



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

Allegato V - Modello per la Presentazione dei Programmi di Tirocini/Stage¹

Consorzio 21
Edificio 2- Polaris
Programma Master and Back
Loc. Piscina Manna
09010 Pula

1. Soggetto Proponente (Operante in Sardegna)

Ragione Sociale : Università degli Studi di Cagliari, Dipartimento di Tossicologia

Indirizzo: Via ospedale, 72 09124 Cagliari

Telefono: 070 6758634 Fax: 070 6758665 E-mail: gadichia@tiscali.it

Rappresentante Legale Prof. Gaetano Di Chiara, Direttore del Dipartimento di Tossicologia

Referente per il Programma Prof. Gaetano Di Chiara

Tipologia

- Università
- Centro di Ricerca Pubblico o Privato
- Impresa
- Associazione Imprenditoriale o di Categoria
- Istituzione Pubblica
- Agenzia di Sviluppo Economico e/o Territoriale

Breve Presentazione del Soggetto Proponente Operante in Sardegna

Il Dipartimento di Tossicologia (sezione Farmacologia e Farmacognosia) diretto dal Prof. Gaetano Di Chiara, ha fornito, dalla sua istituzione ad oggi, un importante contributo, riconosciuto in campo internazionale, allo studio delle Neuroscienze. In modo particolare i numerosi studi, pubblicati su le più prestigiose riviste internazionali (fra cui "Science" e "Nature") hanno contribuito a chiarire i meccanismi biochimici che sottendono alle tossicodipendenze ed ai processi di gratificazione naturale. Le linee di ricerca che si seguono presso il Dipartimento di Tossicologia si estendono anche allo studio del meccanismo d'azione dei farmaci antidepressivi ed antipsicotici e allo studio dei processi neurodegenerativi in modelli animali di

¹ Da compilare a cura del Soggetto Proponente il Programma di Tirocini/Stage su carta intestata. La scheda deve essere inviata al Consorzio 21 anche via mail all'indirizzo: <mailto:masterandbanck.tirocinistage@regione.sardegna.it>.



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

Morbo di Parkinson. Il Dipartimento di Tossicologia fa parte del Centro di Eccellenza per la Neurobiologia delle Dipendenze da farmaci d'abuso nonché del Centro CNR per la Neurofarmacologia (Sezione di Cagliari).

Soggetto Ospitante (Operante Fuori dalla Sardegna)

Ragione Sociale: University of North Carolina at Chapel Hill, Department of Chemistry and Neuroscience Centre

Indirizzo: Venable Hall CB 3290, University of North Carolina, Chapel Hill, NC 27599-3290 USA

Telefono: (919) 843-8164 Fax (919) 962-2388 E-mail rmw@unc.edu

Rappresentante Legale Professor Holden Thorp

Referente per il Programma Professor R. Mark Wightman

Tipologia

- Università
- Centro di Ricerca Pubblico o Privato
- Impresa
- Associazione Imprenditoriale o di Categoria
- Istituzione Pubblica
- Agenzia di Sviluppo Economico e/o Territoriale

Breve Presentazione del Soggetto Ospitante

La North Carolina University at Chapel Hill, è una delle più antiche Università statali degli Stati Uniti e gode di notevole prestigio a livello Internazionale, essendo uno dei migliori Atenei al mondo, secondo quanto sancito dall' "Academic Ranking of World Universities" del 2006. Il gruppo di ricerca del Prof. RM Wightman presso il Department of Chemistry and Neuroscience Centre si occupa di studiare, mediante tecnologie all'avanguardia che utilizzano microelettrodi in fibra di carbonio, gli eventi biochimici che caratterizzano il microambiente extracellulare e che governano la comunicazione tra i neuroni del Sistema Nervoso Centrale. Tali misurazioni, con risoluzione temporale dell'ordine dei nanosecondi, vengono applicate a un'ampia gamma ricerche che vanno dallo studio dei processi di esocitosi, alla caratterizzazione dei eventi neurochimici che sottendono ai fenomeni di gratificazione e apprendimento e alla tossicodipendenza, allo studio delle malattie neurodegenerative. La validità scientifica del soggetto ospitante è comprovata da numerosi lavori scientifici pubblicati su prestigiose riviste internazionali di cui sotto alcune tra le più recenti e significative:



