

SULL'INSEGNAMENTO DEI METODI ALTERNATIVI IN TOSSICOLOGIA

Per superare la vivisezione non basta avere dei metodi sostitutivi efficaci. Ci vogliono anche dei ricercatori consapevoli, capaci e decisi a utilizzarli. Attualmente nei 27 paesi dell'Unione Europea ce ne sono pochissimi, quindi la domanda è: in che modo colmare il gap? Come e dove, in quali Università e grazie a quali corsi di studio, può nascere una nuova generazione di scienziati in grado di rendere la sperimentazione animale un ricordo del passato?

Tema: 3R (Reduce, Refine, Replace)

Autori: Thomas Hartung (1), Bas Blaauboer(2) e Marcel Leist(3)

Cattedre della Doerenkamp-Zbinden Foundation di (1) Tossicologia basata sull'evidenza, Università Johns Hopkins di Baltimora, USA;

(2) Alternative ai test sugli animali nella valutazione del rischio tossicologico, Università di Utrecht, Olanda; (3) Tossicologia in vitro e biomedicina, Università di Costanza, Germania.

Se non puoi cambiare le cose, educa chi può farlo. Ovvero, come affermava con efficace cinismo George Bernard Shaw, "Chi può fare, fa; chi non può, insegna". I tre autori di questo articolo della serie "Cibo per la mente" hanno una cosa in comune: grazie al generoso sostegno della Doerenkamp-Zbinden Foundation (<http://www.doerenkamp.ch/en/>): sono tutti e tre titolari di una cattedra di metodi alternativi in tossicologia in un'università di prestigio in Europa o negli Stati Uniti. Queste tre cattedre, istituite in seno a tre diverse facoltà - sanità pubblica, veterinaria e biologia - rappresentano il punto di partenza per lo sviluppo di nuovi corsi di studio (Wendel, 2002; Spielmann, 2002; Leist, 2006). Nel frattempo, la DZ Foundation ha creato altre due cattedre: una a Losanna, in Svizzera, e l'altra a Tiruchirappalli, in India, ma l'argomento principe di queste ultime non è la tossicologia. Vero è che molte delle questioni esaminate in questo articolo valgono anche in campi diversi dalla tossicologia, ma andrebbe fatta un'analisi caso per caso.

Gli autori hanno collaborato anche con Alan Goldberg dell'Università Johns Hopkins, che

ha fondato 28 anni fa il primo centro accademico di metodi alternativi (Goldberg, 2009). Insieme, questi quattro "ambasciatori" costituiscono il Transatlantic Think Tank for Toxicology (Gruppo di ricerca transatlantico per la tossicologia, t4) (Fig. 1) i cui obiettivi sono sviluppare nuove idee per una svolta radicale nel campo della tossicologia e costituire una rete operativa che dia corpo alla "visione" per una tossicologia del XXI secolo enunciata dal National Research Council americano (NCR, 2007), (Tox-21c), (Hartung, 2009a). In questa sede analizzeremo alcuni aspetti dell'insegnamento di approcci alternativi e le sinergie possibili in questo campo. In alcuni articoli della serie "Cibo per la mente" abbiamo analizzato nei dettagli la necessità di una svolta radicale in campo tossicologico (Hartung e Leist, 2008) e gli strumenti necessari per formulare un nuovo approccio, per esempio nel settore dei test *in vitro* (Hartung, 2007a), in quello dei test *in vivo* (Hartung, 2008a) e in silico (Hartung e Hoffmann, 2009) e i rispettivi processi di convalida (Hartung, 2007b).

È stata presentata una valutazione sul valore degli approcci delle 3R (Leist e coll., 2008a) e sulla possibilità di una tossicologia

gia basata sul “peso dell’evidenza” (Hartung, 2009b). La necessità di una svolta è stata formulata anche sulla base dei trend economici (Bottini e coll., 2007; Bottini e Hartung, 2009) e ci siamo occupati di alcuni tratti specifici del settore della cosmesi (Hartung, 2008b) e dell’alimentare (Hartung e Koëter, 2008). A completare il quadro ci sono una serie di articoli scritti al di fuori della serie “Cibo per la mente”: la mappatura della

messa in opera di Tox-21c (Hartung, 2009c), la discussione circa l’utilità regolatoria dei nuovi approcci (Hartung e Daston, 2009), le possibilità aperte dalle cellule staminali (Leist e coll., 2008b), il carattere rivoluzionario del cambiamento in corso (Hartung, 2008c) e i risvolti del REACH (Rovida e Hartung, 2009; Hartung e Rovida, 2009). Ma non c’è trasformazione possibile se non cambia la mentalità e senza l’impegno delle

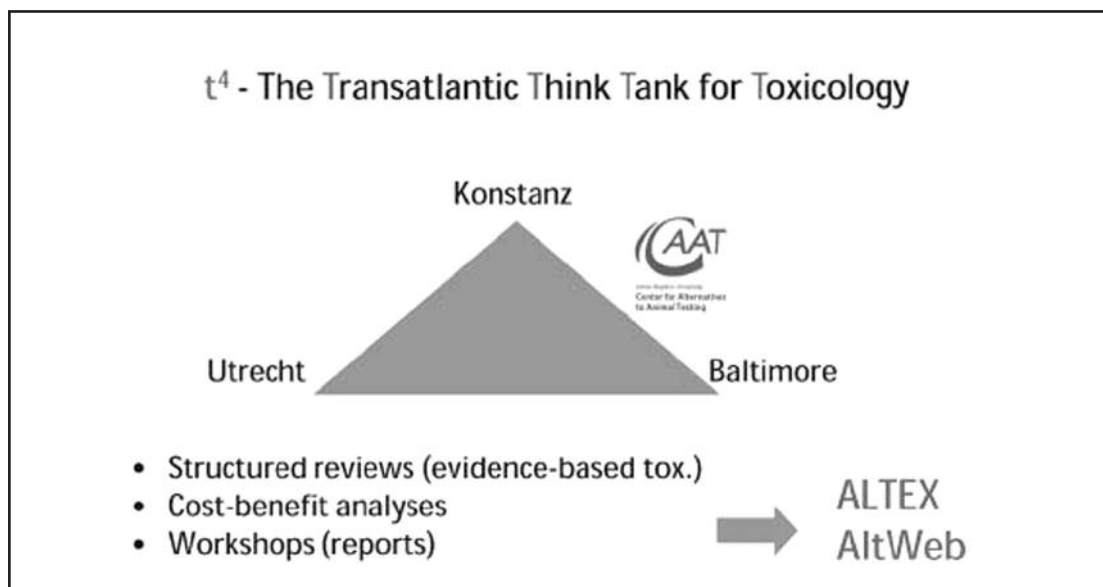


Fig. 1: t⁴ – The Transatlantic Think Tank for Toxicology

persone che hanno le competenze necessarie. L’istruzione è il mezzo appropriato per raggiungere questi obiettivi. Lo psicologo cognitivo svizzero Jean Piaget affermò: “Lo scopo principale dell’istruzione è creare uomini in grado di fare nuove cose e non semplicemente ripetere quello che altre generazioni hanno già fatto”.

Ma ecco subito, a questo proposito, alcuni interrogativi: dobbiamo porre l’accento sull’insegnamento dei metodi alternativi o sull’insegnamento di una nuova tossicologia? Dobbiamo creare nuovi corsi di studio o modificare quelli esistenti? A chi ci dobbiamo rivolgere: alle generazioni future (gli studenti) agli attuali praticanti (livello post-laurea) ai dirigenti (chi prende le decisioni) o a tutti loro? A quali aree di studio e di lavoro conviene indirizzarsi: biologia, chimica, medicina, medicina veterinaria, altre scienze naturali, periti, avvocati, politici, regolatori, ecc.? Come raggiungere il maggior numero possibile di utenti? Come creare un network e innescare processi sinergici in una situa-

zione di diaspora, essendo le diverse offerte e i centri di competenza così distanti tra loro? “Metodi alternativi” è la definizione giusta per attirare l’interesse o è meglio parlare di “nuova tossicologia”? Il punto è insegnare metodi alternativi oppure insegnare facendo ricorso ai metodi alternativi? Su quali strumenti di comunicazione dobbiamo puntare per accelerare e ottimizzare l’insegnamento? Lo studio dei metodi alternativi da parte delle persone autorizzate a condurre esperimenti sugli animali dovrà essere obbligatoria, come già succede in Olanda?

