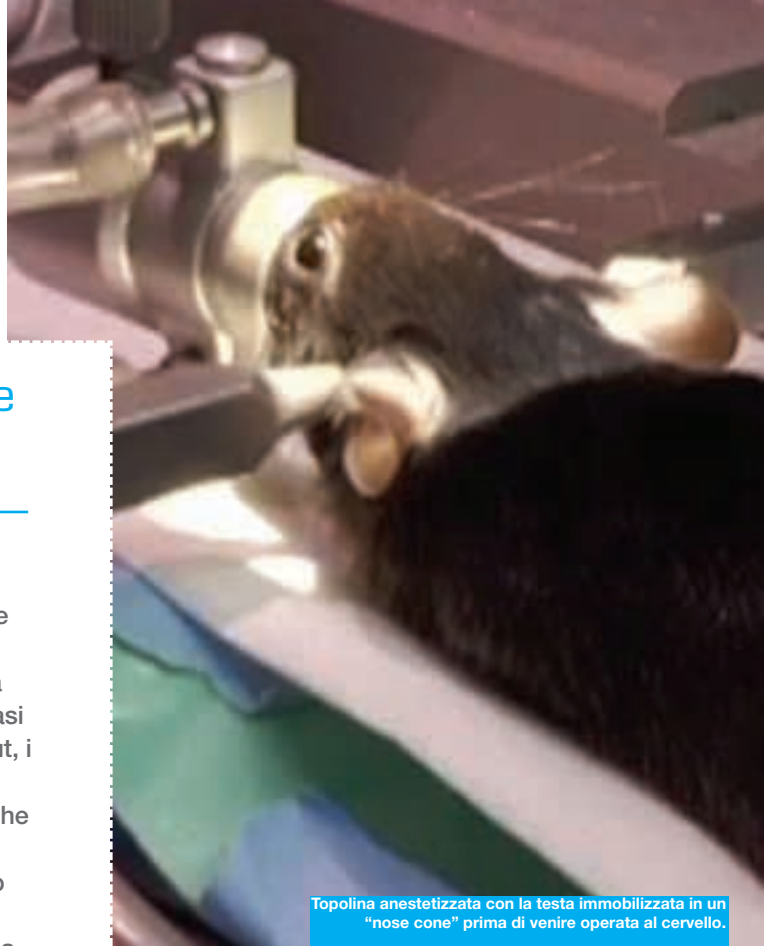
SEZIONE SEI | I modelli di topo GM e il loro fallimento in campo medico

“A nostro avviso, il grande utilizzo che si fa di topi GA [Geneticamente alterati] non può essere giustificato sostenendo che essi sono di vitale importanza per la salute dell'uomo, dato che pochissimi medicinali largamente o esclusivamente basati sull'impiego di topi GA hanno finora visto la luce. Una situazione insoddisfacente malgrado quasi quattro decenni di studi su topi GA - il primo topo knockout, i primi topi transgenici e trisomici (con un cromosoma addizionale) risalgono infatti agli anni Ottanta. La verità è che l'incapacità di molti modelli murini GA di riprodurre le caratteristiche di una determinata patologia umana nel suo insieme ha spesso portato alla creazione di modelli murini differenziati per studiare singoli aspetti della stessa malattia. Di conseguenza bisogna non soltanto considerare i problemi legati ai differenti background genetici dei topi usati in questi studi di mutagenesi, ma sapere che tutto ciò ha confuso l'interpretazione delle informazioni ottenute e ha potenzialmente rallentato anziché accelerato lo sviluppo di nuovi trattamenti medici”.

La citazione che avete appena letto è tratta da un articolo pubblicato nel 2006 da due scienziati del UK Fund for the Replacement of Animals in medical Research.⁹⁷ Essa riassume buona parte degli argomenti che verranno affrontati di seguito e dimostra che le obiezioni agli esperimenti sui topi riguardano sia la sofferenza umana che quella degli animali.

E ciononostante, il mito secondo il quale le molte e grossolane sofferenze dettagliate in precedenza siano un prerequisito necessario per alleviare la sofferenza umana viene largamente diffuso dall'industria della sperimentazione animale e dal governo. Ad esempio, nel 2011, la lobby Understanding Animal Research ha affermato che “le modificazioni genetiche sono in grado di fornire modelli animali migliori e maggiormente predittivi per le malattie umane”.⁹⁸ Ciò significa presumibilmente “meglio dei modelli animali, scarsamente predittivi, che precedevano quelli non-geneticamente modificati”. La triste realtà è che la medicina (e persino le strategie preventive) “su base genetica” non riescono ad essere all'altezza delle strabilianti promesse iniziali.

Uno dei fattori generanti confusione è che nel genoma umano le mutazioni individuali sembrano rappresentare solo una frazione del rischio che si corre di contrarre una determinata malattia. Anche laddove si sospetta che esista una forte componente genetica, le malattie più diffuse sono spesso legate a molte varianti piuttosto rare anziché a poche varianti generalizzate. Nel 2010, Harold Varmus, ora direttore del US National Cancer Institute, ha



Topolina anestetizzata con la testa immobilizzata in un “nose cone” prima di venire operata al cervello.

affermato “... la genomica è un modo di fare scienza non medicina”.⁹⁹ Persino Lord Robert Winston, docente universitario e convinto sostenitore della sperimentazione animale, nel giugno 2012 ha dichiarato che “lo strombazzamento pubblicitario” sul sequenziamento del genoma umano è una vera assurdità. Winston si è spinto oltre dicendo che gli studi genici “di sicuro non sono utilizzabili per tutti i tumori, e neppure per la maggior parte di essi. Lo stesso vale per le malattie cardiovascolari che colpiscono un terzo di noi. E per quanto riguarda il cervello sono stati una vera delusione”.¹⁰⁰

Se queste opinioni ci dicono quale sia la situazione degli studi di genetica umana, a maggior ragione esse fotografano la realtà della ricerca su animali GM, e magari ancora di più, essendo così lontani i topi dalle concrete origini delle patologie umane. Non sorprende, quindi, che utilizzare topi geneticamente alterati per riprodurre le malattie umane molto semplicemente non stia dando risultati. *L'industria dei modelli murini, per avere qualche possibilità di successo nell'aiutare i malati, ha bisogno che siano veri tre assunti chiave. Primo: che i geni dei topi lavorino allo stesso modo di quelli umani; secondo: che le modificazioni geniche indotte nei topi producano malattie simili a quelle di cui soffre l'uomo; terzo: che i trattamenti efficaci su questi topi, lo siano anche per gli umani. Vi sono ora prove che tutti e tre questi assunti sono gravemente viziati.*

Nel testo a seguire analizziamo alcune motivazioni generali riguardanti il perché i modelli di animali GM rappresentano un approccio scarsamente rilevante per la salute umana. Ci addenteremo poi, in relazione ad alcune importanti patologie, in un'analisi più specifica dell'inefficacia di questi esperimenti e di come essi rappresentino un tradimento

della fiducia in essi riposta dai pazienti. In questa parte ci rifaremo agli esempi documentati nel rapporto di Animal Aid *Victims of Charity* (2011).

I topi GM - Perché il loro utilizzo non contribuisce al progresso della medicina umana

Le ragioni di fondo per cui gli esperimenti sui topi non sono predittivi per gli esseri umani sono molteplici. Eccone alcune fra le più importanti.

1. Differenze interspecifiche di fondo

Indipendentemente da ogni corrispondenza di tipo genetico, gli esseri umani non sono topi giganti. I topi differiscono da noi per fisiologia e anatomia, in particolare per quanto riguarda il sistema cardiovascolare e respiratorio (vedi a pagina 30). Ci sono profonde differenze tra il sistema immunitario dell'uomo e quello del topo in termini di sviluppo, attivazione e risposta agli stimoli.¹⁰¹ I topi non sviluppano spontaneamente condizioni neurologiche come la malattia di Alzheimer e il morbo di Parkinson. Alcuni rari tumori dell'uomo si riscontrano in percentuali altissime in alcuni ceppi murini. Mentre i più comuni tumori dell'uomo quasi mai si sviluppano nei roditori.¹⁰²

2. Differenze costitutive degli stati patologici

I topi da laboratorio, siano essi GM o no, differiscono notevolmente dalla popolazione umana. I ceppi sono altamente selezionati e geneticamente omogenei mentre la variabilità genetica è un dato costitutivo degli esseri umani e gioca un ruolo importante nel rischio, nello sviluppo e nella progressione della malattia. Inoltre, gli animali GM utilizzati negli esperimenti non soffrono dei disturbi che si riscontrano nei malati afflitti da patologie croniche (come il diabete e l'ipertensione), che si sviluppano nel tempo e sono caratterizzati da una grande varietà e molteplicità di aspetti.

3. Differenze ambientali

Le prime sezioni di questo rapporto hanno documentato quanto sia faticosa e stressante la vita dei topi da laboratorio. Alimentazione forzata, dolorose iniezioni multiple, procedure chirurgiche e strumenti di contenzione sono tutti elementi che concorrono a indurre risposte ormonali dovute allo stress. Il ripetersi di questi eventi predispone gli animali a un abbassamento delle difese immunitarie e ad alterazioni cancerose. E' dimostrato che il semplice fatto di venire maneggiati aumenta in modo imprevedibile, in questi animali, il diffondersi e la crescita dei tumori.¹⁰³

4. Biologia evolutiva e teoria della complessità

Durante l'evoluzione della specie, gli individui di maggior successo sono quelli che meglio si adattano al proprio ambiente e risultano più attrezzati per affrontare le sfide che esso pone. L'evoluzione dei topi ha imboccato una strada diversa da quella degli umani circa 70 milioni di anni fa, con l'elaborazione di specifiche strategie per alimentarsi in modo efficiente, nascondersi e riprodursi

copiosamente. Da parte loro, i primati imboccarono a quell'epoca un sentiero evolutivo esclusivo, che li dotò di un cervello di grandi dimensioni e della capacità di progresso cognitivo.

Nella storia evolutiva, queste differenze hanno portato anche a significative differenze nella configurazione della macchina genetica. L'alterazione di un gene in un animale non è un processo lineare dagli effetti facilmente discernibili. La "macchina" biochimica responsabile di questi processi è diversa da una specie all'altra, con geni simili che svolgono funzioni diverse. Variazioni minime nella sequenza del Dna possono condurre a profonde diversità nella biochimica e nella fisiologia. Esse dipendono soprattutto da variazioni interspecifiche nell'espressione dei geni regolatori e nelle regioni del Dna

Ne consegue che estrapolare i risultati delle alterazioni genetiche tra specie diverse implica la possibilità di errori giganteschi. Nel tentativo di dare credibilità al loro lavoro, gli sperimentatori su animali citano il fatto che l'80% dei geni umani hanno un equivalente murino. La banale constatazione che gli esseri umani sono molto diversi dai topi mostra che i geni lavorano in diverso modo nelle diverse specie. Un set di geni apparentemente molto affine crea un animale profondamente diverso.