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

1: *Cheer JF, Wassum KM, Wightman RM.*

Cannabinoid modulation of electrically evoked pH and oxygen transients in the nucleus accumbens of awake rats. *J Neurochem.* 2006 May;97(4):1145-54

2: *Venton BJ, Seipel AT, Phillips PE, Wetsel WC, Gitler D, Greengard P, Augustine GJ, Wightman RM.*

Cocaine increases dopamine release by mobilization of a synapsin-dependent reserve pool. *J Neurosci.* 2006 Mar 22;26(12):3206-9.

3: *Wightman RM.*

Detection technologies. Probing cellular chemistry in biological systems with microelectrodes. *Science.* 2006 Mar 17;311(5767):1570-4. Review.

5: *Stuber GD, Wightman RM, Carelli RM.*

Extinction of cocaine self-administration reveals functionally and temporally distinct dopaminergic signals in the nucleus accumbens. *Neuron.* 2005 May 19;46(4):661-9

6: *Lavin A, Nogueira L, Lapish CC, Wightman RM, Phillips PE, Seamans JK.*

Mesocortical dopamine neurons operate in distinct temporal domains using multimodal signaling. *J Neurosci.* 2005 May 18;25(20):5013-23.

2. Accordo/Programma di Collaborazione

Tipologia dell'Accordo/Programma di Collaborazione

- Sviluppo della Ricerca Scientifica e Tecnologica.
- Formazione del Capitale Umano.
- Cooperazione Economica e Sociale.

Descrizione dell'Accordo/Programma di Collaborazione

La dipendenza (*addiction*) ai farmaci e alle "sostanze d'abuso" è una condizione piuttosto complessa caratterizzata dall'incoercibile desiderio di assumere la sostanza (*craving*) e dall'eccessiva facilitazione della ricerca (*seeking*) e dell'assunzione della stessa da parte di stimoli non contingenti ma condizionati al farmaco. Tali stimoli, per esempio i luoghi in cui si è soliti consumare il farmaco o le persone con cui il tossicodipendente fa uso della sostanza, si presentano in maniera imprevista e casuale (*non contingente*), non sono direttamente ricercati dal soggetto in quanto non dotati di per se stessi di proprietà gratificanti, ma tendono ad assumere un valore incentivo perchè predicono la presenza e la disponibilità della droga. Le sostanze solitamente abusate dal tossicodipendente (*droghe*) sono caratterizzate da così dette *proprietà di rinforzo (reward)* poiché tendono a "rinforzare" ed enfatizzare comportamenti ed attività finalizzate alla loro



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

stessa assunzione e gli stimoli ad esse condizionati sono in grado di scatenare il *craving* sia nel tossicodipendente che in soggetti da tempo disintossicati. Le cause della tossicodipendenza sono da ricercare in un'alterazione dei meccanismi cerebrali che controllano la gratificazione e gli stati motivazionali. Infatti i farmaci d'abuso possono essere considerati come dei potenti surrogati degli stimoli gratificanti naturali. Le teorie che tentano di spiegare i meccanismi della tossicodipendenza sono molteplici ma al momento quella che appare più convincente postula che l'uso continuo delle droghe sia in grado di determinare un meccanismo di apprendimento anormale. Tale meccanismo porterebbe al consolidamento mnemonico di un comportamento aberrante qual è la tossicodipendenza, attraverso un'aumentata trasmissione dopaminergica nel *Nucleus accumbens* e nelle regioni cerebrali ed esso connesse. L'uso ripetuto delle droghe, infatti, permette che stimoli neutri o secondari associati ad esse diventino forti stimoli motivazionali in grado di per sé, di condurre l'uomo o l'animale a comportamenti finalizzati all'ottenimento della sostanza d'abuso (*craving*) e sembra abbiano un ruolo fondamentale nei fenomeni di ricaduta nella tossicodipendenza.

