

## 2.2.3 Alterazioni dei circuiti mesocorticolimbici nei consumatori cronici di cocaina evidenziati da uno studio di resting-state fMRI

Hong Gu<sup>1</sup>, Betty Jo Salmeron<sup>1</sup>, Thomas J. Ross<sup>1</sup>, Xiujuang Geng<sup>1</sup>, Wang Zhan<sup>1</sup>, Elliot A. Stein<sup>1</sup>, Yihong Yang<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Neuroimaging Research Branch, National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Baltimore, USA

Abstract

Modelli preclinici hanno chiaramente dimostrato l'importanza del sistema di ricompensa cerebrale mesocorticolimbico (MCL) nella dipendenza da droghe, con neuroadattamenti molecolari e cellulari critici identificati in queste strutture a seguito di somministrazione cronica di cocaina. I soggetti con dipendenza da cocaina manifestano alterazioni nel funzionamento di ricompensa probabilmente correlate a cambiamenti indotti dalla cocaina o a differenze preesistenti, collegate alla predisposizione individuale alla dipendenza. Le manifestazioni a livello di circuito di tali alterazioni plastiche indotte dalla droga e di tali predisposizioni alla dipendenza da droga non vengono comprese appieno dai modelli preclinici e sono virtualmente sconosciute nelle dipendenze da droghe nell'uomo. Utilizzando l'analisi di connettività fMRI in stato di riposo dell'intero cervello con voxel di interesse (seed voxel) posti all'interno dei singoli nodi del sistema MCL, abbiamo osservato che la forza della connettività funzionale specifica per network si riduce nei consumatori di cocaina nei diversi circuiti del sistema, tra cui l'area tegmentale ventrale (VTA) e una regione che comprende talamo/nucleo lentiforme/nucleo accumbens, tra l'amigdala e la corteccia prefrontale mediale (mPFC), e tra l'ippocampo e la mPFC dorsale. Inoltre, l'analisi di regressione sulle regioni che presentavano una significativa riduzione della connettività funzionale nei consumatori cronici di cocaina ha rivelato che la forza del circuito tra VTA e talamo/nucleo lentiforme/nucleo accumbens era correlata negativamente agli anni di utilizzo di cocaina. Si tratta della prima dimostrazione di alterazioni correlate al circuito MCL nella dipendenza da cocaina nell'uomo ed è in linea con il range di disturbi cognitivi e comportamentali osservati nella dipendenza da cocaina. Quali potenziali biomarker della dipendenza da cocaina, tali alterazioni nel circuito MCL possono essere utilmente applicate nella definizione del trattamento e nel monitoraggio dell'esito terapeutico.

### 1. Introduzione

La tossicodipendenza è un grave problema di salute pubblica che si manifesta come una spinta compulsiva ad assumere droga senza valutare le pesanti conseguenze negative (Volkow e Li, 2005). Studi di neuroimaging su soggetti tossicodipendenti hanno riferito importanti alterazioni a livello di struttura cerebrale (Franklin et al., 2002; Matochik et al. 2003), neurotrasmettitori (Goldstein e Volkow, 2002), metabolismo (Volkow et al., 1993), attività funzionale (Kalivas e Volkow, 2005; Kaufman et al., 2003) e biochimica (Li et al., 1999; Yang et al., 2009) in particolare nelle regioni generalmente considerate parte del circuito cerebrale di ricompensa mesocorticolimbico (MCL). Tali componenti MCL includono l'area tegmentale ventrale (VTA) e il nucleo accumbens (NAcc), coinvolti nella risposta

agli stimoli di ricompensa; l'amigdala e l'ippocampo, coinvolti nelle funzioni della memoria, in particolare in quelle correlate all'apprendimento degli stimoli e alle associazioni di contesto; il talamo mediodorsale, nodo intermedio che collega il mesencefalo e la corteccia prefrontale, e componente critica dei circuiti talamo-corticali dei gangli basali coinvolti nei disturbi dell'apprendimento comportamentale; la corteccia prefrontale/orbitocentrale (PFC/OFC) e cingolata anteriore (ACC) coinvolte nella gestione emotiva, nelle funzioni cognitive ed esecutive, in particolare nei processi di controllo inibitorio (Everitt e Robbins, 2005). Studi cellulari e molecolari di tossicodipendenza su modelli animali mostrano neuroadattamenti glutammatergici persistenti nella PFC di ratto a seguito di somministrazione cronica di cocaina, alterazioni che sembrano svolgere un ruolo critico nella tossicodipendenza e nelle conseguenti ricadute (Baker et al., 2003). Registrosioni elettrofisiologiche in ratti addestrati all'autosomministrazione di cocaina dimostrano riduzioni significative del firing neuronale tonico nel nucleo accumbens (Hollander e Carelli 2007; Peoples e Cavanaugh, 2003). Nonostante questi e altri studi abbiano messo in luce cambiamenti dei singoli componenti MCL a seguito di assunzione cronica di cocaina, tuttora restano limitati i dati riguardo le conseguenze di queste alterazioni regionali sulle interazioni dinamico-funzionali tra le componenti MCL e le loro proiezioni nei consumatori cronici di cocaina. Il neuroimaging non invasivo rappresenta un importante strumento per studiare le potenziali alterazioni a livello di circuito nella dipendenza da cocaina.

Le interazioni dinamiche intrinseche tra le regioni cerebrali possono essere studiate attraverso fluttuazioni spontanee sincronizzate nel segnale BOLD di risonanza magnetica funzionale (fMRI) (blood oxygenation level dependent) in stato di riposo (Biswal et al., 1995). Sono state osservate le mappe della connettività funzionale cerebrale, in assenza di stimoli esterni, in soggetti in stato cosciente e in primati e roditori anestetizzati in specifici circuiti cerebrali, compresi quelli sensomotori, visivi, uditivi e il sistema "default mode" (Fox et al., 2005; Greicius et al., 2003; Lowe et al. 1998, Lu et al. 2007; Vincent et al., 2007; Xiong et al., 1999). Un'alterazione della connettività funzionale in stato di riposo (rsFC) è stata precedentemente dimostrata in vari disturbi cerebrali, inclusi morbo di Alzheimer (Li et al., 2002), schizofrenia (Liang et al., 2006), depressione grave (Greicius et al., 2007), epilessia (Waites et al., 2006) e disturbo da deficit di attenzione e iperattività (Cao et al., 2009). Recentemente sono state documentate alterazioni della connettività funzionale rsFC collegate alla tossicodipendenza. Hong et al. (2009) hanno riferito connettività funzionale rsFC nella ACC dorsale e nelle regioni striatali che correla negativamente con la gravità della dipendenza da nicotina. Ma et al. (2010) hanno osservato una connettività funzionale nei seed mesocorticolimbici in pazienti in terapia metadonica in stato di riposo che indicava una maggiore connettività nei circuiti coinvolti nell'identificazione di stimoli salienti e una minore connettività nei circuiti coinvolti nel funzionamento esecutivo.

Sebbene per definizione la rsFC non implichi attivazione collegata a un compito, numerosi studi hanno osservato una relazione tra la forza della rsFC e l'attivazione durante compiti che coinvolgono quel circuito specifico (Hampson et al., 2006a,b; Kelly et al. 2008; Seeley et al., 2007). Sulla base di questa relazione, accreditate teorie sulla tossicodipendenza postulano varie ipotesi verificabili di rsFC.

Koob e Le Moal (1997) suggeriscono che un consumo ripetuto di droghe comporta uno spostamento della soglia edonica, tale che le ricompense naturali non risultano più tanto attrattive da motivare il comportamento, e vengono ricercate ricompense iperfisiologiche indotte dalla droga per fornire uno stimolo sufficiente a motivare il comportamento. Sulla base di questa teoria, è presumibile attendersi una riduzione della rsFC nelle regioni preposte all'identificazione e all'elaborazione della salienza degli stimoli, quali VTA, NAcc, rACC

(corteccia cingolata anteriore rostrale), amigdala e ippocampo. Ciononostante Robinson e Berridge (1993) suggeriscono che univocamente le risposte agli stimoli collegati alla droga vengono sensibilizzate e ciò implica che i circuiti coinvolti nella risposta agli stimoli (VTA, NAcc, amigdala e rACC) potrebbero presentare un aumento della rsFC, benché sia possibile che il numero relativamente limitato di stimoli sensibilizzati, rispetto al vasto numero di stimoli per le ricompense non collegate alla droga che si presentano quotidianamente, potrebbe essere insufficiente per produrre un aumento della rsFC. Teorie più recenti che hanno posto l'accento sulla formazione di abitudini superapprese (Di Chiara, 1999; Everitt e Robbins, 2005), prevedrebbero aumenti nei circuiti che coinvolgono i loop talamo-corticali e dei gangli basali. Inoltre, un ipofunzionamento nelle regioni adibite al controllo cognitivo, come avanzato da Jentsch e Taylor (1999) e da Goldstein e Volkow (2002), costituirebbe un fattore prodromico a una ridotta rsFC nelle regioni del controllo prefrontale quali ACC, PFC dorsolaterale e PFC mediale, e le aree coinvolte nella risposta a stimoli collegati alla droga quali VTA, NAcc, amigdala e rACC.