Alcune ragioni alla base di questo divario cominciano soltanto adesso a essere comprese, grazie allo studio del genoma umano. Nell'agosto del 2012 sono usciti una serie di articoli su riviste scientifiche di rilievo a proposito del cosiddetto Dna spazzatura. Sappiamo ormai da tempo che circa il 98 per cento del Dna del genoma umano non codifica per le proteine e quindi non è organizzato in sequenze di geni. Negli anni Settanta, questo materiale non codificante è stato erroneamente etichettato come "Dna spazzatura" benché sia apparso chiaro, da allora, che questo materiale ha un ruolo chiave nel regolare l'espressione dei geni. I geni sono regolati in modi diversi attraverso l'azione di diversi "interruttori" interconnessi.

Oggi, riconosciuta l'estrema complessità di questa materia, il concetto di Dna spazzatura è largamente superato. Nel settembre del 2012, un ricercatore del Regno Unito ha affermato che "quasi tutto il genoma riveste un ruolo per qualcosa, e qualsiasi modifica in un punto potrebbe produrre un effetto altrove".¹⁰⁴ Questa complessità ci aiuta a capire come mai i risultati della manipolazione genetica non sono predittivi neppure tra differenti ceppi di topi, figuriamoci tra specie diverse.

Bailey, nel rapporto di Animal Aid *"Man or Mouse"* spiega come questa complessità possa confondere i tentativi di riprodurre le malattie umane nei modelli di animali GM:

"Non importa quanto siano simili i nostri geni strutturali, se essi sono regolati in modo diverso, anche gli scenari che ci si parano davanti sono completamente diversi.

Immaginiamo due grandi, complessi e pressoché identici organi di chiesa collocati l'uno accanto all'altro. Le centinaia di registri [i cui comandi sono posti] ai due lati delle tastiere sono i geni regolatori e le regioni del nostro Dna, capaci sia di modificare in modo impercettibile il suono individuale di ciascuno dei due strumenti sia di agire in modo combinato, alterando drasticamente il suono dei due organi in un incalcolabile numero di varianti. Anche se su entrambi gli organi viene eseguita la stessa musica, il suono sarà radicalmente diverso, a meno che i registri (vale a dire le regioni e i geni regolatori) si trovino in una configurazione identica. Cambiate il modo e i tempi con i quali i tasti vengono abbassati, e i risultati finali saranno completamente irricognoscibili l'uno dall'altro.¹⁰⁵

Ne consegue che alterare il patrimonio genetico di qualsiasi organismo, topi compresi, può portare a conseguenze completamente imprevedute. In alcuni casi, esse possono essere tragiche e fatali. In altri, i risultati possono essere troppo sottili per venire colti dai grossolani studi di laboratorio, e tuttavia di vitale importanza. Questo ci riporta alla biologia evolutiva. Un genetista americano ha detto a proposito degli esperimenti sul genoma dei topi: "Sopravvivere per una o due generazioni in un laboratorio è cosa ben diversa dal competere vittoriosamente per milioni di anni in natura... La selezione darwiniana è un test ben più impegnativo".¹⁰⁶ Detto altrimenti, i topi possiedono intere sezioni del cosiddetto Dna spazzatura che sono decisive e nello stesso tempo poco o nulla comprese. Lo stesso vale per gli esseri umani, e questi buchi neri nella conoscenza non sono con ogni evidenza cose da poco.

Sempre più spesso sentiamo parlare di una "medicina personalizzata" fondata sul principio che persone differenti con la medesima malattia possano rispondere in modo diverso ai trattamenti farmacologici. Quello che funziona in una popolazione di pazienti potrebbe non funzionare in un'altra. Sta diventando chiaro che la maggior parte delle malattie umane con un'importante componente genetica sono influenzate da una molteplicità di fattori genici. Solo in casi eccezionali i ricercatori riescono a capire quali siano tutti i percorsi coinvolti. E ciononostante, la maggior parte degli esperimenti GM si fondano sulla soppressione o sull'inserimento di un solo gene. E' un modello di scienza riduzionista che non porta frutti, un percorso poco favorevole allo sviluppo di una medicina personalizzata. Ecco il commento risalente al 2012 di un gruppo di specialisti :

"In tutti i sistemi complessi, piccoli cambiamenti nelle condizioni iniziali possono condurre a esiti notevolmente diversi. Tuttavia, malgrado la variabilità umana e malgrado le variazioni interspecifiche, le specie non-umane rappresentano ancora il modello principale per ottenere dati sugli uomini. Noi mettiamo in discussione tale pratica e sosteniamo che una ricerca fondata su dati specie-specifici per l'uomo debba diventare lo strumento principe per ottenere dati sulle malattie umane e sulla risposta dell'uomo ai farmaci".¹⁰⁷



Soppressione di un topo tramite rottura del collo.

5. Modelli di malattia fuorvianti e inaccurati

In molti casi, gli sperimentatori tentano di riprodurre nei topi GM il funzionamento di cose che non capiscono negli umani. Un classico - e tragico - esempio di questo modo di procedere è bene esemplificato da decenni di ricerca sull'Alzheimer (vedi più oltre). La nostra comprensione delle cause biologiche che determinano l'insorgere della malattia nell'uomo è ancora molto limitata. Ma questo non ha impedito ai ricercatori di decidere che alcuni elementi emersi dalle ricerche sui malati di Alzheimer erano decisivi e andavano quindi riprodotti in modelli di topi GM. Questi topi furono poi utilizzati per sviluppare molteplici trattamenti per la malattia, nessuno dei quali centrò il bersaglio. Modelli animali egualmente fuorvianti sono stati sviluppati per altre patologie, a cominciare dal cancro e dalle patologie cardiovascolari.

6. La ricerca di base fine a sé stessa

Molta sperimentazione animale è di natura puramente speculativa, mossa dall'obiettivo di "far avanzare la conoscenza". A differenza della ricerca applicata o "traslazionale", la licenza concessa a questo tipo di esperimenti non prevede che essi abbiano la finalità di alleviare la sofferenza e/o le malattie umane e degli animali. E di fatto, assai raramente esperimenti di questa natura portano benefici medici. Si è appurato, infatti, che solo lo 0,004% degli studi pubblicati su riviste di prestigio hanno prodotto qualche risultato in riferimento a nuovi farmaci.¹⁰⁸ Eppure - va notato - i topi GM sono gli animali più utilizzati nella ricerca di base.

Gruppi e lobby pro-sperimentazione animale enfatizzano senza posa il ruolo dei topi per la medicina umana. E tuttavia, nel Regno Unito le procedure eseguite sui topi per la ricerca di base sono state, nel 2011, circa tre volte tanto (oltre 864.000) quelle per la medicina applicata o gli studi odontoiatrici.¹⁰⁹ Circa 475.000 di queste procedure hanno utilizzato topi GM. A titolo di paragone, le procedure con topi GM per la ricerca applicata sono state quell'anno circa 31.500. Insomma gli esperimenti dettati dalla curiosità sono stati quindici volte più numerosi.

Prendiamo, a titolo di esempio, un ridicolo esperimento del 2010 finanziato da Cancer Research UK, nel quale i ricercatori soppressero un gene che consideravano "essenziale alla vita", per poi scoprire "significativamente" che i topi sopravvivevano con "fenotipi inaspettati e fuori dall'ordinario".¹¹⁰ Insomma, anche in questi giorni di "riduzione e perfezionamento" delle procedure, è ancora considerato accettabile progettare fenotipi letali. Fanno, se possibile, ancora più scandalo quei ricercatori che hanno ammesso di avere escogitato inesistenti connessioni con malattie umane per ottenere un finanziamento o una pubblicazione. Aggiungendo di avere utilizzato "metodi creativi per vendere le proprie ricerche attribuendo loro la potenzialità di rapide applicazioni cliniche".¹¹¹ E' probabile quindi che il numero di procedure GM effettivamente "applicate" sia ancora più basso di quanto non suggeriscano le statistiche ufficiali.

L'incapacità di predire che cosa succederà agli esseri umani - un tradimento ripetuto

Crediamo sia scontato dire che i pazienti valutano i possibili benefici della ricerca in termini di cure efficaci. Agli individui che soffrono di patologie dolorose, invalidanti o potenzialmente mortali poco interessa se i ricercatori hanno trovato nuovi dati da aggiungere al database della conoscenza. Se questa conoscenza non è clinicamente rilevante - o se è fuorviante - allora gli unici concreti beneficiari sono coloro il cui obiettivo è condurre esperimenti animali di per sé. L'analisi che segue attinge agli scritti e alle dichiarazioni di diversi ricercatori e recensori. E mostra che i modelli di topi GM non godono, nel loro complesso, di buona fama per quanto riguarda la loro capacità di aiutare i malati.

La malattia di Alzheimer

Forse, il più eclatante esempio di fallimento del progetto topi GM è rappresentato dalla ricerca sull'Alzheimer. Gigantesche somme di denaro sia pubblico sia privato sono state fagocitate per "modellare" ciò che storicamente si è ritenuto essere la causa della malattia: le placche amiloidi e i grovigli neurofibrillari della proteina tau. Risultato: una valanga di rimedi inefficaci e di trial clinici disastrosi, e l'infrangersi delle altissime speranze coltivate da centinaia di migliaia di pazienti e dai loro prestatori di cure.

