



PRESIDENZA DEL CONSIGLIO DEI MINISTRI  
Ministro per la Cooperazione Internazionale e l'Integrazione  
**Dipartimento Politiche Antidroga**

In collaborazione con

**NIDA** NATIONAL INSTITUTE  
ON DRUG ABUSE



**UNODC**  
United Nations Office on Drugs and Crime

# NEUROSCIENZE delle Dipendenze: il Neuroimaging

**Manuale per gli operatori dei Dipartimenti delle Dipendenze**

**A cura di:**

**Giovanni Serpelloni  
Franco Alessandrini  
Giada Zoccatelli  
Claudia Rimondo**

**Con il contributo di:**

**Nora Volkow**

**Terza edizione**







PRESIDENZA DEL CONSIGLIO DEI MINISTRI  
Ministro per la Cooperazione Internazionale e l'Integrazione  
**Dipartimento Politiche Antidroga**

In collaborazione con

**NIDA** NATIONAL INSTITUTE  
ON DRUG ABUSE



**UNODC**  
United Nations Office on Drugs and Crime

# **NEUROSCIENZE delle Dipendenze: il Neuroimaging**

**Manuale per gli operatori dei Dipartimenti delle Dipendenze**

**A cura di:**

**Giovanni Serpelloni  
Franco Alessandrini  
Giada Zoccatelli  
Claudia Rimondo**

**Con il contributo di:**

**Nora Volkow**

**Terza edizione**



# **NEUROSCIENZE DELLE DIPENDENZE: IL NEUROIMAGING**

## **Manuale per gli operatori dei Dipartimenti delle Dipendenze**

Novembre, 2012

Per informazioni o richieste del volume:

Dipartimento Politiche Antidroga  
Presidenza del Consiglio dei Ministri  
Via Po 16/A  
00198 - Roma  
E-mail: [direzionedpa@governo.it](mailto:direzionedpa@governo.it)  
Tel. +39 06 67796350  
Fax +39 06 67796843

Visita i nostri portali:

[www.politicheantidroga.it](http://www.politicheantidroga.it)  
[www.drugsonstreet.it](http://www.drugsonstreet.it)  
[www.allertadroga.it](http://www.allertadroga.it)  
<http://cocaina.dronet.org>  
<http://drogainbreve.dronet.org>  
[www.italianjournalonaddiction.it](http://www.italianjournalonaddiction.it)

[www.drugfreedu.org](http://www.drugfreedu.org)  
[www.dronet.org](http://www.dronet.org)  
[www.dreamonshow.it](http://www.dreamonshow.it)  
[www.drogaprevenzione.it](http://www.drogaprevenzione.it)  
[www.neuroscienzedipendenze.it](http://www.neuroscienzedipendenze.it)  
[www.dpascientificcommunity.it](http://www.dpascientificcommunity.it)

<http://alcol.dronet.org>  
[www.droganograzie.it](http://www.droganograzie.it)  
[www.droganews.it](http://www.droganews.it)  
[www.drogaedu.it](http://www.drogaedu.it)  
<http://cannabis.dronet.org>

Pubblicazione no profit e non sponsorizzata - Vietata la vendita

Traduzione testi e editing a cura di:  
Annalisa Rossi

Copertina a cura di:  
Riccardo De Conciliis

Progetto grafico e impaginazione a cura di:  
Alessandra Gaioni

Traduzione immagini:  
Giulia Gelmetti

Stampato da:  
Cierre Grafica (VR) nel mese di novembre 2012  
[www.cierrenet.it](http://www.cierrenet.it)



## Indice

<i>Presentazione</i>	9
Capo Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri <i>Giovanni Serpelloni, Nora Volkow</i>	
<i>Sintesi delle evidenze scientifiche sul neuroimaging delle dipendenze</i>	15
<b>PARTE 1 - Aspetti generali</b>	31
1.1 Introduzione - Le neuroimmagini delle dipendenze <i>Nora D. Volkow, Gene-Jack Wang, Joanna S. Fowler, Dardo Tomasi, Ruben Baler</i>	33
<b>PARTE 2 - Gli effetti del consumo di sostanze stupefacenti sul cervello</b>	53
2.1 Uso di sostanze stupefacenti e cervello: le nuove frontiere del neuroimaging <i>Giada Zoccatelli, Franco Alessandrini, Giovanni Serpelloni, Andrea Federspiel</i>	55
<b>Sezione 1. CANNABIS</b>	73
2.1.1 Esposizione prenatale alla cannabis: gli effetti sul cervello <i>Catia Seri, Elisa Bellamoli, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli, Giovanni Serpelloni</i>	75
2.1.2 Gli effetti del consumo di cannabis sul cervello degli adolescenti <i>Elisa Bellamoli, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli, Giovanni Serpelloni</i>	81
2.1.3 Alterazioni neurochimiche negli adolescenti fumatori cronici di marijuana: uno studio di spettroscopia all'idrogeno (MRS-H1) <i>Andrew P. Prescott, Allison E. Locatelli, Perry F. Reshaw, Deborah A. Yurgelun-Todd</i>	99
2.1.4 Alterazioni dello spessore corticale prefrontale e insulare in adolescenti consumatori di marijuana <i>Melissa P. Lopez-Larson, Piotr Bogorodzki, Jadwiga Rogowska, Erin McGladea, Jace B. King, Janine Terry, Deborah Yurgelun-Todd</i>	113
2.1.5 Alterazioni cerebrali correlate al consumo di cannabis negli adulti <i>Giada Zoccatelli, Franco Alessandrini, Giovanni Serpelloni</i>	131
<b>Sezione 2. COCAINA</b>	151
2.2.1 Esposizione prenatale alla cocaina in adolescenza: documentate con il neuroimaging le alterazioni cerebrali <i>Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli, Giovanni Serpelloni</i>	153
2.2.2 Consumo di cocaina negli adulti: le evidenze scientifiche dalle neuroimmagini <i>Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli, Giovanni Serpelloni</i>	165

