

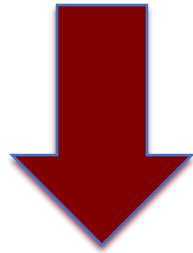
FARMACOLOGIA APPLICATA
2023/24

**Sperimentazione preclinica con animali da
laboratorio**

Patrizia Romualdi, PhD
Dept. Pharmacy and Biotechnology
Alma Mater Studiorum – University of Bologna



L'industria farmaceutica e i laboratori di ricerca delle Università o dei centri di Ricerca pubblici/privati sono impegnati nella produzione di nuove molecole.



Ciò è possibile grazie all' utilizzo degli animali da laboratorio che rappresentano ancora oggi **IL MEZZO PIÙ VALIDO** di valutazione della risposta biologica dell' organismo ad una determinata stimolazione farmacologica.

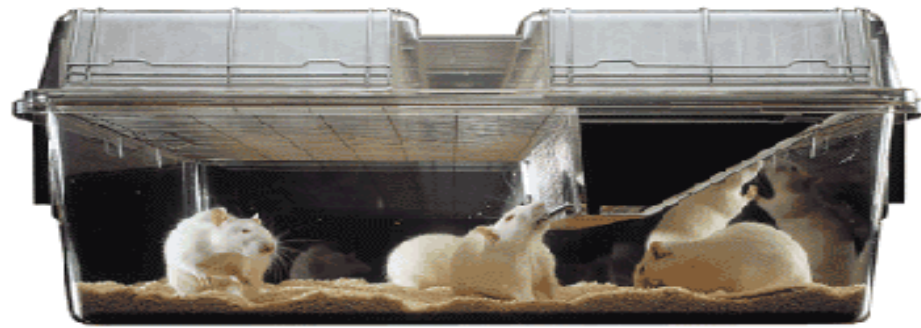
Aree dello stabulario

Area specializzata nella stabulazione ottimale
Adibita al controllo costante degli animali da laboratorio



Gabbie

- **Materiale non-poroso, non-opaco, facilmente lavabile e sterilizzabile in autoclave, con angoli smussati**
- **Coperchio in metallo per alloggiare cibo ed acque**
- **Coperchio superiore in plastica con/senza filtro per aria**
- **Max 5 topi adulti per gabbia**





LETTIERA

- Da isolamento termico
- Assorbe le urine
- Aumenta la riproduttività
- Riduce gli odori
- Deve essere con ridotte polveri (acari)



Condizioni ambientali

- Temperatura (22-25° C) ed umidità (45-60%)
- 10-15 ricambi d' aria minimi
- Aria fresca o filtrata o combinazione per ridurre i patogeni
- Intensità luminosa non superiore a 325 lux ad un metro di altezza dal suolo
- Ritmo luce-buio di 12:12
- Rumore inferiore a 60 dB

CONTROLLO SANITARIO

CAMBIO GABBIE:

- Periodo 3gg-2w
- Dipende dal numero di topi per gabbia e dall' assorbimento della lettiera
- Gabbie autoclavate per topi immunodeficienti e se si usano patogeni
- Il rack va pulito

PULIZIA STANZA:

- Pulizia con disinfettanti
- Superfici completamente lavabili
- Pest control per roditori esterni

NUTRIZIONE

Nutrizione *ad libitum* tranne che per casi sperimentali particolari

Il pellet deve essere duro per non produrre rifiuti

Non più vecchio di 6 mesi dalla data di preparazione e tenuto a umidità e temperatura controllate

Può essere sterilizzato

Acqua autoclavata ed acidificata (pH 2,5-3,0)



Circa il 95% degli animali utilizzati nella ricerca biomedica è rappresentato da roditori:

topi e ratti	90 %
criceti	2%
cavie	2%
altre specie	1%



- ✓ **Facilità di mantenimento e manipolazione**
- ✓ **Elevata capacità riproduttiva**
- ✓ **Tempo di generazione e durata della vita relativamente brevi**
- ✓ **Disponibilità di dati di base sulle specie rodentrici**
- ✓ **Disponibilità di numerosi ceppi e linee ben definiti**
- ✓ **Possibilità per alcune specie di adottare tecniche di produzione germ-free and pathogen-free**
- ✓ **L' esistenza di differenti caratteristiche specie-specifiche ha dato luogo a numerosi modelli di malattia rilevanti per la ricerca biomedica**

Tecniche di allevamento

- LINEA INBRED

Incroci tra fratello e sorella (o genitori e figli) per > 20 generazioni consecutive

Identità genica pari a circa il 98%

Caratteristiche di istocompatibilità

Necessità di programmare e registrare gli incroci in modo rigoroso

Necessità di pianificare un corretto programma di monitoraggio genico per il controllo delle caratteristiche della linea

- LINEA OUTBRED

Accoppiamenti random

Eliminare il più possibile ogni grado di parentela

Animali con max variabilità genica osservabile in una popolazione

Le diverse caratteristiche degli animali sono un ottimo modello per studi applicati ad animali eterogenei

Progenie molto robusta e numerosa

- LINEA IBRIDA

F1: incrocio tra due diverse linee *inbred*

Animali eterozigoti per i caratteri che differenziano le linee parentali

Molto apprezzati nella ricerca biomedica per la riproducibilità genetica
all'interno della linea

Alto vigore riproduttivo

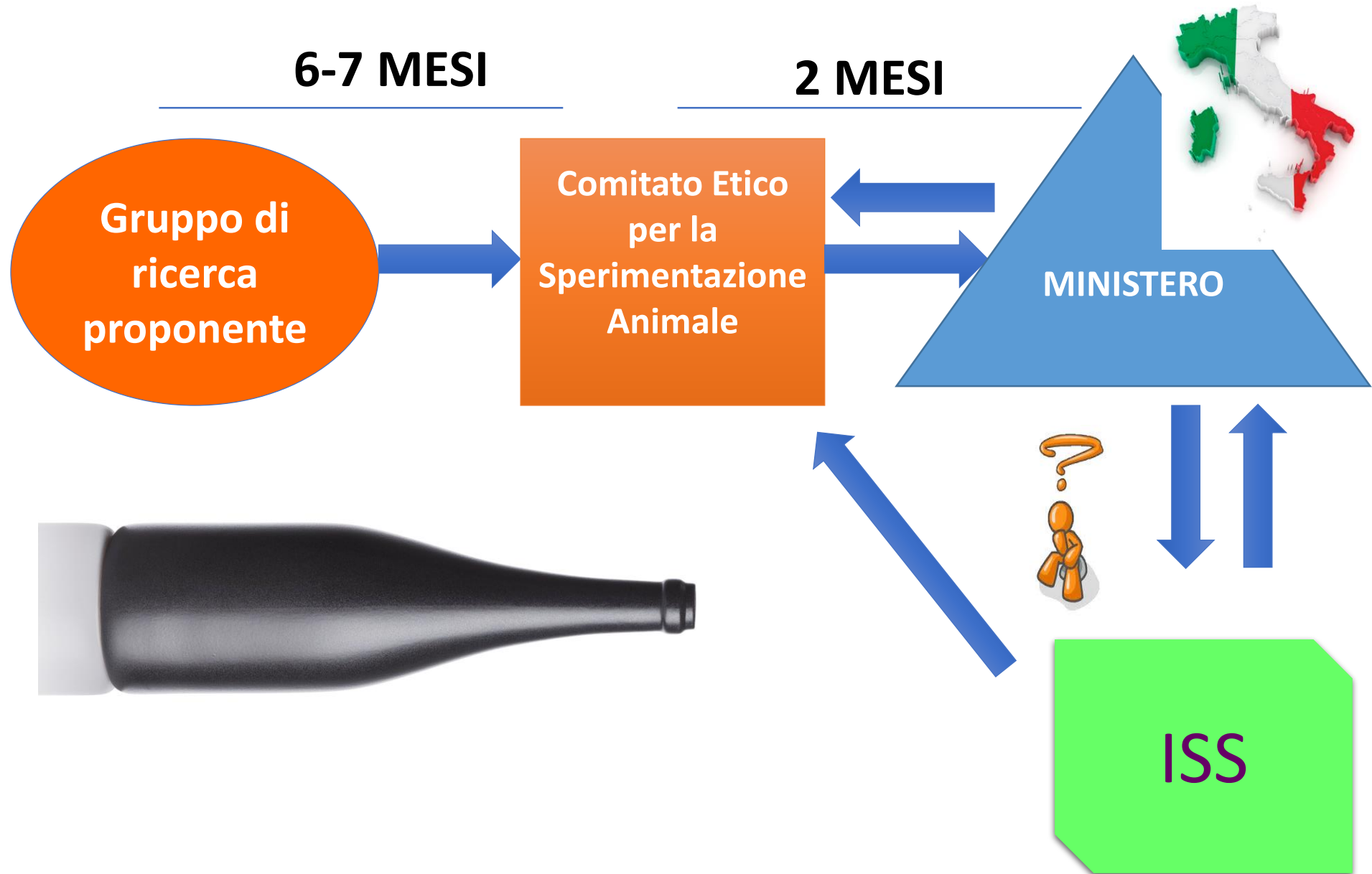
Non possono essere propagati come linea







COMIATO ETICO: NUOVO PERCORSO



La storia inizia con:

DLgs 116 del 27 Gennaio 1992 in attuazione della Direttiva europea 86 /609/CEE del 24 Novembre 1986.

Gia' si parlava di Benessere animale.....

Poi arriva la nuova Direttiva Europea

Direttiva Europea 63/2010

La protezione e l'impiego degli animali utilizzati a fini scientifici è regolamentata dalla Direttiva Europea 63/2010 con l'obiettivo di rimuovere le discordanze tra le leggi, i regolamenti e le previsioni amministrative dei singoli Stati Membri. La Direttiva fa chiaro riferimento alla necessità della sperimentazione animale. Infatti, si riporta che:

"Benché sia auspicabile sostituire nelle procedure l'uso di animali vivi con altri metodi che non ne prevedano l'uso, l'impiego di animali vivi continua ad essere necessario per tutelare la salute umana e animale e l'ambiente."

GAZZETTA UFFICIALE

DELLA REPUBBLICA ITALIANA

PARTE PRIMA

Roma - Venerdì, 14 marzo 2014

SI PUBBLICA TUTTI I

GIORNI, ORE 12,30

DIREZIONE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DELLA GIUSTIZIA - UFFICIO PUBBLICAZIONE LEGGI E DECRETI - VIA MARENCO, 15 - 00187 ROMA

AMMINISTRAZIONE PRESSO L'ISTITUTO POLIGRAFICO E TIPOGRAFICO DELLO STATO - VIA Salaria, 501 - 00198 ROMA - CENTRALINO 06-8541 - LAVORAZI DELLA STAMPA

FATTORI 06-8541 - ROMA

La Gazzetta Ufficiale, Parte Prima, oltre alla Serie Generale, pubblica cinque Serie speciali, ciascuna corrispondente

ad un'attività parlamentare:

1° Serie speciale: Carte costituzionali (pubblicate il mercoledì)

2° Serie speciale: Comunità europee (pubblicate il lunedì e il giovedì)

3° Serie speciale: Regioni (pubblicate il sabato)

4° Serie speciale: Corti e tribunali (pubblicate il martedì e il venerdì)

5° Serie speciale: Contatti pubblici (pubblicate il lunedì, il mercoledì e il venerdì)

La Gazzetta Ufficiale, Parte Seconda, "Foglio delle inserzioni", è pubblicata il martedì, il giovedì e il sabato

DECRETO LEGISLATIVO 4 marzo 2014, n. 26.