La patologia che i ricercatori producono nei topi alterandone i geni è palesemente diversa dall'Alzheimer umano, tanto che la si ritrova ampiamente messa alla berlina nella letteratura scientifica con il nome di "Mouseheimers". A un anno di distanza dal terribile rapporto del 2011¹¹² sugli esperimenti con i topi GM, la situazione si è ulteriormente deteriorata. Secondo un articolo del *New Scientist* datato 2012, adesso i ricercatori vanno in cerca di una "nuova direzione":

"Si va facendo strada l'orrenda verità: sbarazzarsi del più evidente contrassegno della malattia di Alzheimer - le vischiose placche che ostruiscono il cervello delle persone - non porta da nessuna parte. Nell'agosto 2012, i due più grandi trial clinici con farmaci destinati a debellare le placche sono falliti. Di fatto, tra il 1998 e il 2011, sono stati scartati 101 trattamenti sperimentali per l'Alzheimer, e solo tre farmaci sono arrivati sul mercato".¹¹³

Agli sperimentatori non sfugge quali siano i problemi dei modelli GM. I loro giornali sono pieni di commenti critici di cui vi diamo qui solo un assaggio:

"La beta amiloide che si accumula nel cervello dei topi transgenici APP non è l'equivalente, né in termini fisici, né chimici né funzionali, di quella che si ritrova nella malattia di Alzheimer. I modelli di topi transgenici APP rappresentano un approccio riduzionistico, dove la massiccia sovraespressione di un singolo gene altera profondamente la fisiologia e il comportamento del topo... le differenze interspecie nella risposta alla tossicità della

Esperimento al cervello di un topo.



beta-amiloide potrebbero spiegare come mai i recenti approcci terapeutici funzionano così bene e a fondo nei modelli di topo ma hanno un'efficacia neanche lontanamente paragonabile nei malati di Alzheimer".¹¹⁴

"Topi e primati cominciarono a divergere circa 85 milioni di anni fa e sono conseguentemente caratterizzati da grandi differenze per quanto riguarda molti attributi di fondo, tra cui la lunghezza della vita e la repressione correlata all'età di un ampio spettro di geni neuronali, un tratto comune, questo, agli umani e ai macachi Rhesus, ma inesistente nei topi, ciò che inficia l'assunto di un'equivalenza biochimica evolutivamente conservata tra l'invecchiamento dell'uomo e del topo".¹¹⁵

"L'eventuale fallimento di un farmaco in ambito clinico viene spesso interpretato come il fallimento dell'ipotesi iniziale in base alla quale era stato selezionato il bersaglio del farmaco, e non come il fallimento del modello animale nel quale il farmaco è risultato attivo. Molteplici differenze neurochimiche essenziali tra, ad esempio, i roditori e gli esseri umani possono inficiare il positivo sviluppo clinico di un farmaco sperimentale; per esempio, (i) la variabilità farmacologica di uno stesso farmaco nei roditori e negli esseri umani; (ii) la diversa configurazione di alcuni specifici circuiti neuronali nel cervello dei roditori e in quello dell'uomo; (iii) le differenze nella risposta metabolica a uno stesso farmaco, che rendono difficile simulare l'esposizione umana a quel farmaco".¹¹⁶

E tuttavia, malgrado queste ingenti differenze biologiche ed evolutive, tutti i farmaci dimostratisi inutili per l'Alzheimer erano stati giudicati straordinariamente efficaci nei cosiddetti modelli animali "convalidati" non soltanto per

la soppressione delle placche amiloide ma per il miglioramento cognitivo. I topi farmacologicamente trattati diedero prova di migliori performance in test ritenuti importanti per la malattia umana come nuotare in un contenitore o percorrere un labirinto. Sembra, insomma, che i "Mouseheimers" GM (allo stesso modo dei topi GM per il cancro) possano venire brillantemente e ripetutamente curati. Davvero poco di che rallegrarsi per i malati cui servono autentici progressi medici.

Lawrence Hansen, docente universitario ed eminente specialista di neuropatologia geriatrica, si è così espresso sull'argomento: "Lasciando da parte (cosa che non dovremmo mai fare) le considerazioni etiche sollevate dall'inflettere dolore e sofferenza a ogni specie di animali, topi e ratti compresi, il problema scientifico che si pone quando usiamo i roditori come modelli di malattie neurodegenerative è che essi non si ammalano spontaneamente né di Alzheimer né di Parkinson. L'unico sistema che abbiamo per ottenere qualcosa che vagamente rassomigli a queste due patologie nei topi e nei ratti consiste nell'alterarli geneticamente inserendo nel loro organismo i geni che sono all'origine della malattia. Così facendo, diamo vita a un modello mutante alla Frankenstein con qualche sintomo di Alzheimer o di Parkinson, che possiamo manipolare per debellarli. Ma eliminare alcuni tratti patologici artificialmente indotti in animali che in natura non ne soffrono mai è tutt'altra cosa che guarire le malattie umane. Le "cure" che funzionano nei roditori, una volta applicate agli uomini non servono... Le differenze tra le specie emerse nel corso di milioni di anni rendono i modelli animali di nessuna evidente utilità se non quella di spianare la via a tante carriere scientifiche e attirare cospicui finanziamenti".¹¹⁷



Un topo cade durante un test di "performance".

Malattie cardiovascolari

Per quanto riguarda la causa più comune di morte nel Regno Unito - le malattie cardiovascolari - il quadro non è migliore. L'ormai nota propensione dei ricercatori a magnificare l'utilità dei modelli murini GM per la ricerca di base, lamentando nel contempo la loro scarsa capacità di traslazione all'ambito clinico, è anche qui palese. In termini di nuove cure per i malati, la situazione non è granché cambiata dal 2007, quando due ricercatori americani scrissero quanto segue:

"Tuttavia, malgrado questi notevoli passi avanti [nella ricerca di base] grazie ai modelli murini e malgrado le numerose conferenze organizzate per annunciare il loro imminente approdo alla pratica clinica, in linea di massima questi studi non hanno ancora dato risultati significativi in fatto di pratica clinica".¹¹⁸

Le spiegazioni fornite per questa mancanza di progresso medico ci sono ormai familiari: "la transgenesi può spesso dar luogo a un'espressione inappropriata oppure ad altissimi livelli di espressione di una proteina generalmente presente in piccole quantità, determinando reazioni collaterali e risposte fisiologiche alterate [i.e. che non avverrebbero spontaneamente] sostanzialmente fuorvianti ... Il diavolo si nasconde nei dettagli, e i dettagli sono stati e sono tuttora spesso trascurati nella precipitosa corsa iniziale a studiare l'insieme degli affascinanti fenotipi".¹¹⁹

In altre parole, i ricercatori sono così abbagliati dai loro giocattoli GM da trascurare i principi basilari della ricerca. Di fatto, tra i topi e gli umani esistono profonde differenze anche prima di qualunque modificazione genetica. Il muscolo cardiaco del topo è biochimicamente diverso da quello dell'uomo, e i topi hanno una differente fisiologia cardiovascolare. Il cuore di un topo batte circa 600 volte al minuto contro una media di 72 battiti al minuto per un essere umano. L'effetto delle alterazioni geniche può essere sia quello di enfatizzare tali differenze sia di crearne di nuove. La sovraespressione di diversi geni può portare a "condizioni fisiologiche altamente artificiali che potrebbero non fornire alcuna informazione clinicamente rilevante".¹²⁰ Un'equipe di ricercatori francesi ebbe a commentare, nel 2007, che il topo GM "potrebbe non essere il modello più rilevante per estrapolare direttamente le patologie cliniche dell'uomo, specie considerando il veloce battito del cuore, la piccola massa cardiaca, e le differenze esistenti nell'espressione e nella distribuzione delle giunzioni comunicanti e dei canali ionici [strutture concernenti l'attività elettrica del muscolo cardiaco]".¹²¹

Nel 2004, due ricercatori del settore segnalavano che "alcuni modelli murini non chirurgici d'insufficienza cardiaca utilizzano una "lesione" genetica che non ha un equivalente naturale nella malattia umana. Inoltre, il topo e l'uomo differiscono per una serie di ragioni molto più evidenti, quali le dimensioni, la durata della vita, la fisiologia dell'apparato cardiovascolare e l'eterogeneità della risposta

farmacologica”.¹²² E ciononostante non esitarono a lodare il topo GM come utile modello per la ricerca di base e per “identificare nuove strategie terapeutiche data la facilità e la relativa velocità consentite dalle manipolazioni genetiche”.

Questo primato conferito all'avventurismo e alla curiosità, a discapito della buona medicina, conduce allo spreco delle risorse e a cure fallimentari. Nel decennio 2000-2010, i trial clinici non hanno prodotto alcuna “nuova terapia” per l'insufficienza cardiaca acuta in grado di dimostrare “un consistente beneficio nelle fasi di ospedalizzazione e/o sopravvivenza post ospedaliera oppure di riammissione ospedaliera, in confronto con il placebo o con le terapie convenzionali. Inoltre, gli unici due farmaci approvati per il trattamento della AHFS [sindrome da scompenso cardiaco acuto] hanno fatto registrare gravi problemi di sicurezza”.¹²³

Molti trattamenti sperimentali per l'insufficienza cardiaca cronica che si dimostrano efficaci nei topi GM non hanno alcun effetto negli umani. Ad esempio, i topi possono essere geneticamente manipolati per sovrapprodurre una sostanza chimica che si sopetta aggravi l'insufficienza cardiaca (TNF-alfa), e quindi soffrire di ingrossamento e dilatazione del cuore, e di morte prematura. In alcuni di loro la funzione cardiaca è migliorata dopo la somministrazione di un farmaco che bloccava i recettori del TNF-alfa. Ma un trial umano per testare lo stesso farmaco si è rivelato inefficace. In altri modelli di topo per l'insufficienza cardiaca, la funzione cardiaca migliorava con la somministrazione di antiossidanti, ma “ad oggi nessuna strategia per il cuore a base di antiossidanti è riuscita a superare l'esame dei trial clinici”.¹²⁴

Particolarmente preoccupante per i pazienti cardiopatici è il fatto che alcuni farmaci che possono alterare il ritmo cardiaco, sviluppati e positivamente testati sui topi GM, potrebbero rivelarsi fatali quando sperimentati sugli esseri umani. Nel 2011, un ricercatore della Washington University operante nel campo della fisiologia cardiaca dimostrò che un bersaglio farmacologico che sembrava molto promettente in alcuni topi knockout non avrebbe dato frutti negli esseri umani. Due rimedi studiati sui topi nel 2010, furono testati sul cuore umano nel 2011. Si scoprì che uno di loro agiva in aree completamente diverse nel cuore delle due specie mentre l'altro era destinato a provocare alterazioni fatali nel ritmo cardiaco delle persone.¹²⁵

Al ricercatore furono attribuite queste parole: “Le differenze nell'espressione genica tra il topo e l'essere umano sono davvero molto grandi... Potete mutare nei topi il gene che si ritiene causi scompenso cardiaco negli umani e non otterrete la stessa malattia perché il topo è così diverso... Così, sfortunatamente, non basta neppure il contributo dei topi transgenici, e pochissimi sono riusciti a trasferire un buon risultato dal modello animale ai trial clinici”. Anziché puntare su questo “modello” fallimentare, questo ricercatore ha trovato un accordo con alcuni istituti che forniscono al

suo laboratorio cuori umani (cuori rimossi con il dovuto consenso durante i trapianti oppure frutto di donazioni etiche) evitando in questo modo sia il fardello dei trial clinici falliti sia la responsabilità di mettere a rischio i pazienti.