Gli autori sono titolari delle prime cattedre di metodi alternativi in tossicologia istituite dalla Doerenkamp-Zbinden Foundation. In aggiunta alle ricerche che conducono e a una serie di altri contributi, sono impegnati nell’insegnamento di un nuovo approccio umano alla scienza della valutazione del rischio. Questo articolo, più che un documento ufficiale è un tentativo di definire le sfide che si presentano a chi si propone di insegnare una nuova tossicologia.

Considerazione 1

L'alternativa è un atteggiamento mentale più che una tecnologia o un obiettivo

L'espressione "metodi alternativi" viene applicata agli approcci delle 3R (sostituzione, riduzione e perfezionamento degli esperimenti eseguiti sugli animali) fin dagli anni Settanta. All'epoca, il termine "alternativo" veniva usato per descrivere personaggi anticonformisti oppure militanti e attivisti, di solito ambientalisti. E' da tener presente che nonostante parecchie similitudini nell'approccio anticonformista, c'è una sostanziale differenza tra gli attivisti ambientalisti e quelli animalisti; a titolo d'esempio: molti ambientalisti sono favorevoli ai test sugli animali per ottenere dati di valutazione sui prodotti chimici ambientali. Il dibattito che si è sviluppato negli ultimi tempi a proposito di sperimentazione animale e sulla qualità dei dati che essa è in grado di fornire sta coinvolgendo un maggior numero di persone interessate a una visione più a lungo termine.

Il termine "alternativo" ha creato enormi problemi per via dell'inevitabile associazione con posizioni anti-establishment. Ad esempio, quando fu creato il German National Centre for Documentation and Evaluation of Alternatives to Animal Experiments (Centro Nazionale Tedesco per la Documentazione e la Valutazione di Alternative alla Sperimentazione Animale) (ZEBET, <http://bfr.bund.de/cd/1591>), la parola Alternativmethoden venne scartata a favore di Ersatz- und Ergänzungsmethoden (metodi sostitutivi e complementari). D'un lato ciò è sorprendente perché la scienza, nei suoi momenti migliori, dovrebbe progredire sfidando le verità consolidate e ciò che viene dato per scontato. Tuttavia, la valutazione del rischio tossicologico è anche una disciplina applicata con risvolti politici ed economici. Lo scopo dei metodi alternativi non è essere "anticonformisti" bensì sviluppare approcci che siano al tempo stesso più efficaci e più umani.

Gli approcci alternativi non possono essere associati ad alcuna tecnologia in particolare – infatti sia la scienza che non si considera "alternativa" sia quella che lo è utilizzano gli stessi strumenti, e non di rado vengono sviluppati dei metodi che solo in un secondo tempo trovano la loro collocazione nell'uso alternativo. Esempio: i metodi *in vitro* raramente vengono sviluppati con l'obiettivo di sostituire la sperimentazione animale e sono largamente utilizzati negli studi di fisiologia o nello studio degli effetti delle sostanze, senza sostituire direttamente i test *in vivo*.

Molti metodi alternativi sono nati dall'idea di sostituire, ridurre o perfezionare l'utilizzo di animali nella sperimentazione (sostituisci, riduci e perfeziona sono i principi delle 3R enunciati nel 1959 da William M.S. Russel e Rex L. Burch che dovrebbero essere gli obiet-

tivi di tutti gli scienziati che pensano eticamente). Ne consegue un fenomeno che dobbiamo tener presente, e cioè che non sempre essi contribuiscono a ridurre il numero di animali utilizzati. Questo succede, per esempio, se il loro utilizzo consente di aumentare la produzione di alcune sostanze o se una serie di risposte "positivi" richiede un supplemento di test *cibo per la mente*. Molto spesso, insomma, i metodi alternativi vanno considerati alla stregua di tecnologie avanzate che ci consentono di fare cose che non potremmo ottenere con i tradizionali test sugli animali.

Per un altro verso, i metodi alternativi consistono in nuovi approcci nella valutazione del rischio in ambito normativo-regolatorio, un campo dove si richiede che vengano formalmente convalidati prima che possano sostituire i test tradizionali. E' importante segnalare che questo settore rappresenta solo una piccola parte dell'uso di animali: circa il 10% degli animali utilizzati riguarda la tossicologia, e i metodi alternativi costituiscono una piccola parte dei test tossicologici. Domanda: dovremo quindi rivolgerci anche gli specialisti di settori diversi dalla tossicologia? Potremmo sostenerne la necessità argomentando che l'insegnamento di metodi alternativi ha la stessa funzione di un "faro". Potremmo aggiungere che qualunque opportunità di discutere di etica non può che rivelarsi utile agli studenti. E che il fatto di conoscere forme avanzate di sperimentazione umana gioverà sicuramente anche coloro a che poi sceglieranno aree di lavoro diverse.

Possiamo però spingerci ancora più in là. I metodi alternativi, infatti, contribuiscono a definire un nuovo metodo critico nella valutazione delle metodologie sperimentali. Ciò implica misure e standard specifici che garantiscano la qualità dei risultati e la piena affidabilità degli strumenti, due cose da cui molte aree della scienza potrebbero trarre vantaggio. Più che in qualsiasi altro settore delle scienze naturali, nel nostro campo vengono soppesate la qualità e la significatività delle tecnologie utilizzate. Qui più che altrove si fa riferimento a una cultura della qualità e della sicurezza dei risultati, e si discutono modalità e conseguenze dell'applicazione pratica. È qui che entrano in gioco la Good Laboratory Practice (Buona Pratica di Laboratorio) (Cooper-Hannan e coll., 1999) e la Good Cell Culture Practice (Buona Prassi di Coltura Cellulare) (Hartung e coll., 2002; Coecke e coll., 2005); è qui che cominciano a collaborare gli enti internazionali preposti alla convalida ed è qui che i coordinatori nazionali monitorano e negoziano la revisione delle linee guida dei test. Tutti questi elementi sono preziosi se lo scopo è creare una vera

mentalità scientifica o, come sintetizza intelligentemente Kenneth G. Johnson, “il passaggio dell’uomo dall’ignoranza presuntuosa all’incertezza meditata”. L’insegnamento dei metodi alternativi - non un puro e semplice resoconto storico dei cambiamenti intervenuti - è decisivo. Per interessare un pubblico sempre più vasto l’insegnamento dovrebbe sia includere i concetti di qualità, rilevanza e utilità, che sono importanti anche in altre aree scientifiche, sia aiutare a sviluppare gli indicatori chiave di prestazione. È sorprendente, invece, come questi concetti fondamentali trovino raramente spazio negli approcci scientifici della ricerca. Tendiamo a usare quello che possediamo e a considerarlo corretto quando i risultati ci stanno bene e lo scarso numero di ripetizioni non ci segnala discrepanze nei risultati. Nello sviluppare i concetti di Good Cell Culture Practice (Buona Prassi di Coltura Cellulare) (Hartung e coll., 2002; Coecke e coll., 2005), è stato essenziale comprendere quante variabili di un esperimento vanno controllate e do-

cumentate - un approccio molto lontano da quello usuale nella ricerca accademica. Allo stesso modo, gli sforzi per la convalida (per dimostrare che un metodo è affidabile e rilevante) potrebbero giovare alle nostre ricerche, ma pochi sono propensi a spendere anni e centinaia di migliaia di euro per ciascun metodo applicato.

Per insegnare le 3R, l’espressione “metodi alternativi”, con le sue diverse connotazioni, non sembra adatta a comunicare in modo corretto tutti i concetti sopra menzionati. Potrebbero essere più attraenti formule come Tossicologia fondata sull’evidenza oppure su un nuovo metodo critico o, ancora, fondata su percorsi o sistemi. In ogni caso, più importante di qualsiasi definizione è la necessità di insegnare un approccio alternativo piuttosto che dei metodi alternativi. Come afferma Goldberg (2004), “Dobbiamo trasmettere a coloro che vengono dopo di noi i principi e la pratica di una scienza umana”.