**Attuazione della direttiva 2010/63/UE sulla
protezione degli animali utilizzati a fini scientifi-
ci (14G00036)**

Pag. 2

Articolo 5:

2. Non possono essere autorizzate le procedure:

a) per la produzione e il controllo di materiale bellico;

b) per i test tossicologici con i protocolli della Lethal Dose - LD50 e della Lethal Concentration - LC50, tranne i casi in cui risulti obbligatorio da legislazioni o farmacopee nazionali o internazionali;

c) per la produzione di anticorpi monoclonali tramite l'induzione dell'ascite, qualora esistano corrispondenti altri metodi di produzione e non risulti obbligatorio da legislazioni o farmacopee nazionali o internazionali;

d) per le ricerche sugli xenotrapianti di cui all'articolo 3, comma 1, lettera g);

e) per le ricerche sulle sostanze d'abuso;

f) nel corso delle esercitazioni didattiche svolte nelle scuole primarie, secondarie e nei corsi universitari, ad eccezione della formazione universitaria in medicina veterinaria nonché dell'alta formazione universitaria dei medici e dei medici veterinari.

La sperimentazione animale nella normativa vigente

Il nostro Paese, con il Decreto legislativo 26/2014, ha recepito la direttiva 63/2010 sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici. Nel recepimento, tuttavia, l'Italia ha deciso di introdurre una disciplina molto più restrittiva rispetto agli altri Stati Membri UE.

Nello specifico, il decreto legislativo 26/2014 aveva previsto, tra gli altri, i seguenti divieti di utilizzo di modelli animali:

- **Il divieto dell'uso di animali per le ricerche sugli xenotrapianti d'organo e sulle sostanze d'abuso** (art.5, comma 2, lettera d), **molto utilizzati per terapie sperimentali per patologie gravi**. Nel caso di trapianti di organi nell'uomo, a causa di questa previsione verrebbe impedita la prosecuzione delle ricerche finalizzate alla generazione di organi perfettamente compatibili con l'organismo ricevente. Si verificano così circostanze estremamente dannose, sia per il progresso della ricerca che per il soddisfacimento delle istanze dei pazienti.
- **Il divieto di utilizzo di animali per le ricerche su sostanze d'abuso** (art. 5, comma 2, lettera e) **causerebbe invece la conclusione di qualsiasi ricerca volta ad indagare i meccanismi di azione di tali sostanze, le quali stanno diventando sempre più diffuse, con effetti devastanti, in termini di danni permanenti** (ad esempio, la sindrome da astinenza neonatale, causata dall'utilizzo di sostanze stupefacenti/farmaci durante la gravidanza). Più in generale, sarà messa in pericolo la ricerca sui disturbi alimentari, quali la bulimia e l'anoressia. Va ricordato inoltre che la farmacopea internazionale prevede che ogni nuovo farmaco che possa avere attività sul sistema nervoso centrale venga testato per le sue potenziali attività di abuso; anche ad esempio un chemioterapico con attività sul SNC deve quindi essere testato in questo senso.

- **Tale direttiva è stata recepita in Italia dal Decreto Legislativo 26/2014.**
- **Nel recepimento, tuttavia, il nostro Paese ha deciso di introdurre una disciplina molto più restrittiva rispetto agli altri Stati Membri UE. Infatti, la normativa italiana introduce, tra gli altri, i seguenti divieti aggiuntivi, difformi quindi rispetto alla Direttiva Europea 63/2010:**

- **divieto dell'uso di animali per le ricerche sugli xenotrapianti d'organo (art. 5, comma 2 lettera d)**
- **divieto di utilizzo di animali per le ricerche su sostanze d'abuso (art. 5, comma 2 e).**

- il Ministero, avvalendosi del Laboratorio del reparto substrati cellulari ed immunologia cellulare dell'Istituto Zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, effettuasse un monitoraggio sull'effettiva disponibilità di metodi alternativi, da concludersi entro il 30 giugno 2016. La relazione depositata nel luglio 2016 stabiliva per gli studi sulle sostanze d'abuso che:

"Ad oggi la completa sostituzione del modello animale, non è realizzabile in quanto non esistono metodi alternativi in grado di valutare gli effetti comportamentali neurobiologici/psicologici indotti dall'assunzione/somministrazione di una sostanza"

La stessa relazione, in riferimento agli studi sugli xenotrapianti, stabiliva che:

"al momento non esistono metodi alternativi a tale tipo di sperimentazione".

La procedura di messa in mora da parte dell'Unione Europea

- La Commissione Europea ha aperto, nel 2014, una pre-infrazione per analizzare le importanti difformità tra quanto disposto dalla direttiva 2010/63/UE e la normativa italiana.
- Questa analisi ha portato nell'Aprile 2016 all'avvio di una procedura di infrazione nei confronti dell'Italia ex art. 258 TFUE per l'inadeguato recepimento della direttiva 2010/63/UE poiché il DL 26/2014 impone "restrizioni eccessive".
- Si rammenta che la messa in mora è il primo stadio della procedura di infrazione a cui l'Unione Europea sottopone gli Stati Membri.
- Nel febbraio 2017 la Commissione Europea ha emesso un parere motivato con cui ha fissato un termine di due mesi per la modifica delle disposizioni in contrasto con la normativa europea.
- Si attende, ora, il ricorso per inadempimento della Commissione a danno del nostro Paese dinanzi la Corte di Giustizia UE.

La proroga della moratoria nella normativa Italiana

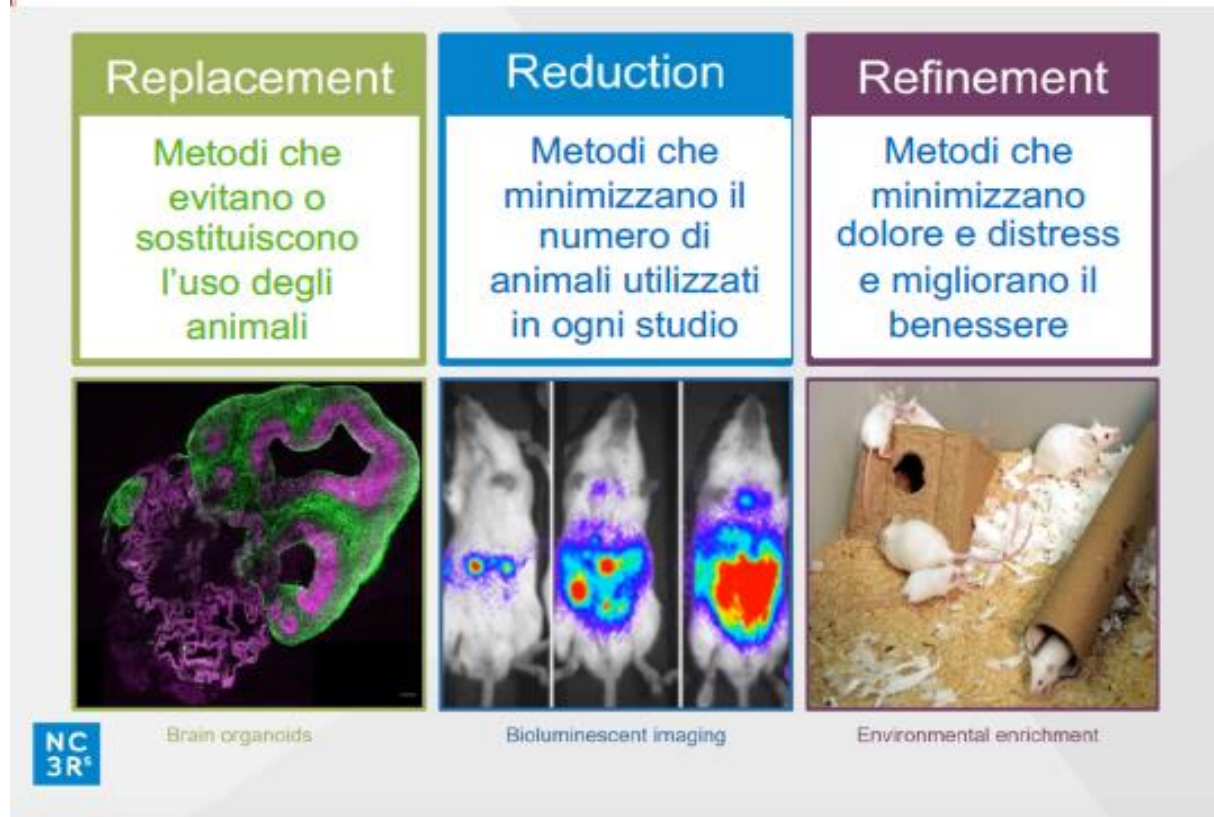
- Anziché annullare i divieti difformi rispetto alla normativa europea, l'Italia ha introdotto una moratoria all'entrata in vigore dei divieti sulla sperimentazione animale (art. 42, comma 1 D.Lgs 26/2014). Tale sospensione del divieto era stata estesa fino al 1° gennaio 2020 dall'articolo 7, comma 3, del decreto-legge 30 dicembre 2016, n. 244 e, da ultimo, fino al 1° gennaio 2021 dall'articolo 5, comma 3, del decreto-legge 30 dicembre 2019 n. 162
- Il 12 marzo 2019 la Commissione Igiene e Sanità del Senato, nel dare il proprio parere sulla “Relazione programmatica sulla partecipazione dell'Italia all'Unione Europea per l'anno 2019”, ha chiesto al Governo di adottare iniziative per recepire integralmente la direttiva 2010/63/UE;
- l'Istituto Zooprofilattico di Lombardia ed Emilia Romagna ha depositato nel luglio 2019 una aggiornata “Relazione sul ricorso alla sperimentazione animale per sostanze d'abuso e xenotrapianti”.
 - Rispetto alle sostanze d'abuso, il rapporto ribadisce che:
“alla data odierna la completa sostituzione del modello animale nello studio delle proprietà d'abuso dei farmaci non è realizzabile in quanto non esistono metodi alternativi”.
 - Rispetto agli xenotrapianti d'organo rileva che:
“il ricorso allo xenotrapianto,- trapianto di organi di specie diverse da quella del ricevente - rappresenterebbe un approccio importante per salvare milioni di vite umane... al momento non esistono metodi alternativi a tale tipo di sperimentazione”

Con l'art. 42, comma 1, del decreto legislativo n. 26/2014 era stata introdotta una **moratoria per l'entrata in vigore dei suddetti divieti**. Tale sospensione del divieto era stata estesa fino al 1° gennaio 2020 dall'articolo 7, comma 3, del decreto-legge 30 dicembre 2016, n. 244 e **fino al 1° gennaio 2022 dall'articolo 5, comma 3, del decreto-legge 30 dicembre 2019 n. 162 sottoposto all'esame delle Commissioni Parlamentari.**