L'aterosclerosi (l'ispessimento e il restringimento delle arterie) è il killer più diffuso nei paesi sviluppati, e anche il responsabile della maggior parte degli infarti. I topi geneticamente progettati per l'iperlipidemia - un livello molto alto di grassi nel sangue - oggi sono il modello più utilizzato per studiare l'aterosclerosi umana. Ma gli stessi ricercatori giudicano questi animali GM surrogati scadenti di una malattia molto complessa. Ecco che cosa ne hanno detto, nel 2011, alcuni ricercatori americani:

“L'accelerato processo di aterogenesi nei topi costretti a subire alti livelli di ipercolesterolemia richiede livelli di colesterolo di gran lunga superiori a quelli che si riscontrano negli esseri umani, e non riflette né la natura cronica né la complessità della patologia umana... troppo spesso, il settore farmaceutico e delle biotecnologie adotta o abbandona obiettivi e strategie sulla base di una acritica accettazione dei risultati degli studi animali. L'operazione di “modellare” le malattie umane negli animali va vista con scetticismo. Ad esempio, le lesioni aterosclerotiche nei topi GM comunemente usati, raramente degenerano in rottura dell'ateroma con trombosi - un evento che spesso complica la malattia umana. Gli studi sui topi tendono a focalizzarsi sull'aorta e sui grandi vasi attigui, mentre le più importanti conseguenze cliniche dell'aterosclerosi degli esseri umani derivano dalle lesioni che si formano nelle arterie carotidi, coronarie e cerebrali”.¹²⁶

La maggior parte dei malati di aterosclerosi non vengono curati finché non manifestano sintomi, generalmente dovuti alla rottura della placca aterosclerotica e conseguente ostruzione dei vasi arteriosi. I processi patologici identificati nei topi GM sono sostanzialmente irrilevanti nella pratica clinica, e quelli importanti per gli esseri umani non si manifestano nei topi.

Cancer Tra gli animali, i topi sono di gran lunga le maggiori vittime della ricerca sul cancro. Il modello standard, sia per la ricerca di base sia per quella applicata, si fondava fino a tempi relativamente recenti su una tecnica che prevede il trapianto di cellule tumorali umane nel topo, generalmente sottocute. E' una replica radicalmente artificiale della malattia umana, anche perché il cancro risultante dal trapianto ha sì origini umane ma si sviluppa in un ospite estraneo. I modelli di trapianto tumorale sono stati giudicati “ben lontani dall'ideale per molte ragioni, a cominciare dalla ben nota mancanza di predittività per l'uomo”.¹²⁷ E così i topi GM sono stati via via promossi come i successori - di gran lunga migliori - di queste povere parodie della malattia umana.

Ad oggi, un difetto chiave della maggior parte dei modelli murini, compresi quelli GM, è l'incapacità di indurre metastasi - vale a dire la diffusione di cellule cancerose dal

sito di origine della malattia ad altre parti dell'organismo. E' questo processo a causare le complicazioni più gravi nei pazienti umani.

Pur essendo vero che la ricerca con topi GM è collegata allo sviluppo di alcuni dei trattamenti anticancerogeni oggi in uso, ciò non significa che tale lavoro fosse indispensabile. Dato l'impressionante ammontare di esperimenti animali, non sorprende che alcune scoperte fatte sui topi abbiano delle corrispondenze con gli esseri umani. I pochi esempi di correlazione hanno più a che fare con la fortuna che con la scienza. Nel 2011, un editoriale di *Nature Reviews Clinical Oncology* deplorava l'altissima percentuale di farmaci per il cancro che devono essere scartati strada facendo: "Solo il 5% delle sostanze che risultano attive contro il cancro nella fase preclinica [con gli animali] vengono autorizzate dopo che si sono dimostrate sufficientemente efficaci nella fase III [quella dei trial clinici sull'uomo su larga scala]... E come se non bastasse, molti farmaci contro il cancro devono poi essere ritirati, sospesi o definitivamente scartati".¹²⁸ Un altro articolo di *Nature Medicine* del 2011 cita un ricercatore sul cancro americano: "Sono tre o quattro decenni che sbattiamo la testa contro questa faccenda della cura e il progressi fatti equivalgono a poco più che zero".¹²⁹

Le percentuali di fallimento dei rimedi contro il cancro nel corso dei trial clinici su larga scala sono più alte che in qualsiasi altra area di ricerca.

Un'analisi retrospettiva di *Nature Biotechnology*¹³⁰ del 2010 sottolinea, ad esempio, che "nel tumore non a piccole cellule del polmone, con la sola eccezione di un trial con il bevacizumab (Avastin), la dozzina e passa di trial di Fase 3 - che combinavano un agente biologico mirato con un trattamento chemioterapico classico usati come trattamento d'attacco - non sono riuscite a fornire

alcun beneficio complessivo in termini di sopravvivenza". Nella recensione si legge che uno dei motivi alla base di questa "deprimente" performance ci sono "gli studi preclinici sui modelli animali, in particolare sui modelli di animali geneticamente modificati". Secondo gli autori, va parzialmente attribuita a questi modelli la responsabilità di "esporre migliaia di persone a trattamenti inadeguati" e di contribuire in modo sostanziale all'altissimo costo della maggior parte degli ultimi farmaci anticancro approvati (si è stimato che ogni fallimento costi in media 1,7 miliardi di dollari)

Quanto detto finora spiega perché i topi siano modelli inadeguati per studiare il cancro umano. Ci sono differenze sostanziali tra le due specie e i topi da laboratorio hanno una vita media "molto semplicemente non abbastanza lunga per esprimere l'intera catena di eventi che comprende le fasi di iniziazione del tumore, l'interazione tra il tumore e l'ambiente, la risposta iniziale e la successiva resistenza alla terapia, lo sviluppo di effetti secondari a lungo termine".¹³¹ La maggior parte dei tumori maligni umani sono molto più diffusi nelle persone anziane per via dell'accumulo di danni al Dna da parte di agenti cancerogeni. Inoltre, la risposta immunitaria alle terapie sperimentali è diversa nelle due specie, e le piccole dimensioni del topo fanno sì che le sostanze iniettate nel suo tumore possono incidere su porzioni relativamente più grandi di organi e tessuti che nell'uomo. Persino la ferita prodotta dall'ago può influire sul successivo comportamento del tumore.¹³²

Per quanto riguarda il cancro, i modelli di topo GM non si sono dimostrati di maggiore utilità dei modelli murini di xenotrapianto. Finora si sono dimostrati adatti più a un crudele bricolage che allo sviluppo di cure e rimedi per i malati. Un'analisi del 2012 sui topi GM a firma di noti ricercatori americani sul cancro afferma che "a dispetto

Topo con un enorme tumore artificiale indotto.



del grande entusiasmo diffusosi all'inizio del nuovo millennio, la loro utilità nella scoperta e nello sviluppo di nuovi farmaci è rimasta limitata".¹³³

I problemi di fondo con i topi GM sono tali che è molto improbabile che la situazione possa cambiare per i seguenti motivi:

- I modelli animali non riescono a replicare le fasi avanzate del cancro, specie le metastasi. Questo li rende spesso clinicamente inutili, e in certi casi privi di valore nello sviluppo dei trattamenti. Per esempio, i problemi clinici associati al cancro della prostata sono essenzialmente legati alla sua disseminazione nell'organismo.
- I topi transgenici sviluppano il cancro tramite l'espressione di geni "estranei" introdotti dall'esterno, sicché "è improbabile che l'evoluzione della malattia sia simile a quella della controparte umana".¹³⁴ Peggio ancora se i geni introdotti utilizzano promotori (segmenti di Dna che regolano l'espressione dei geni) artificiali che possono a loro volta influire sull'origine, lo sviluppo e la diffusione del cancro che ne risulta.
- L'evoluzione biologica ha fatto sì che negli uomini i tumori si sviluppino in modo assai differente che nei topi. Si è visto che le cellule del topo richiedono un minor numero di alterazioni genetiche per trasformarsi in cancro e che nei topi la progressione tumorale è di gran lunga più semplice dell'equivalente processo nell'organismo umano. A quanto pare "la maggior parte dei meccanismi di protezione contro il cancro presenti nelle cellule umane si sono sviluppati o quanto meno perfezionati dopo che le linee di sviluppo evolutivo tra noi e i roditori hanno preso a divergere".¹³⁵
- Forse il problema di fondo più importante sono modelli animali iper-semplicitistici che prevedono l'inattivazione di alcuni meccanismi biologici (o reazioni chimiche chiave). Di fatto, il cancro nasce da mutazioni cellulari molteplici e concomitanti, ed è legato all'ambiente, altamente individualizzato, nel quale si sviluppa. Non pochi ricercatori hanno dovuto prendere atto che il cancro umano è un fenomeno di gran lunga più complesso a livello di corredo genetico e di comportamento, di quanto non si credesse. Nel 2010, alcuni scienziati americani hanno fatto una scoperta da capogiro individuando ben 1.700 mutazioni nel genoma delle cellule cancerose di 50 malate di tumore al seno. La maggior parte di queste mutazioni erano mutazioni "individuali", presenti nei tumori delle singole malate, e solo tre mutazioni ricorrevano nel 10 per cento o più dei tumori studiati.¹³⁶

Scoperte analoghe si susseguono. Una recensione del 2012 a firma di scienziati di Cancer Research UK scrive che "Il sequenziamento di un numero crescente di tumori

ha messo a nudo una straordinaria complessità, con la presenza di migliaia di alterazioni genetiche e di una considerevole eterogeneità genetica non solo tra tumori diversi ma anche all'interno dello stesso tumore".¹³⁷

Questa complessità non è riproducibile negli animali, malgrado i ricercatori tentino di "umanizzarli" ricorrendo anche ad alterazioni genetiche multiple. Nel 2008, un biologo americano che svolge ricerche sul cancro così ha riassunto la situazione, riferendosi ai topi GM: "Se vogliamo sapere se il tumore di un determinato paziente risponderà positivamente a un certo regime terapeutico, dobbiamo esaminare quale sia la risposta di quello specifico tumore umano alla terapia, non la risposta del topo".¹³⁸

Visti gli scarsi risultati della sperimentazione animale in quanto a cure per il cancro, i ricercatori ultimamente si sono parecchio dati da fare per ridefinire i parametri del "successo". E così adesso, i progressi nella ricerca vengono misurati in termini di "acquisizioni nella biologia del cancro" o di "prove di concetto" (Proof of Concept, PoC) per i modelli animali. Ma la letteratura scientifica è ormai inondata di acquisizioni e prove di concetto senza che poco o nulla emerga da questo sovraccarico cognitivo.