Considerazione 2

Il nuovo approccio deve diventare parte di differenti corsi di studio e programmi di insegnamento ad hoc

Prima di ogni altra cosa va esaminata da vicino l’istruzione dei tossicologi. Ad esempio, quando si diventa tossicologi? I master ad hoc sono relativamente rari in Europa (la ricerca su Internet ce ne ha segnalati solo 11 (a Basilea, Berlino, Copenhagen, Glasgow, Guildford, Kaiserslautern, Leida, Londra, Stoccolma, Utrecht e Vienna), mentre ne sono stati trovati almeno ventotto negli Stati Uniti d’America (http://www.universities.com/edu/Masters_degrees_in_Toxicology.html). Il fatto che gran parte dei programmi europei siano molto recenti (grazie in parte alla Riforma di Bologna del 1999, che ha portato a una rapida diffusione di nuovi master e specializzazioni) potrebbe dipendere dall’improvviso aumento di richiesta di tossicologi soprattutto per il REACH. Ma ancora una volta, i corsi di specializzazione arrivano troppo tardi perché le posizioni devono essere coperte adesso o nell’immediato futuro, e ciò avverrà attingendo dalle discipline affini. Questo ha delle conseguenze interessanti per quanto riguarda la formazione metodologica, l’ampiezza e profondità dell’esperienza, la necessità di formazione sul lavoro, ecc. Tuttavia, l’emergere di nuovi temi e programmi - si prenda la nanotossicologia o lo screening degli interferenti endocrini - potrebbe sostenere la domanda; pertanto, cominciare ora a formare i tossicologi di domani non è affatto una cattiva idea.

Sfortunatamente, gran parte degli studenti di scienze naturali hanno scarsi contatti con la tossicologia. Alcuni di loro si avvicinano alla materia attraverso le ricerche sul campo (necessarie per master, lauree o tesi di dottorato in Medicina) o tramite la formazione sul

lavoro, ma raramente ricevono un’istruzione consistente e metodica. Alcuni tirocini post-laurea o professionali vengono offerti da società tossicologiche o università, quali:

- **The American Society of Toxicology**, <http://www.toxicology.org/ai/ce/ce.asp>
- **The British Toxicology Society**, http://www.thebts.org/index.php?content=gi_train
- **Dutch postgraduate education in toxicology**, <http://www.toxcourses.nl/>
- **EuroTox**, http://www.eurotox.com/pag.asp?ID_pagina=69
- **The German Society for Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology**, (Hesse-Callaway and Greim, 1996), http://www.dgpt-online.de/html/text_fr.htm
- **TRISK-European Toxicology Risk Ass. Training Programme** <http://www.cascadenet.org/projectweb/4667c4853b2a6/TRISK.html>

I metodi alternativi fanno parte di questi corsi di studio a differenti livelli. Ma è giusto dire che gran parte dei piani di studi non includono importanti corsi di specializzazione in tossicologia né tanto meno includono i nuovi approcci.

Domanda: quanto conta per il futuro tossicologo la conoscenza di specifici metodi alternativi?

Probabilmente non molto; e infatti sarà più importante aver imparato a cercare tramite i database di pertinenza quali sono i metodi alternativi disponibili.

Tra i database utili a questo scopo segnaliamo:

- **ECVAM**
(dbAlm, <http://ecvam-dbalm.jrc.ec.europa.eu/>)
- **ZEBET (AnimAlt-ZEBET)**,
<http://www.bfr.bund.de/cd/1508>)
- **US National Library of Medicine**
(ALT Bib, <http://toxnet.nlm.nih.gov/altbib.html>)
- **UC Davis Center for Animal Alternatives Information**
(<http://lib.ucdavis.edu/dept/animalalternatives>)
- **Guida Altweb per la ricerca di alternative**
(<http://altweb.jhsph.edu/resources/searchalt/index.html>)

Ma non è un'operazione semplice ottenere questo tipo di informazioni. Per questo motivo, presso ECVAM, abbiamo avviato un progetto per sviluppare delle "buone pratiche" di ricerca nei database, condotto da ZEBET. Il lavoro è terminato e sarà presto reso pubblico. Con questa guida sarà molto più facile eseguire una ricerca esaustiva, cosa importante, per esempio, sia per i comitati di controllo sull'uso degli animali sia per chi deve progettare una sperimentazione. L'Università Tecnica di Dresda (Technical University Dresden) e ZEBET (www.go3R.org) hanno sviluppato altri interessanti approcci di ricerca. Questo motore di ricerca semantica usa le informazioni del PubMed americano ma assicura un recupero più selettivo ed esaustivo di documenti utili.

E' quindi importante che i ricercatori che si trovano a dover scegliere se utilizzare gli animali o un metodo

alternativo, sappiano come e dove svolgere le ricerche del caso. Ma arrivare a conoscere i diversi metodi esistenti è solo il primo passo: il ricercatore deve anche essere seriamente intenzionato a utilizzare di preferenza un metodo alternativo, perché è sempre possibile sostenere che le alternative a disposizione non si possono applicare alla sua ricerca. Per questo è importante che egli conosca bene quali sono i limiti della sperimentazione animale. La carenza di letteratura su quest'ultimo problema è sorprendente, come discusso in un precedente articolo della serie "Cibo per la mente" (Hartung, 2008a). Ma lo stesso vale per i metodi alternativi di cui, in genere, si sottolineano solo i vantaggi. Per i (futuri) tossicologi la capacità di rapportarsi in modo critico ai metodi alternativi potrebbe rivelarsi ancora più utile dell'insegnamento dei metodi alternativi stessi.

Sarebbe in ogni caso difficile ignorare i difetti degli approcci alternativi, come è già stato detto in questa serie di articoli per i metodi *in vitro* (Hartung, 2007a) e per quelli in silico (Hartung e Hoffmann, 2009). I nuovi metodi vanno e vengono, ma alcune limitazioni di fondo dei modelli e dei test permangono. La velocità con cui le nuove tecnologie si soppiantano l'una con l'altra nei laboratori rende quasi inutile insegnare un determinato approccio, se non come esempio. E' indubbio però che i principi di un modello di sperimentazione statisticamente valido, e quelli relativi alla documentazione, all'organizzazione e all'analisi dei dati hanno vita assai più lunga. Ed è strano come siano poco insegnati in gran parte dei corsi di studi.

Considerazione 3

L'insegnamento che utilizza metodi alternativi è diverso dall'insegnamento di metodi alternativi

Per quanto riguarda la didattica sono stati realizzati notevolissimi progressi nella sostituzione degli esperimenti sugli animali grazie a diverse organizzazioni, quali per esempio:

- **European Resource Centre for Alternatives**
(EURCA, www.eurca.org)
- **International Network for Humane Education**
(InterNICHE, www.interniche.org; Jukes e Chiuiua, 2003)
- **Norwegian Reference Centre for Laboratory Animal Science and Alternatives**
(NORINA – a Norwegian Inventory of Audiovisuals, http://oslovet.veths.no/fag.aspx?fag=57&mnu=databases_1)
- **Humane Society Veterinary Medical Association**
(<http://alted.hsvma.org/>)
- **Database UC Davis**
(http://www.vetmed.ucdavis.edu/Animal_Alternatives/)

Diversi articoli riassumono i metodi oggi disponibili con una descrizione dei relativi vantaggi e svantaggi

(Van der Valk e coll., 1999; Balcombe, 2000; Gruber e Dewhurst, 2004; Martinsen e Jukes, 2005).

Oggi sono veramente pochi i corsi di insegnamento che richiedono dei modelli senzienti, tranne quelli che insegnano la sperimentazione animale stessa. Ma anche in quest'ultimo caso, ci sono diverse fasi (come le tecniche chirurgiche) nelle quali si possono utilizzare cadaveri o modelli virtuali, plastici o altri modelli non animali (Fanua e coll., 2001; Schöffl e coll., 2008) con grande soddisfazione degli studenti (Silva e coll., 2007). Un sostituto molto diffuso sono i video di precedenti esperimenti animali. Il fatto che in un corso di studio vengano o meno introdotti i metodi alternativi dipende sia dai costi sia dalla conoscenza della loro esistenza sia dalla pressione esercitata dagli studenti. È stato più volte dimostrato, grazie a metodologie affidabili, che questi modelli offrono vantaggi e non presentano handicap rispetto ai modelli animali tradizionali (Patronek e Rauch, 2007; Knight, 2007a).