L'ultima sospensione possibile è stata approvata in parlamento fino al 1 Gennaio 2025

**Regola delle 3R e sperimentazione preclinica
in modelli animali**

La Regola delle 3R



The Principles of Humane Experimental Technique
W.M.S. Russell and R.L. Burch , 1959

Il ricercatore deve essere cosciente che la regola delle 3R contribuisce al benessere dell'animale ma, in misura consistente, anche alla riuscita dell'esperimento scientifico



Replacement

“any scientific method employing non-sentient material which may, in the history of experimentation, replace methods which use conscious living vertebrates”

Totale



Evita completamente l'uso degli animali (metodi non-animal), include l'uso di volontari umani, cellule e tessuti, modelli matematici e informatici e linee cellulari immortalizzate

Parziale



include l'uso di animali che, basandosi sulle attuali conoscenze scientifiche, non sono capaci di provare sofferenza. Invertebrati quali Drosophila, vermi nematodi, amoebae, e forme immature di vertebrati. Spesso utilizzati come metodi alternativi per prove di pre-screening (Reduction)

METODI ALTERNATIVI

Vantaggi

- non solo per rispondere al “ *replacement*” ma anche perché:
- Esistono aspetti etici e rispetto dei diritti degli animali
- Basso costo rispetto all’uso di animali da laboratorio
- Meno complessi e più facilmente standardizzabili

Svantaggi

- La risposta in un sistema semplificato differisce dalla risposta di un sistema complesso
- Lunghi tempi ed estese ricerche per ottenere l’approvazione nella ricerca applicata da parte degli enti regolatori
- Necessità di unificare le linee guida e le direttive dei vari Paesi

EURL ECVAM

European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing

Costituito oltre 25 anni fa nella sede di Ispra (Lombardia), supporta le 3Rs con i Seguenti compiti:

- condurre ricerche e collaborare ad iniziative di ricerca nell'UE;
- coordinare ed intraprendere studi di validazione di metodi alternativi;
- disseminare informazioni e condividere conoscenze tra le diverse discipline;
- promuovere i metodi alternativi e le 3Rs nel contesto internazionale.

Eye irritation tests

In vitro

- Eye irritation:
 - HET-CAM (hen's egg chorio-allantoic membrane) test



- BCOP (bovine corneal opacity) test
- ICE (isolated chicken eye) test

In vivo

- Draize test in rabbit's eye



**Modelli alternativi nella sperimentazione
preclinica
(colture cellulari, cellule staminali , *c. elegans*,
zebrafish)**

2D vs 3D Cell Culture

Le tecniche di coltura cellulare sono impiegate da anni per:

- biologia dello sviluppo,
- scoperta di farmaci,
- medicina rigenerativa

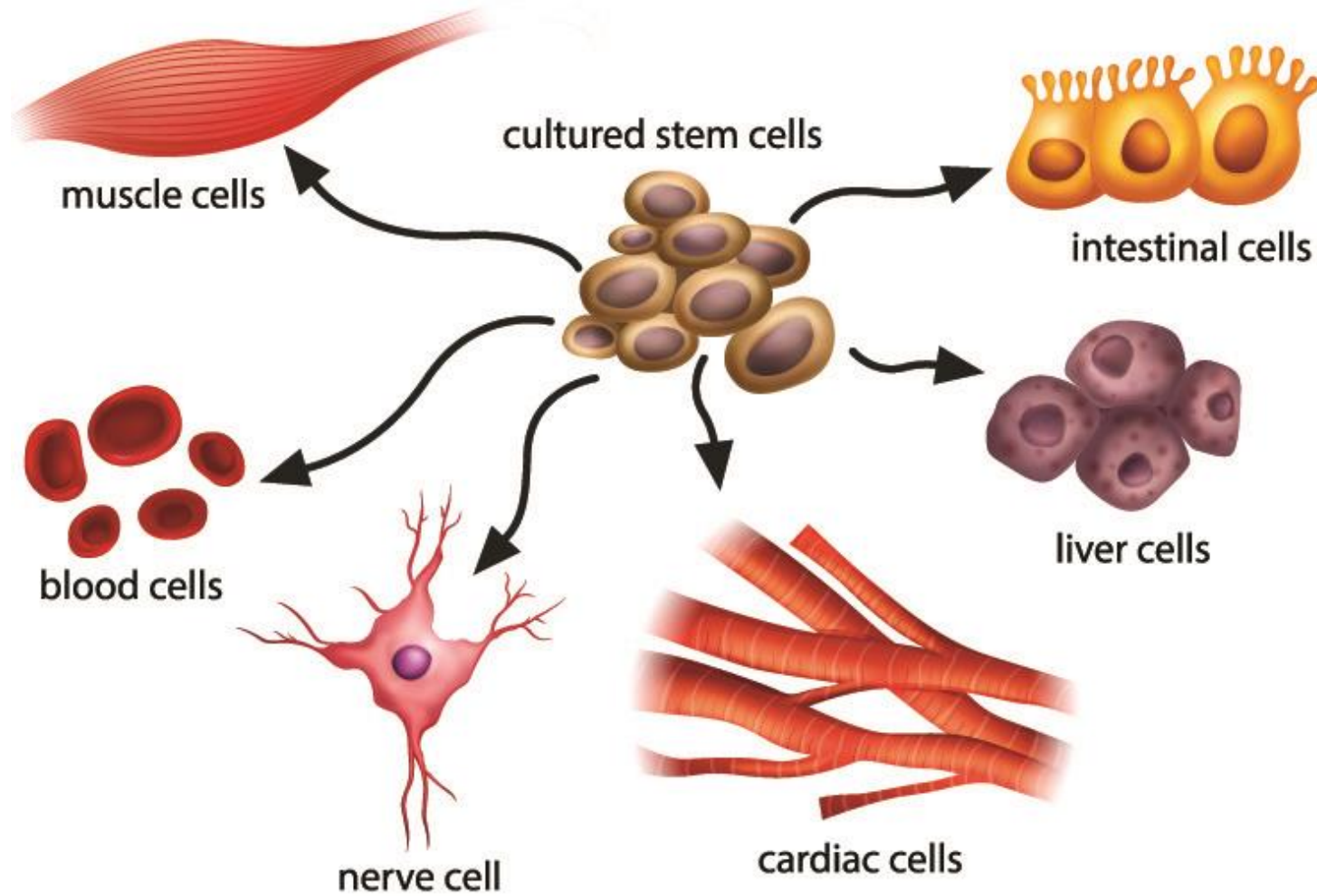
Dall'introduzione delle tecniche di coltura cellulare, le cellule sono state coltivate in due dimensioni.

Le cellule nell'ambiente fisiologico hanno un'interazione costante con la matrice extracellulare, regolando funzioni biologiche complesse come la migrazione cellulare, l'apoptosi, la regolazione trascrizionale e l'espressione del recettore.

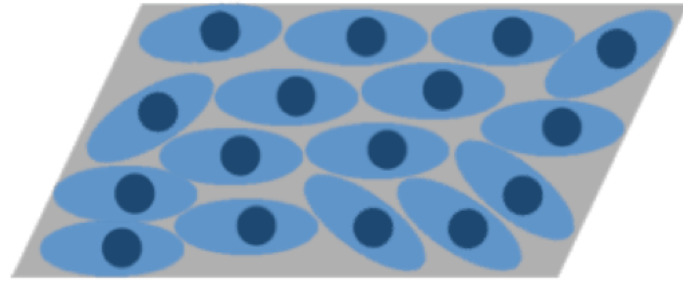
I dati sperimentali in-vitro non possono essere tradotti in studi clinici completamente quando le cellule vengono coltivate in condizioni 2D poiché non è possibile riprodurre complessi segnali cellulari tra le cellule e la sua matrice.

Le colture cellulari tridimensionali rappresentano un modello migliore che simula meglio le condizioni fisiologiche in vivo.

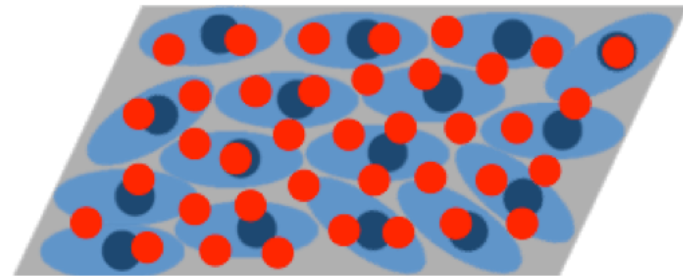
Human Stem Cell Applications



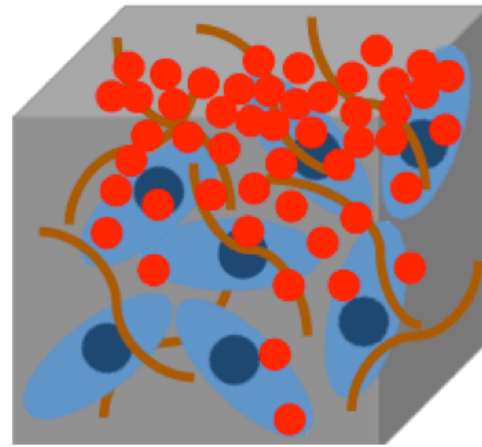
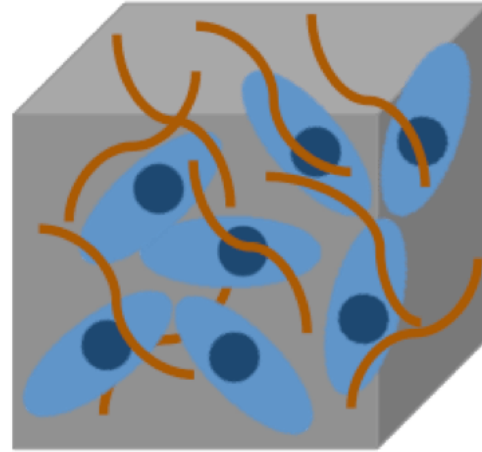
2D cell culture model

