



PRESIDENZA DEL CONSIGLIO DEI MINISTRI  
**Dipartimento Politiche Antidroga**

**Progetto**

# ADOCANNABIS

Abuso di cannabis in adolescenza come fattore di rischio per le malattie  
psichiatriche: modelli sperimentali

**Ente affidatario (Centro Collaborativo DPA)**



Università dell'Insubria  
Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale e Centro di Neuroscienze

**In collaborazione con**

Istituto di Chimica Biomolecolare  
Consiglio Nazionale delle Ricerche



Istituto Italiano di Tecnologie  
Dipartimento di Neuroscienze,

Il Capo Dipartimento Politiche Antidroga:

Importo finanziato  
**€ 150.000,00**  
Durata finanziata  
**2 anni**

Il Responsabile dell'Ente Affidatario:



## **Indice**

- 1 Titolo del progetto
- 2 Riassunto – Sintesi
- 3 Referenti amministrativi
- 4 Problem analysis and setting
  - 4.1 Problema che si vuole risolvere
  - 4.2 Dimensionamento e rilevanza del problema
- 5 Obiettivo generale dell'intervento proposto e risultati attesi
- 6 Valore aggiunto atteso dell'intervento proposto
- 7 Premesse tecnico scientifiche (Il Razionale) dell'intervento proposto
- 8 Target (Destinatari)
- 9 Territorio ed ambienti di intervento
- 10 Sotto obiettivi specifici
  - 10.1 Sotto obiettivi e indicatori
  - 10.2 Sotto obiettivi, Work Package e Metodi
- 11 Risk management e Risk Assessment
- 12 Organigramma generale del progetto
- 13 Governance – Assegnazione dei compiti principali
- 14 Scheduling
  - 14.1 Articolazione in fasi temporali e attività
  - 14.2 Gantt Preventivo
- 15 Agenda Reporting
- 16 Risorse e Piano Finanziario
  - 16.1 Quote di finanziamento previsto
- 17 Accreditamenti Ente Affidatario

Allegato 1: Report di Rendicontazione Finanziaria

Allegato 2: Report di Rendicontazione Tecnico-Scientifica

*Handwritten signatures: A and AP*



## Titolo Progetto

<b>Acronimo o sigla</b>	ADOCANNABIS
<b>Titolo per esteso</b>	Abuso di cannabis in adolescenza come fattore di rischio per le malattie psichiatriche: modelli sperimentali
<b>Ente committente</b>	Presidenza del Consiglio dei Ministri Dipartimento per le Politiche Antidroga  Direzione Tecnico-Scientifica: Presidenza del Consiglio dei Ministri Dipartimento Politiche Antidroga
<b>Gruppo di coordinamento tecnico-scientifico</b>	Università dell'Insubria Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale Centro di Neuroscienze
<b>Ente affidatario</b>	Università dell'Insubria Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale Centro di Neuroscienze
<b>Responsabile per l'Ente Affidatario</b>	Prof. Renzo Dionigi per delega Prof.ssa Daniela Parolaro
<b>Responsabile Operativo del progetto per l'Ente Affidatario</b>	Prof.ssa Daniela Parolaro
<b>Collaborazioni previste</b>	Prof. Di Marzo Istituto di Chimica Biomolecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche,  Dr.ssa Raffaella Tonini Istituto Italiano di Tecnologia, Dipartimento di Neuroscienze Università dell'Insubria - Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale
<b>Gruppo di lavoro interdisciplinare previsto</b>	Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Chimica Biomolecolare  Istituto Italiano di Tecnologia, Dipartimento di Neuroscienze

*(Handwritten signatures)*



## Riassunto - sintesi

### 2.1 Premesse

Nell'ultimo decennio abbiamo assistito ad un drammatico incremento dell'abuso di cannabis nella popolazione giovanile. Questo fatto associato al notevole aumento della concentrazione di principi attivi presenti nella marijuana e nell'hashish e all'intrinseca vulnerabilità del cervello adolescente, rende ancor più urgente una analisi approfondita dei rischi connessi con tale pratica, soprattutto in termini di conseguenze a lungo termine nell'età adulta. L'adolescenza rappresenta infatti un periodo estremamente critico per lo sviluppo del sistema nervoso centrale, durante il quale il cervello va incontro a sostanziali cambiamenti che ne perfezionano le capacità in termini di efficienza e specializzazione delle sue funzioni. Il corretto verificarsi di queste modificazioni fisiologiche consente, in età adulta, lo sviluppo di comportamenti che rendono l'individuo in grado di relazionarsi con gli altri e capace di affrontare cambiamenti e/o eventi più o meno stressanti a cui ognuno va incontro nel corso della propria vita. Se durante l'adolescenza queste modificazioni non si verificano correttamente, risulteranno compromesse le abilità del soggetto adulto a misurarsi con gli altri e con l'esterno, rendendolo maggiormente vulnerabile all'insorgenza di patologie psichiatriche.

L'utilizzo di sostanze psicoattive, che spesso inizia proprio durante l'adolescenza, interferisce con la normale attività cerebrale non solo provocando effetti acuti ma anche effetti a lungo termine che potrebbero compromettere in maniera duratura o addirittura permanente il corretto sviluppo del sistema nervoso centrale.

### 2.2 Obiettivo

L'obiettivo generale che ci proponiamo è quello di studiare gli effetti a lungo termine causati dall'esposizione ai cannabinoidi durante l'adolescenza a carico di meccanismi cellulari e molecolari implicati nella neuroplasticità, nonché la loro ricaduta funzionale in termini di vulnerabilità a patologie psichiatriche. Questo progetto costituisce la naturale continuazione di uno studio già in atto nel nostro gruppo che ha evidenziato che la somministrazione ripetuta di THC in ratti adolescenti produce durature alterazioni a carico dei circuiti emozionali che nell'animale adulto sostengono lo sviluppo di un fenotipo depressivo accompagnato da deficit cognitivi. Il progetto di ricerca qui proposto sarà focalizzato ad approfondire ed estendere queste indagini secondo i seguenti obiettivi

- 1) primo obiettivo sarà quello di verificare se l'esposizione al THC induca una vulnerabilità allo sviluppo di una patologia dissociativa quale la schizofrenia che è spesso associata a situazioni di stress e abuso di farmaci in adolescenza. D'altro canto deficit cognitivi e depressione sono caratteristiche spesso presenti anche nelle patologie schizofreniche
- 2) Il secondo obiettivo sarà quello di acquisire nuove conoscenze sui meccanismi molecolari alla base delle anomalie comportamentali indotte dall'esposizione di THC nell'adolescenza attraverso l'impiego di approcci multidisciplinari integrati;
- 3) Il terzo obiettivo di questo progetto sarà quello di indagare il profilo temporale della comparsa dei fenotipi comportamentali e dei cambiamenti molecolari e cellulari che probabilmente li sottendono. Tale studio potrebbe permettere lo sviluppo di strategie preventive e/o terapeutiche mirate

### 2.3 Metodo

Gli obiettivi del Progetto di Ricerca verranno realizzati attraverso un approccio multidisciplinare che può essere così suddiviso:

A. Analisi nell'animale adulto degli effetti comportamentali conseguenti all'esposizione adolescenziale al THC per evidenziare la presenza o meno di fenotipi simil schizofrenici

B. Identificazione nel sistema nervoso centrale di bersagli molecolari dell'effetto dell'esposizione adolescenziale ai cannabinoidi, le cui alterazioni possono essere associate agli effetti comportamentali osservati.

Animali di entrambi i sessi verranno trattati con THC durante il periodo adolescenziale (PND 35-45). Al raggiungimento dell'età adulta (PND 75) gli animali verranno sottoposti a specifici test comportamentali per valutare la presenza di fenotipi simil schizofrenici.

Per identificare e comprendere le basi molecolari delle alterazioni comportamentali eventualmente osservate, verrà utilizzato un ampio spettro di tecniche sia classiche che innovative, quali studi di espressione e attivazione proteica, lipidomica, epigenetica ed elettrofisiologia. Gli stessi approcci verranno applicati a tempi più brevi dopo il trattamento con THC (PND 48, 60) al fine di caratterizzare l'andamento temporale dell'insorgenza delle alterazioni comportamentali e molecolari.