2.2.3 Alterazioni dei circuiti mesocorticolimbici nei consumatori cronici di cocaina secondo dati di connettività funzionale in stato di riposo	183
<i>Hong Gu, Betty Jo Salmeron, Thomas J. Ross, Xiujuang Geng, Wang Zhan, Elliot A. Steinm Yihong Yang</i>	
<b>Sezione 3. EROINA</b>	201
2.3.1 Studi di neuroimaging sugli effetti dell'esposizione agli oppiacei in età prenatale, adolescenziale e adulta	203
<i>Elisa Bellamoli, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli</i>	
<b>Sezione 4. METANFETAMINE</b>	215
2.4.1 Consumo di metanfetamina e suoi derivati in gravidanza: le evidenze scientifiche dalle neuroimmagini	217
<i>Giuseppe Cuoghi, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli</i>	
2.4.2 Evidenze delle alterazioni cerebrali in consumatori adolescenti di metanfetamina e suoi derivati	227
<i>Giuseppe Cuoghi, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli</i>	
2.4.3 Modificazioni cerebrali, strutturali e funzionali, in adulti consumatori di metanfetamina e suoi derivati	237
<i>Giuseppe Cuoghi, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli</i>	
2.4.4 Ridotta complessità corticale nei consumatori di metanfetamina	265
<i>Kyongsik Yun, Hee-Kwon, Yang-Tae Kim, Sung-Nam Cho, Hyun-Jin Cho, S. Peterson, Jaeseung Jeong</i>	
<b>Sezione 5. ALLUCINOGENI</b>	281
2.5.1 Allucinogeni: effetti dell'esposizione prenatale e del consumo in adolescenza e in età adulta sulle strutture e sulle funzioni cerebrali	283
<i>Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli</i>	
<b>Sezione 6. ALCOL</b>	293
2.6.1 Esposizione prenatale all'alcol e compromissioni cerebrali	295
<i>Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli, Giovanni Serpelloni</i>	
2.6.2 Documentazione degli effetti dell'uso di alcol sul cervello in adolescenza	307
<i>Diana Candio, Elisa Bellamoli, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli, Giovanni Serpelloni</i>	
2.6.3 Consumo di alcol negli adulti: le evidenze scientifiche dalle neuroimmagini sui danni cerebrali	323
<i>Giuseppe Cuoghi, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli</i>	
2.6.4 Legame tra recettori oppioidi Mu e Delta in soggetti sani e alcolisti: studio di PET	349
<i>Elise M. Weerts, Gary, S. Wand, Hiroto Kuwabara, Cynthia A. Munro, Robert F. Dannals, John Hilton, J. James Frost, Mary E. McCaul</i>	
<b>Sezione 7. NICOTINA</b>	369
2.7.1 Uso di nicotina in gravidanza e alterazioni cerebrali nel bambino	371
<i>Giuseppe Cuoghi, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli</i>	

2.7.2 Adolescenti e nicotina: le evidenze scientifiche dei danni cerebrali dalle neuroimmagini <i>Giuseppe Cuoghi, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli, Giovanni Serpelloni</i>	385
2.7.3 Consumo di nicotina negli adulti: aree e funzionalità cerebrali compromesse dalla nicotina <i>Giuseppe Cuoghi, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli</i>	391
2.7.4 Ridotto spessore della corteccia orbitofrontale mediale nei fumatori <i>Simone Kühn, Florian Schubert, Jürgen Gallinat</i>	417
<b>Sezione 8. INALANTI</b>	427
2.8.1 Consumo di inalanti: gli effetti neurobiologici sull'organismo <i>Giada Zoccatelli, Catia Seri, Franco Alessandrini, Giovanni Serpelloni</i>	429
<b>Sezione 9. GIOCO D'AZZARDO PATOLOGICO</b>	441
2.9.1 Neuroimaging del gioco d'azzardo patologico: anomalie cerebrali e alterati meccanismi neuropsicologici <i>Elisa Bellamoli, Giada Zoccatelli, Franco Alessandrini, Giovanni Serpelloni</i>	443
2.9.2 Ridotta attività frontostriatale durante il processo di elaborazione della ricompensa e della perdita nel gioco d'azzardo patologico <i>Iris M. Balodis, Hedy Kober, Patrick D. Worhunsky, Michael C. Stevens, Godfrey D. Pearlson, Marc N. Potenza</i>	461
<b>Sezione 10. INTERNET ADDICTION</b>	477
2.10.1 Dipendenza da Internet: una rassegna della letteratura sulle alterazioni funzionali e strutturali documentate dalle neuroimmagini <i>Diana Candio, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli, Giovanni Serpelloni</i>	479
2.10.2 Anomalie microstrutturali in adolescenti con dipendenza da Internet <i>Kai Yuan, Wei Qin, Guihong Wang, Fang Zeng, Liyan Zhao, Xejuan Yang, Peng Liu, Jixin Liu, Jinbo Sun, Karen M. von Deneen, Qiyong Gong, Yijun Liu, Jie Tian</i>	491
<b>Sezione 11. FOOD ADDICTION</b>	507
2.11.1 Tecniche di neuroimaging per lo studio della dipendenza da cibo: evidenze dell'alterazione del circuito della ricompensa <i>Catia Seri, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli, Giovanni Serpelloni</i>	509
<b>PARTE 3 - Possibili applicazioni del neuroimaging</b>	525
3.1 Permanenza di alterazioni cerebrali dopo assunzione di droghe anche dopo un periodo di cessazione dell'uso: il contributo del neuroimaging <i>Giada Zoccatelli, Franco Alessandrini, Giovanni Serpelloni, Claudia Rimondo, Catia Seri, Andrea Federspiel</i>	527
3.2 L'applicazione del neuroimaging per valutare gli effetti neurobiologici degli interventi terapeutici <i>Elisa Bellamoli, Franco Alessandrini, Giada Zoccatelli</i>	559
<b>PARTE 4 - Abstract</b>	575