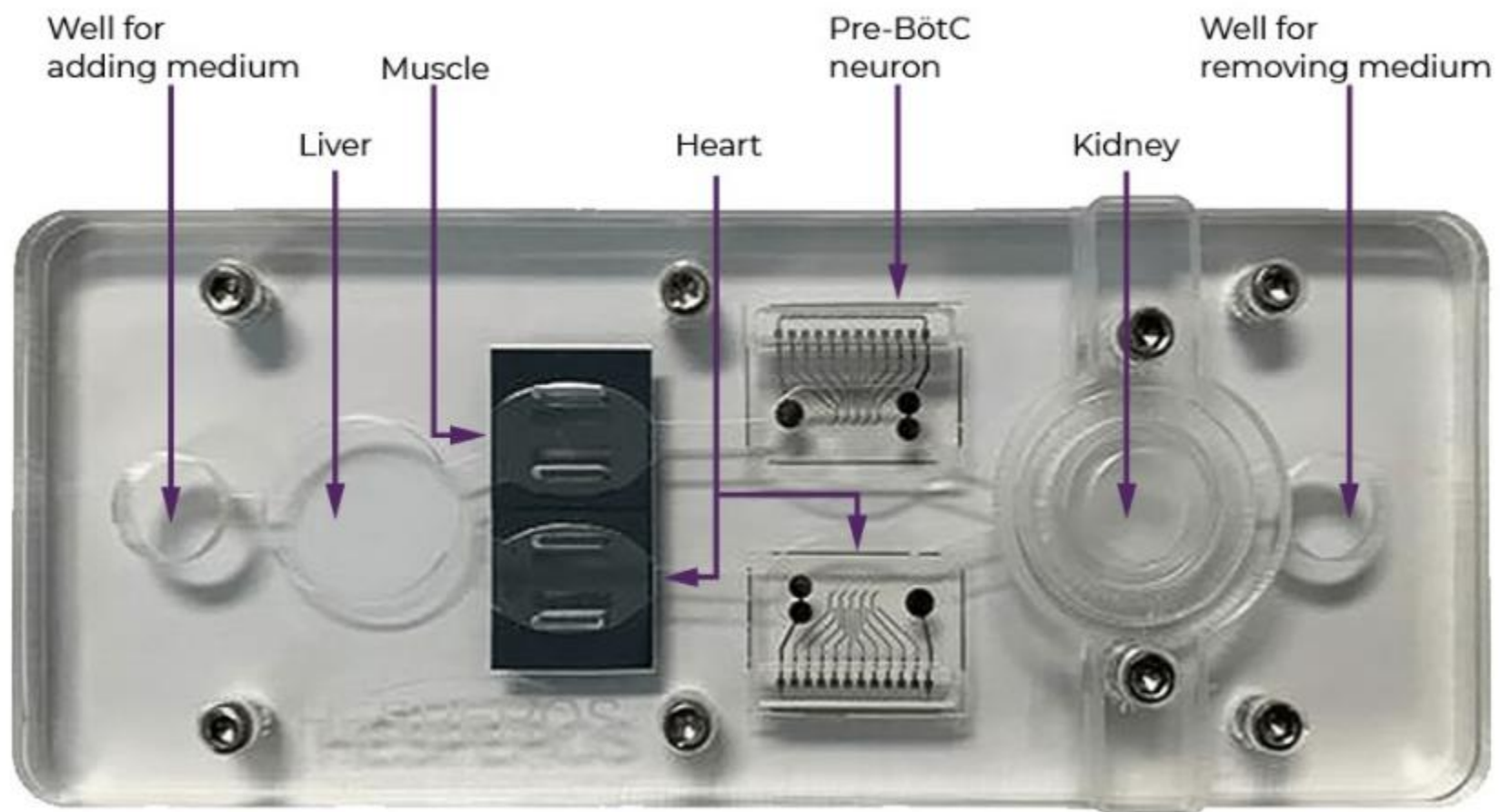


Add therapeutic agents
for analysis

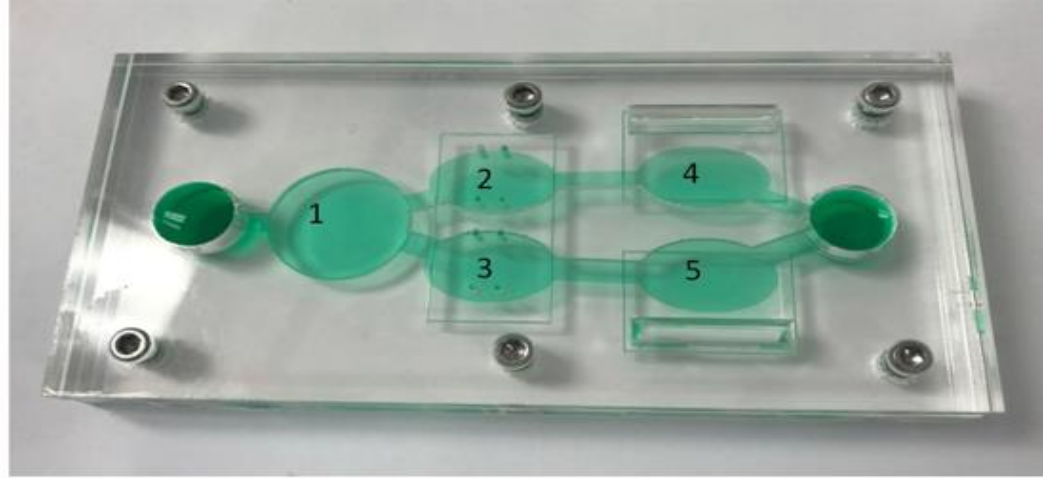


3D cell culture model

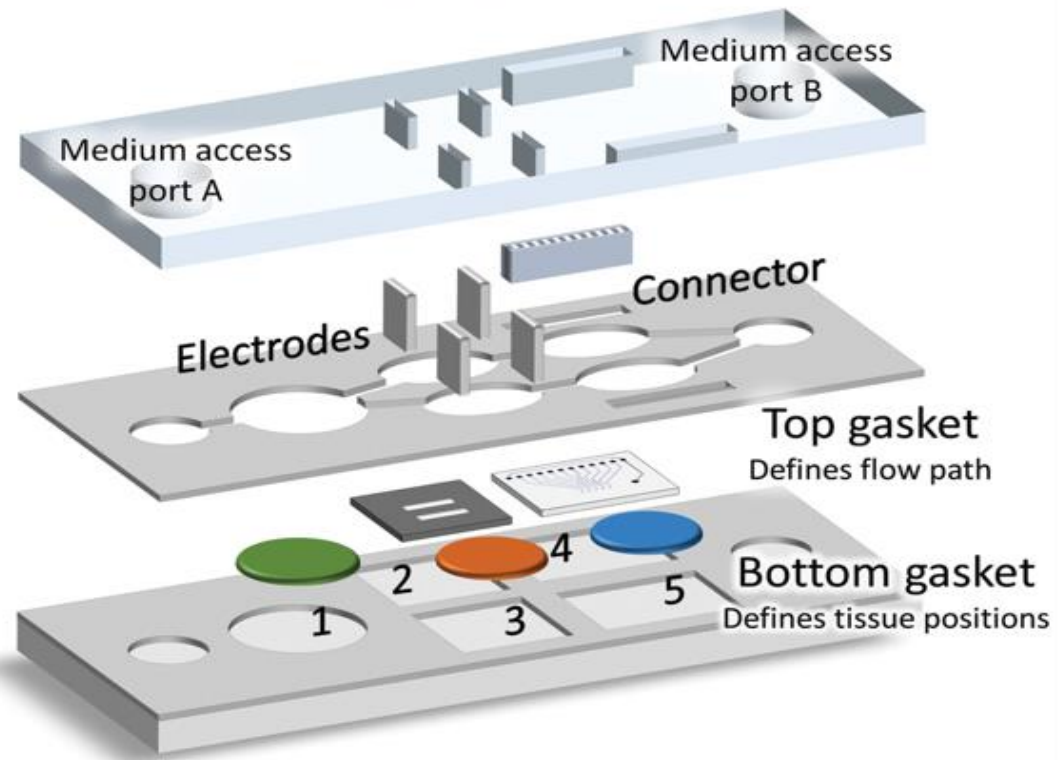




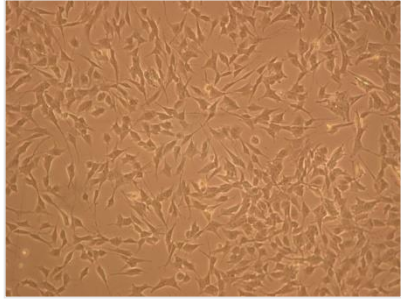
A



B



da *Studi in vitro*...

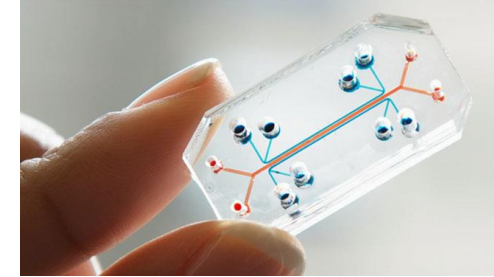
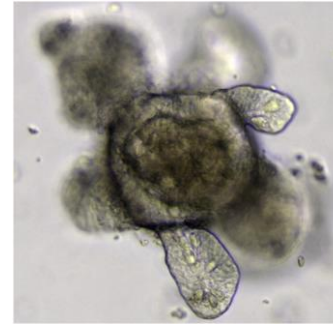
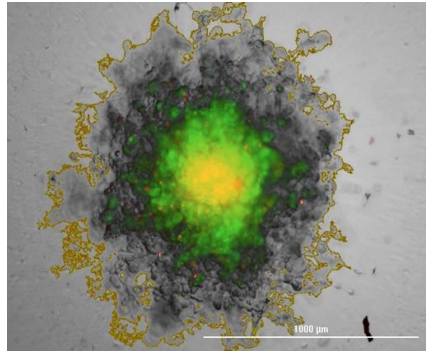


2D

..a *Metodi **alternativi** alla sperimentazione nell'animale*

- ✓ modelli "in silico", biocomputazionali
- ✓ Organs on a chip
- ✓ organoidi

✓ 3D



✓ *Drosophila*



✓ *C. elegans*



..ma non il Roditore !



..ma allora perché?

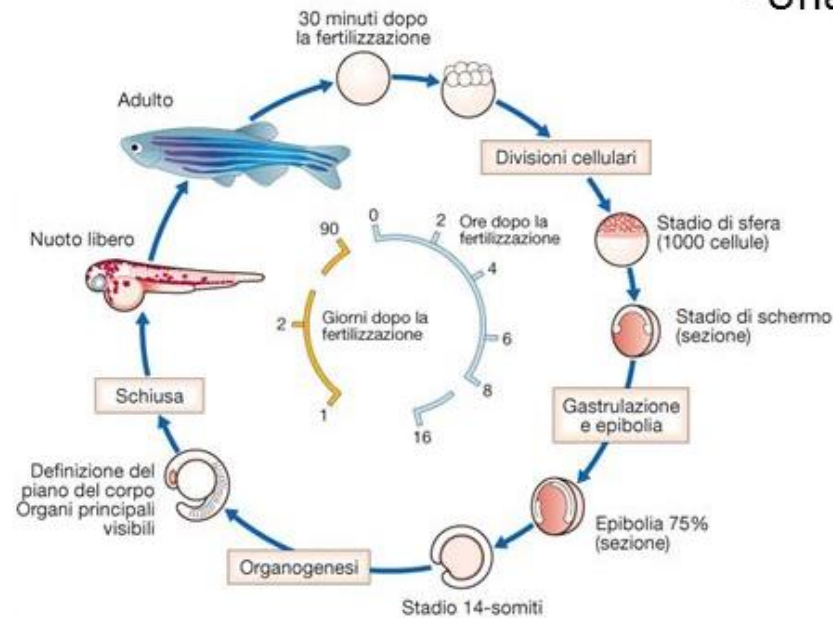
Sono **complementari** ma, fino ad ora, non esaustivi!