Poiché la dopamina svolge un ruolo fondamentale nei fenomeni di gratificazione e nei processi di apprendimento associati alla tossicodipendenza, nella prima fase del programma è previsto l'utilizzo di una metodica che consenta di monitorare i livelli di dopamina nel cervello dell'animale da laboratorio con un'eccellente risoluzione quantitativa e temporale e che verrà applicata, nella seconda fase del programma, ad un modello animale di tossicodipendenza, per studiare gli eventi neurochimici che sottendono ai processi di apprendimento che portano al consolidarsi della tossicodipendenza. I risultati così ottenuti verranno poi confrontati con quanto riscontrato negli studi effettuati presso i nostri laboratori, e di cui sotto elencati i lavori di recente pubblicati, in cui, mediante la metodica della microdialisi cerebrale, è stata valutata la risposta della trasmissione dopaminergica nel *Nucleus accumbens* durante l'acquisizione, il mantenimento e l'estinzione del comportamento operante di autosomministrazione di farmaci d'abuso.

1: Lecca D, Cacciapaglia F, Valentini V, Acquas E, Di Chiara G.

Differential neurochemical and behavioral adaptation to cocaine after response contingent and noncontingent exposure in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006 Aug 24; [Epub ahead of print]

2: Lecca D, Cacciapaglia F, Valentini V, Di Chiara G.

Monitoring extracellular dopamine in the rat nucleus accumbens shell and core during acquisition and maintenance of intravenous WIN 55,212-2 self-administration. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006 Sep;188(1):63-74

3: Lecca D, Cacciapaglia F, Valentini V, Gronli J, Spiga S, Di Chiara G.

Preferential increase of extracellular dopamine in the rat nucleus accumbens shell as compared to that in the core during acquisition and maintenance of intravenous nicotine self-administration. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006 Mar;184(3-4):435-46.



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

Obiettivi:

In questo progetto si propone di utilizzare una metodica (*fast-scan cyclic voltammetry*) che consenta di studiare, in un modello animale di tossicodipendenza, i processi neurochimici che sottendono ai processi di apprendimento incentivo, durante il comportamento operante, correlati alle dipendenze e alla ricaduta nella tossicodipendenza.

Attività Realizzate e/o Previste

Per studiare i processi neurochimici e comportamentali di apprendimento incentivo (durante il comportamento operante) verrà utilizzata la tecnica della *fast-scan cyclic voltammetry* (*voltametria ciclica a rapida risoluzione*) accoppiata alla metodica della “*drug of abuse self-administration*”, (*autosomministrazione di farmaci d'abuso*) questa ultima considerata un modello animale di tossicodipendenza. La *fast-scan cyclic voltammetry* utilizza microelettrodi in fibra di carbonio del diametro di 5-30 μm che consentono di monitorare le variazioni dei livelli dei neurotrasmettitori che si intendono studiare. Tale metodica, rispetto alle altre tecniche utilizzate per l'analisi dei neurotrasmettitori in vivo consente il monitoraggio dei cambiamenti fasici che si susseguono nell'ordine dei millisecondi, permettendo ad un tempo una buona selettività chimica ed una rapidissima risoluzione temporale. La *self-administration* è invece un paradigma sperimentale che consente all'animale da laboratorio di “autosomministrarsi” il farmaco d'abuso attraverso l'impiego di sofisticate apparecchiature per mezzo delle quali, a seguito del completamento di operazioni più o meno complesse, è in grado di ricevere la droga per via endovenosa (comportamento operante). Tale comportamento ricalca molto da vicino quello del tossicodipendente che spende gran parte del tempo della sua giornata in azioni finalizzate all'ottenimento della droga.

Risultati Attesi :

La combinazione delle due metodiche consentirà di studiare il ruolo della trasmissione dopaminergica nelle sub-regioni shell e core del Nucleus accumbens nelle varie fasi del comportamento operante, finalizzato all'autosomministrazione di farmaci d'abuso e nei processi di gratificazione.