## Presentazione



**Giovanni Serpelloni**

Capo Dipartimento Politiche Antidroga  
Presidenza del Consiglio dei Ministri



**Nora Volkow**

Direttore National Institute on Drug Abuse

Nell'ambito dell'accordo internazionale di collaborazione scientifica tra il Dipartimento Politiche Antidroga, della Presidenza del Consiglio dei Ministri e il National Institute on Drug Abuse (NIDA) degli Stati Uniti siglato a Roma nel luglio del 2011, è stato definito un obiettivo che riguarda la promozione e la realizzazione di studi e ricerche applicate nel settore delle neuroscienze delle dipendenze, ed in particolare del neuroimaging. A tale scopo, il Dipartimento Politiche Antidroga, in collaborazione con il NIDA, l'United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) ed il Dipartimento delle Dipendenze ULSS 20 di Verona, ha organizzato un convegno internazionale che ha l'obiettivo di offrire ai professionisti che operano nell'ambito delle dipendenze, sia dei servizi pubblici che del privato sociale, e ai ricercatori che lavorano nell'ambito universitario, informazioni scientifiche sul ruolo del neuroimaging delle dipendenze nella pratica diagnostica e clinica e quali possibili prospettive tali evidenze possano comportare per il trattamento delle dipendenze.

E' ampiamente documentato che le droghe agiscono sulle strutture e i sistemi cerebrali alterando le funzioni neuropsicologiche associate e le diverse tecniche di neuroimmagine (Risonanza Magnetica funzionale, Tomografia ad Emissione di Positroni, ecc.) hanno dato una grande contributo nell'identificare le basi neurobiologiche della dipendenza da sostanze e nello spiegare i deficit riscontrati nel consumatore di droghe (ad esempio, alterazione del sistema dopaminergico della gratificazione, dei processi decisionali e deficit di controllo prefrontale sui comportamenti, ecc.). I correlati neurali, funzionali e strutturali, dei comportamenti di dipendenza, rilevabili anche attraverso le neuroimmagini, riportano evidenze che, perciò, potrebbero condurre a nuovi modelli interpretativi e, sulla base di questi, a nuovi modelli di diagnosi, cura e riabilitazione.

In questo convegno si intende quindi esplorare il ruolo delle neuroimmagini e delle possibili tecniche di stimolazione cerebrale nell'ambito della dipendenza da sostanze, così da poter essere di ausilio agli operatori e ai ricercatori per meglio comprendere, investigare, gestire e curare la grave malattia della dipendenza e permettere che costoro, con il proprio lavoro quotidiano, possano meglio aiutare le persone che usano droghe, o che già hanno sviluppato una dipendenza, e le loro famiglie, a trovare la giusta comprensione del fenomeno ed un adeguato supporto clinico e riabilitativo.

La presente pubblicazione riporta gli atti del congresso e una serie di contributi scientifici di vari autori impegnati nel campo del neuroimaging delle dipendenze.