### 2.4 Risultato atteso

I risultati di questo progetto di ricerca potranno significativamente contribuire a sviluppare una opinione scientificamente corretta sul rischio a lungo termine indotto dall'uso di marijuana in adolescenza. L'individuazione delle possibili relazioni causali tra i vari aspetti considerati aiuterà a capire come le modificazioni prolungate dell'attività neuronale durante l'adolescenza contribuiscano a determinare le alterazioni funzionali, biochimiche, epigenetiche e strutturali residuanti al termine del trattamento e nell'età adulta, e come a loro volta tali alterazioni possano tradursi in modificazioni dell'attività e della plasticità della circuiteria neuronale responsabili di disturbi emotivi, cognitivi e comportamentali. La corretta identificazione dei meccanismi cellulari che sottendono alle conseguenze a lungo termine dell'abuso di cannabis in adolescenza costituirà una valida base di partenza per individuare strategie terapeutiche atte a ridurre il rischio.



## Referenti amministrativi

Referenti	Coordinate
Per il DPA: Dott.ssa Luciana Saccone	Tel: 06.67796413 Fax: 06.67793659 Email: l.saccone@governo.it
Per Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale Sig.ra Adriana Jacona	Tel: 0332421393 Fax: 0332 421350 Email: adriana.jacona@uninsubria.it

## Problem analysis and settings

### 4.1 Problema che si vuole risolvere e/o motivazione per la proposta di progetto

Il controllo degli innumerevoli fattori di rischio che durante l'adolescenza possono compromettere lo sviluppo di una corretta ed efficiente "capacità" neuroplastica risulta impossibile; e' però possibile individuarne alcuni particolarmente critici, tra questi il consumo di sostanze d'abuso. L'utilizzo di sostanze psicoattive, che spesso inizia proprio durante l'adolescenza, interferisce con la normale attività cerebrale non solo con degli effetti acuti ma anche provocando effetti a lungo termine che potrebbero compromettere in maniera duratura o addirittura permanente il corretto sviluppo del sistema nervoso centrale. Pertanto, l'obiettivo primario del presente progetto di ricerca e' quello di valutare in età adulta le eventuali alterazioni che il consumo di sostanze d'abuso durante l'adolescenza possono causare a carico di meccanismi cellulari e molecolari importanti per la neuroplasticità.

Più specificatamente, poiché la cannabis e i suoi derivati rappresentano una delle più diffuse sostanze d'abuso tra gli adolescenti, ci proponiamo di studiare gli effetti a lungo termine dell'esposizione ai cannabinoidi. Tale studio valuterà non solo le conseguenze dell'uso di tali sostanze sui meccanismi di neuroplasticità, ma cercherà di approfondirne la ricaduta funzionale valutandone l'influenza sulla vulnerabilità alle patologie psichiatriche con particolare riguardo a sindromi simil schizofreniche

### 4.2 Dimensionamento e rilevanza del problema (frequenza, grado di gravità, misure epidemiologiche ecc.)

La lotta all'abuso di sostanze stupefacenti rappresenta un bisogno primario della moderna società soprattutto in considerazione del fatto che, per larga parte, tale problema riguarda la fascia giovane della popolazione stessa, in primis gli adolescenti. La cannabis ed i suoi derivati rappresentano generalmente il primo incontro con le sostanze d'abuso, anche a causa di una diffusa opinione riguardo la loro innocuità. Di recente si è anche evidenziata una progressiva diminuzione dell'età di inizio del consumo di cannabis che è risultato essere intorno ai 12-14 anni, con qualche sporadico esempio a 9 anni. Il contatto di un adolescente con la cannabis ed i suoi derivati non rappresenta solamente un pericolo immediato, bensì un potenziale pericolo anche a lungo termine. Infatti, per quanto contrastanti, numerosi dati epidemiologici sembrano suggerire che l'esposizione adolescenziale alla cannabis può facilitare lo sviluppo di patologie psichiatriche come schizofrenia e depressione in età adulta, ampliando quindi lo spettro delle conseguenze negative che non possono più essere limitate agli effetti a breve termine della cannabis per sé.

L'intrinseca variabilità degli studi epidemiologici legata alle diverse condizioni di consumo, ai diversi intervalli di tempo a cui viene effettuata la rilevazione nonché alle diverse condizioni socio-economiche dei soggetti, non permette di trarre un'opinione scientificamente valida. Pertanto un approccio sperimentale in condizioni controllate ci permetterà uno studio sistematico e conclusivo sulle modificazioni cellulari e molecolari prodotte dalla cannabis sul cervello in maturazione degli adolescenti e sulle loro conseguenze funzionali in termini di vulnerabilità alle patologie psichiatriche.

Accanto al loro valore scientifico, questi dati ci permetteranno di avere a disposizione del materiale scientificamente inoppugnabile che potrà essere utilizzato anche in campagne informative presso scuole medie o superiori a scopo di dissuasione, permettendo quindi un'interazione diretta fra mondo della ricerca e territorio attraverso un tipo di informazione che potrebbe colpire l'adolescente probabilmente più dei classici divieti.

AP

## Obiettivo generale dell'Intervento proposto e risultati attesi

L'obiettivo generale che ci proponiamo è quello di studiare gli effetti a lungo termine causati dall'esposizione ai cannabinoidi durante l'adolescenza a carico di meccanismi cellulari e molecolari implicati nella neuroplasticità, nonché la loro ricaduta funzionale in termini di vulnerabilità a patologie psichiatriche.

Questo progetto di ricerca sarà focalizzato ad approfondire ed estendere queste indagini secondo i seguenti obiettivi

**1) primo obiettivo** sarà quello di verificare se l'esposizione al THC induce nell'animale adulto oltre all'aspetto depressivo, una maggior vulnerabilità allo sviluppo di una patologia dissociativa quale la schizofrenia che è spesso associata a situazioni di stress e abuso di farmaci in adolescenza. D'altro canto deficit cognitivi e depressione sono caratteristiche spesso presenti anche nelle patologie schizofreniche. A tale scopo verranno allestiti specifici test comportamentali che riproducono alcuni degli aspetti della patologia schizofrenica a cui verranno sottoposti sia gli animali trattati con THC che i ratti appartenenti al gruppo controllo. In particolare:

a) Il fenotipo comportamentale simil-schizofrenico sarà valutato monitorando la presenza di:

- Iperattività locomotoria e movimenti stereotipati, assimilabile ai sintomi positivi della malattia, esaminati mediante "open field" test.

- Isolamento sociale, assimilabile ai sintomi negativi della malattia, esaminato mediante "Social interaction" test.

- Compromissione della memoria spaziale e dell'apprendimento, assimilabili ai deficit cognitivi che caratterizzano la schizofrenia, valutata mediante "Novel object recognition" test.

- Infine verrà valutata la sensibilità di questi animali alla fenciclidina (PCP, un antagonista del recettore NMDA per il glutammato) che, come è noto, somministrata acutamente facilita il manifestarsi di una sintomatologia positiva, mentre se data cronicamente induce la comparsa di sintomi negativi e deficit cognitivi. In base alla nostra ipotesi di lavoro, la sintomatologia comportamentale indotta da PCP potrebbe essere più marcata negli animali pre-trattati con THC rispetto a quelli controllo, in quest'ottica il trattamento con PCP servirebbe a "smascherare" il fenotipo di vulnerabilità alla patologia.