Piano di Lavoro:

Gli animali da laboratorio (ratti) verranno sottoposti a chirurgia d'impianto di un catetere cronico, per la somministrazione dei farmaci, nella vena giugulare destra e dei microelettrodi in fibra di carbonio nelle aree cerebrali di interesse.

A seguito della degenza post-operatoria potranno iniziare gli esperimenti combinati di *self-administration* e *fast-scan cyclic voltammetry* al fine di studiare il correlato neurochimico del comportamento di autosomministrazione.

Durante la prima fase, detta di *acquisizione*, l'animale verrà addestrato ad imparare tutte le operazioni necessarie per ottenere la droga. Verranno utilizzate delle specifiche gabbie computerizzate munite di leve che, se azionate dal ratto secondo uno specifico programma di lavoro, consentono l'iniezione della sostanza tramite una pompa collegata al catetere dell'animale all'interno della gabbia. In seguito ad ogni iniezione verrà associato uno stimolo non contingente (per esempio una luce o un suono) che sarà condizionato al



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

farmaco. Durante questa prima fase verrà contemporaneamente monitorata la risposta della trasmissione dopaminergica meso-cortico- limbica mediante *fast-scan cyclic voltammetry* in seguito all'autosomministrazione e alla presentazione degli stimoli condizionati al fine di comprendere i processi di apprendimento implicati nell'acquisizione del comportamento di autosomministrazione.

I medesimi esperimenti verranno condotti per tutta la durata della seconda fase detta di *mantenimento*, in cui al ratto verrà consentito di autosomministrarsi la sostanza per un periodo di tempo stabilito dall'operatore, e durante la terza fase, detta di *estinzione*, in cui all'animale non verrà più data la possibilità di autosomministrarsi (fase di estinzione/astinenza)

Verrà infine studiata nella fase terminale l'importanza degli stimoli condizionati alla droga nella ricaduta nella tossicodipendenza negli animali in cui era stato estinto il comportamento di autosomministrazione. Agli animali verranno infatti presentati gli stimoli condizionati per verificare in quale misura questi ultimi siano in grado di scatenare il craving. L'impiego della metodica della *fast-scan cyclic voltammetry* sarà fondamentale nel monitorare la risposta fasica dei neuroni dopaminergici agli stimoli condizionati per comprendere in quale modo questi ultimi possano facilitare i processi di apprendimento legati all'uso della droga e quale sia il loro contributo nella ricaduta nella tossicodipendenza.

Risorse Professionali Impegnate

Il progetto di tirocinio/stage sopra descritto sarà sviluppato completamente dal soggetto che verrà selezionato, sotto la guida tecnico-scientifica del responsabile del progetto *Professor R. Mark Wightman*.

Risorse Finanziarie Impegnate

Il soggetto ospitante provvederà totalmente all'allestimento dei laboratori in cui si svolgerà la sperimentazione oltre che all'acquisto degli animali da laboratorio, dei composti e dei reagenti per la realizzazione dello studio.

Modalità di Formalizzazione dell'Accordo/Programma di Collaborazione

Il progetto è stato formalizzato mediante una lettera di *agreement* tra il Dipartimento di Tossicologia dell'Università degli Studi di Cagliari ed il Department of Chemistry and Neuroscience Centre della University of North Carolina at Chapel Hill

4. Piano del Tirocinio/Stage²

Obiettivi Formativi

Questo stage offrirà la possibilità di apprendere una sofisticata metodica (*fast-scan cyclic voltammetry*) di cui il Prof. M. Wightman è considerato uno dei migliori esperti a livello mondiale. Inoltre il prestigio di cui gode la North Carolina University a livello internazionale, darà la possibilità di condurre ricerca di base ad alto livello ed in maniera indipendente.

² Sezione da compilare per ciascun Tirocinio/Stage previsto dal Programma



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

Obiettivi Professionali

Il tirocinio/stage consentirà al candidato di arricchire il proprio bagaglio tecnico garantendo ad un tempo una crescita formativa fondamentale per lo svolgimento della professione di ricercatore.