Vista in prospettiva, la storia della sperimentazione animale per il cancro è caratterizzata dalla tendenza - deplorabilmente diffusa tra gli sperimentatori - a magnificare i meriti del "modello animale" in uso in un certo momento, per poi deprezzarlo non appena compaiono una versione "migliore" o un nuovo approccio:

"L'utilizzo di topi GM inclini ad ammalarsi di cancro quali importanti surrogati dei pazienti umani durante lo sviluppo di rimedi clinici è un'ipotesi che aspetta ancora di essere dimostrata in modo diretto. Malgrado i risultati complessivamente deludenti fatti registrare dagli xenotrapianti di tumori e dai primi modelli transgenici di cancro, l'enorme progresso dei modelli di topo degli ultimi anni suscita l'ottimistica speranza che l'ultima generazione di modelli di topo fornirà uno standard di predittività migliore nel processo di sviluppo di nuovi farmaci".¹³⁹

Se la storia è maestra, allora questo ottimismo circa i modelli animali è malriposto. E tuttavia, la spinta a fare ricerca di base è profondamente radicata nei ricercatori sul cancro. Come qualcuno di loro ha detto "La biologia dei roditori è di per sé congruente, istruttiva e affascinante - anche se non riproduce la biologia dei pazienti umani".¹⁴⁰ I malati di cancro saranno scusati se non rimarranno altrettanto affascinati dal fallimento.

Malattie respiratorie

Come prevedibile, l'utilizzo di topi GM non è servito a trovare cure efficaci per i pazienti affetti da malattie

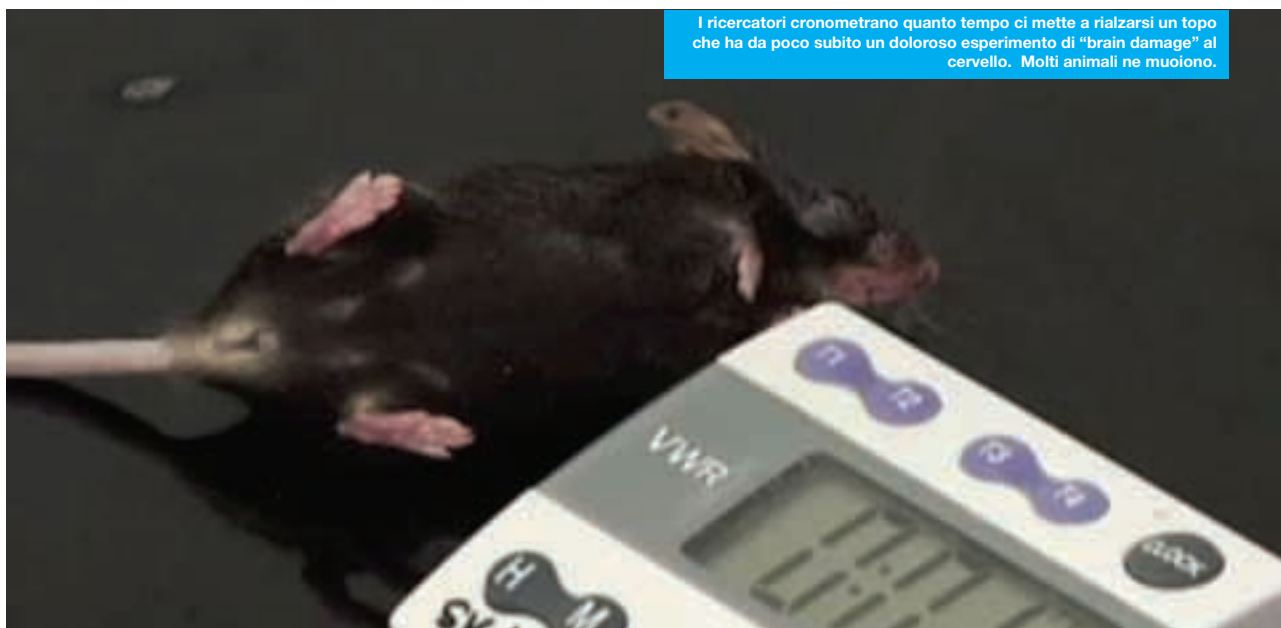
respiratorie. Le broncopneumopatie ostruttive croniche o BPCO, la forma più nota delle quali è l'enfisema, sono patologie gravi e invalidanti generalmente causate dal fumo. Nessuna delle attuali terapie per l'enfisema è in grado di ridurre la progressione della malattia o prevenirne in modo significativo le crisi parossistiche. Il fattore alfa di necrosi tumorale (TNF-alfa) è un agente infiammatorio la cui concentrazione aumenta nell'espettorato dei malati di BPCO. Nel tentativo di scoprire un farmaco capace di modificare la malattia, furono creati dei topi GM appositamente progettati per essere meno sensibili al TNF-alfa. Quindi furono forzati a inalare fumo di sigaretta per lunghi periodi di tempo. Paragonati con i topi di controllo allevati in modo naturale, risultò che essi avevano sviluppato assai meno lesioni polmonari di quante se ne riscontrino di norma nei malati di BPCO. Ciò indusse i ricercatori a concludere che inibire la produzione di TNF-alfa avrebbe giovato ai malati di enfisema. E invece i farmaci sviluppati a tale scopo si sono rivelati inefficaci per l'uomo. Un ricercatore finanziato da una società farmaceutica ne concluse che "il fallimento degli inibitori di TNF nei pazienti con BPCO mette anche in discussione i modelli animali quali strumenti per lo sviluppo di terapie efficaci, dal momento che inibire il TNF-alfa ha un forte potere inibente sull'enfisema degli animali da sperimentazione e sull'infiammazione indotta dal fumo di sigaretta".¹⁴¹

Un recente articolo del *European Respiratory Journal* sui modelli di topi transgenici per la BPCO suggerisce quale sia il motivo del fallimento.¹⁴² Anche se i polmoni dei topi hanno una rassomiglianza superficiale con quelli degli esseri umani, in realtà sono totalmente privi di bronchioli respiratori, vale a dire le sottili vie respiratorie dove si origina la forma di enfisema associato con il fumo di sigaretta e dove si concentra l'infiammazione.

Ma i modelli di topi GM non sono d'aiuto neppure per i malati d'asma. Una recensione del 2011 condotta dal NC3Rs segnala che l'asma rappresenta un settore le cui necessità mediche non trovano risposta e che "sono pochi i nuovi rimedi arrivati ai pazienti negli ultimi 50 anni, mentre molti di quelli che danno ottimi risultati negli studi preclinici falliscono sull'uomo o perché inefficaci o perché pericolosi".¹⁴³ Gli autori sottolineano che i topi sono stati usati estesamente nella ricerca per l'asma con risultati di dubbia utilità per studiare "una patologia caratterizzata da molteplici meccanismi molecolari e cellulari che agiscono sia in modo sinergico sia indipendentemente gli uni dagli altri... ed è ancora troppo presto per valutare se essi [i modelli GM] siano utili predittori di efficacia per l'uomo, benché i risultati iniziali suggeriscano che i dati ottenuti vanno trattati con una certa prudenza".

La necessità di un maggiore controllo pubblico

Quanto abbiamo scritto finora offre solo una veduta d'insieme di come i modelli di topo GM abbiano ostacolato e fuorviato il progresso medico. Abbiamo passato in rassegna alcune delle aree patologiche più importanti, ma analoghi dubbi si possono formulare per moltissimi altri settori medici. Si dovrebbero preparare i pazienti a nuove delusioni vista la fede riposta negli esperimenti sugli animali GM. Dire che questi ultimi hanno contribuito a sottrarre fondi a metodi di ricerca più promettenti e umani per la nostra salute è un addebito che va preso in seria considerazione. E lo stesso vale per le crudeltà inflitte alle vittime di questa fiorente industria. Sono argomenti che meritano un maggiore impegno e controllo da parte del pubblico, ed è proprio di questo che parleremo nell'ultima parte del rapporto.



I ricercatori cronometrano quanto tempo ci mette a rialzarsi un topo che ha da poco subito un doloroso esperimento di "brain damage" al cervello. Molti animali ne muoiono.

“... i lobbisti si sono spinti anche oltre nel loro desiderio di nascondere al pubblico i programmi di studio con animali GM proponendone la totale rimozione dalle rilevazioni statistiche del Home Office...”

SEZIONE SETTE Come rendere invisibili milioni di topi GM: la pressione delle lobby industriali

Abbiamo documentato come le sofferenze patite da milioni di topi prima, durante e dopo l'alterazione genetica rappresentino la più estesa area di crudeltà nei confronti degli animali da laboratorio oggi esistente nel Regno Unito. Molte altre specie patiscono tormenti analoghi per mano degli sperimentatori. E tuttavia, la pubblica esecrazione dei test effettuati su cani, gatti e scimmie ha indubbiamente portato a una riduzione del loro utilizzo nei laboratori.

Lo stesso non si può dire per l'umile *Mus Musculus*. L'allevamento di topi GM rappresenta la voce più importante nell'aumento delle procedure che si registra nel Regno Unito. Poiché non tutti apprezzano questo aumento annuale divenuto ormai abituale, la lobby degli sperimentatori chiede che i programmi di allevamento di animali GM vengano espunti dalle statistiche ufficiali. Nel 2012, la revisione delle leggi del 1986 sulla protezione degli animali gli ha spianato la strada per poterlo fare.

La spinta alla deregulation

Nel 2011, una potente coalizione di interessi consolidati sostenne che “l'allevamento di colonie di topi GM esistenti da oltre due generazioni con “fenotipi non sofferenti” avrebbe dovuto essere considerata alla stregua di qualsiasi altra colonia d'allevamento e quindi esentata dai controlli della nuova normativa (vedi sotto).¹⁴⁴ Ciò significava che anche la moderata protezione legale offerta dalla legge a questi animali doveva essere eliminata. La coalizione si spinse anche oltre nel suo desiderio di nascondere al pubblico i programmi di studio con animali GM proponendone la totale rimozione dalle rilevazioni statistiche del Home Office.