Tuttavia, dev'essere chiaro che quest'uso piuttosto li-

mitato di animali (meno del 2% secondo le statistiche europee sull'utilizzo complessivo di animali) ha poco a che fare con l'implementazione di una nuova tossicologia; piuttosto esso consente di evitare l'uso di animali nell'insegnamento agli studenti di medicina o veterinaria e nei pochi corsi di scienze naturali. Di fatto, la maggior parte di chi partecipa a questi corsi non avrà mai più occasione di utilizzare animali nel proprio lavoro o nella ricerca.

Insegnare i metodi alternativi dovrebbe intrecciare tre diversi campi del sapere: 1) i metodi alternativi stessi; 2) un modo alternativo di considerare le questioni della sicurezza e dell'affidabilità, come abbiamo discusso in precedenza 3) la conoscenza dei limiti degli attuali ap-

procci *in vivo*. Quest'ultima potrebbe avere un notevole impatto sull'uso di animali soprattutto nei campi della ricerca di base e nella scoperta di sostanze attive (che insieme rappresentano i due terzi dell'uso di animali), dove i metodi alternativi classici sono rari e dove raramente si può far ricorso a un meccanismo centrale di convalida.

E' una sopravvalutazione della qualità e della predittività del modello animale, che ci induce a continuare a usarlo. Troppo spesso non teniamo nel dovuto conto i limiti dei modelli che utilizziamo. Mentre preparavamo l'articolo sui modelli animali per questa serie di *Cibo per la mente* (Hartung, 2008a), su PubMed non siamo riusciti a trovare una sola recensione che affrontasse il tema dei limiti inerenti ai test sugli animali.

Considerazione 4

L'insegnamento di un approccio alternativo è necessario a livelli e in corsi di studio differenti, mettendo in questo modo in evidenza il bisogno di nuove forme di insegnamento

Il numero di centri competenti in fatto di approcci alternativi in questo momento è basso, ma il pubblico è potenzialmente ampio e differenziato. Per far fronte a questo sotto-dimensionamento delle risorse bisogna inventare nuovi approcci educativi, per esempio far confluire in esperienze di studio intensivo studenti provenienti da luoghi diversi, e approntare del materiale di insegnamento intercambiabile (documentazione per conferenze, libri di testo e risorse di e-learning).

La creazione di un centro dove raccogliere tutti i materiali di insegnamento di metodi alternativi (vedi sotto) potrebbe essere un buon punto di partenza. Esistono già diversi libri di testo sui metodi alternativi (Goldberg, 1993; Gruber e Spielmann, 1996; Salem e Katz, 2003; Hester e Harrison, 2006; Balls, 2009), ma non ci risulta che vengano utilizzati in classe. Con il moltiplicarsi delle richieste di insegnamento potrebbe invece diventare una necessità; parliamo di un testo che affronti le tematiche dell'approccio alternativo e non sia solo un lungo elenco di metodi sostitutivi. Oggi, in particolare, un testo di questo tipo non do-

vrebbe limitarsi ai successi del passato bensì fare l'inventario delle sfide che ci aspettano. L'e-learning, ossia Internet più l'insegnamento via computer, sta diventando sempre più popolare. Il corso dell'Università Johns Hopkins sulle tecniche di sperimentazione umana sviluppato da Alan Goldberg e Paul Locke al CAAT ne è un esempio.

I programmi del CAAT si rivolgono a studenti e professionisti della ricerca insegnando loro metodologie alternative e umane, aiutandoli ad acquisire una maggiore comprensione delle 3R e del proprio ruolo potenziale per migliorare la qualità della scienza.

I sei corsi raccolti nel The Humane Science and Toxicology Certificate Program rappresentano il fulcro del programma accademico del CAAT. Accessibile agli studenti universitari e laureati in medicina o scienze biomediche come pure a un vasto pubblico nelle comunità aziendali, legali e regolatorie, è possibile usufruirne sia in classe sia online, tramite la Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health.

(<http://commprojects.jhsph.edu/academics/prop.cfm?id=32>)

Considerazione 5

Se ci sono pochi insegnanti e molti studenti potenziali, la regola aurea è insegnare a colui che insegna

Le persone che insegnano metodi alternativi in modo ufficiale e continuativo oggi sono pochissime. I principali protagonisti di questo settore sono infatti legati all'industria, agli istituti di ricerca, all'area regolatoria o alle ONG e, se insegnano, contribuiscono all'insegnamento accademico solo con incarichi straordinari. Non è da sottovalutare il flusso di finanziamenti per lo sviluppo di metodi alternativi che spinge nuovi gruppi accademici a scendere in campo. In molti casi queste esperienze vengono poi inserite nelle attività accademiche dei ricercatori coinvolti. Ma quello che fa difetto e va sviluppato è proprio un sostegno atto a incrementare questo tipo di attività docente. E' notoria l'assenza di formazione dei docenti universitari in fatto di insegnamento. Se qualcuno decide di intervenire in questo campo, lo fa al livello delle competenze di base, con offerte per i colleghi più giovani - non necessariamente quelli che ne hanno più bisogno bensì quelli che oppongono minor resistenza e che ne beneficeranno più a lungo. Probabilmente non è realistico presumere di poter insegnare ai professori come trattare argomenti quali le 3R. Ma sotto forma di "scambi di esperienze" forse potrebbe funzionare, e infatti è una cosa che pensiamo di proporre nel prossimo futuro.

Gli autori di questo articolo si propongono di avviare, nel contesto del CAAT, un progetto che promuova l'incontro di tutti i docenti interessati sia ai metodi delle 3R sia a una svolta radicale in campo tossicologico sostenendone la collaborazione, lo scambio di esperienze e di materiali d'insegnamento nonché la realizzazione di progetti comuni quali seminari, corsi estivi, offerte di e-learning, aggiornamento dei corsi di studio. Tra gli obiettivi c'è anche quello di realizzare un archivio di materiali d'insegnamento con diapositive, documenti, letteratura, fotografie, storie di casi particolari per un apprendimento orientato ai problemi, ecc. Attualmente stiamo cercando di creare

una rete di insegnanti di metodi alternativi e prevediamo che l'archivio si formerà a partire da questa prima rete di collaboratori.

Questo centro di raccolta e documentazione, come parte di una collaborazione tra individui e organizzazioni che insegnano approcci alternativi, è solo il primo passo. Un altro approccio promettente sarebbe quello di offrire preparazione sulle 3R agli insegnanti delle scuole medie e superiori. Insieme al deposito di materiali d'insegnamento, ciò consentirebbe di inserire nuovi contenuti nei corsi di studio a tutti i livelli. È interessante poter iniziare l'insegnamento dei metodi alternativi come parte dell'istruzione scientifica prima ancora del college e dell'università. Per la verità non sappiamo quante possibilità vi siano che i docenti delle scuole medie e superiori possano insegnare questo argomento.

Il CAAT ha creato una prima serie di pubblicazioni denominate CAATalyst

(<http://caat.jhsph.edu/publications/caatalyst/index.htm>) per familiarizzare gli studenti e gli insegnanti della scuola media con i principi della sperimentazione alternativa. I materiali sono disponibili in formato cartaceo e online.

Un altro esempio interessante è un DVD sulla coltura cellulare per le scuole medie e superiori e per l'università, realizzato dalla Piattaforma Italiana per Metodi Alternativi (IPAM, <http://www.ipamitalia.it>). Uno dei gruppi di destinatari più promettenti per questo tipo di formazione sono i comitati per l'utilizzo degli animali (IACUC) e le commissioni istituzionali di revisione etica. Questo gruppo esercita una forte influenza sull'attuale utilizzo degli animali e sui metodi alternativi. Visto che ne fanno parte anche dei 'profani', può rappresentare una sfida particolare, rafforzata dal fatto che i destinatari fanno parte di diverse istituzioni lontane tra loro. E ancora una volta l'offerta on line potrebbe essere molto promettente in questo caso.