Zebrafish



Adulto = lunghezza 3 cm

- Acque tropicali India e Sud-Est Asia
- Fecondazione esterna, uovo ed embrione trasparenti
- Sviluppo molto rapido: dopo 24 h dalla fertilizzazione tutti gli organi sono formati
- Dopo 3 gg dalla fertilizzazione esce dall'uovo
- Dopo 3-4 mesi raggiunge maturità sessuale
- Una femmina produce fino a 200 uova/settimana

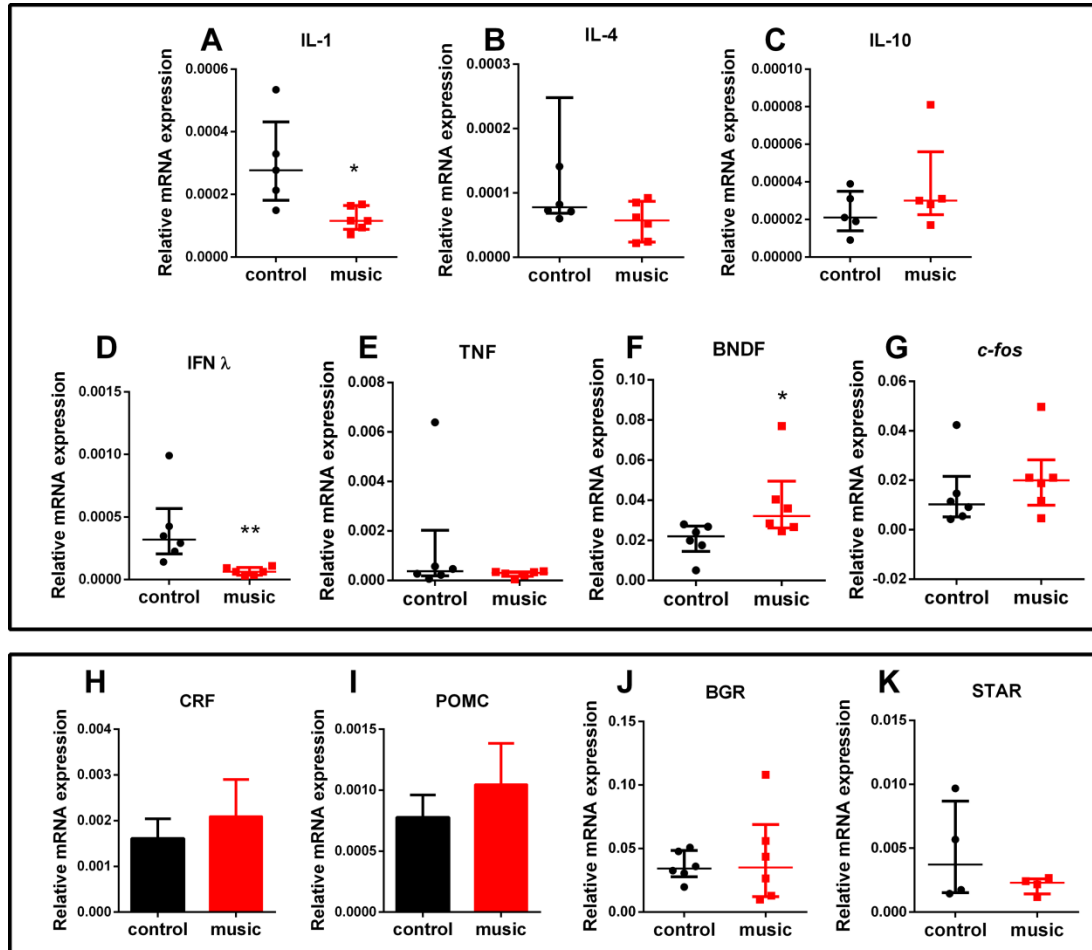


Uova fecondate a diversi stadi dello sviluppo



The effects of auditory enrichment on zebrafish behavior and physiology

Heloisa H. A. Barcellos^{1,2,*}, Gessi Koakoski^{3,*}, Fabiele Chaulet^{4,*},
Karina S. Kirsten^{3,*}, Luiz C. Kreutz^{2,3,*}, Allan V. Kalueff^{5,6,7,8,9,10,11,12,13,*}
and Leonardo J. G. Barcellos^{1,2,3,4,6}

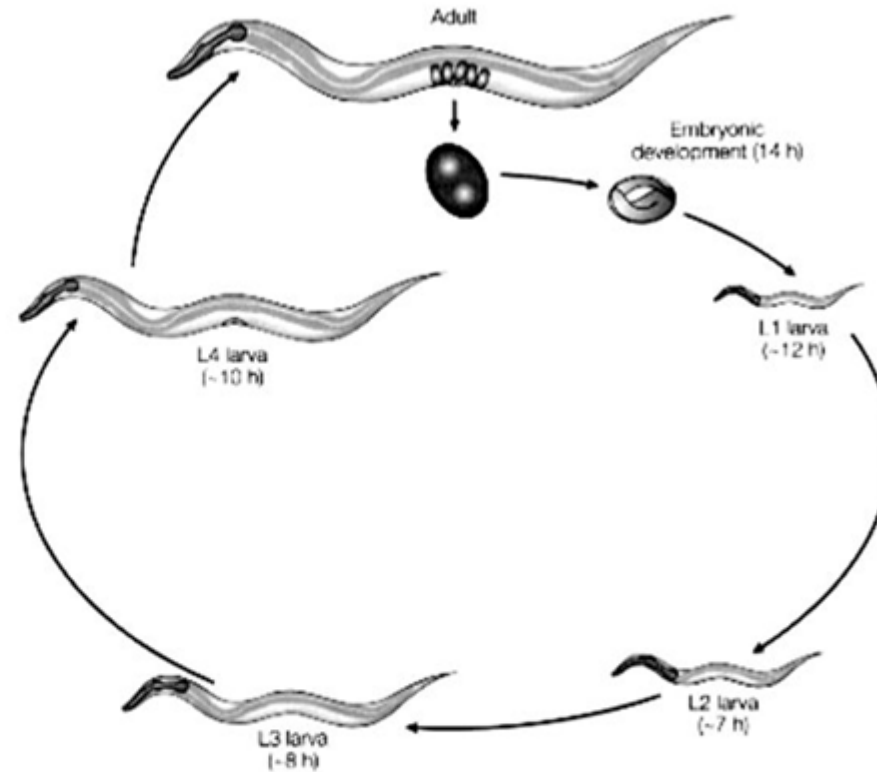


<https://www.jove.com/v/20178/novel-tank-diving-assay-method-to-study-innate-stress-responses>

Nematode *Caenorhabditis Elegans* (C. Elegans)



Sydney Brenner, born 1927,
La Jolla, CA, USA.

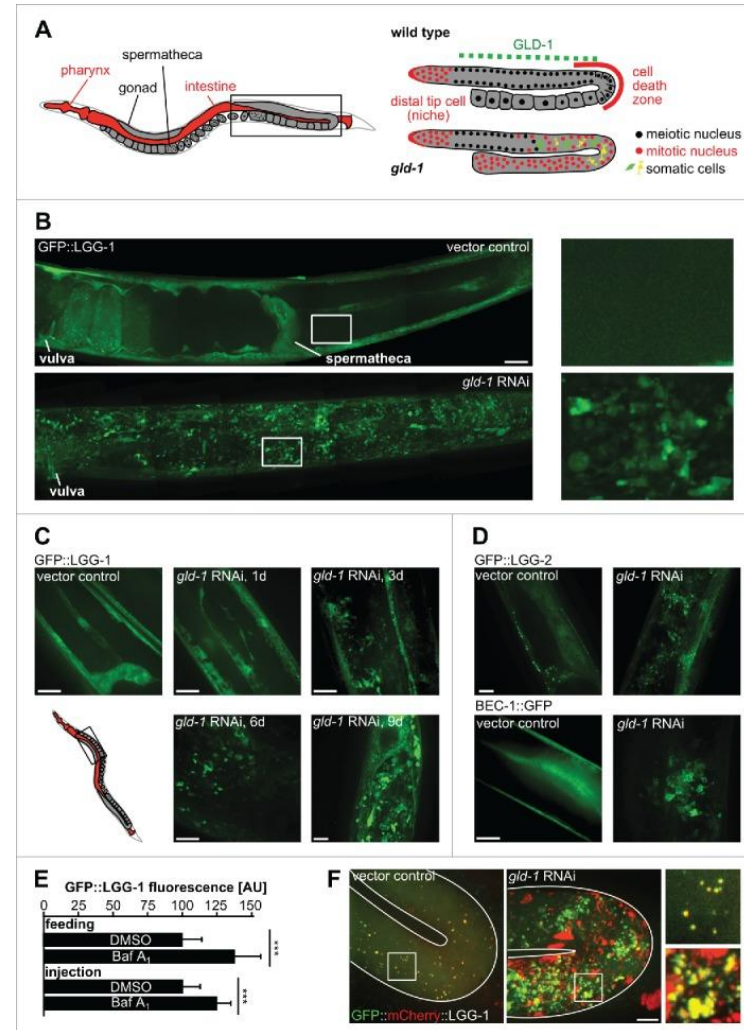


Introduzione di *Caenorhabditis elegans* come sistema modello, anni '60

- Trasparente, ciclo vitale breve
- Generazione di modelli genetici
- Primo genoma completamente sequenziato tra gli organismi pluricellulari

Autophagy and modular restructuring of metabolism control germline tumor differentiation and proliferation in *C. elegans*

Ligia C. Gomes^{a,b,#}, Devang Odedra^{a,b}, Ivan Dikic^{a,b,c}, and Christian Pohl^{a,b}



 **HHS Public Access**
Author manuscript
Neurochem Int. Author manuscript; available in PMC 2017 September 01.

Published in final edited form as:
Neurochem Int. 2016 September ; 98: 122–128. doi:10.1016/j.neuint.2016.01.008.