In teoria, gli animali GM con “fenotipi non sofferenti” sono sempre stati “esonerevoli” dalle rilevazioni del Home Office, caso per caso. In base all'atto del 1986, era necessario dimostrare che “le linee di animali non erano destinate a patire dolore, sofferenza, angoscia o danno prolungato”. La richiesta riguardava almeno due generazioni di animali “con una durata della vita naturale e senza problemi di benessere attribuibili al loro fenotipo”. Stando all'Animal Protection Committee governativo, in assenza di accordo su un accettabile



standard di misurazione del loro benessere, agli animali GM non andava sottratto il sia pur modesto ombrello di protezione loro accordato dall'Act del 1986.¹⁴⁵

Ma la situazione potrebbe cambiare radicalmente. La nuova direttiva 2010/63/EU è stata recepita nell'ordinamento del Regno Unito portando di conserva alla revisione del *UK Animals (Scientific Procedures) Act 1986*. Inoltre, nel marzo del 2012, a Bruxelles, è stato raggiunto un accordo su un documento sugli animali Geneticamente Alterati (GA), dove viene chiaramente detto che “l'utilizzo di animali per il mantenimento di colonie di linee stabili di animali geneticamente alterati con fenotipi presumibilmente non sofferenti non va considerato una procedura e quindi non necessita di autorizzazione”.¹⁴⁶ Una valutazione aggiornata del benessere dei roditori GA costituirà un elemento chiave per decidere se gli animali sono da considerarsi sofferenti oppure no. Il documento in questione elenca un gran numero di possibili risultati dolorosi della alterazione genetica, tra i quali deformità dello scheletro, riluttanza a muoversi o, al contrario, iperattività, accelerazione del ritmo respiratorio, crisi epilettiche e morte.

Il Home Office ha stabilito che tutti gli animali con uno qualsiasi di questi sintomi rientreranno nell'ambito delle "salvaguardie" legali. Ma la fretta, gli interessi economici e il desiderio dell'establishment di sottrarre il maggior numero possibile di animali al controllo della legge possono fatalmente concorrere a vanificare l'intero processo.

Proprio perché la valutazione del fenotipo è lunga e costosa uno studio danese del 2003, molto citato, scrive: "... è probabile che l'eventuale sofferenza di ceppi fenotipicamente non caratterizzati non venga rilevata".¹⁴⁷

Malgrado sia la vecchia sia la nuova legge inglese

prescrivano l'osservazione di due generazioni di topi, molti dei più gravi problemi di salute rischiano di rimanere nell'ombra senza essere individuati.

E' noto che gli effetti della manipolazione genetica possono essere molto elusivi e difficili da riconoscere. Come ha concluso uno studio sulle modificazioni genetiche del bestiame "una valutazione accurata delle conseguenze dell'espressione transgenica è impossibile senza il concorso di studi multigenerazionali".¹⁴⁸ Le prime due generazioni di maiali transgenici modificati con un gene per l'ormone della crescita non evidenziarono problemi. Ma la terza generazione soffriva di patologie renali, cardiache, di artrite, ulcere gastriche e infertilità.



“... la loro piena capacità di sperimentare la sofferenza - sia fisica che mentale e affettiva - viene riconosciuta da tutti coloro che hanno a che fare con i topi, dai tecnici di laboratorio ai sostenitori dei diritti animali...”

CONCLUSIONE Un immane, inutile, crudelissimo sperpero di denaro

Per molto, troppo tempo i topi sono stati le vittime, pressoché “accettabili” degli esperimenti animali. Per molto, troppo tempo l’opinione pubblica è stata rabinonita facendole credere che i topi non contano poi molto, che la loro sofferenza è meno importante o più tollerabile di quella dei grandi mammiferi. Per molto, troppo tempo la febbrile rincorsa a modificare e creare nuove “linee” di topi transgenici è stata magnificata come scienza intelligente, tecnologia d’avanguardia, medicina encomiabile .

Queste credenze non reggono alla prova della realtà. I topi sono piccoli mammiferi altamente sviluppati e sofisticati. La loro piena capacità di sperimentare la sofferenza - sia fisica che mentale affettiva - viene riconosciuta da tutti coloro che hanno a che fare con loro, dai tecnici di laboratorio ai sostenitori dei diritti animali.

A quanto ci è dato constatare, la manipolazione genetica dei topi si sta rivelando un’impresa immensamente costosa, insopportabilmente crudele e tragicamente inutile. Manomettere il corredo genetico di una specie diversa da quella umana in ricerche assai spesso altamente ipotetiche e non di rado procedenti alla cieca, dovrebbe sembrare di per sé, fin dall’inizio, un’impresa incapace di produrre benefici medici per l’uomo. Ma, come la storia dei topi da laboratorio esemplifica alla perfezione, considerazioni di parte come la convenienza e i costi anziché un percorso scientifico saggiamente programmato verso un migliore paradigma sanitario ci hanno portato all’attuale *débaclé*.

Un sondaggio di fine 2012 ha evidenziato che nel Regno Unito l’appoggio dell’opinione pubblica alla sperimentazione animale è in declino.¹⁴⁹ Come risposta, 41 istituti inglesi hanno firmato una dichiarazione molto pubblicizzata impegnandosi a una maggiore apertura circa le proprie ricerche sugli animali. Dati gli innumerevoli e insormontabili ostacoli legali frapposti all’ottenimento di informazioni in quest’area, non si può non vedere in questo tipo di iniziative un mero esercizio di pubbliche relazioni. Corollario della nuova strategia inneggiante l’“apertura” sarà un quadretto ritoccato dei topi da laboratorio, con le lesioni cerebrali, le camere di inalazione, le soppressioni col gas e le crisi epilettiche tutte confinate rigorosamente off limits.

Diamo per certo, nell’emergente battaglia per i topi, sotterfugi statistici e trasparenze di facciata. Ma forse la



Mice find being picked up by their tails highly stressful.

più utilizzata fra le tecniche di oscuramento delle vittime sarà la “discriminazione” già identificata dalla Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals (RSPCA). Come si legge in un articolo del *British Medical Journal* datato ottobre 2012, secondo David Willetts, il ministro inglese per l’Università e la Scienza, le preoccupazioni del pubblico a proposito di sperimentazione animale non sono giustificate perché “la situazione è cambiata”.¹⁵⁰ A riprova di questo supposto progresso, il ministro avrebbe affermato che “in realtà, stiamo per lo più parlando di topi e di pesci”. E’ chiaro che sia il governo sia la lobby della ricerca biomedica intendono ridefinire i parametri del discorso e riconquistare alla sperimentazione animale l’appoggio perduto. Non ce la faranno se coloro che si oppongono alla sofferenza animale riusciranno a mobilitare un consistente seguito di voci in difesa dei topi GM.

- 1 RSPCA (2011). *Mice: Good Practice for Housing and Care: Supplementary Resources for Members of Local Ethical Review Processes*. RSPCA Research Animals Department
- 2 Balcombe JP (2006). Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. *Lab Anim.* 40(3):217-35
- 3 Viegas J (2010). Male mice sing ultrasonic love songs. *Discovery News* [online], 5 Mar. Available from <http://news.discovery.com/animals/mouse-courtship-songs-ultrasonic.html> [Accessed November 2012]
- 4 Langford D J, Crager S E, Shehzad Z, et al (2006). Social Modulation of Pain as Evidence for Empathy in Mice. *Science*. 312:1860-1861
- 5 Chen Q, Panksepp J B, Lahvis G P (2009). Empathy Is Moderated by Genetic Background in Mice. *PLOS ONE* [online]. Available from <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0004387> [Accessed November 2012]
- 6 Bailey J (2005). *Man or Mouse – Genetically Modified Animals in Medical Research*. Animal Aid
- 7 Morse H C (1978). *Origins of Inbred Mice*. Academic Press. Available from <http://www.informatics.jax.org/morsebook/chapters/morse1.shtml> [Accessed November 2012]
- 8 *Springfield Sunday Republican* (1913), 5 Oct, p12
- 9 Wolf G (2010). How the Inbred Lab Mouse Helps Reprogram the Human Genome, *Wired* [online], 22 Feb. Available from http://www.wired.com/magazine/2010/02/ff_lab_mouse/all/ [Accessed November 2012]
- 10 Stern A M (2005). Sterilized in the Name of Public Health. *Am J Public Health*. 95(7): 1128–1138
- 11 Wolf G (2010). How the Inbred Lab Mouse Helps Reprogram the Human Genome, *Wired* [online], 22 Feb. Available from http://www.wired.com/magazine/2010/02/ff_lab_mouse/all/ [Accessed November 2012]
- 12 Hanahan D, Wagner E F, Palmiter R D (2007). The origins of oncomice: a history of the first transgenic mice genetically engineered to develop cancer. *Genes Dev.* 21: 2258-2270
- 13 National Human Genome Research Institution (2012). *An Overview of the Human Genome Project* [online]. Available from <http://www.genome.gov/12011238> [Accessed November 2012]
- 14 National Human Genome Research Institution (2010). *The Human Genome Project Completion: Frequently Asked Questions* [online]. Available from <http://www.genome.gov/11006943> [Accessed November 2012]
- 15 Wellcome Trust Sanger Institute (2011). *Celebrating a 'decade of discovery' since the Human Genome Project* [online]. Available from <http://www.sanger.ac.uk/about/press/2010/100624-hgp.html> [Accessed November 2012]
- 16 Nolan P M, Peters J, Strivens M et al (2000). A systematic, genome-wide, phenotype-driven mutagenesis programme for gene function studies in the mouse. *Nat Genet.* 25(4):440-3
- 17 International Mouse Knockout Consortium (2012). *IKMC Gene Progress Summary* [online]. Available from <http://www.knockoutmouse.org/> [Accessed November 2012]
- 18 Bradley A (2002). Mining the mouse genome. *Nature*. 420:512-514
- 19 Ibid
- 20 Dolgin E (2011). Mouse library set to be knockout. *Nature* [online]. 15 Jun. Available from <http://www.nature.com/news/2011/110615/full/474262a.html> [Accessed November 2012]
- 21 International Mouse Phenotyping Consortium (2010). *Concise Business Plan* [online]. Available from http://commonfund.nih.gov/pdf/IMPC_Business_Plan.PDF [Accessed November 2012]
- 22 Abbott A (2004). Geneticists prepare for deluge of mutant mice. *Nature*. 423:541
- 23 Home Office (2012). *Statistics of Scientific Procedures on Living Animals Great Britain 2011*. London: The Stationery Office
- 24 Ibid
- 25 Charles River (2011). *Charles River Announces Agreement to Supply Pfizer's Genetically Modified Research Models* [online]. Available from <http://www.criver.com/en-us/newsevents/pressreleases/pages/pfizer.aspx> [Accessed November 2012]
- 26 McKie R (2012). Animal activists' terror tactics drive staff out of laboratories. *The Observer* [online], 29 July. Available from <http://www.guardian.co.uk/science/2012/jul/29/animal-activists-terror-tactics-harlan-laboratories-staff> [Accessed November 2012]
- 27 Coghlan A (1999). Hidden Sacrifice. *New Scientist*. 162(2):4
- 28 Wight D C, Wagner T E (1994). Transgenic mice: a decade of progress in technology and research. *Mutation Research*. 307:429-440
- 29 Lane N, Jennings M (2004). *Supplementary Resources for Lay Members of Local Ethical Review Processes: Projects Involving Genetically Modified Animals*. RSPCA Research Animals Department
- 30 The Jackson Laboratory (2009). *Breeding Strategies for Maintaining Colonies of Laboratory Mice: A Jackson Laboratory Resource Manual* [online]. Available from http://knockout.cwru.edu/info/breeding_strategies_manual.pdf [Accessed November 2012]
- 31 Ibid
- 32 Robinson V, Morton D B, Anderson D et al (2003). Refinement and reduction in production of genetically modified mice. Sixth report of the BVA/WF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals* 37(Suppl 1):1–51
- 33 Hawkins P (2002). *Recognising and assessing pain, suffering and distress in laboratory animals: A survey of current practice in the UK with recommendations*. RSPCA Research Animals Department.
- 34 Ibid
- 35 Robinson V, Morton D B, Anderson D et al (2003). Refinement and reduction in production of genetically modified mice. Sixth report of the BVA/WF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals*. 37(Suppl 1): 1–51
- 36 Hawkins P, Felton L M, van Loo P et al (2006). Report of the 2005 RSPCA/UFAW Rodent Welfare Group meeting. *Lab Animal* 35(9):29
- 37 Ibid
- 38 UK Bioscience Sector Coalition (2011). *UK Bioscience Sector Coalition response to the Home Office Consultation on the Transposition of European Directive 2010/63/EU* [online]. Available from <http://www.mrc.ac.uk/Utilities/Documentrecord/index.htm?d=MRC008195> [Accessed November 2012]
- 39 Robinson V, Morton D B, Anderson D et al (2003). Refinement and reduction in production of genetically modified mice. Sixth report of the BVA/WF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals* 37(Suppl 1): 1–51