Considerazione 6

Modificare i piani di studio ed esportare il cambiamento in altre aree e regioni

Creare consenso sulla necessità di introdurre i nuovi contenuti (soprattutto come elementi obbligatori per alcuni titoli di studio) è sicuramente il modo più efficace per diffondere le nuove conoscenze. Di recente, diverse grandi istituzioni hanno segnalato il loro interesse a includere gli approcci alternativi nel loro insegnamento (quantomeno come foglia di fico...). Nei corsi di studio di tossicologia o sperimentazione animale spesso è presente anche il tema dei metodi alternativi, ma a livelli e con risultati molto disuguali, e con un insoddisfacente scambio di contenuti. Sicuramente,

uno dei motivi sta nella mancanza di un ente che si faccia garante di standard uniformi e promuova il loro inserimento nei corsi di studio.

Questo potrebbe essere un obiettivo per organizzazioni come la European Society for Alternatives to Animal Testing (EUSAAT, www.eusaat.org) o la European Society for Toxicology in Vitro (ESTIV, www.estiv.org). Potrebbe essere utile suggerire all'Unione Europea un'azione di supporto allo sviluppo di questi corsi di studio pilota da promuovere presso differenti associazioni e istituzioni.

Considerazione 7

L'esistenza di strutture ad hoc per l'insegnamento accademico è la base per assumere e reclutare talenti

Non solo le organizzazioni sportive ma anche le orchestre e i gruppi professionali investono molte risorse nella formazione delle "nuove leve". Questo non comporta solo dei vantaggi didattici, ma gioca anche un ruolo importante nelle assunzioni. Attrarre i giovani verso una certa carriera offrendo loro un programma d'insegnamento interessante diventa particolarmente importante in situazioni di concorrenza e in presenza di reclute molto esigenti.

Questo chiaramente si applica al campo dei metodi alternativi in tossicologia o all'insegnamento delle 3R in quanto argomento biomedico. In tutte le discipline scientifiche e tecnologiche c'è una forte richiesta di giovani di talento, i quali scelgono con estrema attenzione il tipo di professione che vogliono intraprendere. Bisogna essere capaci di interessarli illustrando in modo esaustivo che cosa sia il campo delle 3R, insegnando loro la materia in modo stimolante, costruendo dei percorsi accademici completi. Quest'ultimo obiettivo è strettamente correlato all'inclusione delle 3R come insegnamento di rilievo nelle università più importanti, per esempio nella forma di cattedre dedicate. Questo aprirebbe anche delle prospettive di carriera, diventando così un elemento di rilievo nella valutazione degli studenti.

Un programma di insegnamento accademico formalizzato consente di giocare altre tre carte per quanto riguarda l'avvicinamento degli studenti al tema delle

3R. Primo, una volta che si è radicato in una facoltà universitaria, diverse parti di questo programma vengono spontaneamente esportate in discipline confinanti nel contesto di corsi di studio differenti.

In questo modo una comprensione e un generale apprezzamento della materia possono diffondersi ampiamente tra gli studenti di differenti discipline. La seconda carta ha a che fare con la natura interdisciplinare della materia. Noi riteniamo che nella loro complessità le 3R possano essere adeguatamente insegnate solo da un'istituzione accademica dedicata, tuttavia ciò non esclude che singoli aspetti della materia possano venire trattati, in un modo o nell'altro, nei corsi generali di tossicologia o di sperimentazione animale. In genere questo comporta una notevole frammentazione dell'argomento e non c'è paragone – per quanto riguarda la capacità di attirare un grande numero di studenti - tra questi corsi specializzati e la formulazione di un programma interdisciplinare completo e bilanciato. La terza carta è che una struttura accademica ben consolidata attira non soltanto studenti (reclutamento verticale), ma anche scienziati esperti che vogliono progredire nel campo o entrare in questo settore in modo trasversale (reclutamento orizzontale). In questo momento è molto forte la domanda di esperti di tossicologia nel contesto del REACH, cosa che rende necessario il reclutamento orizzontale di personale che abbia un'adeguata formazione in metodi alternativi.

Considerazione 8

Esistono forti legami tra la credibilità della materia, il suo insegnamento e la nascita di strutture accademiche nelle istituzioni di alto livello

Il legame tra un insegnamento di qualità degli approcci alternativi in tossicologia e la costituzione di strutture accademiche (per esempio con cattedre dedicate nelle università) è strutturale. I due processi sono collegati in modo piuttosto complesso, con implicazioni di vasta portata (Leist, 2006). Molti esempi dimostrano che il tipo e la qualità dell'insegnamento hanno profonde ripercussioni sull'impatto scientifico di una disciplina. Inserire nei corsi di studio un ventaglio di nuove materie tecniche e scientifiche, dal giornalismo e la ristorazione fino all'amministrazione o l'infermieristica, ha contribuito a modificare non solo la percezione che si ha di queste discipline ma le loro stesse basi scientifiche e l'autostima di chi le pratica. L'affermarsi di una determinata disciplina nelle università di prestigio ne rafforza la reputazione e, di conseguenza, la credibilità presso il pubblico. Un'altra ricaduta della reputazione accademica è la sua stretta associazione con il pensiero indipendente e la libera concorrenza delle idee esclusivamente su basi scientifiche. Anche questo contribuisce a rafforzare la credibilità di una disciplina e la percezione della sua indipendenza da lobby e interessi personali. Di conseguenza, anche se l'insegnamento delle 3R può avvenire in modi diversi (Dewhurst, 2006; Vedani e coll., 2007; Jukes, 2008; Gadgil, 2007; Akbarsha, 2007; Knight 2007a), le considerazioni sopra esposte consigliano di combinare l'istituzione di un corso di studio con la creazione di una struttura accademica dedicata (come CAAT o come le cattedre della Doerenkamp-Zbinden Foundation). In questo contesto va ricordato che la Doerenkamp-Zbinden Foundation ha istituito una cattedra straordinaria per l'insegnamento delle scienze naturali a Tiruchirappalli in India (Akbarsha e coll., 2009) che ha lo scopo di migliorare i corsi di studio, soprattutto di zoologia, ma anche di altre discipline.

Ci siano consentite a questo punto alcune considerazioni su quali ricadute possa avere la creazione di cattedre dedicate al di là del loro decisivo ruolo sul terreno dell'insegnamento e della scienza (Hartung, 2008c,d; Leist e coll., 2008a,b).

In particolare vanno menzionate tre conseguenze.

1. Concettualizzazione. E' un dato che viene spesso ignorato nelle discussioni sulla ricerca e lo sviluppo (R&D) dei nuovi metodi di sperimentazione (Figura 2). Quasi sempre, infatti, ci si focalizza sulla fase di implementazione che segue gli stadi di R&D e convalida. E si trascura il fatto che gran parte delle ricerche in questo campo hanno a che fare con problemi tecnici nell'ambito di concetti già consolidati (ad es., Montag e coll., 2007; Whitlow e coll., 2007; Rothen-Rutishauser e coll., 2008; Heindl e coll., 2008; Wanner e Schreiner, 2008; Li, 2008a,b; Murthy, 2007; de Brugerolle, 2007; González Hernández e Fischer, 2007; Seiler e coll., 2006; Henn e coll., 2009).

In realtà, per realizzare dei veri progressi nelle nuove aree (per esempio nei test di tossicità cronica) occorre sviluppare concetti radicalmente nuovi. Si veda il rapporto del Dutch Health Council (Consiglio Sanitario olandese) Toxicity Testing, a more flexible approach, 2001 (Health Council of The Netherlands 2001) nonché diverse altre pubblicazioni (DeJong, 1999; Gubbels-van Hal, 2005; Blaauboer e Andersen, 2007). Una pietra miliare su questo terreno è il rapporto Toxicology for the 21st Century (Tox 21c) (NCR, 2007; Collins e coll., 2008; Leist e coll., 2008c; Hartung e Leist, 2008), dove si chiede una svolta radicale nel modo in cui vengono eseguite le valutazioni di sicurezza. Per il futuro degli approcci alternativi sarebbe importante poter abbandonare la strategia usata con successo per gran parte degli endpoint più accessibili richiesti per i test cosmetici e chimici (le linee guida OECD, ad esempio sull'irritazione cutanea e la fototossicità). Questo vecchio approccio (o "alternative di prima generazione") si è spesso basato su modelli "black box" meccanicistici non pienamente caratterizzati che cercavano di sostituire i test sugli animali su una base 1:1. Il nuovo approccio ("alternative V 2.0") sarebbe a livello concettuale completamente diverso.