**Giovanni Serpelloni**

Capo Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri

**Nora Volkow**

Direttore National Institute on Drug Abuse

**Franco Alessandrini**

Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

**Giada Zoccatelli**

Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

**Claudia Rimondo**

Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta Rapida sulle Droghe

Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri

## Autori

<i>Alessandrini Franco</i>	Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona
<i>Baler Ruben</i>	National Institute on Drug Abuse, Bethesda, Maryland USA
<i>Balodis Iris</i>	Department of Psychiatry, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut USA
<i>Bellamoli Elisa</i>	Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona
<i>Bogorodzki Piotr</i>	Institute of Radioelectronics, Warsaw Technical University, Warsaw, Poland
<i>Candio Diana</i>	European Institute for Health Promotion, Verona
<i>Cho Hyun-Jin</i>	Department of Psychiatry, Bugok National Hospital, Gyeongnam 635-890, Republic of Korea
<i>Cho Sung-Nam</i>	Department of Psychiatry, Bugok National Hospital, Gyeongnam 635-890, Republic of Korea
<i>Cuoghi Giuseppe</i>	Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona
<i>Dannals Robert</i>	Department of Radiology, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland
<i>Federspiel Andrea</i>	Department of Psychiatric Neurophysiology, University Hospital of Psychiatry, Bern, Switzerland
<i>Fowler Joanna</i>	Brookhaven National Laboratory, Upton, New York USA
<i>Frost James</i>	Department of Radiology, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland
<i>Gallinat Jürgen</i>	St. Hedwig Krankenhaus, Clinic for Psychiatry and Psychotherapy, Charité University Medicine, Berlin, Germany
<i>Geng Xiujuang</i>	Neuroimaging Research Branch, National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Baltimore, Maryland USA
<i>Gomma Maurizio</i>	Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona
<i>Gong Qiyong</i>	Department of Radiology, Huaxi MR Research Center (HMRRC), West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China
<i>Gu Hong</i>	Neuroimaging Research Branch, National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Baltimore, Maryland USA
<i>Hilton John</i>	Department of Radiology, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland
<i>Jeong Jaeseung</i>	Department of Bio and Brain Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST), Daejeon 305-701, Republic of Korea
<i>Kim Yang-Tae</i>	Department of Psychiatry, Bugok National Hospital, Gyeongnam 635-890, Republic of Korea
<i>King Jace</i>	The Brain Institute, University of Utah, Salt Lake City, UT, United States



<i>Kober Hedy</i>	Department of Psychiatry, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut USA
<i>Kwon Do-Hoon</i>	Department of Psychiatry, Bugok National Hospital, Gyeongnam 635-890, Republic of Korea
<i>Kuwabara Hiroto</i>	Department of Radiology, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland
<i>Kühn Simone</i>	Faculty of Psychology and Educational Sciences, Department of Experimental Psychology and Ghent Institute for Functional and Metabolic Imaging,, Ghent University, Belgium
<i>Liu Jixin</i>	School of Life Sciences and Technology, Life Sciences Research Center, Xidian University, Xi'an, Shaanxi China
<i>Liu Peng</i>	School of Life Sciences and Technology, Life Sciences Research Center, Xidian University, Xi'an, Shaanxi China
<i>Liu Yijun</i>	Departments of Psychiatry and Neuroscience, McKnight Brain Institute, University of Florida, Gainesville, Florida USA
<i>Locatelli Allison</i>	Brain Institute, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, UT USA
<i>Lopez-Larson Melissa</i>	The Brain Institute, University of Utah, Salt Lake City, UT, United States
<i>McCaul Mary</i>	Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland USA
<i>McGlade Erin</i>	The Brain Institute, University of Utah, Salt Lake City, UT, United States
<i>Munro Cynthia</i>	Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland USA
<i>Park Hee-Kwon</i>	Department of Neurology, Seoul National University Hospital, Seoul 110-744, Republic of Korea
<i>Pearlson Godfrey</i>	Department of Psychiatry, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut USA
<i>Peterson Bradley</i>	Department of Psychiatry, Columbia University, E college of Physicians and Surgeons, New York, NY 10032 USA
<i>Potenza Marc</i>	Department of Psychiatry, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut USA
<i>Prescot Andrew</i>	Brain Institute, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, UT USA
<i>Qin Wei</i>	School of Life Sciences and Technology, Life Sciences Research Center, Xidian University, Xi'an, Shaanxi China
<i>Renshaw Perry</i>	Brain Institute, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, UT USA
<i>Rimondo Claudia</i>	Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta Rapida sulle Droghe, Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, Roma
<i>Rogowska Jadwiga</i>	Brain Imaging Center, McLean Hospital/Harvard Medical School, Belmont. MA, United States
<i>Ross Thomas</i>	Neuroimaging Research Branch, National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Baltimore, Maryland USA
<i>Salmeron Betty Jo</i>	Neuroimaging Research Branch, National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Baltimore, Maryland USA
<i>Schubert Florian</i>	Physikalisch-Technische Bundesanstalt, Clinic for Psychiatry and Psychotherapy, Charité University Medicine, Berlin, Germany