**2) Il secondo obiettivo** sarà quello di acquisire nuove conoscenze sui meccanismi molecolari alla base delle anomalie comportamentali indotte dall'esposizione di THC nell'adolescenza attraverso l'impiego di approcci multidisciplinari integrati. Per investigare i meccanismi molecolari alla base degli effetti comportamentali dell'esposizione del THC durante l'adolescenza, nel cervello degli animali adulti saranno condotte diverse analisi che prenderanno in considerazione soprattutto le aree cerebrali più sensibili alle patologie psichiatriche quali l'ippocampo, la corteccia prefrontale, il nucleus accumbens e l'amigdala. Specificatamente valuteremo gli effetti dell'esposizione al THC su:

A) Il sistema di signaling degli endocannabinoidi:

Considerando il ruolo modulatore che il sistema degli endocannabinoidi svolge nei fini processi che determinano la maturazione neuronale, sarà importante valutare se la forte stimolazione esogena prodotta dal THC altera o meno la funzionalità di tale sistema compromettendo stabilmente quindi la sua funzione regolatoria. A tale scopo verranno condotti i seguenti studi:

- binding in autoradiografia per evidenziare eventuali alterazioni nella densità o nella funzionalità del recettore CB1;
- misurazione dei livelli di endocannabinoidi quali anandamide e 2-arachidonoilglicerolo attraverso estrazione e purificazione da specifiche regioni cerebrali e quantificazione attraverso analisi di spettrometria di massa accoppiata alla cromatografia liquida (LC-APCI-MS). Questa ultima parte in collaborazione col gruppo del Prof. Vincenzo Di Marzo del CNR di Pozzuoli
- Valutazione dell'attività e dei livelli di alcuni degli enzimi preposti all'inattivazione (FAAH e MAGL) o alla biosintesi (NAPE-PLD e DAGL-a) degli endocannabinoidi mediante RT-PCR e immunostochimica. Questo approccio sarà condotto in collaborazione col gruppo del Prof. Di Marzo del CNR di Pozzuoli

B) Marker di plasticità neuronale

Per evidenziare le conseguenze dell'esposizione al THC sulla plasticità neuronale, verranno eseguiti esperimenti di western blot e/o di ELISA su specifiche aree cerebrali per evidenziare alterazioni nei livelli di alcuni marker sinaptici quali sinapsina, sinaptofisina, VAMP2, V-GAT, PSD95. In aggiunta verranno valutati i livelli di espressione dei recettori NMDA ed AMPA per il glutammato, la responsività di molecole importanti per la plasticità quali il BDNF e le alterazioni di cammini intracellulari importanti per la plasticità quali la via della MAPKinasi, CREB, CaMKII.

C) Morfologia dendritica

L'esistenza di un'associazione tra alterazioni morfologiche e malattie psichiatriche è ben documentata in letteratura. Al fine di esaminare se l'esposizione a THC durante l'adolescenza è associata a tali modificazioni in età adulta, la morfologia dendritica dell'ippocampo e di altre aree cerebrali verrà valutata mediante la tecnica di Golgi, che consente una precisa analisi qualitativa e quantitativa (Kozorovitskiy et al., 2005). Il software Image-pro-plus sarà utilizzato per quantificare la densità delle spine dendritiche

D) Neurogenesi in ippocampo

Deficit nel grado di neurogenesi ippocampale possono contribuire alla compromissione della memoria spaziale che abbiamo dimostrato essere alterata dopo THC, e possono essere associati alla depressione. Pertanto animali adulti esposti al cannabinoide durante l'adolescenza saranno trattati per 3 giorni consecutivi per via intraperitoneale con bromodeossiridina (BrdU, 150 mg/kg). Su sezioni cerebrali dell'ippocampo, sarà quantificato il numero delle cellule positive al BrdU presenti a livello dello strato delle cellule dei granuli, della zona sub-granulare e dell'ilo, come precedentemente pubblicato da Jiang et al. (2005). Negli animali stessi, misureremo il volume dell'ippocampo, che nei pazienti schizofrenici appare ridotto.

E) Analisi dei meccanismi epigenetici

È possibile ipotizzare che le modificazioni geniche indotte da un trattamento adolescenziale con THC siano



permanenti, suggerendo quindi che siano stati alterati meccanismi epigenetici che controllano l'attività trascrizionale per esempio differenze nel grado di metilazione/ acetilazione degli istoni. Questo approccio rappresenta un'analisi "innovativa" ed una strategia vincente per far luce sui meccanismi responsabili di effetti persistenti. Dopo uno screening generale dei livelli di metilazione/acetilazione presente nelle diverse aree cerebrali di animali esposti o meno al THC, si procederà ad individuare specifici target anche in considerazione delle alterazioni di espressione di marker quali il BDNF, PSD95 o altre proteine neuronali importanti nei fenomeni di plasticità

#### F) Analisi elettrofisiologica

Poiché gli endocannabinoidi giocano un ruolo importante in alcune forme di plasticità sinaptica a lungo termine quali la long-term potentiation (LTP) e la long-term depression (LTD) verrà inoltre indagato l'effetto della somministrazione adolescenziale con THC sulla LTD mediata dagli endocannabinoidi nella corteccia prefrontale, nonché sulla LTP dei nuovi neuroni del giro dentato dell'ippocampo, entrambe registrate in età adulta, quando cioè sono evidenti le alterazioni comportamentali indotte dal trattamento. Questo approccio verrà sviluppato in collaborazione con la dott.ssa Raffaella Tonini dell'Istituto Italiano di Tecnologie di Genova.

3) **Il terzo obiettivo** di questo progetto sarà quello di indagare il profilo temporale della comparsa dei fenotipi comportamentali e dei cambiamenti molecolari e cellulari che probabilmente li sottendono. Tale studio potrebbe permettere lo sviluppo di strategie preventive e/o terapeutiche mirate. In quest'ottica gli approcci comportamentali e molecolari sopra descritti verranno utilizzati a diversi intervalli di tempo dal trattamento con THC, precisamente 24 ore dopo l'ultima somministrazione, 15 e 30 giorni dopo.

### **Valore aggiunto atteso nell'intervento proposto**

Il progetto proposto supera le variabilità degli studi epidemiologici e permetterà di delineare un quadro scientificamente corretto del rischio connesso all'abuso di cannabis in adolescenza. I dati raccolti ci permetteranno di avere a disposizione del materiale scientificamente inoppugnabile che potrà essere utilizzato anche in campagne informative presso scuole medie o superiori a scopo di dissuasione, permettendo quindi un'interazione diretta fra mondo della ricerca e territorio attraverso un tipo di informazione che potrebbe colpire l'adolescente probabilmente più dei classici divieti. Infine l'esatta conoscenza del fenomeno e della cinetica del suo sviluppo potrebbe forse permettere di approntare interventi preventivi e/o terapeutici.

### **Premesse tecnico scientifiche ("il razionale") dell'intervento proposto**

L'uso di cannabis è stato a lungo considerato relativamente innocuo. Recentemente è cresciuta la preoccupazione in merito ai possibili effetti negativi per la salute indotti dal consumo di marijuana, effetti che sembrano essere più pronunciati tra coloro che iniziano ad usarla in giovane età. Giovani di età compresa tra i 12 e i 17 anni costituiscono circa i due terzi dei nuovi consumatori di cannabis (SAMHSA, 2004). Pertanto, coloro che sono esposti al più alto rischio di subire conseguenze negative dovute al consumo di cannabis, rappresentano anche i principali consumatori di marijuana. Il numero di adolescenti sottoposti a trattamenti in centri specializzati per l'abuso o la dipendenza da cannabis è raddoppiato dal 1992 al 2000, e la maggior parte degli adolescenti ammette di aver utilizzato come prima droga la cannabis (Kamon et al., 2005). E' ormai accettato che l'adolescenza è un importante periodo di maturazione dell'attività neuronale e rappresenta un'età particolarmente vulnerabile sia agli stress ambientali che a quelli interni (ormonali ed emotivi). Il sistema degli endocannabinoidi svolge un ruolo importante durante questa delicata fase di sviluppo del cervello poiché i cannabinoidi endogeni, anandamide e 2AG sono in grado di modulare la plasticità sinaptica a breve e a lungo termine, lo sviluppo neuronale e il rilascio e l'azione di diversi neurotrasmettitori (Viveros et al., 2005). Pertanto, la forte stimolazione esogena esercitata dal THC sui recettori CB1 potrebbe fortemente compromettere il ruolo modulatore del sistema endocannabico provocando cambiamenti sottili ma di lunga durata ed in grado quindi di alterare le risposte comportamentali ed emotive nell'età adulta.

Nell'uomo studi retrospettivi sembrano sostenere l'associazione tra uso adolescenziale di cannabis e il successivo sviluppo di depressione e/o disturbi psicotici (Trezza et al., 2008), anche se non si può escludere che tale risultato sia influenzato da fattori confondenti e/o anomalie (Moore et al., 2007). Tuttavia gli studi sull'uomo, in particolare quelli che utilizzano valutazioni retrospettive, hanno grosse limitazioni a causa della grande variabilità del consumo di cannabis. Di conseguenza, la ricerca sperimentale offre un importante strumento per acquisire ulteriori conoscenze sugli effetti a lungo termine dell'esposizione ai cannabinoidi durante l'adolescenza e permette di indagare i substrati neurobiologici coinvolti.