Questo rilevante salto intellettuale è un esempio di concettualizzazione che va oltre la fase di R&D standardizzata attualmente in uso, e il successo dell'iniziativa Toxicology for the 21st Century nel

coinvolgere così tanti scienziati di ambito universitario insieme con la comunità regolatoria e legislativa è certamente legato al fatto che le sue radici affondano in un documento realizzato da un'organizzazione accademica dall'ottima reputazione come la National Academy of Sciences degli Stati Uniti (NCR, 2007).

2. Abbattimento delle barriere. All'altro (lontano) capo dell'iter di sviluppo dei metodi alternativi per le valutazioni di sicurezza (vale a dire vicino al mercato) sussistono delle importanti barriere (Fig. 3) malgrado il successo documentato dei metodi legati alle 3R e i problemi che pongono esperimenti sugli animali (Knight, 2007b; Leist e coll., 2008b; Hartung, 2008a). Ci si imbatte per esempio in rilevanti barriere tecnico/scientifiche legate al problema della convalida (Hartung, 2007b; Leist e coll., 2008b). E affiorano ostacoli legali e normativi in aggiunta a quelli concettuali

e psicologici. Questi ultimi dipendono dal tipo di reputazione di cui gode il settore scientifico della nuova tossicologia (metodi delle 3R) fuori dell'ambito universitario. Spesso il passaggio ai nuovi metodi viene ulteriormente ostacolato dall'inerzia e dalla preferenza a usare le vecchie e più note tecnologie. Fa parte del problema anche una certa diffidenza, che trae origine dalla mancanza di informazioni o da informazioni errate circa i nuovi metodi (Schiffelers e coll., 2007).

In questo caso le istituzioni accademiche e il corpo docente hanno da svolgere un ruolo doppiamente importante. Possono infatti contribuire alla disseminazione del sapere al di fuori delle università attraverso centri come CAAT.

Grazie alla loro indipendenza dalle lobby e alla loro eccellente reputazione scientifica, questi gruppi conferiscono credibilità agli approcci alternativi e così facendo abbattano molte barriere concettuali.

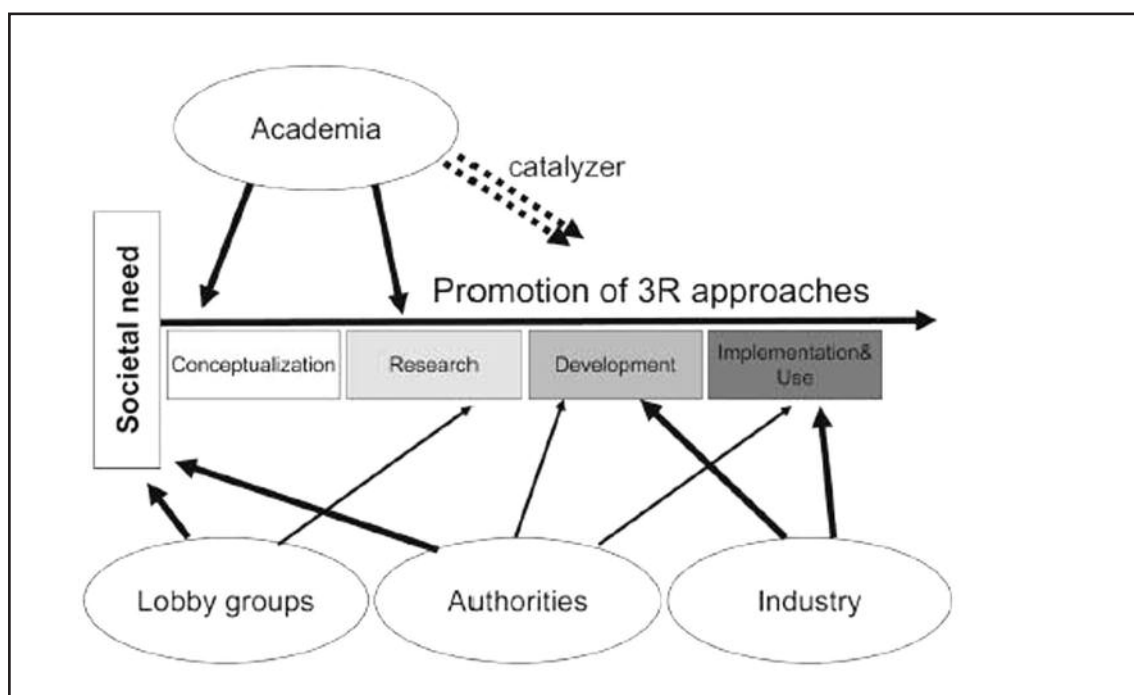


Fig. 2: The role of academia in the pipeline towards alternative approaches in toxicology

3. Trasferimento del sapere. Questo punto riguarda l'integrazione della nostra disciplina in ambito accademico. Un buon lavoro scientifico e il risultante riconoscimento accademico portano automaticamente al suo inserimento nei grandi consorzi di ricerca e, in virtù di sforzi di ricerca comuni, anche nelle aree di confine. Oltre a favorire l'integrazione, questo comporta un vantaggio scientifico diretto enorme. Nuove tecnologie e nuove idee possono essere importate e sviluppate con gli specialisti di altre discipline (vedi per esempio Mitterhauser e Toegel, 2008; Mertens e Rulicke, 2007). La sfida portata da – e lo scambio continuo con – sfere scientifiche

che più ampie concorrono a far evolvere e maturare i nuovi approcci ai test di sicurezza come non potrebbe mai avvenire entro i confini della disciplina. In sintesi, l'integrazione delle 3R nei campi della biomedicina, della tecnologia moderna e delle scienze informatiche porta due grandi benefici. D'un lato, richiede uno standard accademico elevato nel campo della "nuova" tossicologia per poter ottenere il riconoscimento dei pari (peer recognition) e interagire con le altre discipline ad armi pari. Dall'altro, queste interazioni garantiscono lo sviluppo e la dinamica degli approcci alternativi in tossicologia.