Piano Analitico delle Attività Formative e Professionali

Durante i primi tre mesi il candidato sarà impegnato nell'acquisizione della tecnica necessaria per il monitoraggio della dopamina cerebrale (*fast-scan cyclic voltammetry*).

Durante i successivi nove mesi al candidato verrà proposto di applicare la tecnica appena appresa alla metodica della self-administration sotto la supervisione del Prof. Wightman secondo il seguente programma:

1. Studio del ruolo della trasmissione dopaminergica meso-cortico-libica nell'acquisizione e nel mantenimento del comportamento di autosomministrazione di farmaci d'abuso
2. Studio degli eventi comportamentali correlati alla fase di estinzione e durante la fase di astinenza
3. Valutazione della risposta neurochimica durante la fase di astinenza
4. Studio della risposta neurochimica e comportamentale agli stimoli condizionati al farmaco
5. Studio del ruolo degli stimoli condizionati alla droga nel craving post-astinenza (ricaduta nella tossicodipendenza)

Requisiti Professionali Richiesti³

Laurea in Chimica e Tecnologie Farmaceutiche	Punteggio massimo attribuibile: 15 punti
Laurea in Farmacia	15
Altre Lauree	5
	0
Tesi di laurea con argomento attinente alle Neuroscienze o Neurofarmacologia	Punteggio massimo attribuibile: 5 punti
Argomento non attinente	5
	0
Esperienza certificabile in laboratori di self-administration	Punteggio massimo attribuibile: 20 punti
Da 24 a 36 mesi	20
Da 12 a 24 mesi	10
Da 0 a 12 mesi	5

³ Questi requisiti dovranno essere utilizzati per la valutazione dei Soggetti interessati ai tirocini/stage e quindi devono essere esplicitati in maniera puntuale sotto forma di griglia di valutazione



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

Costi del Tirocinio/Stage⁴

- 1200 euro/mese per 12 mesi per spese di vitto e alloggio

-1000 euro/anno per spese di viaggio

Partecipazione Finanziaria degli Organismi Proponenti⁵

Non sono previsti costi a carico del Dipartimento di Tossicologia per la frequenza del tirocinante/stagista presso il Dipartimento ospitante. La University of North Carolina fornirà le attrezzature scientifiche e di laboratorio necessarie per la conduzione degli esperimenti programmati

Piano di Valorizzazione Professionale del Tirocinante/Stagista⁶

Le nuove competenze acquisite dal partecipante al progetto di tirocinio/stage potranno essere valorizzate, in seguito al ritorno in Sardegna e l'inserimento lavorativo, presso centri di ricerca, pubblici o privati, operanti nell'Isola.

Data di Presentazione delle Candidature per il Tirocinio/Stage: 26 Febbraio 2007

Data di Inizio del Tirocinio/Stage: Aprile 2007

Data di Conclusione del Tirocinio Stage: Marzo 2008

Durata del Tirocinio/Stage (mesi) 12 mesi

Data 21.12.2006

(Firma Legale Rappresentante del Soggetto Proponente)

Si autorizza la Regione Autonoma della Sardegna, anche attraverso i Soggetti Attuatori del Programma Master and Back a:

⁴ Vedasi Paragrafo 3.4.1 della presente Guida.

⁵ Indicare l'importo e le modalità di erogazione.

⁶ Indicare le modalità attraverso le quali gli Organismi proponenti intendono valorizzare, nei 12 mesi successivi alla conclusione del tirocinio/stage, le competenze e le esperienze acquisite dal Tirocinante/Stagista. La realizzazione del Piano di Valorizzazione costituisce un impegno formale per gli Organismi proponenti.



REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

- pubblicizzare sul sito internet del Programma Master and Back e su altra documentazione specifica la presente scheda relativa al Programma di Tirocinio/Stage per il quale si richiede l'erogazione del voucher;

- fornire i propri riferimenti di posta elettronica ai Soggetti interessati a partecipare al Programma di Tirocini/Stage presentato nella presente scheda.

Data 21.12.2006

(Firma Legale Rappresentante del Soggetto Proponente)