Si rendono pertanto necessari studi sperimentali per testare la possibilità che l'abuso di cannabis in adolescenza possa essere un fattore di rischio per i disturbi neuropsichiatrici. Gli studi negli animali di laboratorio sono ad oggi abbastanza scarsi e controversi a causa dell'utilizzo di differenti periodi di trattamento con la droga, del diverso agonista cannabico utilizzato, dalla dose utilizzata nonché dal sesso degli animali impiegati (Rubino and Parolaro, 2008). Questo ultimo punto appare particolarmente rilevante in quanto studi recenti condotti sia sugli animali che sull'uomo dimostrano che il sesso può influenzare sia le risposte comportamentali che quelle neurochimiche in molte aree cerebrali (Cahill, 2006) e, in particolare, nei ratti alcuni degli effetti indotti dai cannabinoidi sono sesso dipendenti (Craft, 2005; Fattore et al., 2007).

La somministrazione cronica durante l'adolescenza dell'agonista sintetico CP-55940 nei ratti ha prodotto una risposta ansiolitica nell'adulto (Biscaia et al., 2003) la cui intensità sembra essere sesso dipendente, più marcata nelle femmine rispetto ai maschi. Cha et al (2006, 2007) hanno recentemente dimostrato l'assenza di effetti a lungo termine sull'apprendimento spaziale in ratti adulti maschi e femmine precedentemente esposti a delta9-tetraidrocannabinolo (THC) per 21 giorni. Al contrario, O'Shea et al.(2004, 2006) hanno evidenziato un deficit nella memoria a lungo termine

*Handwritten signature*



indotto dall'esposizione cronica all'agonista cannabico sintetico CP-55940 in adolescenza sia nei ratti maschi che femmine, riscontrando anche un lieve ma significativo aumento dei comportamenti ansiosi. Più recentemente Quinn et al (2008) hanno riportato che l'esposizione in adolescenza di ratti maschi al THC causa deficit mnemonici più sostenuti di quelli prodotti dallo stesso trattamento nei ratti adulti.

Nel loro insieme i risultati sopra esposti evidenziano una contrastante analisi degli effetti comportamentali indotti dal trattamento con cannabinoidi in età adolescenziale, ma non analizzano né i meccanismi molecolari alla base di queste alterazioni comportamentali né la funzionalità del sistema endocannabico negli animali adulti pre-esposti, nonostante il ruolo importante di questo sistema nel modulare stati emotivi, cognitivi e di gratificazione (Pacher et al., 2006). A questi difetti ha cercato di rispondere il nostro gruppo di ricerca che utilizzando un approccio integrato, ha dimostrato che la somministrazione cronica di THC nel ratto adolescente induce alterazioni lievi ma durature nel circuito emotivo che portano a comportamenti simil-depressivi in età adulta, accompagnate da modifiche nei livelli di CREB e BDNF, marker molecolari legati alla depressione (Rubino et al., 2008). L'effetto depressivo è stato osservato solo nelle femmine, mentre i ratti maschi non presentano né alterazioni comportamentali né biochimiche correlabili a fenomeni simil-depressivi. Viceversa, non sono state riscontrate variazioni significative negli animali adulti di entrambi i sessi nella loro risposta ansiolitica/ansigenica (Rubino et al., 2008). Questi risultati concordano con un recente studio nell'uomo che riporta come il consumo di cannabis aumenti il rischio di incidenza dei primi disturbi depressivi senza provocare disturbi d'ansia (van Laar et al., 2007).

Oltre ai sintomi emotivi, le disfunzioni cognitive sono una componente importante della depressione e possono essere alla base di molti disordini affettivi. Abbiamo quindi valutato l'efficienza di diversi tipi di memoria in ratte femmine adulte esposte al THC durante l'adolescenza (Rubino et al., 2009a). In particolare, nessuna alterazione è stata riscontrata nella memoria aversiva (verificata mediante la passiva avoidance), ma, al contrario, le femmine pre-trattate con THC hanno mostrato una performance ridotta rispetto ai controlli nel labirinto radiale, suggerendo la presenza di un deficit nella memoria spaziale di lavoro. Questo deficit mnemonico è stato correlato ad un decremento significativo nei livelli delle proteine sinaptofisina e PSD95 nella corteccia prefrontale e alla presenza di significative alterazioni quali e quantitative nelle proteine sinaptiche di questa regione cerebrale indicative di sinapsi meno attive ed efficienti, come dimostrato dall'analisi proteomica (Rubino et al., 2009a). Anche ratti maschi adulti pre-esposti al THC durante l'adolescenza, esibiscono una memoria spaziale di lavoro danneggiata, correlabile ad una significativa diminuzione dei livelli del marcatore astrogliale GFAP delle proteine pre- e post-sinaptiche (VAMP2, PSD95) e dei livelli del recettore NMDA nell'ippocampo. Inoltre, ratti pre-trattati con THC mostrano un numero e una lunghezza dei dendriti significativamente inferiore rispetto ai veicoli, così come una ridotta densità di spine nel giro dentato dell'ippocampo (Rubino et al., 2009b), suggerendo che la pre-esposizione ai cannabinoidi potrebbe ridurre i contatti sinaptici e/o produrre connessioni sinaptiche meno efficienti nell'ippocampo.

Infine solo nei lavori di Schneider e Koch (2003,2007) e, più recentemente, nell'articolo di Wegener e Koch (2008) è stata affrontata la relazione tra uso di cannabis in adolescenza e vulnerabilità alla schizofrenia. Schneider e Koch(2003,2007) hanno dimostrato che ratti maschi adulti trattati durante l'adolescenza con WIN 55212-2, un agonista cannabico sintetico, esibiscono una significativa riduzione dell'inibizione del riflesso di sobbalzo indotto da uno stimolo acustico (" prepulse inhibition of the startle reflex"). Questo dato è stato confermato nel lavoro di Wegener e Koch (2008) dove si sottolinea anche che i ratti pre esposti al WIN in pubertà sono meno ansiosi e con una attività motoria maggiore rispetto ai controlli. Inoltre l'utilizzo di cFOS come marcatore di attività neuronale ha permesso di dimostrare che la pre-esposizione al WIN55212 in pubertà provoca nell'adulto sia un'alterata reattività basale che un'alterata risposta all'apomorfina ed all'aloiperidolo (Wegener e Koch,2008). Va comunque sottolineato che sia i lavori di Schneider che quello di Wegener sono condotti su ratti maschi ed utilizzando un agonista sintetico e non il THC. Questo ultimo fatto non è di poca rilevanza sia perché i due composti esibiscono una differente affinità recettoriale (agonista pure il composto sintetico, agonista parziale quello naturale), sia perché l'estrapolazione dei dati a livello umano appare migliore quanto più ci si avvicina alla situazione nell'uomo.

Sulla base di queste evidenze, è necessario ampliare gli studi sulla relazione tra uso di cannabis in adolescenza e la sua associazione con disordini psichiatrici, quale la schizofrenia.

## **Target (destinatari)**

### **8.1 Target principale**

I risultati della presente ricerca contribuiranno ad accrescere le conoscenze scientifiche sulla pericolosità dell'abuso di cannabis in adolescenze e sono pertanto diretti a tutto il mondo scientifico, agli operatori nel campo delle tossicodipendenze e, più in generale, agli adolescenti.

## **Territorio ed ambienti di intervento**

### **9.1 Aree geografiche coinvolte**

Poiché l'abuso di cannabis non evidenzia particolari localizzazioni geografiche sul territorio nazionale, riteniamo che lo studio possa interessare l'intera area nazionale.



