



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA

**Dipartimento di Medicina Veterinaria
Scuola di Specializzazione in Scienza e Medicina degli
Animali da Laboratorio**

RIASSUNTO

**LA SPERIMENTAZIONE ANIMALE, ARMA INDISPENSABILE PER LO STUDIO DI
EPIDEMIOLOGIA, EZIOPATOGENESI E TERAPIA DEL COVID-19**

Relatore: Prof.ssa Paola DALL'ARA

Correlatore: Prof. Giorgio POLI

Specializzando:
Dott. Alessio CERIANI
Matricola n.S611925

Anno Accademico 2019-2020

L'inizio del 2020 è stato caratterizzato dalla comparsa di un nuovo virus denominato in precedenza 2019-nCoV e poi successivamente SARS-CoV-2 (acronimo dall'inglese severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), che si è diffuso in tutto il mondo a partire dalla Cina causando una pandemia molto grave.

La malattia, denominata Covid-19 (Coronavirus Disease 2019), ha causato nel nostro Paese oltre 34000 morti ed in tutto il mondo oltre 500.000 con 10 milioni di casi confermati.

Molti dei casi iniziali erano riferibili ad una esposizione avvenuta al Wuhan's South China Seafood City (mercato del pesce), per contagio da animali selvatici. In tale mercato ed in tutto il Sud-est asiatico, il commercio illegale delle carni di pipistrello, serpente, topo, ratto, pangolino ed altri animali da compagnia come cane e gatto, è molto diffuso. L'abitudine di tenere animali vivi da macellare al momento stesso dell'acquisto, la loro condizione di promiscuità ed il mancato rispetto delle regole igienico-sanitarie, ha favorito il salto di specie all'uomo (Spillover).

I ricercatori si sono concentrati sull'evoluzione del genoma SARS-CoV-2, comparandolo con il più simile riscontrato nei pipistrelli della specie *Rhinolophus affinis*; non è ancora chiaro se tra pipistrello e uomo vi sia un ospite intermedio.

Il SARS-CoV-2, pur appartenendo alla famiglia dei Coronaviridae, già conosciuta fin dagli anni 60, provoca una patologia molto grave: una polmonite interstiziale con danno alveolare diffuso che può sfociare in una sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) anche letale, della quale ancora ben poco si conosce.

La ricerca scientifica sta compiendo molti sforzi dal punto di vista clinico, farmacologico e tossicologico per cercare di fronteggiare questa nuova malattia e combattere il virus.

In quest'ottica gli studi sperimentali sugli animali hanno svolto un ruolo di primo piano ed hanno permesso di giungere a conoscenze molto importanti.

La mia tesi punta a far luce su quelli che possono essere considerati i modelli animali ideali per la sperimentazione e lo studio delle terapie sperimentali sugli animali attuate dai ricercatori.

La ricerca del modello ideale da utilizzare per gli studi sul SARS-CoV-2, è partita dalla precedente esperienza sulla SARS, patologia scatenata da un altro coronavirus, il SARS-CoV, che appartiene allo stesso genere (Betacoronavirus) e che condivide il 79% della sequenza genetica e lo stesso recettore di ingresso nella cellula polmonare (ACE2).

L'esperienza sulla SARS ha visto l'impiego prevalentemente di macachi e modelli murini e può fornire informazioni utili su modelli animali per gli studi di COVID-19.

La revisione della letteratura scientifica da me condotta ha evidenziato l'uso, oltre a macachi e topi, di altri modelli animali come i criceti e furetti. Quest'ultimi hanno fornito importanti informazioni sul nuovo coronavirus, che riguardano la patogenesi e le modalità di trasmissione: hanno fornito prove di trasmissione con modalità diretta ed indiretta intra-specie e condiviso le stesse vie di eliminazione virale come nell'uomo, confermando i dati della trasmissione intra-umana.

I furetti, impiegati da sempre negli studi delle malattie respiratorie, sono un pilastro della ricerca e nell'infezione da SARS-CoV-2 ed hanno riproposto molti aspetti clinici e di replicazione virale della malattia umana.

I topi, facili da maneggiare ed allevare, sono stati da sempre impiegati nella ricerca biomedica. Un buon modello di topo sarebbe un vantaggio per la ricerca COVID-19, ma non sono ideali per l'infezione da SARS-CoV-2 perché il recettore ACE2 del topo ha molte differenze chiave rispetto a quello umano.

Da ciò, la necessità di creare e utilizzare topi transgenici equipaggiati con l'ACE2 umano (topi KNOCKOUT ACE2) che si sono resi utili per gli studi sui meccanismi d'ingresso del virus nella cellula e per la ricerca sulla ARDS.

Gli animali che probabilmente hanno il maggior rilievo nel valutare potenziali farmaci e vaccini sono le scimmie.

Sebbene siano costose e difficili da gestire, la loro stretta relazione genetica con l'uomo, le rende spesso la specie più utilizzata.

Gli sforzi per infettare diverse specie di scimmie con SARS-CoV-2 sono iniziati poco dopo l'isolamento del virus dalle persone testando scimmie di macachi Rhesus, Fascicularis e Marmoset. Le scimmie sono state fondamentali per comprendere la reazione immunitaria al virus: a metà marzo uno studio cinese sui macachi ha offerto alcune delle prove che gli anticorpi da un'infezione SARS-CoV-2, possono fornire l'immunità, aprendo la ricerca sulle trasfusioni di plasma umano.

Inoltre uno tra i farmaci antivirali più utilizzati come terapia per contrastare la malattia Covid-19 è tutt'ora il Remdesivir (GS-5734). Utilizzato precocemente durante l'infezione nei macachi infettati sperimentalmente con SARS-CoV-2, ha portato un chiaro beneficio clinico con ridotta o assenza della malattia respiratoria.

Gli infiltrati polmonari radiografici, segno distintivo del Covid-19 negli esseri umani e la replicazione del virus nel lavaggio bronco-alveolare (BAL), hanno dimostrato di essere poco presenti in macachi trattati precocemente con l'antivirale, suggerendo che l'avvio precoce del trattamento in pazienti con Covid-19 può essere di aiuto per prevenire la progressione a polmonite grave.

In conclusione, la ricerca di una terapia o lo sviluppo di vaccini contro il SARS-CoV-2 passano necessariamente dalla sperimentazione animale per capire la patogenesi dell'infezione nell'uomo, l'efficacia dei trattamenti antivirali e gli eventuali effetti collaterali.

Non esistono, né sono concepibili ad oggi vie alternative.

Uno dei problemi emersi di grande importanza e tutt'ora in fase di studio, è la capacità del virus di nascondersi negli organi degli animali infettati causando la re-infezione post guarigione.

Ciò che stiamo apprendendo sul campo, grazie anche alla sperimentazione su animali, sarà importante per elaborare strategie in grado di aiutare il nostro sistema sanitario.

I sacrifici e le difficili scelte che oggi affrontiamo nell'emergenza non saranno vani, se avremo imparato come collettività l'importanza di sostenere con decisione e senza ipocrisia nell'interesse di tutti lo studio, la ricerca e il metodo scientifico, per renderci forti nell'affrontare l'ignoto.