Acute Blockade of the *C. elegans* Dopamine Transporter DAT-1 by the Mammalian Norepinephrine Transporter Inhibitor Nisoxetine Reveals the Influence of Genetic Modifications of Dopamine Signaling *In Vivo*

Daniel P. Bermingham¹, J. Andrew Hardaway¹, Chelsea L. Snarrenberg¹, Sarah B. Robinson¹, Oakleigh M. Folkes¹, Greg J. Salimando¹, Hussain Jinnah¹, and Randy D. Blakely^{1,2}

Quando non si può fare *replacement*,
allora *reduction* e *refinement* sono fondamentali

Animals Research Guidelines

ARRIVE
**(Animal Research:
Reporting of In
Vivo Experiments)**

PREPARE
**(Planning Research
and Experimental Procedures
on Animals:
Recommendations for
Excellence)**

ARRIVE

**The ARRIVE guidelines ,
originally published in PLOS
Biology, were developed in
consultation with the
scientific
community as part of an
NC3Rs
initiative to improve the
standard of reporting of
research using animals.**

**[https://www.nc3rs.org.uk/
arrive-guidelines](https://www.nc3rs.org.uk/arrive-guidelines)**

PREPARE

**Norecopa is a member
of ecopa (European Consensus-
Platform for Alternatives).**

**Norecopa has produced the
PREPARE guidelines for planning
animal research and testing
and supports
National Consensus Platforms for
the 3Rs.**

**[https://norecopa.no/about-
norecopa](https://norecopa.no/about-norecopa)**

Reduction

“reduction in the number of animals used to obtain information of a given amount and precision”

- Definire un disegno sperimentale robusto
- Utilizzare analisi statistiche appropriate
- Utilizzare tecnologie che riducano i numeri
 - Controllare i fattori ambientali
- Standardizzare la popolazione animali

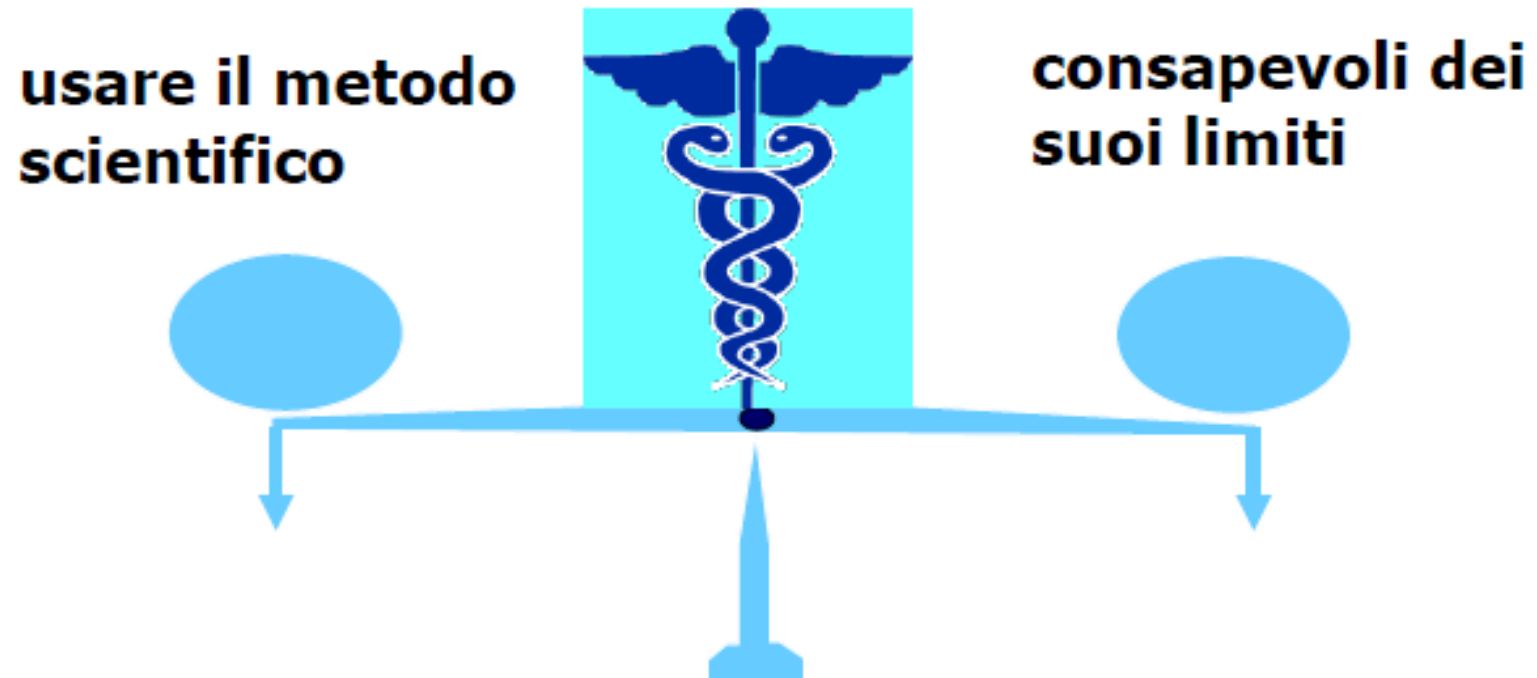
Refinement

"simply to reduce to an absolute minimum the amount of stress imposed on those animals that are still used"

“Any approach which avoids, alleviates or minimises the actual or potential pain, distress and other adverse effects suffered at any time during the life of the animals involved, or which enhances their well-being as far as possible.”

Buchanan-Smith et al., 2005

La Ricerca Oggi

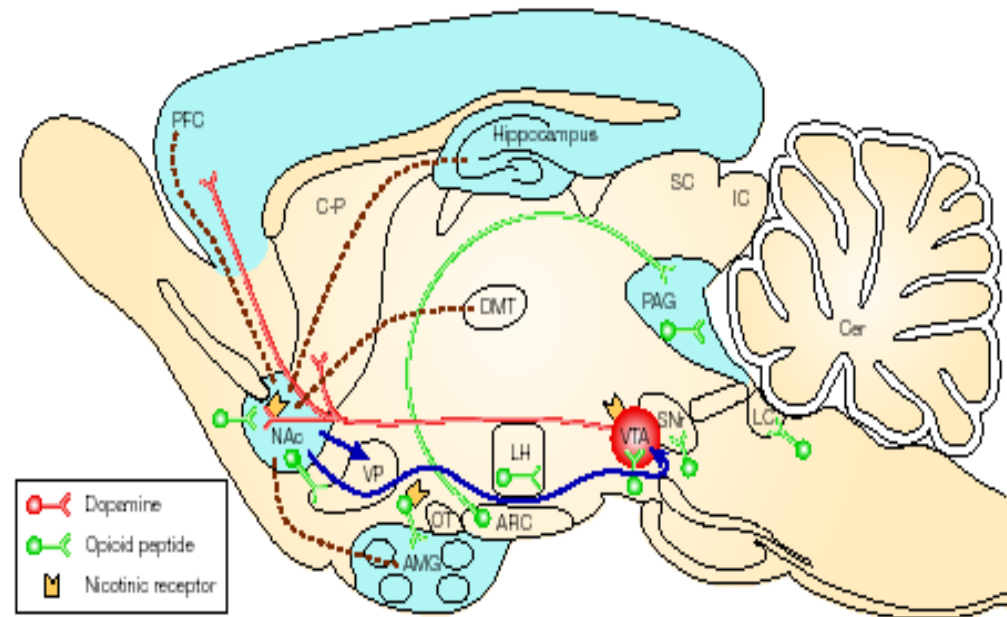
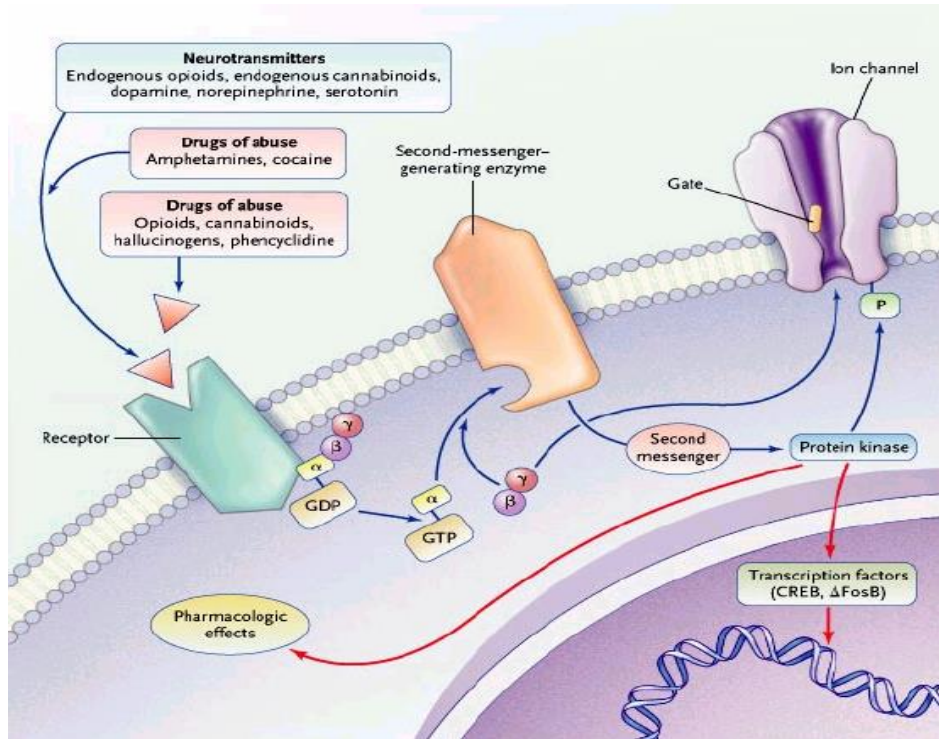




Droghe d'abuso e dipendenze patologiche: una problematica sociale ad alto impatto



ABUSO....RICOMPENSA....RINFORZANTI NATURALI....COMPORTAMENTO!

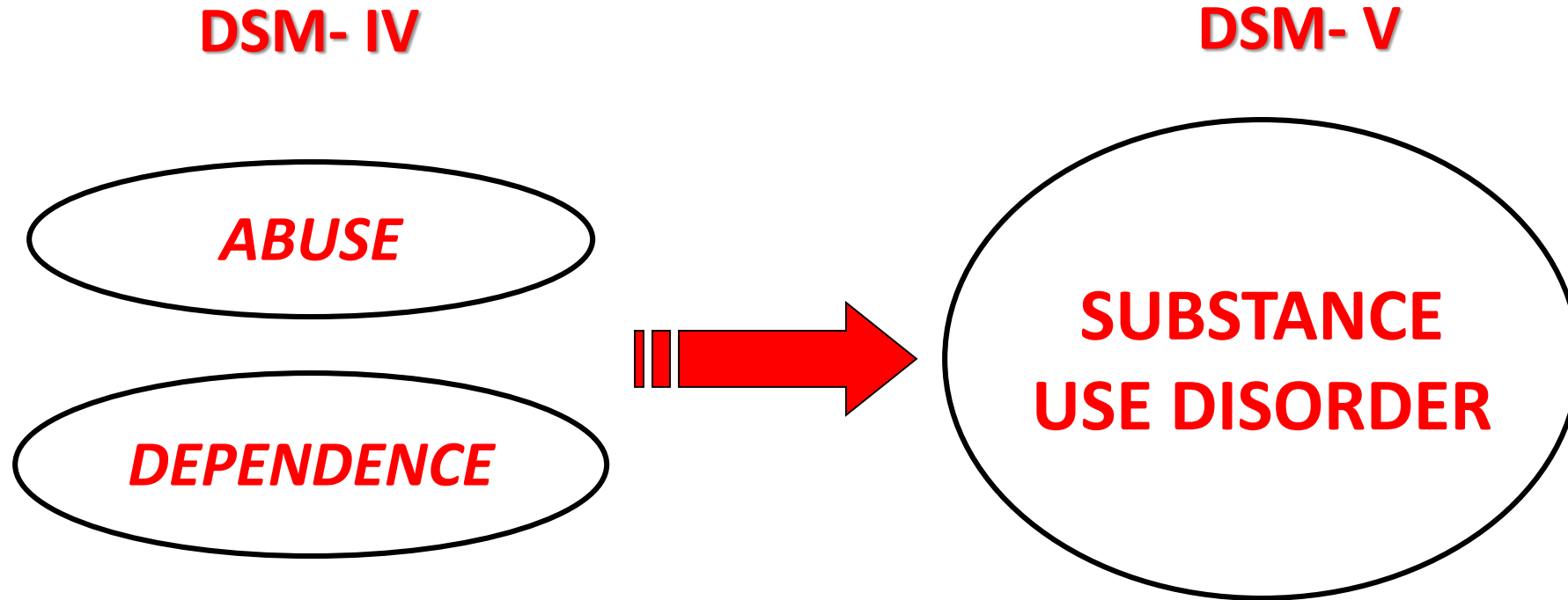


da: Nestler EJ, Nature Rev. Neurosci., 2, 119-128, 2001

Gioco d'azzardo patologico



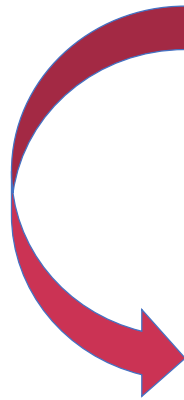
Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-V)



...while the term **ADDICTION** is currently not recognized as a diagnostic term in the classification of DSM-V.