Sulla scorta di quanto esposto, abbiamo ipotizzato che alcuni circuiti specifici evidenziati dalla rsFC collegati al sistema MCL sarebbero risultati alterati nei cocainomani cronici e, poiché si ritiene che tali alterazioni siano correlate ad un'esposizione ripetuta alla cocaina e agli stimoli ad essa legati e che siano alla base della dipendenza, abbiamo altresì ipotizzato che uno o più di questi circuiti sarebbero stati correlati alla durata di utilizzo e/o all'intensità di utilizzo.

## 2. Materiali e metodi

Sono stati reclutati 39 utilizzatori attivi di cocaina (CU) e 39 controlli sani (HC) attraverso un protocollo approvato dall'Institutional Review Board del National Institute on Drug Abuse Intramural Research Program. Prima dell'arruolamento tutti i partecipanti hanno firmato il consenso informato. I potenziali soggetti sono stati valutati attraverso anamnesi completa ed esame fisico, esami di laboratorio routinari, SCID computerizzata con follow-up di intervista clinica e intervista guidata per la valutazione dell'uso di sostanze. I soggetti venivano esclusi se presentavano malattie gravi, precedenti disturbi neurologici o psichiatrici diversi dalla dipendenza da cocaina o nicotina. Nel tentativo di controllare la potenziale influenza di altre droghe o alcol nel gruppo CU, al gruppo HC era consentito aver fatto uso di sostanze in passato o al momento dell'esame, ma non era permessa dipendenza attuale o precedente secondo i criteri DSM-IV (eccetto da nicotina). Il giorno della scansione, tutti i soggetti sono stati valutati sul recente utilizzo di alcol con etilometro e sul recente utilizzo di droghe attraverso un test delle urine per anfetamine, barbiturici, benzodiazepine, cocaina, metadone, PCP, antidepressivi triciclici e THC. I partecipanti positivi all'etilometro sono stati riprogrammati o eliminati dallo studio. I partecipanti fumatori potevano fumare senza limitazioni prima della scansione.

I dati della risonanza magnetica funzionale sono stati raccolti con uno scanner Siemens 3T Allegra MR (Siemens, Erlagen, Germania) dotato di una bobina in quadratura per la testa. I movimenti del capo sono stati ridotti al minimo utilizzando un caschetto in schiuma di poliuretano realizzato singolarmente per ogni partecipante. Durante i 6 minuti di scansione a riposo, ai partecipanti era stato chiesto di chiudere gli occhi e di non pensare a nulla in particolare. Sono state previste 39 sezioni parallele AC-PC di 4 mm di spessore senza interruzioni per coprire il cervello in toto. I dati a riposo sono stati acquisiti utilizzando una

Soggetti

Acquisizione dati

sequenza echo-planar imaging (EPI) basata su singolo gradiente echo con tempo di ripetizione (TR) di 2 s, tempo di echo (TE) di 27 ms, flip angle (FA) di 77°, campo visivo (FOV) di 220x220 mm e risoluzione in piano di 3.44x3.44 mm. A scopo di registrazione, le immagini anatomiche ad alta risoluzione sono state acquisite utilizzando una sequenza pesata in T1 (MPRAGE) gradient-echo rapida con preparazione della magnetizzazione 3D con TR di 2.5 s, TE di 4.38 ms, FA di 7° e dimensione voxel 1 x 1 x 1 mm.

#### Elaborazione dati

L'elaborazione e l'analisi dei dati sono state condotte con AFNI (Cox, 1996), SPM5 (Friston et al., 1995) e MATLAB (The MathWorks, Inc., Natick, MA). La pre-elaborazione prevedeva la correzione "slice-timing", la correzione del movimento, il detrend quadratico e un filtro temporale low-pass con una soglia massima di frequenza di 0.1 Hz per trattenere le componenti di fluttuazione a bassa frequenza che contribuiscono alla connettività funzionale (Biswal et al., 1995; Lowe et al., 1998). Per semplificare l'analisi di gruppo, i dati a riposo sono stati normalizzati spazialmente per lo spazio standard di Talairach con una risoluzione ricampionata di 3 x 3 x 3 mm<sup>3</sup>. È stato effettuato lo smoothing spaziale con un kernel gaussiano di 6 mm per aumentare il rapporto segnale/rumore spaziale. Per allineare ulteriormente i dati funzionali di stato a riposo tra i soggetti, è stato utilizzato un metodo imparziale di registrazione non lineare a livello di gruppo per deformare ogni immagine sottoposta a smoothing spaziale in base a un'immagine di riferimento implicita del gruppo basata su un piccolo modello elastico di deformazione (Geng et al., 2009).

Sono state definite cinque regioni seed posizionando le regioni di interesse (ROI) sferiche di 3 mm bilaterali nel NAcc, nell'amigdala, nell'ippocampo, nel talamo mediodorsale e nella rACC (BA24); una sesta ROI seed comprendeva tutta la VTA (cfr. Tabella 2 per le coordinate del centro di tutte le regioni seed). I centri sferici sono stati posizionati sulla base delle coordinate fornite dal database Talairach Daemon (Lancaster et al., 2000) in ambiente AFNI (Cox, 1996) ove disponibili, o con valori indicati in letteratura (Talairach et al., 1993). I decorsi temporali di riferimento per ognuna delle sei regioni seed sono stati generati facendo la media dei decorsi temporali di tutti i voxel delle ROI. Successivamente è stata ottenuta una mappa del coefficiente di correlazione incrociata (cc) di ogni regione seed correlando il decorso temporale di ogni voxel al corrispondente decorso temporale di riferimento. Nel tentativo di esaminare le specificità e la selettività di ogni alterazione osservata nelle sei regioni MCL ipotizzate, i seed sono stati posizionati anche nella corteccia motoria primaria, uditiva primaria e visiva primaria, regioni generalmente non associate alle manifestazioni comportamentali della tossicodipendenza da cocaina.

Le fluttuazioni globali, presumibilmente originate da effetti sistemici quali la respirazione e i battiti cardiaci, sono state considerate individualmente estraendo le prime tre componenti principali dall'insieme dei decorsi temporali dei voxel della materia bianca, e le prime tre componenti principali dall'insieme dei decorsi temporali dei voxel del fluido cerebrospinale (CSF) (Behzadi et al., 2007). Le maschere della materia bianca e del CSF sono state generate segmentando le immagini strutturali ad alta definizione in SPM5 e facendo il downsampling delle maschere di materia bianca e del CSF, ottenute alla medesima risoluzione dei dati funzionali. Oltre a questi regressori fisiologici, anche i decorsi temporali dei sei parametri di movimento sono serviti come interessanti covariate. Tutti i regressori sono stati applicati prima del filtro temporale low-pass.

Tabella 1 - Caratteristiche demografiche e informazioni sulla dipendenza da sostanze per i consumatori di cocaina e i controlli.

	Consumatori cocaina (n=39)	Controlli sani (n=39)
Età (anni) <sup>1</sup>	38±6,2 (27-47)	40±5,1 (25-49)
Istruzione (anni) <sup>1</sup>	13,2±1,7 (10-16)	12,9±1,3 (10-18)
Punteggio WAIS <sup>1</sup>	58±8,2 (45-76)	58±7,2 (44-73)
Sesso (maschio/femmina) <sup>1</sup>	23/16	29/10
Etnia		
afroamericana	34	28
asiatica	-	1
caucasica	3	9
ispanica	-	1
mista	2	-

Droga	Dipendenza/uso/uso ricreazionale		Dipendenza/uso/uso ricreazionale	
	Attuale	Passato	Attuale	Passato
Cocaina	34/4/1	22/10/7	0/0/0	0/0/0
Alcol	0/2/31	3/9/23	0/1/19	0/2/24
Anfetamine	0	1/0/1	0	0
Barbiturici	0	0/0/1	0	0
Sedativi	0	0/1/0	0	0
Eroina	0/0/1	1/2/4	0	0
Allucinogeni	0	0/1/1	0	0
Sedativi	0	0/0/1	0	0
Nicotina	15/2/14	12/1/18	9/0/5	9/0/5
PCP	0	0/1/2	0	0
Metaqualone	0	1/0/0	0	0
THC	0/5/15	4/9/19	0/0/0	0/0/4

Viene indicata la media ± DS (range)

<sup>1</sup> Non è stata registrata alcuna differenza significativa tra i gruppi per età ( $t_{(76)}=-1.54$ ,  $p=0.13$ ), anni di istruzione ( $t_{(76)}=1.05$ ,  $p=0.30$ ), punteggio WAIS ( $t_{(76)}=-0.25$ ,  $p=0.80$ ), sesso ( $\chi^2=1.44$ ,  $p=0.23$ ) o etnia ( $\chi^2=7.58$ ,  $p=0.11$ ).

<sup>2</sup> Le classificazioni di dipendenza e uso si basano sui criteri DSM-IV. L'uso ricreazionale includeva coloro che avevano utilizzato la sostanza indicata almeno 5 volte nell'arco della vita.