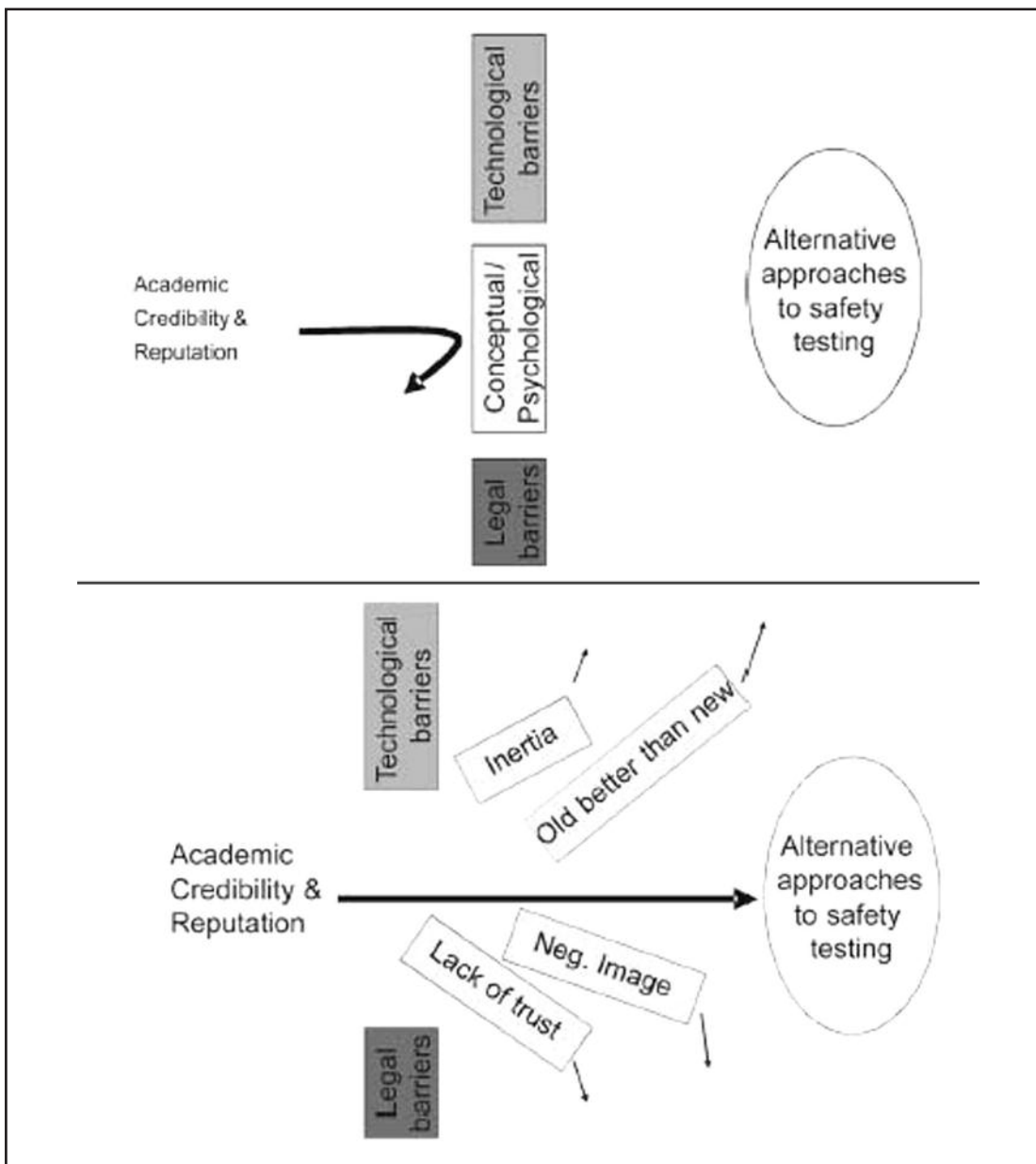


Fig. 3: Breaking conceptual barriers by increased academic reputation

Conclusioni

L'istituzione, da parte della Doerenkamp-Zbinden Foundation, di una serie di cattedre che insegnano metodi alternativi segna una pietra miliare verso l'integrazione sistematica delle 3R nelle università e nei rispettivi piani di insegnamento.

E' un evento che deve fungere da "faro" per le altre istituzioni.

Sono progetti pilota che hanno l'obiettivo di rafforzare il proprio impatto collaborando tra di loro e coinvolgendo anche altri programmi di studio, e tuttavia siamo ancora lontani dall'averne un progetto sistematico e coerente d'insegnamento dei metodi alternativi.

I mezzi suggeriti per riuscirci sono:

- **condivisione del materiale didattico;**
- **costituzione di una rete di insegnanti universitari;**
- **supporto alla costituzione di piani di studio integrati dentro le rispettive istituzioni e discipline.**
- **supporto agli insegnanti scolastici.**

L'istruzione è una risorsa decisiva per avanzare sul terreno delle alternative, ancora ampiamente sottovalutata. Il suo impatto è difficile da misurare, ma attirare e formare una nuova generazione di opinion leader è d'importanza decisiva, nel momento in cui per la prima generazione si avvicina il momento della pensione. Nello stesso tempo, la nuova generazione di "clienti" nell'industria e nelle agenzie regolatorie diventerà più recettiva ai nuovi approcci.

Per chiudere con le parole di Herbert Spencer: *"Lo scopo principale dell'insegnamento non è la conoscenza, ma l'azione"*. Ora è tempo di agire.

Bibliografia

- Akbarsha, M. A. (2007). Movement to curtail animal dissections in zoology curriculum: review of the Indian experience. ALTEX 24, 163-166.
- Akbarsha, M. A., Gruber, F. P. and Pereira, S. (2009). A national centre for animal alternatives in India: the Mahatma Gandhi- Doerenkamp centre for alternatives to animal use in life science education. Lecture held at WC7 in Rome, ALTEX 26 Spec. Issue, 20.
- Balcombe, J. (2000). The use of animals in higher education (1-104). Washington: Humans Society Press. http://www.hsus.org/webfiles/PDF/ARI/ARIS_The_Use_Of_Animals_In_High_Education.pdf
- Balls, M. (2009). The Three Rs and the Humanity Criterion. Nottingham: FRAME
- Blaauboer, B. J. and Andersen, M. E. (2007). The need for a new toxicity testing and risk analysis paradigm to implement REACH or any other large scale testing initiative. Arch. Toxicol. 81, 385-387.
- Bottini, A. A. and Hartung, T. (2009). Food for thought ... on economics of animal testing. ALTEX 26, 3-16.
- Bottini, A. A., Amcoff, P. and Hartung, T. (2007). Food for thought ... on globalization. ALTEX 24, 255-261.
- Coecke, S., Balls, M., Bowe, G. et al. (2005). Guidance on Good Cell Culture Practice. ATLA 33, 261-287.
- Collins, F. S., Gray, G. M. and Bucher, J. R. (2008). Toxicology – Transforming environmental health protection. Science 319, 906-907.
- Cooper-Hannan, R., Harbell, J. W., Coecke, S. et al. (1999). The principles of Good Laboratory Practice: application to *in vitro* toxicology studies – the report and recommendations of ECVAM Workshop 37. ATLA 27, 539-577.
- de Brugerolle, A. (2007). SkinEthic Laboratories, a company devoted to develop and produce *in vitro* alternative methods to animal use. ALTEX 24, 167-171.
- DeJongh, J., Nordin-Andersson, M., Ploeger, B. and Forsby, A. (1999). Estimation of systemic toxicity of acrylamide by integration of *in vitro* toxicity data with kinetic simulations: overview of a prevalidated study based on the ECITTS project. Toxicol. Appl. Pharmacol. 158, 261-268.
- Dewhurst, D. (2006). Computer-based alternatives in higher education – past, present and future. ALTEX 23, 197-201.
- Fanua, S. P., Kim, J. and Wiglis, E. F. S. (2001). Alternative model for teaching microsurgery. Microsurg. 21, 379-382.
- Gadgil, U. S. (2007). Role of simulators in surgical education. ALTEX 24, 172-173.
- Goldberg, A. M. (2010). The role of an academic center. ATLA, (in press).
- Goldberg, A. M. (2004). Animals and Alternatives: Societal Expectations and Scientific Need. ATLA 32, 545-551.
- Goldberg, A. M. (1993). *In vitro Toxicology (Alternative Methods in Toxicology)* (247). 1st edition. New York: Mary Ann Liebert.
- González Hernández, Y. and Fischer, R. W. (2007). Serum-free culturing of mammalian cells – adaptation to and cryo-preservation in fully defined media. ALTEX 24, 110-116.
- Gruber, F. P. and Dewhurst, D. G. (2004). Alternatives to animal experimentation in biomedical education. ALTEX 21 Suppl. 1, 33-48.