«Qualunque metodo alternativo, che sia in vitro o in silico, cioè usi colture di cellule o tessuti oppure sfrutti modelli informatici, serve solo per verificare in un caso specifico qualcosa che in generale è già noto –: è evidente che se invece andiamo a cercare qualcosa che ancora non conosciamo nell'organismo o nella cellula, non lo possiamo riprodurre artificialmente a priori. Il cervello, poi, è ancora un territorio largamente inesplorato. Per questo è inevitabile la fase di lavoro sugli animali».

Gaetano Di Chiara Neurofarmacologo Università di Cagliari



L'abuso di sostanze dipenda soprattutto da fattori di natura psicologica, culturale e sociale estranei al cervello di un animale e che pertanto debba essere superato nella ricerca il paradigma puramente biologico. Inoltre, sostiene la Lav, il gran numero di persone che abusano di droghe, fumo e alcol e che vengono prese in cura dal sistema sanitario è così elevato da portare all'attenzione della ricerca una ampia casistica già riguardante l'essere umano.

Lav- Lega anti vivisezione





Basics: Conditioned Place Preference



Realization
Time: 1 minute
 The mouse is allowed to explore the apparatus. This is done to reduce the effects of novelty and/or of learning. Both the control and conditioning groups experience this step.

Conditioning
Time: 10-15 minutes
Number of trials: 10-15
 The unconditioned stimulus is repeatedly presented in a single compartment.

Control
Time: 10-15 minutes
Number of trials: 10-15
 The mouse is presented with a control stimulus (usually a pellet) and no US is provided.

Before Conditioning


Time: 1 minute
Number of trials: 10-15
 Unconditioned stimulus (US) is presented in the right compartment.

During Conditioning

Time: 10-15 minutes
Number of trials: 10-15
 The unconditioned stimulus (US) is presented in the right compartment while the conditioned stimulus (CS) is presented in the left compartment.

After Conditioning

Time: 1 minute
Number of trials: 10-15
 The mouse is allowed to explore the apparatus. This is done to reduce the effects of novelty and/or of learning. Both the control and conditioning groups experience this step.

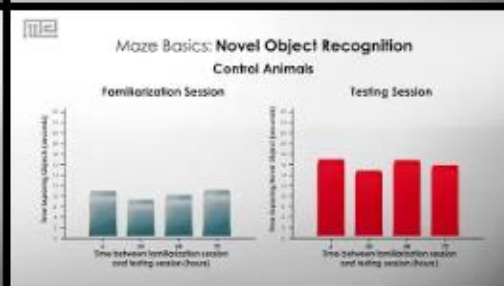
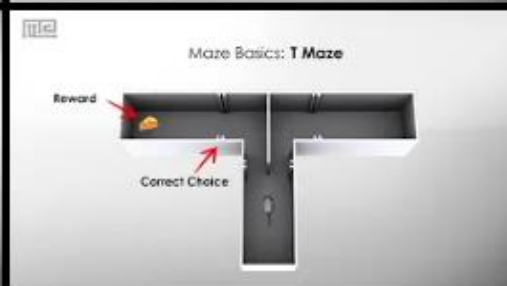
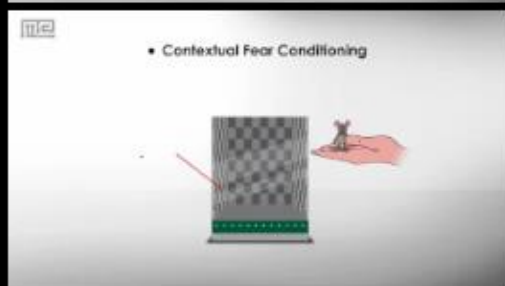
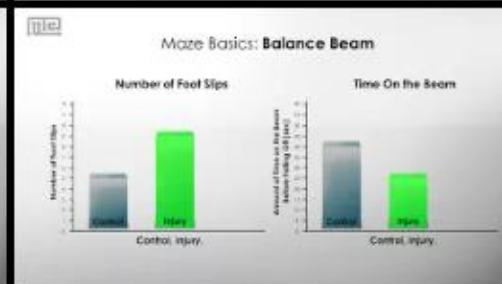
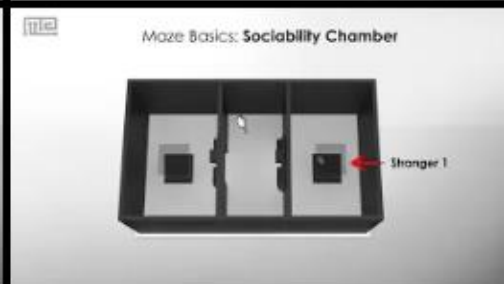
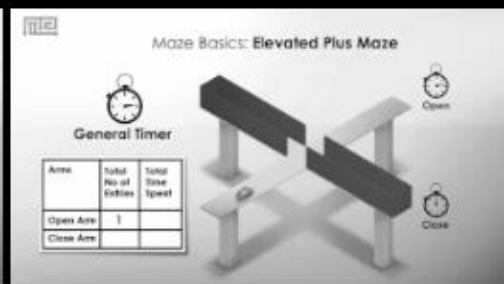
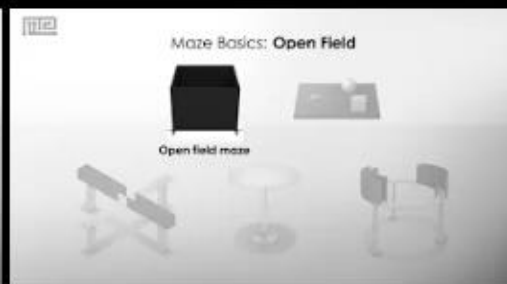
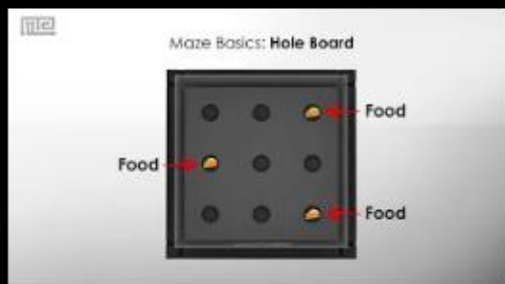
 **Altre immagini**

Conditioned Place Preference

YouTube · Maze Engineers · 4 ott 2017

Conditioned Place Preference

Guarda più... Condividi



Da ultimo, è disponibile una tabella in cui vengono riportati i medicinali contenenti sostanze attive ad attività farmacologica.

Queste ultime si suddividono in quattro gruppi indicati con le lettere alfabetiche (A, B, C, D) e comprendono:

- A. Medicinali a base di morfina e sostanze analgesiche oppiacee
- B. Medicinali di origine vegetale a base di Cannabis
- C. Barbiturici
- D. Benzodiazepine (diazepam, flunitrazepam, lorazepam)



Ogni nuovo composto chimico/sostanza farmacologicamente attiva che attraversa la barriera emato-encefalica, indipendentemente dal fatto che il sistema nervoso centrale (SNC) possa costituire la sede dell'azione terapeutica, deve essere sottoposto ad una serie di accertamenti consistenti in differenti passaggi.

Questi rappresentano le basi da cui partire per ottenere delle sostanze idonee ad essere impiegate come farmaci; nello specifico, si possono definire tre fasi di valutazione:

1. fase preliminare di screening che comprende test *in vitro*
2. indagini precliniche da svolgersi in modelli animali
3. trials clinici da condursi in pazienti umani successivamente all'ottenimento di solide evidenze sperimentali in modelli animali.

Entrambe le indagini *in vivo* hanno il fine di accertare la potenziale induzione d'abuso, tolleranza e/o dipendenza fisica della sostanza/farmaco in oggetto.

ma cosa viene definito: **sostanza d'abuso?**

come un'ampia gamma di prodotti/sostanze/farmaci che, in linea generale, agiscono sul SNC, risultano provviste di caratteristiche farmacologiche sovrapponibili a quelle possedute da altre sostanze note essere causa di potenziale dipendenza (abuse potential), e possono essere associate a vari effetti sulla psiche (sedazione, euforia, cambiamento dell'umore).

Nel contesto europeo, l'Agenzia Europea dei Medicinali – EMA, coinvolta nella valutazione dei medicinali, propone la seguente definizione: *le sostanze d'abuso come quelle sostanze in grado di indurre una sindrome da dipendenza le cui caratteristiche rientrano nella "International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems", revisione 10 (ICD-10)*. La sopracitata sindrome si contraddistingue per una serie *di atteggiamenti comportamentali, cognitivi e fisiologici conseguenti all'uso/assunzione ripetuta di sostanze/farmaci, di cui il soggetto non può evitare l'impiego (desiderio incontrollato o applicazione terapeutica/farmacologica) nonostante gli effetti dannosi e gravi derivanti dalla sua assunzione.*



HHS Public Access

Author manuscript

Addict Biol. Author manuscript; available in PMC 2022 July 04.

Published in final edited form as:

Addict Biol. 2021 November ; 26(6): e12991. doi:10.1111/adb.12991.