Prima di procedere all'analisi per gruppo, le mappe CC sono state elaborate in trasforma-

Analisi dei dati

te  $z$  di Fisher  $\left(z = \frac{1}{2} \log\left(\frac{1+cc}{1-cc}\right)\right)$  per approssimarsi a una distribuzione normale. Sono stati effettuati t-test a due campioni su mappe a valore  $z$  per ottenere mappe di connettività funzionale di gruppo e per valutare le differenze di gruppo tra i soggetti CU e HC per ogni regione seed. È stata utilizzata una soglia di  $t(38)>3.8$  con dimensione cluster di 38 voxel ( $p$ -value corretto  $<0.001$  sulla base di simulazioni Monte Carlo (Cox, 1996) per generare mappe di connettività funzionale per ciascun gruppo. Sono stati considerati solo i cluster di sostan-

za grigia. La maschera per la sostanza grigia è stata generata in modo analogo alle maschere per la sostanza bianca e il CSF, attraverso segmentazione di immagini strutturali ad alta definizione e successivo downsampling. Considerando che gli effetti del volume parziale della materia bianca e grigia sono generalmente importanti nelle regioni subcorticali, e che i risultati della segmentazione dell'immagine sono generalmente meno accurati in queste regioni, la maschera per la sostanza grigia è stata applicata solo alla parte superiore del cervello ( $z > 6\text{mm}$ ). Le differenze di connettività funzionale tra il gruppo CU e HC sono state valutate per ogni seed utilizzando un modello lineare generale con dipendenza da nicotina come fattore fisso. Per aumentare la sensibilità della rilevazione mantenendo il controllo del tasso di falsi positivi, è stata utilizzata una soglia di  $p\text{-value}_{\text{corretto}} < 0.05$ ,  $t(76) > 2.4$  con una soglia cluster di 43-81 voxel (VTA: 43 voxel, NAcc: 65 voxel; amigdala: 81 voxel; ippocampo: 69 voxel; talamo mediodorsale: 61 voxel; rAcc: 72 voxel) al fine di ottenere una mappa di differenza di gruppo, a condizione che i cluster significativi appartenessero a regioni significative in una o in entrambe le mappe di connettività dei gruppi. Le diverse soglie di dimensione dei cluster riflettono un numero differente di raffronti nelle mappe di connettività di diverse ROI seed.

Tabella 2 - Coordinate del centro dei seed ( $\pm$  indica dove i seed sono definiti bilateralmente).

Seed		Coordinate del centro (Talairach: mm)		
		x	y	z
Seed MCL	Area ventrale tegmentale (VTA)	0	-16	-7
	Nucleo accumbens (NAcc)	$\pm 12$	8	-8
	Amigdala	$\pm 23$	-5	-15
	Ippocampo	$\pm 30$	-24	-9
	Talamo mediodorsale	$\pm 6$	-16	8
	Corteccia cingolata anteriore rostrale (BA24)	$\pm 4$	36	8
Seed sensomotori	Corteccia motoria primaria	$\pm 44$	-8	38
	Corteccia uditiva primaria	$\pm 44$	-34	14
	Corteccia visiva primaria	$\pm 10$	88	5

#### Forza della connettività e uso di cocaina

Per studiare il rapporto tra la forza della rsFC e l'uso di cocaina, sono state effettuate analisi di regressione considerando il numero di anni di uso di cocaina e l'uso attuale, con la dipendenza da nicotina come fattore fisso, utilizzando SPSS16.0 nelle regioni che presentavano una differenza di gruppo (cfr. Tabella 3) per stabilire la correlazione tra forza della connettività (rappresentata dai valori medi  $z$ ) e uso e dipendenza da cocaina.

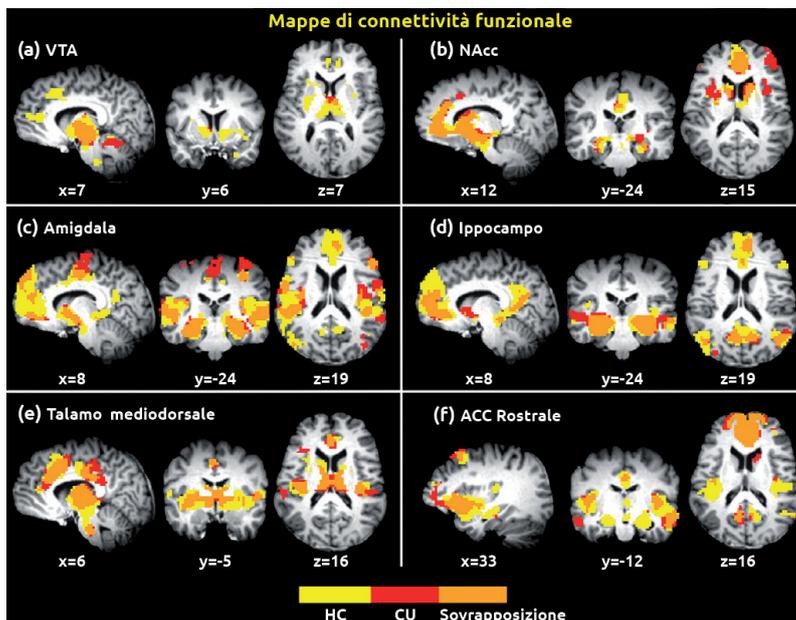
#### Effetti dell'utilizzo recente

Per valutare l'impatto dell'utilizzo recente di cocaina sulla forza della rsFC, il gruppo CU è stato diviso in soggetti positivi al test delle urine il giorno della scansione e soggetti negativi. Tramite t-test a due campioni, sono state valutate le differenze nella mappa di connettività combinata di ogni seed tra il gruppo positivo e il gruppo negativo alla cocaina. Per analizzare gli effetti dell'uso recente è stata utilizzata una soglia di  $t(35) \geq 2.5$  con una soglia cluster di 43-81 voxel  $p\text{-value}_{\text{corretto}} < 0.05$ , valore analogo alla dimensione cluster adottata per generare mappe di differenza di gruppo.

### 3. Risultati

I partecipanti del gruppo CU e del gruppo HC corrispondevano per sesso, età, razza, punteggio WAIS e istruzione. Non si registravano differenze significative nel numero di soggetti dipendenti da nicotina nei due gruppi (15 dipendenti nel gruppo CU vs. 9 dipendenti nel gruppo HC,  $\chi^2=1.50$ ,  $p=0.22$ ). Le caratteristiche demografiche dei partecipanti e le informazioni sull'uso di droghe per entrambi i gruppi sono elencate in Tabella 1. Un'intervista clinica basata sui criteri DSM-IV ha rivelato un utilizzo corrente di cocaina pari a  $\$200\pm 129$  (range  $\$38-\$560$ ) a settimana,  $13.8\pm 6.3$  (range 1-25) anni di uso e  $4.3\pm 2.0$  (range 0-7) criteri DSM-IV per la dipendenza soddisfatti. Trentaquattro dei 39 CU corrispondevano ai criteri DSM-IV per la dipendenza attuale da cocaina. Tutti i consumatori hanno riferito una frequenza di utilizzo giornaliera-settimanale, eccetto un soggetto CU che ha riferito 3-4 binge giornalieri al mese. Il giorno della scansione, il test delle urine di 15 CU è risultato negativo per tutte le droghe testate. 21 individui del gruppo CU sono risultati positivi al test delle urine per la cocaina, con un soggetto positivo anche per il THC. Per quanto riguarda i restanti tre CU, uno era positivo alle anfetamine e al THC, uno era positivo solo al THC, mentre i risultati di un partecipante CU non sono stati acquisiti.

Figura 1 - Mappe di connettività funzionale di sei seed MCL di soggetti di controllo (giallo) e consumatori di cocaina (rosso) in stato di riposo ( $p\text{-value}_{\text{corretto}} < 0.001$ , con  $t(38) > 3.8$  e dimensione cluster 38 voxel). Le mappe sono sovrapposte ai fini di visualizzazione. Il colore arancione indica le aree sovrapposte per entrambi i gruppi.



Seppur di estensione ridotta nel gruppo CU, le mappe rsFC nei soggetti CU e HC risultavano analoghe per ciascuna delle sei regioni seed del sistema MCL, risultando generalmente in linea con le connessioni anatomiche conosciute secondo quanto attestato nell'uomo e nei primati all'esame autoptico (Parent 1996, vedi Figura 1). Tutte le ROI del seed MCL sono funzionalmente connesse ad altre componenti del sistema limbico e alle relative strutture strettamente collegate. Di contro, le regioni seed della corteccia motoria primaria, visiva primaria e uditiva primaria non hanno evidenziato nessuna componente correlata al sistema limbico.