<i>Serpelloni Giovanni</i>	Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, Roma
<i>Seri Catia</i>	Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta Rapida sulle Droghe, Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, Roma
<i>Stein Elliot</i>	Neuroimaging Research Branch, National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Baltimore, Maryland USA
<i>Stevens Michael</i>	Institute of Living/Hartford Hospital & Olin Neuropsychiatry Research Center, Hartford, Connecticut
<i>Sun Jinbo</i>	School of Life Sciences and Technology, Life Sciences Research Center, Xidian University, Xi'an, Shaanxi China
<i>Terry Janine</i>	The Brain Institute, University of Utah, Salt Lake City, UT, United States
<i>Tian Jie</i>	School of Life Sciences and Technology, Life Sciences Research Center, Xidian University, Xi'an, Shaanxi China
<i>Tomasi Dardo</i>	National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, Bethesda, Maryland USA
<i>Volkow Nora</i>	National Institute on Drug Abuse, Bethesda, Maryland USA
<i>von Deneen Karen</i>	School of Life Sciences and Technology, Life Sciences Research Center, Xidian University, Xi'an, Shaanxi China
<i>Wang Gene-Jack</i>	Brookhaven National Laboratory, Upton, New York USA
<i>Wang Guihong</i>	School of Life Sciences and Technology, Life Sciences Research Center, Xidian University, Xi'an, Shaanxi China
<i>Yang Xuejuan</i>	School of Life Sciences and Technology, Life Sciences Research Center, Xidian University, Xi'an, Shaanxi China
<i>Yang Yihong</i>	Neuroimaging Research Branch, National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Baltimore, Maryland USA
<i>Yuan Kai</i>	School of Life Sciences and Technology, Life Sciences Research Center, Xidian University, Xi'an, Shaanxi China
<i>Yun Kyongsik</i>	Department of Bio and Brain Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST), Daejeon 305-701, Republic of Korea
<i>Yurgelun-Todd Deborah</i>	The Brain Institute, University of Utah, Salt Lake City, UT, United States
<i>Zhan Wang</i>	Neuroimaging Research Branch, National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Baltimore, Maryland USA
<i>Wand Gary</i>	Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland USA
<i>Weerts Elise</i>	Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland USA
<i>Worhunsky Patrick</i>	Department of Psychiatry, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut USA
<i>Zeng Fang</i>	The 3rd Teaching Hospital, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan China
<i>Zhao Liyan</i>	National Institute on Drug Dependence, Peking University, Beijing China
<i>Zoccatelli Giada</i>	Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona



# **Sintesi delle evidenze scientifiche sul neuroimaging delle dipendenze**

---





# Update sulle evidenze scientifiche del neuroimaging nelle dipendenze

Giovanni Serpelloni<sup>1</sup>, Franco Alessandrini<sup>2</sup>, Giada Zoccatelli<sup>2</sup>, Claudia Rimondo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento delle Dipendenze, Presidenza del Consiglio dei Ministri

<sup>2</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

<sup>3</sup> Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta Rapida sulle Droghe, Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, Roma

## Introduzione

Questo documento rappresenta una sintesi del manuale per gli operatori dei Dipartimenti delle Dipendenze “Neuroscienze delle dipendenze: il neuroimaging” in cui viene riportata una rassegna dei principali articoli disponibili in letteratura che descrivono le alterazioni strutturali e funzionali del cervello in relazione al consumo di sostanze stupefacenti e psicotrope. In particolare, vengono evidenziati i danni cerebrali rilevati a seconda della fascia d'età in cui il consumo della sostanza è avvenuto (esposizione prenatale, adolescenza, età adulta), con particolare attenzione alla fase adolescenziale, durante la quale il cervello sta sviluppando e maturando importanti connessioni sinaptiche e consolidamenti della corteccia cerebrale. Sono stati riportati studi eseguiti su consumatori di cannabis, cocaina, eroina, metamfetamine, allucinogeni, nicotina e inalanti. Infine, il documento mette in evidenza anche le alterazioni cerebrali riscontrate in soggetti affetti da dipendenza sine substantia, forme di dipendenza comportamentale che presentano alcuni tratti caratteristici in comune con la dipendenza da sostanze stupefacenti. Dagli studi scientifici esaminati, risultano evidenti le gravi conseguenze, ad oggi troppo sottovalutate, che possono comparire a seguito dell'uso sostanze stupefacenti e psicotrope. Tali conseguenze sono tanto più gravi quanto più precoce è l'inizio dell'assunzione e quanto maggiori sono la frequenza e la durata dell'uso.

## Le tecniche di neuroimaging

Le moderne tecniche di imaging hanno permesso ai ricercatori di scrutare in modo non invasivo il cervello umano e di indagare, tra le altre cose, gli effetti acuti e le conseguenze a lungo termine dell'uso di droga. Le principali tecniche di neuroimmagine comprendono:

- la Tomografia Assiale Computerizzata (TAC),
- la Risonanza Magnetica Nucleare (RMN),
- la Tomografia a Emissione di Positroni (PET),
- la Tomografia Computerizzata a Emissione di Singolo Fotone (SPECT).

Le tecniche di neuroimaging permettono una comprensione multi-dimensionale del fenomeno dell'uso di sostanze

Esse rivelano diversi aspetti della struttura o del funzionamento del cervello, dalla conoscenza dell'anatomia e della composizione tissutale del cervello, dei processi biochimici, fisiologici e funzionali, all'attività dei neurotrasmettitori, la distribuzione delle sostanze e la loro cinetica. Tutte insieme, e associate ad altre tecniche di ricerca, tali tecniche consentono una comprensione multidimensionale di un fenomeno complesso quale l'uso e la

dipendenza da droghe.

## Cannabis

L'esposizione prenatale alla cannabis conduce a deficit delle funzioni esecutive in aree cerebrali complesse, in particolare nella corteccia prefrontale

Per quanto riguarda la cannabis, studi clinici hanno evidenziato come, l'esposizione prenatale a questa sostanza conduca a deficit delle funzioni esecutive in aree cerebrali complesse (Downer EJ & Campbell VA, 2010; Trezza et al., 2008; Fernandez-Ruiz J et al., 2000; Day NL et al., 1994; Fried PA & Watkinson B, 1990, 1992, 2000; 2001; Fried PA et al., 1992, 1998, 2003; Goldschmidt L et al., 2000, 2004, 2008; Richardson GA et al., 1995, 2002). In particolare, studi di Risonanza Magnetica per immagini (fMRI), condotti su adolescenti esposti durante la fase prenatale, alla cannabis, hanno condotto a risultati che supporterebbero l'ipotesi secondo la quale l'esposizione prenatale interessa il sistema neuronale coinvolto nelle funzioni esecutive, specificatamente a livello della corteccia prefrontale, con un ritardo nello sviluppo delle interconnessioni neurali, e con conseguenze neurofisiologiche che possono perdurare nel tempo fino all'età adulta (Smith AM et al., 2004).