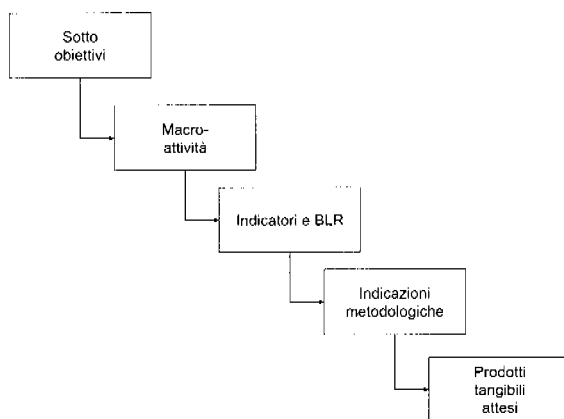


## Sotto obiettivi specifici

Vengono di seguito elencati i sotto obiettivi specifici, cioè i risultati attesi del progetto:

1. Valutazione della presenza di un fenotipo simil-schizofrenico in ratti adulti maschi e femmine trattati cronicamente con THC in adolescenza
2. Valutazione della presenza di alterazione nei livelli del recettore CB1, degli endocannabinoidi anandamide e 2AG e degli enzimi deputati alla loro sintesi e degradazione in aree cerebrali di animali adulti trattati con THC in adolescenza
3. Valutazione delle alterazioni dei più comuni marker sinaptici e dei fattori neurotrofici in aree cerebrali di animali adulti trattati con THC in adolescenza
4. Valutazione della presenza di alterazioni nelle neurogenesi e nel volume ippocampale in animali adulti trattati con THC in adolescenza
5. Valutazione della presenza di alterazioni nelle spine dendritiche in specifiche aree cerebrali (ippocampo e corteccia prefrontale) di animali adulti trattati con THC in adolescenza
6. Valutazione della presenza di alterazioni epigenetiche indotte dall'esposizione al THC in adolescenza
7. Valutazione della presenza di alterazioni nella trasmissione sinaptica a lungo termine (LTP e LTD) in specifiche aree cerebrali di ratti adulti trattati in adolescenza con THC
8. Valutazione del profilo temporale della comparsa dei fenotipi comportamentali e dei cambiamenti molecolari e cellulari che li sottendono

In seguito, questi sotto obiettivi vengono ulteriormente definiti nella componente operativa e chiariti, elencando una serie di specifiche e ulteriori informazioni necessarie per la loro realizzazione, utilizzando il framework logico sotto riportato.



*Handwritten signatures*

**10.1 Sotto obiettivi e indicatori**

N°	Sotto obiettivi	Indicatori	Base line result
1	Valutazione della presenza di un fenotipo simil-schizofrenico in ratti adulti maschi e femmine trattati cronicamente con THC in adolescenza	Alterazioni comportamentali come indicatori della presenza del fenotipo simil schizofrenico	Presenza di un fenotipo simil schizofrenico generato dall'abuso di cannabis in adolescenza
2	Valutazione della presenza di alterazione nei livelli del recettore CB1, degli endocannabinoidi anandamide e 2AG e degli enzimi deputati alla loro sintesi e degradazione in aree cerebrali di animali adulti trattati con THC in adolescenza	Alterazioni nei diversi componenti del sistema endocannabico come possibili fattori eziopatogenici della schizofrenia	Coinvolgimento del sistema endocannabico nello sviluppo del fenotipo simil schizofrenico
3	Valutazione delle alterazioni dei più comuni marker sinaptici e dei fattori neurotrofici in aree cerebrali di animali adulti trattati con THC in adolescenza	Alterazioni nella plasticità neuronale come indicatori di disfunzioni nei processi di rimodeling neuronale tipici del cervello adolescente	Individuazione delle basi cellulari e molecolari coinvolte nella vulnerabilità alla schizofrenia dopo abuso di cannabis in adolescenza
4	Valutazione della presenza di alterazioni nelle neurogenesi e nel volume ippocampale in animali adulti trattati con THC in adolescenza	Alterazioni nella neurogenesi come correlati di disfunzioni cognitive mediate dall'ippocampo	Individuazione delle basi cellulari e molecolari coinvolte nella vulnerabilità alla schizofrenia dopo abuso di cannabis in adolescenza
5	Valutazione della presenza di alterazioni nelle spine dendritiche in specifiche aree cerebrali (ippocampo e corteccia prefrontale) di animali adulti trattati con THC in adolescenza	Alterazioni nella morfologia dendritica come indicatori di ridotta connettività sinaptica	Individuazione delle basi cellulari e molecolari coinvolte nella vulnerabilità alla schizofrenia dopo abuso di cannabis in adolescenza
6	Valutazione della presenza di alterazioni epigenetiche indotte dall'esposizione al THC in adolescenza	Individuazione di cambiamenti stabili nell'espressione genica mediata da meccanismi epigenetici coinvolti nella vulnerabilità alla cannabis del cervello adolescente	Ruolo delle alterazioni epigenetiche indotte dall'abuso di cannabis in adolescenza come substrato di vulnerabilità
7	Valutazione della presenza di alterazioni nella trasmissione sinaptica a lungo termine (LTP e LTD) in specifiche aree cerebrali di ratti adulti trattati in adolescenza con THC	Individuazione delle alterazioni nella circuitria neuronale che sottendono ai fenomeni di plasticità sinaptica a lungo termine	Individuazione delle alterazioni elettrofisiologiche coinvolte nei deficit cognitivi ed emotivi indotti dall' abuso di cannabis in adolescenza
8	Valutazione del profilo temporale della comparsa dei fenotipi comportamentali e dei cambiamenti molecolari e cellulari che li sostengono	Definizione del profilo temporale delle modificazioni comportamentali, biochimiche ed elettrofisiologiche	Individuazione del periodo di maggior rischio ed eventuale messa a punto di strategie difensive

10.2 Sotto obiettivi, work package e metodi

N°	Sotto obiettivi	Work Package (pacchetti di attività)	Metodi
1	Valutazione della presenza di un fenotipo simil-schizofrenico in ratti adulti maschi e femmine trattati cronicamente con THC in adolescenza	<p><b>WP 1.1</b> Trattamento in età adolescenziale di ratti maschi e femmine con dosi crescenti di THC</p> <p><b>WP 1.2</b> Studio comportamentale in età adulta</p>	<p>Analisi comportamentale: presenza di iperattività locomotoria e stereotipie deficit cognitive al test del "novel object recognition", alterazioni nel comportamento sociale, ansia e depressione</p>
2	Valutazione della presenza di alterazione nei livelli del recettore CB1, degli endocannabinoidi anandamide e 2AG e degli enzimi deputati alla loro sintesi e degradazione in aree cerebrali di animali adulti trattati con THC in adolescenza	<p><b>WP 2.1</b> Trattamento in età adolescenziale di ratti maschi e femmine con dosi crescenti di THC</p> <p><b>WP 2.2</b> Studio biochimico in età adulta relativo al recettore CB1, ligandi endogeni ed enzimi correlati</p>	<p>Binding del recettore CB1 in autoradiografia</p> <p>Analisi dei livelli degli endocannabinoidi con spettrometria di massa</p> <p>Saggi enzimatici per valutare l'attività dei principali enzimi di sintesi e degradazione degli endocannabinoidi</p>
3	Valutazione delle alterazioni dei più comuni marker sinaptici e dei fattori neurotrofici in aree cerebrali di animali adulti trattati con THC in adolescenza	<p><b>WP 3.1</b> Trattamento in età adolescenziale di ratti maschi e femmine con dosi crescenti di THC</p> <p><b>WP 3.2</b> Studio biochimico in età adulta relativo a marcatori di plasticità ed a fattori neurotrofici (BDNF) e dei più comuni cammini intracellulari rilevanti per la plasticità</p>	<p>Saggi di western blot per studiare i livelli dei markers di plasticità (es. PSD95, sinaptofisina...)</p> <p>Saggi ELISA per determinare i livelli dei fattori neurotrofici</p> <p>Saggi di western blot e/o ELISA per valutare i livelli di fosforilazione di CREB, CaMKII e ERK</p>
4	Valutazione della presenza di alterazioni nelle neurogenesi e nel volume ippocampale in animali adulti trattati con THC in adolescenza	<p><b>WP 4.1</b> Trattamento in età adolescenziale di ratti maschi e femmine con dosi crescenti di THC</p> <p><b>WP 4.2</b> Trattamento in età adulta con BrdU per marcare le cellule in attiva duplicazione</p> <p><b>WP 4.3</b> Studio biochimico in età adulta per determinare il numero di cellule in attiva duplicazione</p> <p><b>WP 4.4</b> Studio morfologico in età adulta per determinare i volumi ippocampali</p>	<p>Saggi di immunohistochimica per evidenziare le cellule marcate con BrdU</p> <p>Analisi morfologica dei volumi ippocampali secondo il metodo di Cavalieri</p>
5	Valutazione della presenza di alterazioni nelle spine dendritiche in specifiche aree cerebrali (ippocampo e corteccia prefrontale) di animali adulti trattati con THC in adolescenza	<p><b>WP 5.1</b> Trattamento in età adolescenziale di ratti maschi e femmine con dosi crescenti di THC</p> <p><b>WP 5.2</b> Prelievo dei cervelli degli animali in età adulta e colorazione con il Golgi</p>	<p>Analisi morfologica delle spine dendritiche in diverse aree cerebrali tramite colorazione del Golgi</p>
6	Valutazione della presenza di alterazioni epigenetiche indotte dall'esposizione al THC in adolescenza	<p><b>WP 6.1</b> Trattamento in età adolescenziale di ratti maschi e femmine con dosi crescenti di THC</p> <p><b>WP 6.2</b> Prelievo delle diverse aree cerebrali e preparazione degli istoni</p>	<p>Saggi di western blot per valutare i livelli di acetilazione e metilazione degli istoni</p>
7	Valutazione della presenza di alterazioni nella trasmissione sinaptica a lungo termine (LTP e LTD) in specifiche aree cerebrali di ratti adulti trattati in adolescenza con THC	<p><b>WP 7.1</b> Trattamento in età adolescenziale di ratti maschi e femmine con dosi crescenti di THC</p> <p><b>WP 7.2</b> Prelievo dei cervelli e preparazione delle fettine contenenti la corteccia prefrontale e l'ippocampo</p>	<p>Registrazione elettrofisiologica dei potenziali eccitatori nel giro dentato dell'ippocampo e nello strato V della corteccia prefrontale</p>
8	Valutazione del profilo temporale della comparsa dei fenotipi comportamentali e dei cambiamenti molecolari e cellulari che li sottendono	<p><b>WP 8.1</b> Trattamento in età adolescenziale di ratti maschi e femmine con dosi crescenti di THC</p> <p><b>WP 8.2</b> Valutazione degli effetti comportamentali, biochimici ed elettrofisiologici a diversi intervalli dal trattamento</p>	<p>Registrazione elettrofisiologica dei potenziali eccitatori nel giro dentato dell'ippocampo e nello strato V della corteccia prefrontale</p>