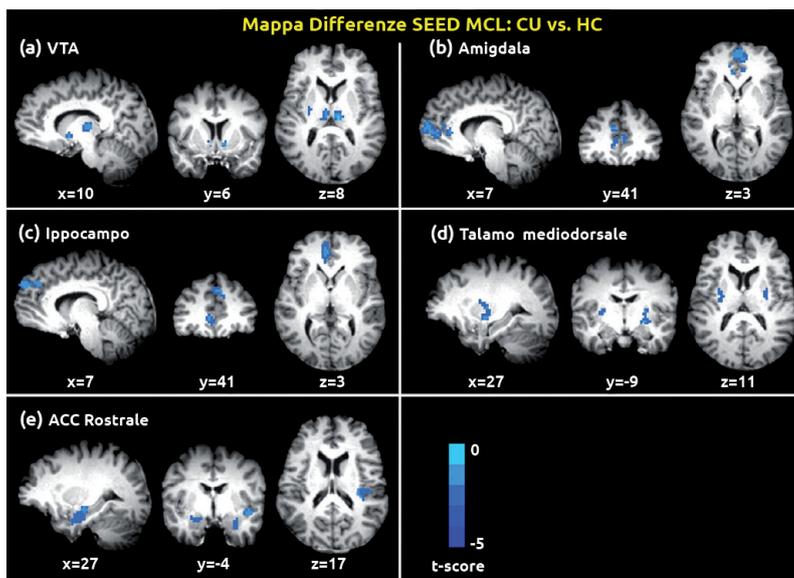
Le Tabelle S1 e S2 del materiale integrativo elencano tutte le regioni funzionalmente connesse alle sei regioni seed dei soggetti HC e CU, in particolare la VTA presenta significative fluttuazioni correlate con gangli basali, NAcc, talamo, area paraippocampale, rACC/ mPFC e giro frontale medio. La mappa seed del NAcc include striato, mPFC, ACC, corteccia cingolata posteriore (PCC) e area paraippocampale. L'amigdala presenta connettività con l'area paraippocampale, mPFC/ACC, striato, insula, NAcc, giro temporale, giro precentrale e postcentrale. La mappa dell'ippocampo registra connessioni presunte con il fascicolo uncinato e/o commissure del fornice con il giro retto e la corteccia frontale mediale, nonché proiezioni di fibre non pertinenti al fornice verso la corteccia entorinale e l'area della corteccia cingolata posteriore e retrospleniale. Il talamo mediodorsale presenta connettività con ACC dorsale e rostrale, giro frontale medio, insula, gangli basali. Infine il seed della rACC mostra connessioni con OFC, amigdala, striato, NAcc, PCC e insula.

**Tabella 3 - Regioni che mostrano differenze significative tra consumatori di cocaina CU e soggetti di controllo HC.**

Seed		Regioni di differenza (area di Brodmann)	Emisfero	Picco (Talairach)			Picco t	Dimensione cluster (voxel)
				x	y	z		
Seed MCL	VTA	Talamo/nucleo lentiforme/NAcc	Sinistro	-26	-17	3	-4,01	186
		Talamo	Destro	8	-20	9	-5,05	45
	Amigdala	Corteccia prefrontale mediale/ACC rostrale (BA10/9/24)	Bilaterale	2	56	6	-4,12	316
		Ippocampo	Corteccia prefrontale mediale/superiore frontale (BA8/6/9)	Bilaterale	5	44	39	-3,76
	ACC Rostrale (BA32/10)		Sinistro	-8	44	3	-3,80	70
	Talamo mediodorsale	Nucleo lentiforme/putamen	Destro	26	-8	-4	-3,30	83
		Nucleo lentiforme/putamen	Sinistro	-29	-20	3	-3,68	62
	rACC (BA24)	Giro temporale trasversale/insula (BA41/13)	Destro	47	-26	12	-3,56	171
		Giro paraippocampale/ amigdala/ ippocampo (BA35)	Sinistro	-23	-20	-10	-3,54	146
		Giro paraippocampale/ amigdala/ ippocampo	Destro	29	-17	-13	-3,57	75
	NAcc		Nessuna differenza					
Seed sensomotori	Visiva primaria (BA17)	Giro fusiforme/giro linguale (BA18)	Destro	17	-83	-22	3,89	100
		Giro fusiforme/giro linguale (BA18/17)	Sinistro	-17	-92	-19	3,35	94
	Motoria primaria		Nessuna differenza					
	Uditiva primaria		Nessuna differenza					

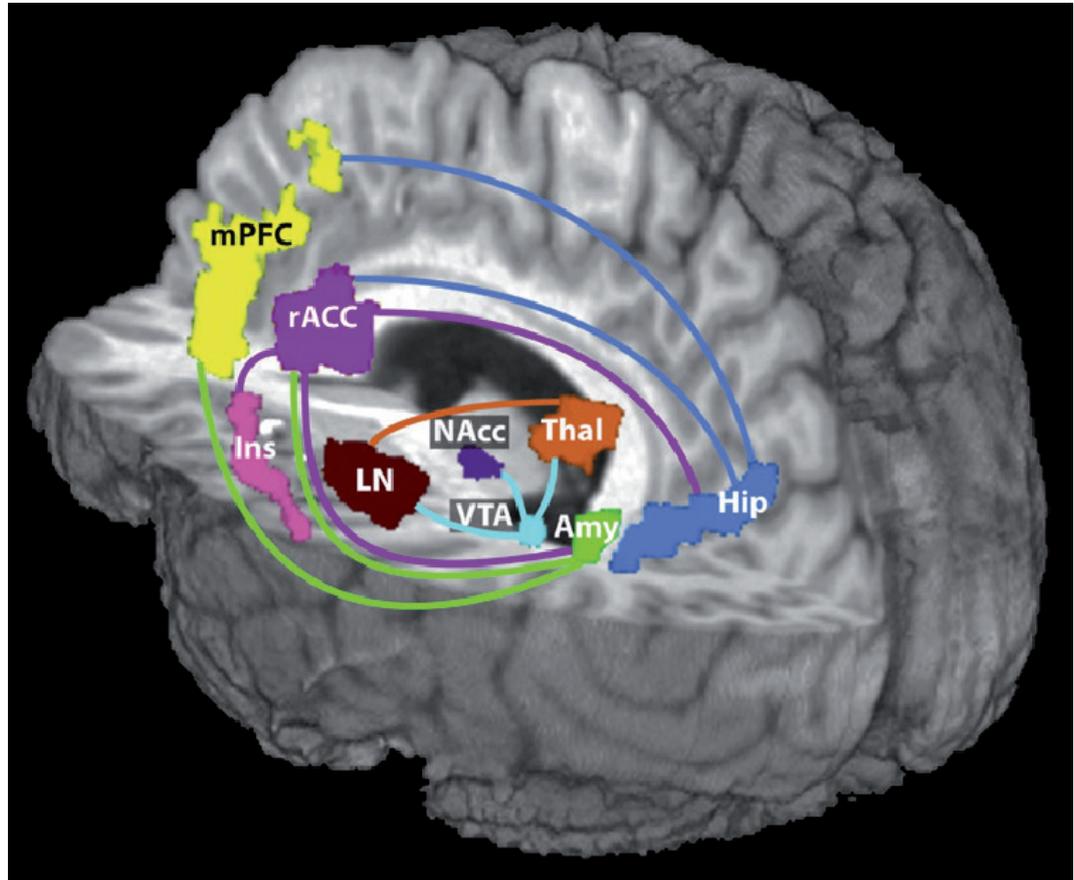
Rispetto ai partecipanti HC, i soggetti CU mostrano notevoli riduzioni della forza della rsFC in cinque delle sei regioni seed MCL, mentre non sono state osservate differenze con il seed NAcc (vedi Figura 2). I seed di amigdala e ippocampo presentano una riduzione della sincronia con singole porzioni della mPFC. Si rileva una riduzione di connettività reciproca tra ACC rostrale e amigdala, e tra ACC rostrale e ippocampo. Sia i seed della VTA sia quelli del talamo mediodorsale presentano una riduzione della rsFC con il nucleo lentiforme/putamen. È stata rilevata una riduzione della forza della rsFC anche tra il seed della VTA, il talamo bilaterale e il NAcc destro. L'ACC rostrale presenta una riduzione della forza della connettività con l'insula posteriore e porzioni del giro temporale, oltre all'amigdala. La Tabella 3 elenca tutte le regioni con differenze significative di rsFC nei soggetti CU rispetto ai soggetti HC; la Figura 3 riassume schematicamente tali differenze di gruppo. Non sono state osservate differenze significative tra i soggetti CU e HC nella corteccia motoria primaria e uditiva primaria. Tuttavia, quando i seed si trovavano nella corteccia visiva primaria sono stati registrati importanti aumenti nel giro fusiforme bilaterale e nel giro linguale (Figura S1 del materiale integrativo).

Figura 2 - Differenze significative di connettività funzionale in soggetti dipendenti da cocaina rispetto a controlli sani ( $p\text{-value}_{\text{corretto}} < 0.05$  con  $t(76) > 2.4$  e dimensione cluster 43-81 voxel), con seed localizzati: (a) nella VTA, (b) nell'amigdala, (c) nell'ippocampo, (d) nel talamo mediodorsale, (e) nell'ACC rostrale (BA24). Per ulteriori dettagli cfr. Tabella 3.