Il consumo di cannabis in adolescenza provoca anomalie strutturali della materia grigia e della materia bianca correlate a deficit cognitivi

L'uso di cannabis generalmente ha inizio durante l'adolescenza quando il cervello è ancora in fase di sviluppo (Giedd JN et al., 2004). Studi di neuroimmagine hanno recentemente iniziato ad esplorare il volume, la morfometria e l'integrità del cervello anche di adolescenti che fanno uso di cannabis, focalizzandosi sui sistemi associati con la vulnerabilità ai disturbi neurocognitivi e dell'umore (Medina KL et al., 2007; Jarvis et al., 2008). Gli studi presenti in letteratura indicano che il consumo di cannabis durante gli anni dell'adolescenza provoca anomalie strutturali della materia grigia e della materia bianca che sono correlate a deficit cognitivi (Arnone D et al., 2008; Ashtari M et al., 2009).

L'uso di cannabis in adolescenza compromette l'attivazione cerebrale

Oltre agli studi sulla struttura cerebrale dei consumatori di cannabis, vi sono ricerche che indagano il funzionamento cerebrale di questi soggetti in stato di riposo oppure durante l'esecuzione di un compito cognitivo (Becker B et al., 2010; Tapert SF et al., 2007; Jacobsen LK et al., 2007; Jager G et al., 2010). Aumentano le evidenze secondo cui l'uso di cannabis in età adolescenziale potrebbe compromettere l'attivazione cerebrale, causando una attivazione neurale precoce e una diminuita attivazione con un uso continuato in età adulta (Schweinsburg AD et al., 2010). Gli effetti cronici sul cervello del forte consumo di cannabis potrebbero indurre problemi cognitivi ancora più marcati negli adolescenti (Cohen-Zion M et al., 2007). Questa compromissione cognitiva potrebbe determinare un minor rendimento scolastico, scelte rischiose, scarso controllo emotivo (Kloos A et al., 2009).

Alterate capacità di decisione cognitiva

Le evidenze scientifiche circa le alterazioni metaboliche nei consumatori di cannabis derivano principalmente dai risultati ottenuti mediante la tecnica di Spettroscopia protonica con Risonanza Magnetica, che ha evidenziato anomalie nella distribuzione e concentrazione di diversi metaboliti cerebrali in concomitanza all'uso della sostanza (Silveri M. et al., 2011). I dati circa le alterazioni del funzionamento neuronale derivano invece principalmente dalla Risonanza Magnetica funzionale o dalla PET (Silveri M. et al., 2011; Gruber S.A. et al., 2009). Alcuni gruppi di soggetti consumatori cronici di marijuana sono stati sottoposti a scansioni PET durante l'esecuzione di compiti di decisione monetaria. I risultati indicano che tali individui presentano alterate capacità di decisione cognitiva, ossia per prendere delle decisioni e/o fare delle scelte sono richieste maggiori risorse cerebrali con un maggiore sforzo co-



gnitivo (Silveri M. et al., 2011). La cannabis agisce direttamente sul sistema di gratificazione cerebrale e altera, in questo modo, le capacità di gestione delle risposte affettive. La Risonanza Magnetica funzionale ha dimostrato che tali alterazioni cerebrali, associate a un uso cronico della droga, portano ad una riorganizzazione della rete neurale visuo-attentiva e della memoria di lavoro con un ridotto funzionamento del cervelletto e un'alterata composizione del tessuto cerebrale in generale (Chang L. et al., 2006). Infatti, l'uso prolungato di cannabis provoca anomalie di funzionamento delle regioni cerebrali prefrontali anche nei soggetti astinenti, dimostrando così l'effetto neurotossico della sostanza a lungo termine (Matochick J.A. et al., 2005; Gruber S.A. et al., 2005; Eldreth D.A. et al., 2004).

## Cocaina

L'esposizione prenatale alla cocaina può avere conseguenze negative a lungo termine sul sistema cognitivo e attenzionale del feto. In particolare, l'aumento dei livelli di noradrenalina genera una conseguente vasocostrizione dei vasi del sistema nervoso centrale nella madre e nel feto, con ipertensione sanguigna e tachicardia (Li Z., 2009). E' stato dimostrato che l'esposizione prenatale alla cocaina altera importanti funzioni del SNC, lo stato di attivazione emozionale e la memoria di lavoro con gravi ripercussioni sulla funzionalità cerebrale del feto. Diversi studi hanno valutato il livello di inibizione della risposta comportamentale mediante fMRI in ragazzi con esposizione intrauterina alla cocaina rilevando deficit nelle regioni cerebrali coinvolte nel controllo cognitivo e nella regolazione dei processi attentivi (Li Z., 2009; Garavan H. et al., 2000; Dipietro J.A. et al., 1995). I bambini con esposizione prenatale alla cocaina hanno inoltre un ridotto sviluppo delle fibre frontali di proiezione (Warner et al., 2006). Tali risultati, ottenuti mediante la tecnica DTI, dimostrano il forte impatto dell'esposizione prenatale alla cocaina su bambini e adolescenti esposti alla sostanza durante la gravidanza. In particolare, risulta aumentato lo stato di allerta del cervello in condizioni di riposo e l'analisi morfologica neurale evidenzia un mancato sfoltimento delle sinapsi, con conseguente aumento volumetrico dei nuclei cerebrali e problemi nella sfera dell'apprendimento (Warner et al., 2006; Liu J. et al., 2011).

