

L'imaging degli effetti tossici: come coniugare l'elevato contenuto informativo della sperimentazione in vivo con il rispetto delle 3R

P. Ciana

Centro di Eccellenza per lo studio delle Malattie Neurodegenerative (CEND) e Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (DISFEB), Università degli Studi di Milano.

Introduzione. Le metodologie correnti alla base dei test tossicologici preclinici sono fondate su studi fisiologici, morfologici, istologici, molecolari, tossicogenetici e tossicogenomici; questi test sono molto potenti e permettono di misurare in modo estremamente analitico e raffinato i potenziali effetti tossici di un composto quando la dose, il tempo e l'organo bersaglio sono conosciuti. Tuttavia, le informazioni spazio/temporali (vale a dire in ogni distretto del corpo nel tempo) degli effetti di un composto non sono facilmente ottenibili se non attraverso studi complessi che richiedono tempo e risorse finanziarie. Per facilitare gli studi tossicologici, sarebbe perciò desiderabile misurare gli effetti di una determinata dose di xenobiotico nel tempo e nello spazio.

Approccio metodologico. L'imaging non invasivo offre un approccio nuovo agli studi preclinici attraverso lo studio sistemico di eventi molecolari e di processi biologici nella dimensione spazio-temporale. L'analisi tossicologica può beneficiare di questo nuovo approccio che consente sia la precisa identificazione del tempo e dell'organo bersaglio della manifestazione tossica, che la possibilità di un'immediata valutazione delle caratteristiche di reversibilità dell'evento tossico stesso. L'applicazione dell'imaging molecolare potrebbe dunque fornire la necessaria informazione spazio-temporale allo studio tossicologico; tuttavia, allo stato attuale, lo sviluppo di appropriati marcatori utilizzabili per l'imaging molecolare di eventi tossici è solo agli inizi. L'introduzione di sistemi reporter in animali transgenici (topi reporter), potrebbe essere un approccio vincente per misurare attraverso l'imaging *in vivo* l'attività di specifici bersagli molecolari o di processi biologici generali (proliferazione, infiammazione, stress ossidativo, apoptosi ecc).

Risultati. Nella presente lettura magistrale, come prova di principio, saranno mostrati i dati salienti dei principali studi effettuati in topi transgenici reporter volti alla valutazione degli effetti tossici prodotti da agenti genotossici, da trattamenti farmacologici (farmaci anti-neoplastici e raggi X) e da interferenti endocrini. Verrà altresì mostrato come la misurazione semiquantitativa di emissione fotonica, possa permettere la stima di parametri tossicologici chiave quali NOAEL, LOAEL e BMD in esperimenti di dose risposta, in seguito a somministrazione o ad esposizione dell'animale a xenobiotici singoli o in miscele complesse. Da un punto di vista etico, è importante sottolineare che queste misurazioni sono compiute attraverso metodologie non invasive normalmente applicate all'uomo. Tale approccio rende minimo o quasi nullo il disagio provocato all'animale: l'analisi può essere condotta sullo stesso animale, anche in caso di trattamenti prolungati, con sequenze di imaging che richiedono l'acquisizione di semplici fotografie. Quindi, l'imaging permette l'applicazione del disegno longitudinale allo studio di tossicità eliminando la necessità di sacrificare gruppi di animali per ogni *time-point*, riducendo così fino a 10 volte il numero di animali utilizzati nella sperimentazione. Per questi motivi l'imaging è considerato una tecnologia rispettosa delle 3Rs.

Conclusioni. Numerosi marcatori di processi biologici fondamentali (proliferazione, apoptosi, infiammazione ecc) sono stati identificati ed i relativi radiotraccianti PET sono già stati sviluppati e sono disponibili per misurazioni di imaging molecolare sull'uomo; la prova di principio sviluppata nei topi reporter nell'ultimo decennio indica un percorso che conduce all'applicazione di queste tecnologie negli studi clinici, come ad esempio la valutazione tossicologica nelle procedure di sviluppo del farmaco e nel monitoraggio di terapie.