L'analisi di regressione nelle regioni che presentano differenze di connettività tra i gruppi rivela un'evidente correlazione negativa tra la forza della rsFC e gli anni di utilizzo di cocaina in due circuiti: seed VTA-talamo destro e seed VTA-talamo sinistro/nucleo lentiforme sinistro/NAcc destro ( $p\text{-value}_{\text{corretto}} < 0.05$ ) (Fig. 4). Per testare le specificità anatomiche, i cluster connessi alla VTA che presentavano correlazioni negative significative sono stati divisi manualmente in sottoregioni del talamo e del nucleo lentiforme, sulla base della delineazione anatomica standard. È stata condotta la medesima analisi di regressione, e i risultanti valori di regressione della forza di connettività tra il seed VTA e le singole sottoregioni presentano tutti una correlazione negativa con gli anni di utilizzo di cocaina, analoga a quella osservata in tutti i cluster. Non è stata rilevata alcuna relazione significativa tra l'uso di cocaina attuale e la forza di connettività funzionale.

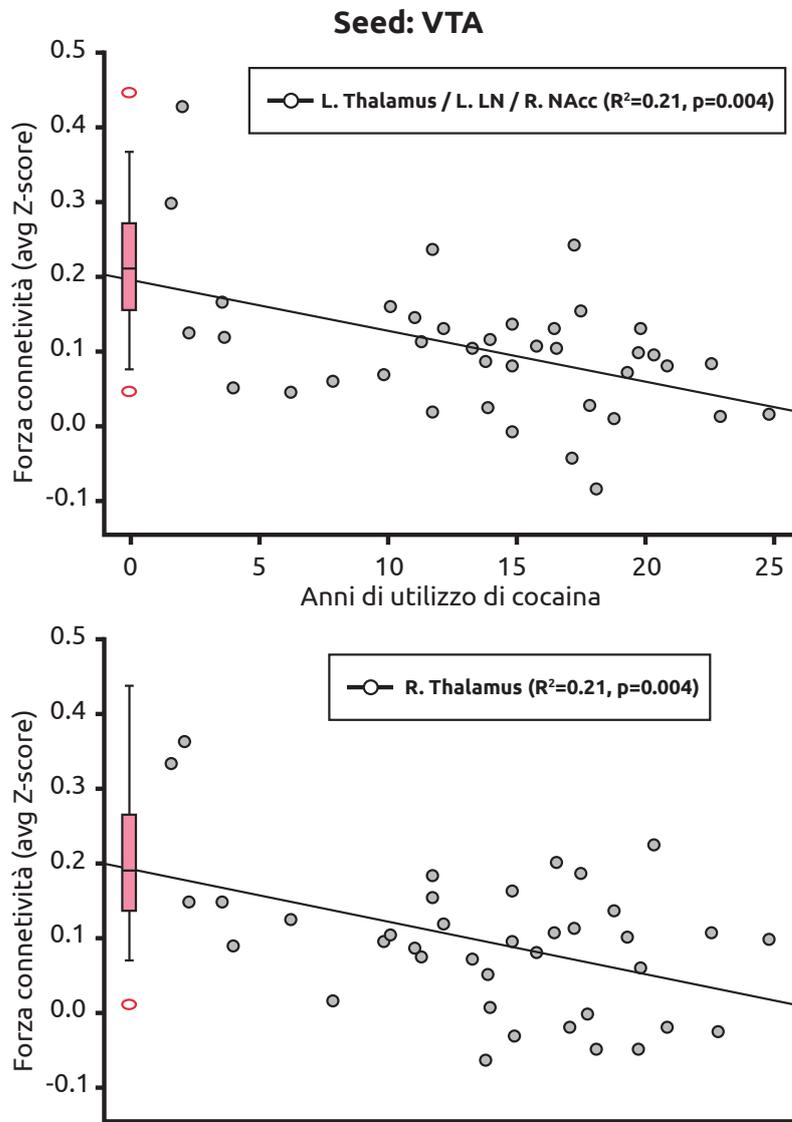
Figura 3 - Rappresentazione schematica delle regioni con riduzione della connettività funzionale (indicata dalle linee colorate) nei consumatori di cocaina rispetto ai controlli sani. Le linee corrispondono al colore delle regioni seed cui era associata la riduzione di connettività. L'amigdala e la rACC, così come l'ippocampo e la rACC, presentavano entrambe una riduzione quando il corrispettivo era la regione seed. La VTA presentava connettività ridotta con gran parte del talamo, inclusa la regione seed del talamo mediodorsale. VTA: area ventrale tegmentale; NAcc: nucleo accumbens; Amy: amigdala; Hip: ippocampo; Thal: talamo; rACC: corteccia cingolata anteriore rostrale; mPFC: corteccia prefrontale mediale; Ins: insula; LN: nucleo lentiforme.



#### Effetti dell'utilizzo recente

Il gruppo risultato positivo al test dell'urina per la cocaina consisteva di 20 CU positivi solo alla cocaina e di un CU positivo a cocaina e THC. Il gruppo risultato negativo al test dell'urina per la cocaina comprendeva 15 CU negativi a tutte le droghe testate e un CU positivo solo al THC per equilibrare un positivo al THC nel gruppo positivo alla cocaina. Non vi erano differenze significative tra i due gruppi a livello di età, sesso, razza, QI e anni di utilizzo di cocaina. Tuttavia, il gruppo positivo al test dell'urina per la cocaina aveva in media un anno di istruzione in meno ( $12.5 \pm 1.2$  vs  $13.5 \pm 1.2$ ,  $p=0.2$ ). Non veniva rilevata alcuna differenza significativa tra i due gruppi nella forza della rsFC per nessun seed MCL eccetto l'amigdala, in cui i soggetti positivi al test dell'urina presentavano una riduzione della rsFC nell'insula posteriore sinistra ( $p\text{-value}_{\text{corretto}} \leq 0.05$ ). Inoltre, è stata osservata una maggiore forza della rsFC nel gruppo positivo alla cocaina tra il seed della corteccia motoria primaria e l'insula anteriore sinistra (cfr. Fig. S2 del materiale integrativo). Queste regioni non si sovrapponevano alle regioni che presentavano differenze tra CU e HC.

Figura 4 - Analisi di regressione multipla ( $p\text{-value}_{\text{corretto}} < 0.05$ ) con correlazione negativa tra la forza della rsFC (indicata con il valore z medio) e il numero di anni di uso di cocaina nel circuito VTA-talamo/nucleo lenticiforme/NAcc ( $R = -0.47$ ,  $p\text{-value}_{\text{corretto}} = 0.004$ ). Il box plot a sinistra riassume la forza della connettività del gruppo HC nella ROI corrispondente; i pallini rappresentano i valori anomali del gruppo HC.



## 4. Discussione

In questo studio abbiamo identificato sei reti funzionali collegate al sistema mesocortico-limbico (VTA, NAcc, talamo mediodorsale, amigdala, ippocampo e rACC) sulla base della sincronizzazione della fluttuazione del segnale BOLD in stato di riposo. Tali reti funzionali coinvolgono molteplici regioni corticali e subcorticali notoriamente coinvolte nei processi di ricompensa, apprendimento, memoria e regolazione emotiva e sono compatibili con le connessioni anatomiche conosciute tra queste regioni. Rispetto ai controlli sani, i consumatori di cocaina presentano una connessione di rete analoga ma con una riduzione quasi universale della forza della connettività per ogni regione MCL studiata eccetto il NAcc. Di contro, mentre i seed della corteccia motoria primaria, uditiva primaria e visiva primaria mostravano una connettività con le regioni corticali e talamiche previste, non si registrava alcuna differenza significativa tra le mappe dei gruppi CU e HC quando i seed si trovavano

nella corteccia motoria e uditiva primaria; il seed della corteccia visiva primaria in effetti presentava un'aumentata connettività con il giro fusiforme bilaterale e il giro linguale nel gruppo CU.

Sebbene per definizione la rsFC non dimostri direttamente l'attivazione cerebrale durante un compito né una sua correlazione con un determinato comportamento sul compito, è stato dimostrato che la forza della rsFC predice la performance di esecuzione al compito comportamentale che richiede l'attivazione di quel circuito (Hampson et al., 2006a,b; Kelly et al., 2008; Seeley et al., 2007). Queste osservazioni suggeriscono che le fluttuazioni sincrone durante il resting-state sono correlate all'abilità di particolari circuiti ad agire appropriatamente quando sollecitati ad eseguire un compito. Dal canto loro Smith et al. hanno recentemente riferito che le reti dello stato di riposo, identificate utilizzando un'analisi delle componenti indipendenti (metodo analitico basato su dati) in 36 soggetti, presentavano reti virtualmente identiche come osservato in una meta-analisi su circa 30.000 soggetti che eseguivano un compito cognitivo categorizzato secondo una o più delle 66 classificazioni di ambito comportamentale, suggerendo che le reti funzionali utilizzate dal cervello per svolgere virtualmente tutte le elaborazioni cognitive 'sono comunicanti' anche in assenza di un compito formale attivo (Smith et al., 2009). I risultati attuali indicano così alterazioni a livello di circuito nel sistema di ricompensa MCL che potrebbero essere alla base di disturbi comportamentali osservati nei soggetti dipendenti da cocaina.