L'esposizione prenatale alla cocaina altera importanti funzioni del SNC, lo stato di attivazione emozionale e la memoria di lavoro con gravi ripercussioni sulla funzionalità cerebrale del feto

Gli adolescenti con esposizione prenatale alla cocaina mostrano anche una alterata perfusione sanguigna cerebrale (Li Z. et al., 2011). Le alterazioni morfo-strutturali e funzionali dei vari nuclei e regioni cerebrali sono quindi una causa della distruzione dopaminergica indotta dalla cocaina e coinvolgono diversi aspetti cognitivo-comportamentali (Rao H. et al., 2007).

Alterata perfusione sanguigna cerebrale negli adolescenti

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 del circuito della ricompensa probabilmente correlate a cambiamenti indotti dalla cocaina o a differenze preesistenti, collegate alla predisposizione individuale alla dipendenza (Li Z. et al., 2011). Utilizzando l'analisi di connettività funzionale con tecnica fMRI in stato di riposo e considerando specifici voxel di interesse corrispondenti a diverse aree del sistema MCL, è stato osservato che la forza della connettività funzionale specifica per il sistema si riduce nei consumatori di cocaina in diversi circuiti neurali, tra cui l'area teg-

Alterazioni nel funzionamento del circuito della ricompensa nei dipendenti

mentale 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 di alterazioni correlate al circuito nella dipendenza da cocaina nell'uomo, in linea con il range di disturbi cognitivi e comportamentali osservati nella dipendenza da cocaina (Gu Hong et al., 2011).

## Oppiacei

Diminuzione del rapporto ventricolo/cervello, perdita del volume frontale e aumentata intensità della materia bianca nelle aree frontali

Esiguo è il numero degli studi che hanno indagato i rapporti tra la dipendenza da oppiacei e i cambiamenti nella struttura del cervello dei consumatori di eroina, soprattutto per quanto riguarda il consumo in adolescenza. I primi studi di neuroimmagine strutturale si sono focalizzati su diversi effetti patologici causati dall'uso di eroina, compresi cambiamenti ischemici microvascolari, ictus ischemici, leucoencefalopatia, e atrofia (Borne J et al., 2005; Chang WL et al., 2009; Molloy S et al., 2006). Gli studi con TAC e RM su soggetti con dipendenza da oppiacei hanno mostrato risultati non sempre coerenti: alcune ricerche hanno evidenziato una diminuzione del rapporto ventricolo/cervello, perdita del volume frontale e aumentata intensità della materia bianca nelle aree frontali (Walhovd KB et al., 2007), mentre altri studi non hanno riportato marcate alterazioni nei soggetti con dipendenza da oppiacei (Arnold R et al., 2008). Un limite di questi studi è che non sempre hanno preso in considerazione l'influenza della durata dell'astinenza. Essi coinvolgevano generalmente soggetti tossicodipendenti in trattamento che, al momento della scansione di RM, erano astinenti dall'eroina da tempi diversi (da alcune settimane ad alcuni mesi). Questo risulta particolarmente importante poiché alcune ricerche hanno mostrato che gli effetti di alcune droghe sul substrato neurale sono reversibili. Quindi, al fine di descrivere pienamente le anomalie cerebrali indotte dall'uso cronico di eroina, è necessario studiare i tossicodipendenti subito dopo la cessazione dell'uso di droga, prima che si possa verificare un eventuale recupero cerebrale. Alcuni studi hanno riportato che le anomalie indotte dall'eroina nella perfusione cerebrale e nella leucoencefalopatia potrebbero essere reversibili (Barnett MH et al., 2001; Chang WL et al., 2009; Molloy S et al., 2006; Rose JS et al., 1996). Altri studiosi, invece, hanno mostrato che le anomalie indotte dall'eroina nella microstruttura possono essere reversibili solo in parte (Wang et al., 2011). Sono quindi necessari ulteriori studi, a diversi tempi di astinenza, per valutare le effettive alterazioni indotte dagli oppiacei e gli eventuali margini di recupero dopo l'astinenza.

## Metamfetamina

Ridotti volumi cerebrali che correlano con punteggi più bassi, rispetto ai controlli, in compiti neurocognitivi nei soggetti esposti a metamfetamina in gravidanza

Recenti evidenze scientifiche inducono a pensare che gli effetti neurotossici della metamfetamina (MA) e dei suoi derivati siano superiori a quelli della cocaina, a ragione della sua emivita più lunga e dei suoi molteplici meccanismi d'azione (Fowler JS et al., 2008). Le ricerche che utilizzano tecniche di neuroimaging mostrano deficit strutturali nel cervello di bambini che avevano subito esposizione alla MA in gravidanza, in cui vengono messi in luce ridotti volumi cerebrali che correlano con punteggi più bassi, rispetto ai controlli, in com-

piti neurocognitivi (Chang et al., 2009; Cloak C. et al., 2009; Smith L.M., et al. 2001). Risultano evidenti anche alterazioni significative nelle concentrazioni dei principali metaboliti cerebrali che rappresentano, secondo i principali autori, la prova di una marcata deviazione dal processo maturativo normale.