**Risk Management e Risk Assessment**

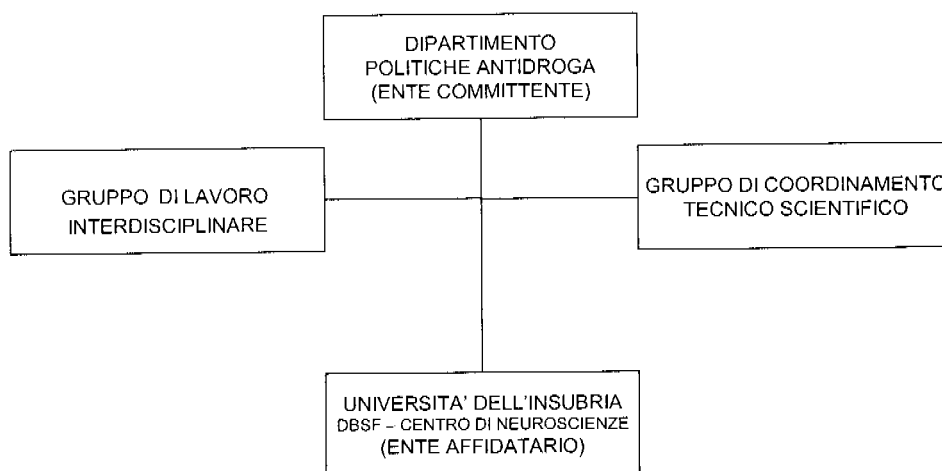
N°	Descrizione del rischio	Probabilità di evenienza del rischio (accadimento)	Gravità delle conseguenze in caso di accadimento	Azione preventiva prevista	Azione correttiva prevista in caso di accadimento
1	inquinamento nella stabulazione animali	<input type="checkbox"/> Alta <input type="checkbox"/> Media <input checked="" type="checkbox"/> Bassa	<input checked="" type="checkbox"/> Alta <input type="checkbox"/> Media <input type="checkbox"/> Bassa	Condizioni severe e rigorose per entrata nello stabulario e maneggiamento animali	Procedure standard di recupero condizioni
2	Rottura freezer meno 80 durante periodi chiusura dipartimento	<input type="checkbox"/> Alta <input checked="" type="checkbox"/> Media <input type="checkbox"/> Bassa	<input checked="" type="checkbox"/> Alta <input type="checkbox"/> Media <input type="checkbox"/> Bassa	Presenza di un generatore di corrente autonomo con allarme collegato	Recupero pezzi anatomici ancora congelati e trasferimento in altro freezer
3	Problemi connessi con LC massa per determinazione livelli endocannabinoidi	<input type="checkbox"/> Alta <input type="checkbox"/> Media <input checked="" type="checkbox"/> Bassa	<input type="checkbox"/> Alta <input checked="" type="checkbox"/> Media <input type="checkbox"/> Bassa	Servizio manutenzione programmata	Richiesta di utilizzo ad altre strutture dotate di apparecchiature simili
4	Cattivo funzionamento analisi d'immagine	<input type="checkbox"/> Alta <input type="checkbox"/> Media <input checked="" type="checkbox"/> Bassa	<input type="checkbox"/> Alta <input type="checkbox"/> Media <input checked="" type="checkbox"/> Bassa	Verifica ed aggiornamento periodico del software	Analisi d'immagine eseguita presso altri dipartimenti dotati di apparecchiatura simile

## Organigramma generale del progetto

Viene di seguito rappresentato l'organigramma generale del progetto Adocannabis. Esso prevede due livelli: direzione e coordinamento.

Il *primo livello* di direzione è rappresentato dal Dipartimento Politiche Antidroga, della Presidenza del Consiglio dei Ministri, che si potrà avvalere di un gruppo di lavoro interdisciplinare e di un gruppo di coordinamento tecnico-scientifico per il coordinamento delle strategie di azione.

Il *secondo livello* di coordinamento operativo è rappresentato dal Centro di Neuroscienze del Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale dell'Università dell'Insubria che ha il compito di armonizzare l'implementazione della attività previste nel progetto Adocannabis.



## **Governance – assegnazione dei compiti principali**

<b>Soggetto</b>	<b>Compiti principali</b>
DPA	Ente Committente Coordinamento generale Controllo e verifica del progetto generale sia per la rendicontazione di risultato che della rendicontazione finanziaria
Gruppo di coordinamento tecnico scientifico	Indirizzamento delle attività di valutazione in progress ed ex post Fornitura di supporto tecnico al DPA Indicazioni sulle collaborazioni scientifiche ed operative da attivare Definizione del gruppo di lavoro multidisciplinare per l'espressione di proposte per l'integrazione/modificazione degli atti normativi
Ente Affidatario	Ente Affidatario (opera sulla base delle indicazioni del G.G.C.) Coordinamento generale Realizzazione delle attività progettuali Rendicontazione di risultato e Rendicontazione finanziaria all'Ente Affidatario





## Scheduling

### 14.1 Articolazione in fasi temporali e attività

Data di inizio prevista: 01/01/2011 (tale data potrà essere ridefinita in base al ricevimento da parte del DPA della lettera ufficiale di avvio delle attività)

Durata totale prevista:  1 anno  
 2 anni  
 3 anni

Durata totale finanziata:  I annualità  
 I e II annualità  
 I, II e III annualità

Fine prevista delle attività finanziata(salvo proroghe): 31/12/2012 (e comunque dopo 24 mesi dall'avvio delle attività)