In particolare, il seed dell'amigdala presentava una riduzione della connettività funzionale in stato di riposo (rsFC) nel gruppo CU con la corteccia prefrontale media (mPFC), connessione ritenuta importante per il reversal learning (Chachich e Powell, 1998). Questo costrutto è stato mostrato deficitario nei cocainomani (Ersche et al., 2008) e si ritiene che ciò sia correlato alla difficoltà del consumatore di apprendere che gli stimoli legati alla cocaina potrebbero non segnalare più una ricompensa dopo che l'utilizzo ha assunto una connotazione problematica. L'ippocampo ha dimostrato una riduzione della rsFC con la mPFC, regione coinvolta nell'elaborazione delle informazioni rilevanti e dei ricordi emotivi (Buckner et al., 2008). I consumatori di cocaina presentano una marcata carenza nella capacità di ricordare le conseguenze negative dell'utilizzo passato, ed integrano questi ricordi nei processi decisionali (Washton, 1986). Tale difficoltà nel ricordare può riflettere anche una difficoltà ad apprendere dai risultati negativi. La ridotta forza della rsFC del circuito VTA-Nacc può essere sintomatica di un danneggiamento del sistema di segnalazione della dopamina con errore di differenza temporale che, come è stato dimostrato, risulta necessario per l'apprendimento di nuove associazioni stimolo-ricompensa (Schultz, 2002).

Il seed del talamo mediodorsale ha riscontrato una riduzione della rsFC nel gruppo CU cocaina con estese regioni striatali. Questi circuiti sono considerati importanti per focalizzare e mantenere i comportamenti desiderati sopprimendo nel contempo i comportamenti non desiderati (Haber e McFarland, 2001). È noto che i cocainomani hanno difficoltà con l'inibizione della risposta (Kaufman et al., 2003; Verdejo-Garcia et al., 2007), il che probabilmente contribuisce alla loro propensione alla ricaduta in presenza di stimoli correlati alla cocaina. Infine i seed della rACC hanno dimostrato una riduzione della connettività nei soggetti CU con l'insula e l'amigdala, aree importanti per il funzionamento emotivo (Stein et al., 2007). Le difficoltà emotive sono caratteristiche dell'astinenza da cocaina (American Psychiatric Association, 1994), e registrano un'elevata comorbidità con i disturbi dovuti all'uso di cocaina sebbene il presente studio avesse escluso i soggetti che non corrispondevano ai criteri diagnostici per i disturbi dell'umore e dell'ansia.

L'assenza di differenze dal seed Nacc è stata inaspettata. Tuttavia, è stata ipotizzata una correlazione tra la dipendenza da cocaina e la formazione di abitudini devianti. Se così fos-

se l'alterazione della connettività, molto probabilmente aumentata, potrebbe essere attesa nello striato dorsale anziché nello striato ventrale/NAcc, poiché è stato dimostrato uno spostamento nei circuiti striatali dal ventrale al dorsale con il progredire della tossicodipendenza (Porrino et al., 2007).

Ma et al. (2010) hanno condotto uno studio analogo al nostro su soggetti eroinomani, la maggior parte dei quali in trattamento con metadone. Gli autori hanno riferito una maggior connettività funzionale dal NAcc e dall'amigdala verso varie regioni frontali, ed una minor connettività funzionale tra le regioni frontali coinvolte nella funzione esecutiva. Un'importante differenza tra i due studi, a parte ovviamente il consumo di droga, è che i partecipanti erano per la maggior parte sotto gli effetti acuti del metadone. Come evidenziato nella discussione, il metadone può aumentare le risposte agli stimoli legati alla droga (Curran et al., 1999; Langleben et al., 2008) con effetti profondi sui circuiti dei recettori oppioidi mu (Gray et al., 2006). La differenza rispetto ai nostri risultati può pertanto essere imputabile agli effetti acuti della droga presenti nel suddetto studio. Inoltre, al fine di risolvere queste discrepanze in termini di risultati, sarà necessaria un'ulteriore indagine sui soggetti tossicodipendenti in fase di assunzione acuta di cocaina ed eroina, e non in trattamento con metadone.

Mentre nessuno dei nostri partecipanti registrava un'intossicazione acuta, 21 risultavano positivi al test dell'urina per la cocaina, a dimostrazione di un uso della sostanza nei 3-4 giorni precedenti. Un utilizzo recente era associato a una riduzione della connettività tra il seed dell'amigdala e l'insula posteriore sinistra e a un aumento della connettività tra il seed della corteccia motoria primaria e l'insula anteriore sinistra. Tuttavia queste regioni, influenzate dal consumo recente, non si sovrapponevano alle regioni che presentavano una diminuzione della rsFC nel gruppo cocaina. Laddove l'insula è importante per l'elaborazione delle informazioni sulle sensazioni corporee interne associate all'uso di cocaina e svolge un ruolo nel craving, il significato specifico della connettività tra amigdala e corteccia motoria e insula deve essere approfondito.

I nostri risultati sono sostanzialmente in linea con quelli di una riduzione della densità di sostanza bianca nella mediale frontale, nella rACC e nell'insula nei consumatori di cocaina (Franklin et al., 2002) e di riduzione dell'integrità della sostanza bianca nelle regioni frontali inferiori, anche nei soggetti cocainomani (Lim et al., 2008). Le riduzioni di densità della sostanza grigia possono provocare una minor connettività funzionale, a seconda delle popolazioni cellulari responsabili della differenza di densità. Nella misura in cui la connettività funzionale riflette le connessioni anatomiche (Krienen e Buckner, 2009), la ridotta integrità della materia bianca potrebbe provocare una ridotta connettività funzionale.

Da un punto di vista teorico, i nostri risultati sono più coerenti con l'ipotizzata riduzione della soglia edonica (Koob e Le Moal, 1997). Se la forza della rsFC è collegata alla capacità di impegnare un circuito quando viene richiesto di svolgere un compito, una riduzione della connettività nel sistema MCL suggerirebbe un maggior bisogno di stimolazione per impegnare i pathway della ricompensa (e altri pathway cognitivi), portando così a uno spostamento dall'interesse e dalla capacità di ricompense naturali per attivare il sistema, al bisogno di ricompense sopra fisiologiche indotte dalla droga per impegnare i circuiti MCL. Tale ipotesi potrebbe essere testata direttamente sui consumatori in assenza e in presenza di somministrazione acuta di cocaina.

Evidenze recenti indicano chiaramente che la connettività funzionale è riflesso di ed è costretta da pathway neuroanatomici sottostanti (Krienen e Buckner, 2009). Nel presente studio il pattern di connettività del seed della VTA ha dimostrato una significativa ed attesa relazione con lo striato e con le regioni prefrontali. Meno attesa è stata la rilevante con-

nettività osservata tra la VTA e il talamo in entrambi i gruppi HC e CU, con ampie porzioni del talamo che evidenziavano marcate differenze tra i gruppi. Sebbene sia noto che la VTA presenta proiezioni verso numerosi nuclei talamici, ivi compreso il nucleo mediodorsale, la funzione di tali proiezioni ha ricevuto modesta attenzione in letteratura (Oades e Halliday, 1987), nonostante sia dimostrato che le lesioni del talamo mediodorsale riducono l'autosomministrazione di cocaina nel ratto (Weissenborn et al., 1998). Recentemente è stata riferita ipoattività talamica nei consumatori di cocaina che svolgono un compito di attenzione visiva, risultato presumibilmente correlato alle difficoltà di attenzione e di percezione nei tossicodipendenti (Tomasi et al., 2007). Alla luce di questi risultati, le funzioni talamiche nei soggetti cocainomani meriterebbero studi più approfonditi.

Un elemento importante per l'interpretazione dei risultati di uno studio trasversale come il nostro è se le differenze tra i gruppi siano o meno una conseguenza dell'uso cronico di droghe o, in alternativa, un riflesso di differenze preesistenti che rendono alcuni individui predisposti alla dipendenza. La letteratura preclinica fornisce ampio sostegno al concetto secondo cui l'uso cronico di cocaina produce alterazioni permanenti nei circuiti MCL e, di fatto, ci ha orientato nella scelta delle nostre regioni seed (Koob e Le Moal, 2001). Tuttavia molti dati sottolineano le influenze genetiche nella dipendenza da cocaina (Kreek et al., 2005; Saxon et al., 2005), necessariamente antecedenti agli effetti della cocaina. Come primo passo nell'identificazione dei circuiti che sono stati alterati dall'utilizzo cronico di cocaina, abbiamo correlato la forza della connettività con gli anni di utilizzo di cocaina e con l'utilizzo attuale di cocaina. È stata individuata una significativa correlazione negativa con gli anni di utilizzo di cocaina tra il seed VTA e il talamo bilaterale/nucleo lentiforme sinistro/NAcc destro. Di fatto, i soggetti con meno anni di consumo di cocaina presentavano una forza di connettività compresa nel range dei controlli sani, mentre quelli con più anni di assunzione presentavano una connettività più debole. Poiché si ritiene che una riduzione della connettività indichi maggiori difficoltà ad impegnare un circuito su base volitiva quando necessario, questa osservazione appare in linea con il rilievo clinico secondo cui i soggetti dipendenti da cocaina ricercano la stimolazione sopraffisiologica della cocaina rispetto a ricompense naturali (American Psychiatric Association, 1994). Anche studi preclinici sostengono la maggiore capacità di attivazione della ricompensa della cocaina: data la possibilità di scelta, il ratto si autosomministra cocaina rispetto a ricompense naturali (Grigson e Twining, 2002). Inoltre, solo l'autosomministrazione di cocaina, ma non la cocaina passiva o il cibo, può indurre un potenziamento sinaptico persistente della VTA resistente all'estinzione del comportamento, il che può rappresentare un fenomeno fondamentale che determina un comportamento di ricerca della droga (Chen et al., 2008). Sebbene il numero di anni di utilizzo della cocaina non sia stato indicato come un elemento che permette di prevedere il risultato del trattamento (Poling et al., 2007), questi dati possono tuttavia dimostrare neuroadattamenti importanti caratterizzanti la condizione clinica. Tale presupposizione richiede ulteriore conferma, se necessario utilizzando l'attivazione del compito di ricompensa e paradigmi di scelta nei consumatori di cocaina.