Public perception of laboratory animal testing: Historical, philosophical, and ethical view

Francesca Petetta,

Roberto Ciccocioppo

School of Pharmacy, Pharmacology Unit, University of Camerino, Camerino, Italy

Abstract The use of laboratory animals in biomedical research is a matter of intense public debate. Recent statistics indicates that about half of the western population, sensitive to this discussion, would be in favor of animal testing while the other half would oppose it. Here, outlining scientific, historical, ethical, and philosophical aspects, we provide an integrated view explaining the reasons **why biomedical research can hardly abandon laboratory animal testing**. In this paper, we retrace the historical moments that mark the relationship between humans and other animal species. Then starting from Darwin's position on animal experimentation, we outline the steps that over time allowed the introduction of laws and rules that regulate animals' use in biomedical research. In our analysis, we present the perspectives of various authors, with the aim of delineating a theoretical framework within which to insert the ethical debate on laboratory animals research. Through the analysis of fundamental philosophical concepts and some practical examples, we propose a view according to which **laboratory animals experimentation become ethically acceptable as far as it is guided by the goal of improving humans and other animal species (i.e., pets) life**. Among the elements analyzed, there is the concept of responsibility that only active moral subjects (humans) have towards themselves and towards passive moral subjects (other animal species). **We delineate the principle of cruelty that is useful to understand why research in laboratory animals should not be assimilated to a cruel act**. Moreover, we touch upon the concepts of necessity and "good cause" to underline that, **if biomedical research would have the possibility to avoid using animals, it would surely do that**. To provide an example of the negative consequences occurring from not allowing laboratory animal research, we analyze the recent experience of Covid-19 epidemic. Finally, recalling the principle of "heuristics and biases" by Kahneman, we discuss why scientists should reconsider the way they are conveying information about their research to the general public.

WEB MEETING

2021

Programma

Lunedì 26 luglio ore 10.00 – 11.30

*Confronto sulla ricerca biomedica
tra esponenti parlamentari e
delegati di Research4Life*

Ore 10.00 – Introduzione a cura di CZ&Co. e presentazione di Research4Life a cura del Portavoce, **Giuliano Grignaschi**

Ore 10.10 – *Il percorso di sviluppo e approvazione di un farmaco*

- **Patrizia Romualdi**, Società Italiana di Farmacologia
- *Q&A*

Ore 10.25 – *La ricerca sugli xenotrapianti d'organo*

- **Silvio Garattini**, IRCCS Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri
- *Q&A*

Ore 10.40 – *Il modello animale nella ricerca di base delle neuroscienze*

- **Gianvito Martino**, Università Vita Salute San Raffaele e IRCCS Ospedale San Raffaele
- *Q&A*

Ore 10.55 – *La sperimentazione animale in ambito oncologico*

- **Giulia Piaggio**, Alleanza Contro il Cancro
- **Niccolò Contucci**, Fondazione AIRC per la ricerca sul cancro
- *Q&A*

Ore 11:15 – Dibattito finale e conclusioni

Link Webex per partecipare

<https://bit.ly/3xJca56>

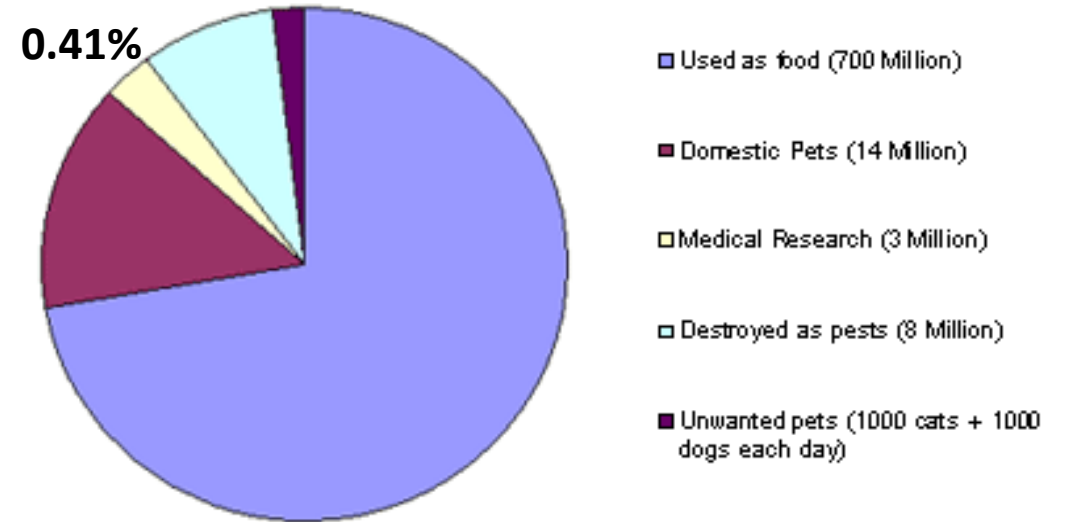
Codice Etico della Ricerca e Regola delle 3R



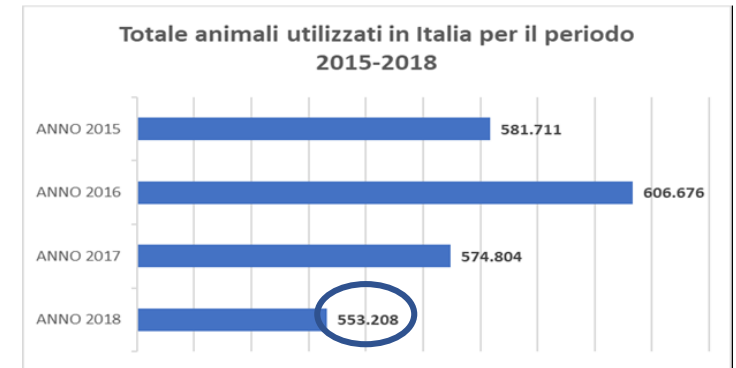
[DIRETTIVA 2010/63/UE](#) del Parlamento europeo e del Consiglio del 22 settembre 2010 sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici (ha abrogato la [DIRETTIVA 86/609/CEE](#)).

il [decreto legislativo n. 26 del 2014](#) di attuazione della direttiva [2010/63/UE](#) sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici

In che modo l'uomo "usa" gli animali?



89% roditori





GAZZETTA UFFICIALE

DELLA REPUBBLICA ITALIANA

PARTE PRIMA Roma - Venerdì, 14 marzo 2014

SI PUBBLICA TUTTI I
GIORNI NON FESTIVIDIREZIONE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DELLA GIUSTIZIA - UFFICIO PUBBLICAZIONE LEGGI E DECRETI - VIA ARENULA, 70 - 00100 ROMA
AMMINISTRAZIONE PRESSO L'ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO - VIA SALARIA, 1027 - 00100 ROMA - CENTRALINO 06-49081 - LIBRERIA DELLO STATO
PIAZZA IL VENERDI, 1 - 00187 ROMA

La Gazzetta Ufficiale, Parte Prima, oltre alla Serie Generale, pubblica cinque Serie speciali, ciascuna contraddistinta da autonoma numerazione:

1° Serie speciale: Corte costituzionale (pubblicata il mercoledì)

2° Serie speciale: Comunità europee (pubblicata il lunedì o il giovedì)

3° Serie speciale: Regioni (pubblicata il sabato)

4° Serie speciale: Concorsi ed esami (pubblicata il martedì e il venerdì)

5° Serie speciale: Concorsi pubblici (pubblicata il lunedì, il mercoledì e il venerdì)

La Gazzetta Ufficiale, Parte Seconda, "Foglio delle inserzioni", è pubblicata il martedì, il giovedì e il sabato

DECRETO LEGISLATIVO 4 marzo 2014, n. 26.

Attuazione della direttiva 2010/63/UE sulla
protezione degli animali utilizzati a fini scientifici.
(14G00036)..... Pag. 2

Articolo 5:

2. Non possono essere autorizzate le procedure:

a) per la produzione e il controllo di materiale bellico;

b) per i test tossicologici con i protocolli della Lethal Dose - LD50 e della Lethal Concentration - LC50, tranne i casi in cui risulti obbligatorio da legislazioni o farmaco-
pee nazionali o internazionali;

c) per la produzione di anticorpi monoclonali tramite l'induzione dell'ascite, qualora esistano corrispondenti altri metodi di produzione e non risulti obbligatorio da legislazioni o farmaco-
pee nazionali o internazionali;

d) per le ricerche sugli xenotrapianti di cui all'articolo 3, comma 1, lettera q);

e) per le ricerche sulle sostanze d'abuso;

f) nel corso delle esercitazioni didattiche svolte nelle scuole primarie, secondarie e nei corsi universitari, ad eccezione della formazione universitaria in medicina veterinaria nonché dell'alta formazione universitaria dei medici e dei medici veterinari.

L'OMS ha da tempo affermato che le tossicodipendenze sono vere e proprie **malattie del SNC**, e per meccanismi neuronali comuni includono il **gioco d'azzardo** che per l'Italia rappresenta un gravissimo problema sociale.

Sono invece considerate lecite **alcol e nicotina**, di cui l'Italia ha il monopolio con, secondo l'ISTAT, 700.000 morti/anno per fumo e 40.000/anno per alcol, 9 milioni a rischio di dipendenza, **con costi sociali altissimi**.

- La ricerca scientifica sui farmaci rappresenta un obbligo di Legge
- E' necessario mantenere una parte di sperimentazione **preclinica in vivo**, poiché i farmaci agiscono in modo dinamico in un organismo vivente producendo i loro effetti.
- I **vaccini** nell'era CoVID19 ne sono un chiaro esempio, ottenuti grazie alla complementarietà dei metodi *in vitro* ed *in vivo* (utilizzando almeno 3 specie diverse, tra cui roditori e macachi).
- La ricerca sugli effetti delle sostanze d'abuso è **necessaria** come per tutte le molecole che agiscono a livello del SNC che devono essere valutate anche per il loro potenziale di abuso, indipendentemente dalle indicazioni terapeutiche.

**Per tutto ciò, le limitazioni della legge alla sperimentazione preclinica sono incomprensibili, vanno contro la salute dell'uomo e non da ultimo mettono in ginocchio l'azienda Italia per la ricerca scientifica, obbligando i nostri giovani ad emigrare, poiché gli altri Paesi del mondo continueranno a farla!
Si chiede pertanto di applicare la Legge EU anche in Italia.**

La legge italiana 26/2014 **che non è stata calata da quella europea**, all'art 5 lettera e) vieta la ricerca sulle sostanze d'abuso.

L'OMS ha da tempo stabilito che le tossicodipendenze sono vere e proprie malattie del SNC, e ad esempio per meccanismi neuronali comuni includono ludopatie, gioco d'azzardo che per l'Italia rappresentano un gravissimo problema sociale.

Peccato che tra le sostanze d'abuso in Italia siano invece considerate lecite alcol e nicotina, di cui lo Stato ha il monopolio, con, secondo l'ISTAT, 700.000 morti /anno per fumo e 40.000/anno per alcol, 9 milioni a rischio di dipendenza, **e con costi sociali altissimi.**

- ✓ La ricerca scientifica sui farmaci rappresenta un obbligo di Legge
- ✓ E' necessario mantenere una parte di sperimentazione preclinica in vivo, poiché i farmaci agiscono in modo dinamico in un organismo vivente producendo i loro effetti.
- ✓ **I vaccini nell'era CoVID19 ne sono un chiaro esempio**, ottenuti grazie alla complementarietà dei metodi in vitro ed in vivo (utilizzando almeno 3 specie diverse, tra cui roditori e primati non umani).
- ✓ La ricerca sugli effetti delle sostanze d'abuso è necessaria come per tutte le molecole che agiscono a livello del SNC che devono essere valutati anche per il loro potenziale di abuso, indipendentemente dalle indicazioni terapeutiche.