- Gruber, F. P. and Spielmann, H. (1996). Alternativen zu Tierexperimenten. Wissenschaftliche Herausforderung und Perspektiven (352). 1st edition. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum Akademischer Verlag.
- Gubbels-van Hal, W. M. L. G., Blaauboer, B. J., Barentsen, H. M. et al. (2005). An alternative approach for the safety evaluation of new and existing chemicals, an exercise in integrated testing. *Regulat. Toxicol. Pharmacol.* 42, 284-295.
- Hartung, T. (2009a). Toxicology for the twenty-first century. *Nature* 460, 208-212.
- Hartung, T. (2009b). Food for thought ... on evidence-based toxicology. *ALTEX* 26, 75-82.
- Hartung, T. (2009c). A toxicology for the 21st century: Mapping the road ahead. *Tox. Sci.* 109, 18-23.
- Hartung, T. and Daston, G. (2009). Are *in vitro* tests suitable for regulatory use? *Tox. Sci.* 111, 233-237.
- Hartung, T. and Hoffmann, S. (2009). Food for thought on ... *in silico* methods in toxicology. *ALTEX* 26, 155-166.
- Hartung, T. and Rovida, C. (2009). Chemical regulators have overreached. *Nature* 460, 1080-1081.
- Hartung, T. (2008a). Food for thought ... on animal tests. *ALTEX* 25, 3-9.
- Hartung, T. (2008b). Food for thought ... on alternative methods for cosmetics safety testing. *ALTEX* 25, 147-162.
- Hartung, T. (2008c). Towards a new toxicology – evolution or revolution? *ATLA* 36, 635-639.
- Hartung, T. (2008d). Thoughts on limitations of animal models. *Parkinsonism & Related Disorders* 14, S81-83.
- Hartung, T. and Koëter, H. (2008). Food for thought ... on food safety testing. *ALTEX* 25, 259-264.
- Hartung, T. and Leist, M. (2008). Food for thought ... on the evolution of toxicology and phasing out of animal testing. *ALTEX* 25, 91-96.
- Hartung, T. (2007a). Food for thought ... on cell culture. *ALTEX* 24, 143-147.
- Hartung, T. (2007b). Food for thought ... on validation. *ALTEX* 24, 67-72.
- Hartung, T., Balls, M., Bardouille, C. et al. (2002). Report of ECVAM task force on good cell culture practice (GCCP). *ATLA* 30, 407-414.
- Health Council of The Netherlands (2001). Toxicity testing: a more efficient approach. Publication no. 2001/24E. ISBN: 90-5549-415-1. <http://www.gezondheidsraad.nl/en/publications/toxicity-testing-more-efficient-approach#a-downloads>
- Heindl, C., Hess, A. and Brune, K. (2008). Refinement and reduction in animal experimentation: options for new imaging techniques. *ALTEX* 25, 121-125.
- Henn, A., Lund, S., Hedtjärn, M. et al. (2009). The suitability of BV2 cells as alternative model system for primary microglia cultures or for animal experiments examining brain inflammation. *ALTEX* 26, 83-94.
- Hesse-Callaway, S. and Greim, H. (1996). The German toxicology curriculum: establishing a postgraduate training program for experts in toxicology. *Regulat. Toxicol. Pharmacol.* 24, 197-201.
- Hester, R. E. and Harrison, R. M. (2006). Alternatives to Animal Testing (Issues in Environmental Science and Technology) (130). 1st edition. London: Royal Society of Chemistry.
- Jukes, N. (2008). Russia: update on animal experiments and alternatives in education. *ALTEX* 25, 56-62.
- Jukes, N. and Chiuiua, M. (2003). From Guinea Pig to Computer Mouse: Alternative methods for a progressive, humane education (544). 2nd edition. Leicester, UK: InterNICHE. <http://www.interniche.org/book.html>
- Knight, A. (2007a). The effectiveness of humane teaching methods in veterinary education. *ALTEX* 24, 91-109.
- Knight, A. (2007b). Animal experiments scrutinised: systematic reviews demonstrate poor human clinical and toxicological utility. *ALTEX* 24, 320-325.
- Leist, M., Kadereit, S. and Schildknecht, S. (2008a). Food for thought... on the real value of 3R approaches. *ALTEX* 25, 17-24.
- Leist, M., Bremer, S., Brundin, P. et al. (2008b). The biological and ethical basis of the use of human embryonic stem cells for *in vitro* test systems or cell therapy. *ALTEX* 25, 163-190.
- Leist, M., Hartung, T. and Nicotera, P. (2008c). The dawning of a new age of toxicology. *ALTEX* 25, 103-114.
- Leist, M. (2006). What can a chair on alternatives to animal experimentation effectuate? *ALTEX* 23, 211-213.
- Li, A. P. (2008a). *In vitro* evaluation of human xenobiotic toxicity: scientific concepts and the novel integrated discrete multiple cell co-culture (IdMOC) technology. *ALTEX* 25, 43-49.
- Li, A. P. (2008b). Human hepatocytes as an effective alternative experimental system for the evaluation of human drug properties: general concepts and assay procedures. *ALTEX* 25, 33-42.
- Martinseng, S. and Jukes, N. (2005). Towards a Humane Veterinary Education. *J. Vet. Med. Educ.* 32, 454-460.
- Mertens, C. and Rulicke, T. (2007). Welfare assessment and phenotypic characterization of transgenic mice. *ALTEX* 24 Spec. issue, 46-48.
- Mitterhauser, M. and Toegel, S. (2008). An *in vitro* model for the comparative evaluation of bone seeking pharmaceuticals. *ALTEX* 25, 51-55.
- Montag, T., Spreitzer, I., Löschner, B. et al. (2007). Safety testing of cell-based medicinal products: opportunities for the monocytes activation test for pyrogens. *ALTEX* 24, 81-89.
- Murthy, B. (2007). Relevance of *in vitro* toxicology studies in risk assessment. *ALTEX* 24, 174-147.
- NRC – National Research Council US. (2007). Committee on toxicity testing and assessment of environmental agents, Na-

tional Research Council: Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy (196). The National Academies Press. http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=11970

- Patronek, G. J. and Rauch, A. (2007). Systematic review of comparative studies examining alternatives to the harmful use of animals in biomedical education. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230, 37-43.

- Rothen-Rutishauser, B., Mueller, L., Blank, F. et al. (2008). A newly developed *in vitro* model of the human epithelial airway barrier to study the toxic potential of nanoparticles. *ALTEX* 25, 191-196.

- Rovida, C. and Hartung, T. (2009). Re-evaluation of animal numbers and costs for *in vivo* tests to accomplish REACH

legislation requirements for chemicals – a report by the transatlantic think tank for toxicology (t4). *ALTEX* 26, 187-208.

- Salem, H. and Katz, S. A. (2003). *Alternative toxicological methods* (616). 1st edition. New York: Informa Healthcare.

- Schiffelers, M. J., Blaauboer, B. J., Fentener van Vlissingen, J. M. et al. (2007). Factors stimulating or obstructing the implementation of the 3Rs in the regulatory process. *ALTEX* 24, 271-278.

- Schöffl, H., Froschauer, S. M., Dunst, K. M. et al. (2008). Strategies for the reduction of live animal use in microsurgical training and education. *ATLA* 36, 153-160.

- Seiler, A., Buesen, R., Hayess, K. et al. (2006). Current status of the embryonic stem cell test: the use of recent advances in the field of stem cell technology and gene expression analysis. *ALTEX* 23 Suppl., 393-399.

- Silva, R. M. G., Matera, J. M. and Ribeiro, A. A. C. M. (2007).

- New alternative methods to teach surgical techniques for veterinary medicine students despite the absence of living animals. Is that an academic paradox? *Anat. Histol. Embryol.* 36, 220-224.

- Spielmann, H. (2002). A chair on alternatives? *ALTEX* 19, 69-73.

- Van der Valk, J., Dewhurst, D., Hughes, I. et al. (1999). Alternatives to the use of animals in higher education. The report and recommendations of ECVAM workshop 33. *ATLA* 27, 39-52.

- Vedani, A., Dobler, M., Spreafico, M. et al. (2007). VirtualTox-Lab – *in silico* prediction of the toxic potential of drugs and environmental chemicals: evaluation status and internet access protocol. *ALTEX* 24, 153-161.

- Wanner, R. and Schreiner, M. (2008). An *in vitro* assay to screen for the sensitizing potential of xenobiotics. *ALTEX* 25, 115-120.

- Wendel, A. (2002). Do we need a “Chair of alternative methods”, and where? *ALTEX* 19, 64-68.

- Whitlow, S., Bürgin, H. and Clemann, N. (2007). The embryonic stem cell test for the early selection of pharmaceutical compounds. *ALTEX* 24, 3-7.

Corrispondenza

Thomas Hartung, MD, PhD

Johns Hopkins University,

Bloomberg School of Public Health

Doerenkamp-Zbinden Chair for Evidence-based Toxicology

Center for Alternatives to Animal Testing CCAT

615 N. Wolfe St. W7035

Baltimore, MD, 21205, USA

e-mail: Thartung@jhsp.edu

L'articolo originale in lingua inglese, **Food for Thought... on Education in Alternative Methods in Toxicology**, di Thomas Hartung, Bas Blaauboer e Marcel Leist, è uscito su *ALTEX* 26, 4/2009. (http://altweb.jhsph.edu/bin/e/z/AltexHartung_fft_4_09.pdf). Traduzione Vanna Brocca.

La serie di articoli intitolata “*Cibo per la mente*” viene pubblicata da *ALTEX*, il periodico del Centro per le alternative ai test sugli animali (CAAT) la cui sede americana fa capo alla Johns Hopkins University di Baltimora e quella europea all'Università di Costanza, in Germania.