Sebbene la maggior parte degli studi di imaging sull'uomo riferiscano alterazioni della regione limbica e frontale nei consumatori di cocaina, il probabile ruolo di un coinvolgimento della regione sensoriale e motoria primarie nella dipendenza da cocaina è stato precedentemente ipotizzato. Kosten et al. (2006) riferiscono che la ricaduta nella dipendenza da cocaina è associata ad un aumento dell'attivazione a stimoli legati alla sostanza nelle aree dell'associazione sensoriale e motoria corticale unitamente alla corteccia cingolata posteriore. Tomasi et al. (2007) hanno dimostrato che i consumatori di cocaina presentavano una maggiore attivazione occipitale in un compito di attenzione visivo-spaziale prolungato.

Benché nel nostro studio non sia stata rilevata nessuna differenza nella forza della connettività tra i gruppi HC e CU, quando le regioni seed si trovavano nella corteccia motoria o uditiva, abbiamo invece osservato un aumento di connettività tra un seed nella corteccia visiva e il giro fusiforme bilaterale e linguale. Il significato di queste osservazioni non è chiaro poiché non è stata effettuata un'approfondita caratterizzazione comportamentale dei nostri soggetti con la necessaria elaborazione visiva. Tuttavia questo risultato, insieme a quelli precedentemente citati, dimostra l'importanza di comprendere i cambiamenti plastici nella funzione cerebrale dei consumatori di cocaina al di là dei tradizionali circuiti correlati alla ricompensa. Infine, i risultati nulli con i seed nella corteccia motoria primaria e uditiva primaria insieme all'aumento della connettività visiva del seed nel gruppo CU, dimostrano la selettività e la specificità delle riduzioni di connettività limitate al sistema mesocorticolimbico qui osservate.

Alcuni limiti di questo studio andrebbero discussi. Va sottolineato che la direzionalità del circuito tra i nodi non può essere stabilita sulla base dell'analisi della rsFC, e non viene pertanto indicata in questi dati. La questione della direzionalità dell'influenza nei circuiti interessati dovrà essere analizzata con altre tecniche. Va altresì aggiunto che la presenza di connessioni anatomiche dirette non deve essere desunta dall'analisi della connettività funzionale sebbene, come osservato, i dati sostengano fortemente questa ipotesi. Tuttavia, poiché la cocaina influenza tutti i tre maggiori sistemi monoaminergici (dopamina, norepinefrina e serotonina) che svolgono una funzione di elaborazione neuronale modulatrice, le differenze da noi riscontrate nella connettività funzionale possono essere correlate a un comune input alterato da uno o più di questi sistemi.

Un altro limite è che i partecipanti non sono stati interrogati direttamente su ciò cui stavano pensando durante la scansione in stato di riposo. Sebbene nessuno nel gruppo CU presentasse segnali palesi di craving, è possibile che pattern ritenuti comuni tra i dipendenti da cocaina abbiano contribuito alle differenze riscontrate in questo studio. Infine, laddove non vi era alcuna differenza significativa nel numero di fumatori con dipendenza da nicotina nei gruppi CU e HC, i fumatori occasionali nel gruppo CU erano più numerosi, il che riflette il fenomeno relativamente comune di molti consumatori di cocaina che fumano solo quando assumono la droga. Pertanto è difficile distinguere completamente gli effetti collegati alla nicotina da quelli collegati alla cocaina. Perciò, nella misura in cui si ritiene che le sostanze d'abuso utilizzino un pathway finale comune che coinvolge le strutture mesocorticolimbiche, è possibile che i nostri risultati riflettano le differenze comuni alla nicotina e alla cocaina. L'assenza di differenze nei seed MCL, nel raffronto tra fumatori dipendenti e il resto della coorte, conferma la conclusione che i nostri risultati sono ampiamente ascrivibili a proprietà specifiche dei consumatori di cocaina. Saranno necessari ulteriori studi per delucidare compiutamente questo aspetto.

In base ai dati in nostro possesso, questo studio riporta le prime anomalie a livello di circuito nel soggetto consumatore di cocaina e dimostra riduzioni molto estese nella connettività di molteplici componenti del sistema MCL, comportando una possibile difficoltà nell'adeguata attivazione della ricompensa e dei circuiti emotivi e dell'apprendimento nei cocainomani. Sarebbe di grande interesse studiare più approfonditamente quanto siano plastici questi adattamenti apparentemente naturali e la loro potenziale candidatura come biomarker utilizzabili per valutare l'adattamento del trattamento e la previsione del risultato. Studi prospettici sarebbero di estrema utilità per esplorare la relazione tra la connettività dei pathway MCL e specifiche caratteristiche comportamentali della dipendenza.



## Bibliografia

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4. American Psychiatric Association; Washington, DC: 1994.
2. Baker DA, McFarland K, Lake RW, Shen H, Tang XC, Toda S, Kalivas PW. Neuroadaptations in cystine-glutamate exchange underlie cocaine relapse. *Nat Neurosci.* 2003;6:743–749.
3. Behzadi Y, Restom K, Liu J, Liu TT. A component based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion based fMRI. *Neuroimage.* 2007;37:90–101.
4. Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med.* 1995;34:537–541.
5. Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1124:1–38.
6. Cao X, Cao Q, Long X, Sun L, Sui M, Zhu C, Zuo X, Zang Y, Wang Y. Abnormal resting-state functional connectivity patterns of the putamen in medication-naive children with attention deficit hyperactivity disorder. *Brain Res.* 2009;1303:195–206.
7. Chachich M, Powell DA. Both medial prefrontal and amygdala central nucleus lesions abolish heart rate classical conditioning, but only prefrontal lesions impair reversal of eyeblink differential conditioning. *Neurosci Lett.* 1998;257:151–154.
8. Chen BT, Bowers MS, Martin M, Hopf FW, Guillory AM, Carelli RM, Chou JK, Bonci A. Cocaine but not natural reward self-administration nor passive cocaine infusion produces persistent LTP in the VTA. *Neuron.* 2008;59:288–297.
9. Cox RW. AFNI: software for analysis and visualization of functional magnetic resonance neuroimages. *Comput Biomed Res.* 1996;29:162–173.
10. Curran HV, Bolton J, Wanigaratne S, Smyth C. Additional methadone increases craving for heroin: a double-blind, placebo-controlled study of chronic opiate users receiving methadone substitution treatment. *Addiction.* 1999;94:665–674.
11. Di Chiara G. Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *Eur J Pharmacol.* 1999;375:13–30.
12. Ersche KD, Roiser JP, Robbins TW, Sahakian BJ. Chronic cocaine but not chronic amphetamine use is associated with perseverative responding in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 2008;197:421–431.
13. Everitt BJ, Robbins TW. Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nat Neurosci.* 2005;8:1481–1489.
14. Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL, Corbetta M, Van E, Raichle ME. The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:9673–9678.
15. Franklin TR, Acton PD, Maldjian JA, Gray JD, Croft JR, Dackis CA, O'Brien CP, Childress AR. Decreased gray matter concentration in the insular, orbitofrontal, cingulate, and temporal cortices of cocaine patients. *Biol Psychiatry.* 2002;51:134–142.
16. Friston KJ, Holmes AP, Worsley KJ, Poline JP, Frith RS, Frackowiak SJ. Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach. *Human Brain Mapping.* 1995;2:189–210.
17. Geng X, Christensen GE, Gu H, Ross TJ, Yang Y. Implicit reference-based group-wise image registration and its application to structural and functional MRI. *Neuroimage.* 2009;47:1341–1351.
18. Goldstein RZ, Volkow ND. Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry.* 2002;159:1642–1652.
19. Gray AC, Coupar IM, White PJ. Comparison of opioid receptor distributions in the rat central nervous system. *Life Sci.* 2006;79:674–685.
20. Greicius MD, Flores BH, Menon V, Glover GH, Solvason HB, Kenna H, Reiss AL, Schlaggar BF. Resting-state functional connectivity in major depression: abnormally increased contributions from subgenual cingulate cortex and thalamus. *Biol Psychiatry.* 2007;62:429–437.
21. Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, Menon V. Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:253–258.
22. Grigson PS, Twining RC. Cocaine-induced suppression of saccharin intake: a model of drug-induced devaluation of natural rewards. *Behav Neurosci.* 2002;116:321–333.
23. Haber S, McFarland NR. The place of the thalamus in frontal cortical-basal ganglia circuits. *Neuroscientist.* 2001;7:315–324.
24. Hampson M, Driesen NR, Skudlarski P, Gore JC, Constable RT. Brain connectivity related to working memory performance. *Journal of Neuroscience.* 2006a;26:13338–13343.
25. Hampson M, Tokoglu F, Sun Z, Schafer RJ, Skudlarski P, Gore JC, Constable RT. Connectivity-behavior analysis reveals that functional connectivity between left BA39 and Broca's area varies with reading ability. *Neuroimage.* 2006b;31:513–519.
26. Hollander JA, Carelli RM. Cocaine-associated stimuli increase cocaine seeking and activate accumbens core neurons after abstinence. *J Neurosci.* 2007;27:3535–3539.
27. Hong LE, Gu H, Yang Y, Ross TJ, Salmeron BJ, Buchholz B, Thaker GK, Stein EA. Association of nicotine addiction and nicotine's actions with separate cingulate cortex functional circuits. *Arch Gen Psychiatry.* 2009;66:431–441.
28. Jentsch JD, Taylor JR. Impulsivity resulting from frontostriatal dysfunction in drug abuse: implications for the control of behavior by reward-related stimuli. *Psychopharmacology (Berl)* 1999;146:373–390.
29. Kalivas PW, Volkow ND. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatry.* 2005;162:1403–1413.
30. Kaufman JN, Ross TJ, Stein EA, Garavan H. Cingulate hypoactivity in cocaine users during a GO-NOGO task as revealed by event-related functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci.* 2003;23:7839–7843.
31. Kelly AM, Uddin LQ, Biswal BB, Castellanos FX, Milham MP. Competition between functional brain networks mediates behavioral variability. *Neuroimage.* 2008;39:527–537.
32. Koob GF, Le Moal M. Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science.* 1997;278:52–58.