- 40 Ibid
- 41 Lane N, Jennings M (2004). *Supplementary Resources for Lay Members of Local Ethical Review Processes: Projects Involving Genetically Modified Animals*. RSPCA Research Animals Department
- 42 Animal Defenders International (2012) *Inside a GM animal factory* [online]. Available from <http://www.ad-international.org/publications/go.php?id=2751> [Accessed November 2012]
- 43 National Anti-Vivisection Society (1996). *Access Denied: A report on animal experiments in two British laboratories: Charing Cross & Westminster Medical School, London, W6 and The Institute of Neurology, London, WC1*. Available from http://www.navs.org.uk/about_vivisection/27/42/336/
- 44 Robinson V, Morton D B, Anderson D et al (2003). Refinement and reduction in production of genetically modified mice. Sixth report of the BVAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals*. 37(Suppl 1): 1–51
- 45 Thon R, Lassen J, Hansen A K et al (2002). Welfare evaluation of genetically modified mice. *Scandinavian Journal for Laboratory Animal Science*. 29, 45-53
- 46 Patten R D, Hall-Porter M R (2009). Small Animal Models of Heart Failure: Development of Novel Therapies, Past and Present. *Circ Heart Fail*. 2:138-144
- 47 Smith L B, Hadoke P W F, Dyer E et al (2011). Haploinsufficiency of the murine *Col3a1* locus causes aortic dissection: a novel model of the vascular type of Ehlers–Danlos syndrome. *Cardiovasc Res*. 90(1):182-190
- 48 Butler A A, Cone R D (2002). The melanocortin receptors: Lessons from knockout models. *Neuropeptides*. 36(2-3):77-84
- 49 Workman P, Aboagye E O, Balkwill F et al (2010). Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *British Journal of Cancer*. 102:1555–1577
- 50 Roughan J V (2010). Assessing the welfare of mice used in cancer research. *The National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research* [online]. Available from <http://www.nc3rs.org.uk/researchportfolio/showcatportfolio.asp?id=187> [Accessed November 2012]
- 51 Hoyle G W, Li J, Finkelstein J B et al. (1999). Emphysematous Lesions, Inflammation, and Fibrosis in the Lungs of Transgenic Mice Over expressing Platelet-Derived Growth Factor. *American Journal of Pathology*. 154 (6):1763-1775
- 52 Zhou Y, Rideout W M, Zi T et al (2010). Chimeric mouse tumor models reveal differences in pathway activation between ERBB family- and KRAS-dependent lung adenocarcinomas. *Nature Biotechnology*. 28(1):71-79
- 53 Smolinsky A N, Bergner C L, Hart P C et al (2010). The Utility of Genetically Modified Animals in Modeling OCD-Spectrum Disorders. In: Kalueff A V, Bergner C L, eds. *Transgenic and Mutant Tools to Model Brain Disorders (Neuromethods)* 1st ed. US: Humana Press, 139-149
- 54 Ibid
- 55 Ibid
- 56 Ibid
- 57 Egan R J, Bergner C L, Hart P C et al (2010). Genetic Animal Models of Anxiety. In: Kalueff A V, Bergner C L, eds. *Transgenic and Mutant Tools to Model Brain Disorders (Neuromethods)* 1st ed. US: Humana Press, 179-189
- 58 Errington A C, Gibson K M, Crunelli V et al (2011). Aberrant GABAA Receptor-Mediated Inhibition in Cortico-Thalamic Networks of Succinic Semialdehyde Dehydrogenase Deficient Mice. *PLOS ONE*. 6(4): e19021. doi:10.1371/journal.pone.0019021
- 59 Zeng L H, Rensing N R, Zhang B et al (2011). Tsc2 gene inactivation causes a more severe epilepsy phenotype than Tsc1 inactivation in a mouse model of Tuberous Sclerosis Complex. *Hum. Mol. Genet*. 20 (3):445-454
- 60 Nuffield Council on Bioethics (2005). *The ethics of research using animals*. Available from <http://www.nuffieldbioethics.org/animal-research>
- 61 Animal Defenders International (2012). *Inside a GM animal factory* [online]. Available from <http://www.ad-international.org/publications/go.php?id=2751> [Accessed November 2012]
- 62 Robinson V, Morton D B, Anderson D et al (2003). Refinement and reduction in production of genetically modified mice. Sixth report of the BVAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals*. 37(Suppl 1): 1–51
- 63 Yutzey K E, Robbins J (2007). Principles of Genetic Murine Models for Cardiac Disease. *Circulation*. 115:792-799
- 64 Vogel P, Read R W, Hansen G M et al (2012). Congenital Hydrocephalus in Genetically Engineered Mice. *Veterinary Pathology*. 49(1):166-181
- 65 Turgeon B, Meloche S (2009). Interpreting Neonatal Lethal Phenotypes in Mouse Mutants: Insights Into Gene Function and Human Diseases. *Physiol Rev*. 89: 1–26
- 66 Robinson V, Morton D B, Anderson D et al (2003). Refinement and reduction in production of genetically modified mice. Sixth report of the BVAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals*. 37(Suppl 1): 1–51
- 67 Justice M J, Carpenter D A, Favor J et al (2000). Effects of ENU dosage on mouse strains. *Mammalian Genome*. 11:484–488
- 68 Litscher E S, Liu C, Echelard Y et al (1999). Zona pellucida glycoprotein mZP3 produced in milk of transgenic mice is active as a sperm receptor, but can be lethal to newborns. *Transgenic Research*. 8: 361–369
- 69 Nelson R J, Chiavegatto S (2000). Aggression in Knockout Mice. *ILAR Journal*. 41(3) [online] Available from http://dels-old.nas.edu/ilar_n/ilarjournal/41_3/Aggression.shtml [Accessed November 2012]
- 70 GA mouse welfare assessment working group (2006). Assessing the welfare of genetically altered mice [online]. Available from <http://www.nc3rs.org.uk/downloaddoc.asp?id=356&page=231&skin=0> [Accessed November 2012]
- 71 The Jackson Laboratory (2009). *Breeding Strategies for Maintaining Colonies of Laboratory Mice: A Jackson Laboratory Resource Manual* [online]. Available from http://knockout.cwru.edu/info/breeding_strategies_manual.pdf [Accessed November 2012]
- 72 The Jackson Laboratory (2012). *Jaxmice Database* [online]. Available from <http://jaxmice.jax.org/strain/002515.html> [Accessed November 2012]
- 73 The Jackson Laboratory (2012). *Jaxmice Database* [online]. Available from <http://jaxmice.jax.org/strain/006176.html> [Accessed November 2012]
- 74 Robinson V, Morton D B, Anderson D et al (2003). Refinement and reduction in production of genetically modified mice. Sixth report of the BVAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals* 37(Suppl 1):1–51