Macro fasi temporali	Macro attività previste	Data inizio	Durata
1 Caratterizzazione comportamentale del fenotipo simil schizofrenico	Valutazione della presenza di: iperattività locomotoria e stereotipie alterato comportamento sociale deficit cognitivi	Gennaio 2011	6 mesi
2 Valutazione delle alterazioni nel sistema endocannabico nelle diverse aree cerebrali	Binding in autoradiografia del recettore CB1 e del suo accoppiamento con le G proteine Livelli del recettore CB2 Livello degli endocannabinoidi (anandamide e 2-AG) Livelli ed attività dei principali enzimi deputati alla loro sintesi e degradazione	Marzo 2011	4 mesi
3 Valutazione delle alterazioni dei marker sinaptici e fattori neurotrofici	Saggi di western blot per studiare i livelli dei markers di plasticità (es. PSD95, sinaptofisina...) Saggi ELISA per determinare i livelli dei fattori neurotrofici Saggi di western blot e/o ELISA per valutare i livelli di fosforilazione di CREB, CaMKII	Aprile 2011	7 mesi
4 Valutazione della presenza di alterazioni nella neurogenesi e volume ippocampale Valutazione delle spine dendritiche	Saggi di immunistochemical per evidenziare le cellule marcate con BrdU Analisi morfologica dei volumi ippocampali secondo il metodo di Cavalieri Analisi morfologica delle spine dendritiche in diverse aree cerebrali tramite colorazione del Golgi	Novembre 2011	8 mesi
5 Valutazione della presenza di alterazioni epigenetiche	Saggi di western blot per valutare i livelli di acetilazione e metilazione degli istoni ed individuazione di specifici geni target	Novembre 2011	12 mesi
6 Valutazione della presenza di alterazioni nella trasmissione sinaptica a lungo termine (LTP e LTD)	Registrazione elettrofisiologica dei potenziali eccitatori nel giro dentato dell'ippocampo e nello strato V della corteccia prefrontale	Novembre 2011	8 mesi

Possibilità di Proroga: SI  NO

La possibilità di proroga della durata del progetto è regolamentata dall'Accordo di Collaborazione.

Possibilità di Rifiinanziamento: SI  NO

La possibilità di rifiinanziamento è condizionata all'ottenimento di parere positivo da parte del DPA sulle attività svolte e alla disponibilità finanziaria.



### 14.2 Gantt preventivo

N	Attività	Mesi																								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1	Caratterizzazione comportamentale																									
2	Valutazione alterazioni aree cerebrali																									
3	Valutazione alterazioni marker sinaptici e fattori neurotrofici																									
4	Valutazione spine dendritiche e alterazioni nella neurogenesi e volume ippocampale																									
5	Valutazione alterazioni epigenetiche																									
6	Valutazione alterazioni nella trasmissione sinaptica a lungo termine																									
ATTIVITÀ DI VALUTAZIONE (MILESTONES)		R = Report																								
REPORT DI RISULTATO																										
RENDICONTAZIONE FINANZIARIA																										

*[Handwritten signature]*



## Agenda reporting

Sigla Report	Data prevista	Tipo di rapporto
RR1	Dopo 6 mesi	Report in progress, dettagliato, sulla base degli obiettivi e degli indicatori pre-dichiarati riguardante i risultati tecnici ottenuti
RF1	Dopo 6 mesi	Rendicontazione finanziaria primo semestre
RR2	Dopo 12 mesi	Report in progress, dettagliato, sulla base degli obiettivi e degli indicatori pre-dichiarati riguardante i risultati tecnici ottenuti
RF2	Dopo 12 mesi	Rendicontazione finanziaria secondo semestre
RR3	Dopo 18 mesi	Report in progress, dettagliato, sulla base degli obiettivi e degli indicatori pre-dichiarati riguardante i risultati tecnici ottenuti
RF3	Dopo 18 mesi	Rendicontazione finanziaria terzo semestre
RR4	Dopo 24 mesi	Report in progress, dettagliato, sulla base degli obiettivi e degli indicatori pre-dichiarati riguardante i risultati tecnici ottenuti
RF4	Dopo 24 mesi	Rendicontazione finanziaria finale

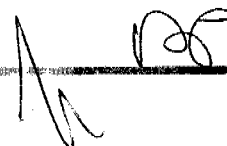
## Risorse e piano finanziario

Il budget totale previsto per le attività di progetto è stabilito a favore dell'Ente affidatario un finanziamento omnicomprensivo di € 150.000,00 (centocinquantamilaeuro) per sostenere le spese di realizzazione così come previste e riportate nel piano finanziario del progetto, ripartito secondo le seguenti quote:

BENI E SERVIZI (Inventariabili e di consumo)	€ 100.000,00
FORMAZIONE	€ 0,00
PERSONALE A CONTRATTO*	€ 20.000,00
PUBBLICAZIONI E MATERIALE INFORMATIVO	€ 2.500,00
MISSIONI	€ 10.000,00
RIMBORSI	€ 0,00
CONVEGNI	€ 10.000,00
SPESE DI SEGRETERIA	€ 7.500,00
<b>TOTALE</b>	<b>€ 150.000,00</b>

\* Sono esclusi finanziamenti a favore di personale dirigente di ruolo.

**N.B.** Nel caso in cui all'interno e tra le voci di costo e/o all'interno e tra le microvoci di spesa si ravvisasse la necessità di provvedere a modifiche per tipologia e/o entità di spesa, a fronte di debita "richiesta di rimodulazione di Piano Finanziario" il Dipartimento per le Politiche Antidroga previa valutazione formalizzerà l'autorizzazione alle modifiche.



## 16.1 Quote di finanziamento previste

Il finanziamento sarà erogato con le seguenti modalità:

- I QUOTA: 60% del finanziamento complessivo dopo la registrazione da parte degli organi di controllo del decreto di approvazione della Convenzione Economica
- II QUOTA: 30% del finanziamento dopo il primo anno dall'inizio delle attività
- III QUOTA: 10% del finanziamento a saldo dopo la presentazione della rendicontazione finale di risultato e della rendicontazione finanziaria finale

## Accreditamenti ente affidatario

### 17.1 Precedenti studi e interventi dell'ente affidatario

Il Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale dell'Università dell'Insubria è organizzato in due Sezioni, corrispondenti alle due Sedi: a Varese, in Via Dunant, la Sezione di Biologia e Ambiente (15 membri afferenti), a Busto Arsizio, ai Mulini Marzoli, la Sezione di Biologia Applicata alla Ricerca Biomedica (12 membri afferenti).

Nel biennio 2008-2009 la produzione scientifica dei membri del Dipartimento è consistita in 100 articoli scientifici pubblicati su riviste internazionali referate e censite dall'ISI, tutti a medio-alto Impact Factor, oltre a 8 capitoli di libri e oltre ottanta presentazioni a convegni nazionali ed internazionali.

L'elevato livello qualitativo medio delle ricerche, che vengono condotte in DBSF, è testimoniato dalle numerosissime citazioni (più di 5000, senza autocitazioni) che hanno finora ottenuto le pubblicazioni ISI con affiliazione DBSF, realizzate in circa 10 anni di ricerche dagli attuali membri del Dipartimento, alcuni con alti indici bibliometrici h. Alcuni docenti hanno anche riconoscimenti nazionali ed internazionali, essendo membri di Direttivi di Società Scientifiche e nell'Editorial Board di rilevanti riviste internazionali ISI.

Per condurre le loro ricerche, i membri del DBSF hanno ottenuto importanti finanziamenti da Enti pubblici e privati, nazionali ed internazionali, Fondazioni, Aziende ed Associazioni, per un totale che colloca il DBSF tra i primi posti per entrate per ricerca tra i Dipartimenti dell'Ateneo.

Tra i seminari e gli eventi organizzati si distinguono in particolare il Convegno internazionale sulle patologie prostatiche benigne, il "Second European Working Group on Rett Syndrome", il Convegno della Sezione Lombarda della Società Botanica Italiana (SBI-LO) e le Giornate di studio del Centro di Ricerca in Neuroscienze e Dottorato in Neurobiologia (Busto Arsizio): "Dalla plasticità neuronale alla memoria" e "Neuropatologie mitocondriali e dismetaboliche".