33. Koob GF, Le Moal M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology*. 2001;24:97–129.
34. Kosten TR, Scanley BE, Tucker KA, Oliveto A, Prince C, Sinha R, Potenza MN, Skudlarski P, Wexler BE. Cue-induced brain activity changes and relapse in cocaine-dependent patients. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31:644–650.
35. Kreek MJ, Bart G, Lilly C, LaForge KS, Nielsen DA. Pharmacogenetics and human molecular genetics of opiate and cocaine addictions and their treatments. *Pharmacol Rev*. 2005;57:1–26.
36. Krienen FM, Buckner RL. Segregated fronto-cerebellar circuits revealed by intrinsic functional connectivity. *Cereb Cortex*. 2009;19:2485–2497.
37. Lancaster JL, Woldorff MG, Parsons LM, Liotti M, Freitas CS, Rainey L, Kochunov PV, Nickerson D, Mikiten SA, Fox PT. Automated Talairach atlas labels for functional brain mapping. *Hum Brain Mapp*. 2000;10:120–131.
38. Langleben DD, Ruparel K, Elman I, Busch-Winokur S, Pratiwadi R, Loughhead J, O'Brien CP, Childress AR. Acute effect of methadone maintenance dose on brain fMRI response to heroin-related cues. *Am J Psychiatry*. 2008;165:390–394.
39. Li SJ, Li Z, Wu G, Zhang MJ, Franczak M, Antuono PG. Alzheimer Disease: evaluation of a functional MR imaging index as a marker. *Radiology*. 2002;225:253–259.
40. Li SJ, Wang Y, Pankiewicz J, Stein EA. Neurochemical adaptation to cocaine abuse: reduction of N-acetyl aspartate in thalamus of human cocaine abusers. *Biol Psychiatry*. 1999;45:1481–1487.
41. Liang M, Zhou Y, Jiang T, Liu Z, Tian L, Liu H, Hao Y. Widespread functional disconnection in schizophrenia with resting-state functional magnetic resonance imaging. *Neuroreport*. 2006;17:209–213.
42. Lim KO, Wozniak JR, Mueller BA, Franc DT, Specker SM, Rodriguez CP, Silverman AB, Rotrosen JP. Brain macrostructural and microstructural abnormalities in cocaine dependence. *Drug Alcohol Depend*. 2008;92:164–172.
43. Lowe MJ, Mock BJ, Sorenson JA. Functional connectivity in single and multislice echoplanar imaging using resting-state fluctuations. *Neuroimage*. 1998;7:119–132.
44. Lu H, Zuo Y, Gu H, Waltz JA, Zhan W, Scholl CA, Rea W, Yang Y, Stein EA. Synchronized delta oscillations correlate with the resting-state functional MRI signal. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:18265–18269.
45. Ma N, Liu Y, Li N, Wang CX, Zhang H, Jiang XF, Xu HS, Fu XM, Hu X, Zhang DR. Addiction related alteration in resting-state brain connectivity. *NeuroImage*. 2010;49:738–744.
46. Matochik JA, London ED, Eldreth DA, Cadet JL, Bolla KI. Frontal cortical tissue composition in abstinent cocaine abusers: a magnetic resonance imaging study. *Neuroimage*. 2003;19:1095–1102.
47. Oades RD, Halliday GM. Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Res*. 1987;434:117–165.
48. Parent A. *Carpenter's Human Neuroanatomy*. 9. Williams & Wilkins; Baltimore: 1996.
49. Peoples LL, Cavanaugh D. Differential changes in signal and background firing of accumbal neurons during cocaine self-administration. *J Neurophysiol*. 2003;90:993–1010.
50. Poling J, Kosten TR, Sofuoglu M. Treatment outcome predictors for cocaine dependence. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 2007;33:191–206.
51. Porrino LJ, Smith HR, Nader MA, Beveridge TJ. The effects of cocaine: a shifting target over the course of addiction. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007;31:1593–1600.
52. Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev*. 1993;18:247–291.
53. Saxon AJ, Oreskovich MR, Brkanac Z. Genetic determinants of addiction to opioids and cocaine. *Harv Rev Psychiatry*. 2005;13:218–232.
54. Schultz W. Getting formal with dopamine and reward. *Neuron*. 2002;36:241–263.
55. Seeley WW, Menon V, Schatzberg AF, Keller J, Glover GH, Kenna H, Reiss AL, Greicius MD. Dissociable Intrinsic Connectivity Networks for Salience Processing and Executive Control. *Journal of Neuroscience*. 2007;27:2349–2356.
56. Smith SM, Fox PT, Miller KL, Glahn DC, Fox PM, Mackay CE, Filippini N, Watkins KE, Toro R, Laird AR, Beckmann CF. Correspondence of the brain's functional architecture during activation and rest. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:13040–13045.
57. Stein MB, Simmons AN, Feinstein JS, Paulus MP. Increased amygdala and insula activation during emotion processing in anxiety-prone subjects. *Am J Psychiatry*. 2007;164:318–327.
58. Talairach J, Tournoux P, Missir O. Referentially oriented cerebral MRI anatomy an atlas of stereotaxic anatomical correlations for gray and white matter. G. Thieme Verlag; Stuttgart: 1993.
59. Tomasi D, Goldstein RZ, Telang F, Maloney T, ia-Klein N, Caparelli EC, Volkow ND. Thalamo-cortical dysfunction in cocaine abusers: implications in attention and perception. *Psychiatry Res*. 2007;155:189–201.
60. Verdejo-Garcia AJ, Perales JC, Perez-Garcia M. Cognitive impulsivity in cocaine and heroin polysubstance abusers. *Addict Behav*. 2007;32:950–966.
61. Vincent JL, Patel GH, Fox MD, Snyder AZ, Baker JT, Van E, Zempel JM, Snyder LH, Corbetta M, Raichle ME. Intrinsic functional architecture in the anaesthetized monkey brain. *Nature*. 2007;447:83–86.
62. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Hitzemann R, Logan J, Schlyer DJ, Dewey SL, Wolf AP. Decreased dopamine D2 receptor availability is associated with reduced frontal metabolism in cocaine abusers. *Synapse*. 1993;14:169–177.
63. Volkow ND, Li TK. The neuroscience of addiction. *Nat Neurosci*. 2005;8:1429–1430.
64. Waites AB, Briellmann RS, Saling MM, Abbott DF, Jackson GD. Functional connectivity networks are disrupted in left temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol*. 2006;59:335–343.
65. Washton AM. Structured outpatient treatment of cocaine abuse. *Adv Alcohol Subst Abuse*. 1986;6:143–157.
66. Weissenborn R, Whitelaw RB, Robbins TW, Everitt BJ. Excitotoxic lesions of the mediodorsal thalamic nucleus attenuate intravenous cocaine self-administration. *Psychopharmacology (Berl)* 1998;140:225–232.
67. Xiong J, Parsons LM, Gao JH, Fox PT. Interregional connectivity to primary motor cortex revealed using MRI resting state images. *Hum Brain Mapp*. 1999;8:151–156.
68. Yang S, Salmeron BJ, Ross TJ, Xi ZX, Stein EA, Yang Y. Lower glutamate levels in rostral anterior cingulate of chronic cocaine users - A (1)H-MRS study using TE-averaged PRESS at 3 T with an optimized quantification



strategy. *Psychiatry Res.* 2009;174:171–176.