- 75 Justice M J, Carpenter D A, Favor J et al (2000). Effects of ENU dosage on mouse strains. *Mammalian Genome*. 11:484–488
- 76 Scullion G A, Coltman R, Fowler J, et al (2010). The influence of chronic cerebral hypoperfusion on Alzheimer-like pathology in 3XTg mice. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*. 6(4,Suppl):S414
- 77 Tanila H (2012). Wading pools, fading memories – place navigation in transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 4:1-7
- 78 Paul-Clark M J, McMaster S K, Sorrentino R et al (2009). Toll-like Receptor 2 Is Essential for the Sensing of Oxidants during Inflammation. *Am J Respir Crit Care*. 179:299–306
- 79 Shapiro S D (2000). Animal Models for Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Age of Klotho and Marlboro Mice. *Am J Respir Cell Mol. Biol*. 22(1): 4-7
- 80 Schellings M W M, Vanhoutte D, Swinnen M et al (2008). Absence of SPARC results in increased cardiac rupture and dysfunction after acute myocardial infarction. *JEM*. 206(1):113-123
- 81 Lim S Y, Hausenloy D J, Arjun S et al (2011). Mitochondrial cyclophilin-D as a potential therapeutic target for post-myocardial infarction heart failure. *J Cell Mol Med*. 15(11): 2443–2451
- 82 Iida S, Baumbach G L, Lavoie J L et al (2005). Spontaneous Stroke in a Genetic Model of Hypertension in Mice. *Stroke*. 36:1253-1258
- 83 Cryan J F, Holmes A (2005). The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nature Reviews Drug Discovery*. 4:775-790
- 84 Ibid
- 85 Frankel W N, Taylor B A, Noebelst J L et al (1994). Genetic Epilepsy Model Derived From Common Inbred Mouse Strains. *Genetics*. 138:481-489
- 86 Huang Z, Walker M C, Shah M M (2009). Loss of Dendritic HCN1 Subunits Enhances Cortical Excitability and Epileptogenesis. *The Journal of Neuroscience*. 29(35):10979 –10988
- 87 Knight A (2011). *The Costs and Benefits of Animal Experiments*. Basingstoke, UK: Palgrave Macmillan
- 88 Balcombe J (2010). Laboratory-rodent Welfare: Thinking Outside the Cage. *Journal of Applied Animal Welfare Science*. 13(1)
- 89 Ibid
- 90 Balcombe JP (2006). Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. *Lab Anim*. 40(3):217-35
- 91 Balcombe J (2010). Laboratory-rodent Welfare: Thinking Outside the Cage. *Journal of Applied Animal Welfare Science*. 13(1)
- 92 Robinson V, Morton D B, Anderson D et al (2003). Refinement and reduction in production of genetically modified mice. Sixth report of the BVA/WF/FRAME/RSPCA/UFWA Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals*. 37(Suppl 1): 1–51
- 93 Swallow J, Anderson D, Buckwell A C et al (2005). Guidance on the transport of laboratory animals: Report of the Transport Working Group established by the Laboratory Animal Science Association (LASA). *Laboratory Animals*. 39, 1–39.
- 94 Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International (2003). *AAALAC International Connection*.
- 95 National Anti-Vivisection Society (1996). *Access Denied: A report on animal experiments in two British laboratories: Charing Cross & Westminster Medical School, London, W6 and The Institute of Neurology, London, WC1*. Available from http://www.navs.org.uk/about_vivisection/27/42/336/
- 96 Home Office (2010-2012). *Animals in Science Regulation Unit, Annual Reports, 2009-2011*. London: The Home Office.
- 97 Bhogal N, Combes R (2006). The Relevance of Genetically Altered Mouse Models of Human Disease. *ATLA* 34: 429–454
- 98 Understanding Animal Research (2011). *Animal research in the UK: the numbers in perspective* [online]. Available from <http://www.understandinganimalresearch.org.uk/assets/document/AC13C7F5-B48C-B33C-668872770F913A2A/2011%20Briefing%20on%20numbers%20of%20animals2.pdf> [Accessed November 2012]
- 99 Wade N (2010). A decade later, genetic map yields few new cures. *The New York Times* [online], 12 Jun. Available from <http://www.nytimes.com/2010/06/13/health/research/13genome.html?pagewanted=all> [Accessed November 2012]
- 100 Winston R, as quoted in Whipple T (2012). Gene 'revolution' has stalled, says Winston. *The Times*, 9 Jun, p3
- 101 Mestas J, Hughes C C W (2004). Of Mice and Not Men: Differences between Mouse and Human Immunology. *J Immunol*. 172:2731-2738
- 102 Knight A (2011). *The Costs and Benefits of Animal Experiments*. Basingstoke, UK: Palgrave Macmillan
- 103 Ibid
- 104 Geddes L (2012). Unfathomable. *New Scientist*. 215 (2881):40-43
- 105 Bailey J (2005). *Man or Mouse – Genetically Modified Animals in Medical Research*. Animal Aid
- 106 Khamsi R (2004). Mice do fine without 'junk DNA'. *Nature News*. [online], 20 Oct. Available from <http://www.nature.com/news/2004/041018/full/news041018-7.html> [Accessed November 2012]
- 107 Greek R, Menache A, Rice M J (2012). Animal models in an age of personalized medicine. *Personalized Medicine* 9(1), 47–64
- 108 Crowley, W F Jr (2003). Translation of basic research into useful treatments: how often does it occur? *Am J Med*. 114(6):503-5
- 109 Home Office (2012). *Statistics of Scientific Procedures on Living Animals Great Britain 2011*. London: The Stationery Office
- 110 Finn R D, McLaughlin L A, Hughes C et al (2011). Cytochrome b5 null mouse: a new model for studying inherited skin disorders and the role of unsaturated fatty acids in normal homeostasis. *Transgenic Res*. 20:491–502
- 111 Greek R (2012). *Trouble in Basic Research Land*. Part II [online]. Available from <http://www.opposingviews.com/i/society/animal-rights/trouble-basic-research-land-part-ii> [Accessed November 2012]
- 112 Stallwood A, Menache A (2011). *Victims Of Charity. A report on the cruel and scientifically invalid experiments funded by medical research charities*. Animal Aid
- 113 Hamzelou J (2012). Why Alzheimer's hits older brains. *New Scientist*. 215 (2884):6-7
- 114 Kokjohn T A, Roher A E (2009). Amyloid precursor protein transgenic mouse models and Alzheimer's disease: Understanding the paradigms, limitations and contributions. *Alzheimers Dement*. 5(4):340–347.
- 115 Ibid

- 116 Van Dam D, De Deyn P P (2011). Animal models in the drug discovery pipeline for Alzheimer's disease. *British Journal of Pharmacology*. 164: 1285–1300
- 117 Antidote Europe (2012). *Professor Larry Hansen on ethical dilemmas* [online]. Available from <http://antidote-europe.org/interviews/professor-larry-hansen-on-ethical-dilemmas> [Accessed November 2012]
- 118 Yutzev K E, Robbins J (2007). Principles of Genetic Murine Models for Cardiac Disease. *Circulation*. 115:792-799
- 119 Ibid
- 120 Ramachandran A, Jha S, Lefer D J (2008). Pathophysiology of Myocardial Reperfusion Injury: The Role of Genetically Engineered Mouse Models. *Vet Pathol*. 45: 698
- 121 Thireau J, Zhang B L, Poisson D et al (2008). Heart rate variability in mice: a theoretical and practical guide. *Experimental Physiology*. 93: 83-94
- 122 Dorn G W, Molkentin J D (2004). Manipulating Cardiac Contractility in Heart Failure: Data From Mice and Men. *Circulation*. 109: 150-158
- 123 Tamargo J, Amorós I, Barana A et al (2010). New Investigational Drugs for the Management of Acute Heart Failure Syndromes. *Current Medicinal Chemistry*. 17(1):1-28
- 124 Sawyer D B (2011) Oxidative stress in heart failure: what are we missing? *Am J Med Sci*. 342(2):120-4.
- 125 Lutz D (2011). New study calls into question reliance on animal models in cardiovascular research [online]. Available from <http://news.wustl.edu/news/pages/22540.aspx> [Accessed November 2012]
- 126 Libby P, Ridker P M, Hansson G K (2011). Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*. 473:317-325
- 127 Ebner R, Strovel J W, Horrigan S K et al (2011). Mighty, but how useful? The emerging role of genetically engineered mice in cancer drug discovery and development. In: Green J E, Ried T, eds. *Genetically Engineered Mice for Cancer Research*. 1st ed. New York: Springer, 591-618
- 128 Hutchinson L, Kirk R (2011). High drug attrition rates – where are we going wrong? *Nature Reviews Clinical Oncology*. 8:189 -190
- 129 Drake N (2011). Forty years on from Nixon's war, cancer research 'evolves'. *Nature Medicine*. 17:57
- 130 Francia G, Kerbel R S (2010). Raising the bar for cancer therapy models. *Nature Biotechnology*. 28:561–562
- 131 Lampson L A (2012). Brain Tumor Models to Predict Clinical Outcome: Like the Phoenix? In: Martinez-Murillo, R, Martinez A, eds. *Animal Models of Brain Tumors (Neuromethods)*, 1st ed. US:Humana Press, 3-20
- 132 Ibid
- 133 Ebner R, Strovel J W, Horrigan S K et al (2011). Mighty, but how useful? The emerging role of genetically engineered mice in cancer drug discovery and development. In: Green J E, Ried T, eds. *Genetically Engineered Mice for Cancer Research*. 1st ed. New York: Springer, 591-618
- 134 Abate-Shen C, Brown P H, Colburn N H et al (2008). The Untapped Potential of Genetically Engineered Mouse Models in Chemoprevention Research: Opportunities and Challenges. *Cancer Prev Res*. 1:161-166
- 135 Rangarajan A, Weinberg R A (2003). Comparative biology of mouse versus human cells: modelling human cancer in mice. *Nature Reviews Cancer*. 3: 952-959
- 136 Wadman M (2011). Fifty genome sequences reveal breast cancer's complexity, *Naturenews* [online], 2 April. Available from <http://www.nature.com/news/2011/110402/full/news.2011.203.html> [Accessed November 2012]
- 137 Hoelder S, Clarke P A, Workman P (2012). Discovery of small molecule cancer drugs: Successes, challenges and opportunities. *Mol Oncol*. 6(2):155–176
- 138 Richmond A, Su Y (2008). Mouse xenograft models vs GEM models for human cancer therapeutics. *Disease Models & Mechanisms*. 1: 78-82
- 139 Olive K P, Tuveson D A (2006). The use of targeted mouse models for preclinical testing of novel cancer therapeutics. *Clin Cancer Res*. 12(18):5277-87
- 140 Lampson L A (2012). Brain Tumor Models to Predict Clinical Outcome: Like the Phoenix? In: Martinez-Murillo, R, Martinez A, eds. *Animal Models of Brain Tumors (Neuromethods)*, 1st ed. US:Humana Press, 3-20
- 141 Barnes P J (2007). Unexpected Failure of Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care*. 175: 866-867
- 142 Shapiro S D (2007). Transgenic and gene-targeted mice as models for chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 29:375–378
- 143 Holmes A M, Solari R, Holgate S T (2011). Animal models of asthma: value, limitations and opportunities for alternative approaches. *Drug Discovery Today*. 15 (15/16):659-670
- 144 UK Bioscience Sector Coalition (2011). *UK Bioscience Sector Coalition response to the Home Office Consultation on the Transposition of European Directive 2010/63/EU* [online]. Available from <http://www.mrc.ac.uk/Utilities/Documentrecord/index.htm?d=MRC008195> [Accessed November 2012]
- 145 Animal Procedures Committee (2011). *Consultation on options for the transposition of European Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific procedures: Response from the Animal Procedures Committee* [online]. Available from <http://www.homeoffice.gov.uk/publications/agencies-public-bodies/apc/Animal-procedures?view=Binary> [Accessed November 2012]
- 146 National Competent Authorities for the implementation of Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes (2012). *Working document on genetically altered animals*. [online]. Available from http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/Endorsed_consensus_doc.pdf [Accessed November 2012]
- 147 Jegstrup I, Thon R, Hansen A K et al (2003). Characterization of transgenic mice – a comparison of protocols for welfare evaluation and phenotype characterization of mice with a suggestion on a future certificate of instruction. *Laboratory Animals*. 37:1–9
- 148 Pursel V G, Pinkert C A, Miller K F et al (1989). Genetic engineering of livestock. *Science*. 244 (4910): 1281-1288
- 149 Ipsos MORI (2012). Views on the use of animals in Scientific Research. Available from <http://www.ipsos-mori.com/research/publications/publications/1512/Views-on-the-use-of-animals-in-scientific-research.aspx> [Accessed November 2012]
- 150 Willetts D, as quoted in Kmietowicz Z (2012). Researchers promise to be more open about use of animals in their work. *British Medical Journal*. 345:3



**“I modelli di topo
geneticamente modificati
e il loro fallimento
in campo medico:
un immane, inutile,
crudelissimo
sperpero di risorse”**