Afferisce al Dipartimento il Centro di Neuroscienze costituito nel 2002 e che raggruppa più di venti ricercatori della Facoltà di Medicina e di Scienze che collaborano nello sviluppo di tematiche neurobiologiche utilizzando approcci multidisciplinari. La tematica della neurobiologia delle dipendenze costituisce una delle tematiche importanti dell'attività del Centro.

Infine presso la sede di Busto Arsizio del DBSF è ospitata la Fondazione Zardi Gori per la ricerca sulle dipendenze che si dedica a tre aree operative: la formazione scientifica, la ricerca sperimentale e la divulgazione scientifica. Nell'anno 2010 la Fondazione ha elargito due premi di studio a giovani ricercatori che avevano pubblicato su riviste internazionali lavori in tema di tossicodipendenze e dove apparivano come primo o secondo autore. La Fondazione è tra gli enti patrocinatori del libro "Salvia Divinorum: dai riti degli sciamani alla farmacologia molecolare".

### 17.2 Pubblicazioni

1. Zamberletti E, Viganò D, Guidali C, Rubino T, Parolaro D.  
Long-lasting recovery of psychotic-like symptoms in isolation-reared rats after chronic but not acute treatment with the cannabinoid antagonist AM251. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2010 Oct 6:1-14.
2. Realini N, Viganò D, Guidali C, Zamberletti E, Rubino T, Parolaro D.  
Chronic URB597 treatment at adulthood reverted most depressive-like symptoms induced by adolescent exposure to THC in female rats. *Neuropharmacology.* 2010 Sep 17.
3. Parolaro D.  
Adolescent cannabis consumption and schizophrenia: epidemiological and experimental evidences. *Adicciones.* 2010;22(3):185-9.
4. Parolaro D, Realini N, Viganò D, Guidali C, Rubino T.  
The endocannabinoid system and psychiatric disorders. *Exp Neurol.* 2010 224(1):3-14.
5. Guidali C, Viganò D, Petrosino S, Zamberletti E, Realini N, Binelli G, Rubino T, Di Marzo V, Parolaro D.  
Cannabinoid CB1 receptor antagonism prevents neurochemical and behavioural deficits induced by chronic phencyclidine. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2010 Mar 3:1-12.
6. Parolaro D, Rubino T, Viganò D, Massi P, Guidali C, Realini N.  
Cellular Mechanisms Underlying the Interaction between Cannabinoid and Opioid System. *Curr Drug Targets.* 2010 Apr;11(4):393-405.
7. Realini N, Rubino T, Parolaro D.  
Neurobiological alterations at adult age triggered by adolescent exposure to cannabinoids. *Pharmacol Res.* 2009 Aug;60(2):132-8.
8. Braida D, Capurro V, Zani A, Rubino T, Viganò D, Parolaro D, Sala M.



- Potential anxiolytic- and antidepressant-like effects of salvinorin A, the main active ingredient of *Salvia divinorum*, in rodents. *Br J Pharmacol*. 2009 Jul;157(5):844-53
9. Rubino T, Realini N, Braida D, Alberio T, Capurro V, Viganò D, Guidali C, Sala M, Fasano M, Parolaro D. The Depressive Phenotype Induced in Adult Female Rats by Adolescent Exposure to THC is Associated with Cognitive Impairment and Altered Neuroplasticity in the Prefrontal Cortex. *Neurotox Res*. 2009 May;15(4):291-302.
  10. Rubino T, Realini N, Braida D, Guidi S, Capurro V, Viganò D, Guidali C, Pinter M, Sala M, Bartesaghi R, Parolaro D. Changes in hippocampal morphology and neuroplasticity induced by adolescent THC treatment are associated with cognitive impairment in adulthood. *Hippocampus*. 2009 Aug;19(8):763-72
  11. Marco EM, Rubino T, Adriani W, Viveros MP, Parolaro D, Laviola G. Long-term consequences of URB597 administration during adolescence on cannabinoid CB1 receptor binding in brain areas. *Brain Res*. 2009 Feb 27;1257:25-31
  12. Viganò D, Guidali C, Petrosino S, Realini N, Rubino T, Di Marzo V, Parolaro D. Involvement of the endocannabinoid system in phencyclidine-induced cognitive deficits modelling schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2009 Jun;12(5):599-614
  13. Colombo G, Rusconi F, Rubino T, Cattaneo A, Martegani E, Parolaro D, Bachi A, Zippel R. Transcriptomic and Proteomic Analyses of Mouse Cerebellum Reveals Alterations in RasGRF1 Expression Following In Vivo Chronic Treatment with Delta 9-Tetrahydrocannabinol. *J Mol Neurosci*. 2009 37(2):111-22.
  14. Parolaro D, Rubino T. The role of the endogenous cannabinoid system in drug addiction. *Drug News Perspect*. 2008 Apr;21(3):149-57.
  15. Rubino T, Parolaro D. Long lasting consequences of cannabis exposure in adolescence. *Mol Cell Endocrinol*. 2008 Apr 16;286(1-2 Suppl 1):S108-13
  16. Rubino T, Viganò D, Realini N, Guidali C, Braida D, Capurro V, Castiglioni C, Cherubino F, Romualdi P, Candeletti S, Sala M, Parolaro D. Chronic Delta(9)-Tetrahydrocannabinol During Adolescence Provokes Sex-Dependent Changes in the Emotional Profile in Adult Rats: Behavioral and Biochemical Correlates. *Neuropsychopharmacology*. 2008 33(11):2760-71.
  17. Parolaro D, Viganò D, Realini N, Rubino T. Role of endocannabinoids in regulating drug dependence. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2007 Dec;3(6):711-21.
  18. Rubino T, Realini N, Castiglioni C, Guidali C, Viganò D, Marras E, Petrosino S, Perletti G, Maccarrone M, Di Marzo V, Parolaro D. Role in Anxiety Behavior of the Endocannabinoid System in the Prefrontal Cortex. *Cereb Cortex*. 2008 Jun;18(6):1292-301
  19. Braida D, Limonta V, Capurro V, Fadda P, Rubino T, Mascia P, Zani A, Gori E, Fratta W, Parolaro D, Sala M. Involvement of kappa-opioid and endocannabinoid system on Salvinorin A-induced reward. *Biol Psychiatry*. 2008 Feb 1;63(3):286-92.
  20. Rubino T, Guidali C, Viganò D, Realini N, Valenti M, Massi P, Parolaro D. CB1 receptor stimulation in specific brain areas differently modulate anxiety-related behaviour. *Neuropharmacology*. 2008 Jan;54(1):151-60.

### 17.3 Precedenti incarichi istituzionali

(Titolo, istituzione, anno, durata, portata, specificando se trattasi di titolarità o collaborazione)

"Potenzialità terapeutiche del sistema endocannabico nello sviluppo di nuovi farmaci antidepressivi", Cooperazione Scientifica e Tecnologica Internazionale, Regione Lombardia, 2010, durata 18 mesi Responsabile D. Parolaro

"Studio sperimentale dell'interazione tra abuso di steroidi anabolizzanti e cannabinoidi nella depressione: dall'analisi comportamentale ai substrati cellulari" PRIN 2008, durata 24 mesi Responsabile T. Rubino

"Correlati cellulari e molecolari dell'abuso di *Salvia divinorum*: ruolo dei recettori cannabici e k oppioidi" PRIN 2006, durata 24 mesi, Responsabile T. Rubino

"Inhibition of cancer cell proliferation, invasion and antiangiogenic properties of phytocannabinoids in human glioma cell lines" GW Pharmaceutical 2010, durata 24 mesi Responsabile D. Parolaro

Finanziamenti sul Fondo Ricerca Ateneo dell'Università dell'Insubria dal 2002 ad oggi su tematiche inerenti i cannabinoidi

### 17.4 Partecipazione a ricerche, gruppi di lavoro ecc. (Titolo, istituzione, anno)

Collaborazioni scientifiche testimoniate da pubblicazioni su riviste internazionali con i seguenti gruppi e relative tematiche:

Rohini Kuner, Università di Heidelberg: cannabinoidi e dolore

Mauro Maccarrone, Università di Teramo: cannabinoidi e gliomi

Mariaelvina Sala, Università di Milano: modelli sperimentali di autismo, salvinorina

Maria Paz Viveros, Universidad Complutense Madrid: esposizione ai cannabinoidi dopo stress prenatale