L'indiscutibilità dei danni organici indotti dalla metanfetamina (MA) e dai suoi derivati al cervello di consumatori adulti è supportata dalle numerose evidenze provenienti da studi di neuroimmagine, sia strutturali che funzionali. Gli adolescenti che utilizzano metanfetamine ed ecstasy corrono il rischio di andare incontro soprattutto a sintomi psicotici (McKetin R. et al., 2006; King G. et al., 2010) e mostrano prestazioni deficitarie nei test per le funzioni esecutive. Alcune ricerche in particolare mostrano che anche l'uso "ricreazionale" di basse quantità di queste sostanze possono causare danni neurologici (ictus emorragico), neuropsicologici e metabolici gravi (Auer J et al, 2002; de Win ML et al., 2008).

Sintomi psicotici,  
prestazioni  
deficitarie nelle  
funzioni esecutive,  
danni neurologici e  
metabolici gravi

L'esposizione ad alte dosi di MA è stata indicata come causa di alterazioni a lungo termine nei sistemi dopaminergico (Ricaurte GA et al., 1980; Wagner GC et al., 1980) e serotoninergico (O'Hearn E et al., 1988; Zhou FC et al., 1996) sia negli umani che nei primati. I danni sono stati evidenziati principalmente nelle regioni frontostriatali, necessarie per i processi di attenzione selettiva (striato, corteccia frontale e amigdala), così come nelle regioni implicate nelle funzioni di memoria quali l'ippocampo. Un dato trasversale a questi studi è una generale ipertrofia della sostanza bianca, accompagnata da un declino della sostanza grigia negli utilizzatori adulti di metanfetamina. In alcuni casi sembra che la funzionalità neurale abbia avuto la capacità di recuperare a seguito di una prolungata astinenza (Salo et al. 2011; Volkow et al. 2001; Nordahl et al. 2005; Kim et al. 2006; Ernst e Chang 2008) e questi risultati che collegano lunghi periodi di astinenza a miglioramenti nella funzionalità cerebrali sono stati estesi anche alle capacità cognitive (Simon et al. 2010; Salo et al. 2009).

Alterazioni a lungo  
termine nei sistemi  
dopaminergico e  
serotoninergico,  
ipertrofia della  
sostanza bianca

## Allucinogeni

Non esiste una numerosa letteratura scientifica circa gli effetti dell'esposizione prenatale a sostanze allucinogene (LSD, Ketamina, ecc.) poiché esse sono principalmente assunte assieme e secondariamente ad altre droghe (cocaina, eroina, marijuana). Sono stati quindi presi in considerazione i risultati più recenti ottenuti da ricerche che hanno studiato gli effetti neurotossici dell'esposizione prenatale alle droghe considerando, tra queste, anche gli effetti degli allucinogeni. Alcune ricerche di neuroimmagine hanno dimostrato che l'uso della Ketamina danneggia il circuito cerebrale frontale e ippocampale, deputato alla capacità di codifica e memoria episodica (Honey GD., 2004). Studi con la tecnica PET hanno mostrato un alterato metabolismo della dopamina nella corteccia prefrontale dorsolaterale in consumatori cronici di Ketamina e lesioni multifocali da demielinizzazione, ossia alterazioni della microstruttura cerebrale, dopo abuso di "funghi magici" (Spendos K. et al., 2000). Esistono poi diverse descrizioni scientifiche circa la capacità delle sostanze psichedeliche, come la psilocibina, di indurre una disgregazione della consapevolezza cognitiva nel soggetto che ne fa uso. La psilocibina agisce inoltre sul sistema visivo, in particolare su alcuni recettori del sistema serotoninergico generando allucinazioni e la possibilità di slatentizzare sindromi psicotiche anche permanentemente (Carhart-Harris R.L et al., 2011).

Danneggiamento  
del circuito  
cerebrale frontale  
e ippocampale,  
alterato  
metabolismo della  
dopamina e lesioni  
multifocali da  
demyelinizzazione  
nei consumatori di  
allucinogeni

## Alcol

Decremento dell'attività neurale del feto esposto ad alcol e danni alle aree cerebrali deputate alla capacità mnemonica

L'esposizione prenatale all'alcol rappresenta una condizione alla base di numerose alterazioni del cervello, in particolar modo se l'esposizione avviene durante la gestazione, su un feto il cui cervello è ancora in via di sviluppo. E' possibile quindi affermare che esiste un effetto teratogeno dell'alcol sul feto durante la gestazione, che può portare ad una serie di anomalie cerebrali morfo-funzionali. Nella sindrome da esposizione alcolica, la tecnica di fMRI ha dimostrato un globale decremento dell'attività neurale necessaria al corretto funzionamento cognitivo e alcuni studi morfometrici sull'analisi dell'integrità strutturale del tessuto nervoso hanno identificato i danni cerebrali conseguenti all'esposizione alcolica nei giovani adulti. In particolare, l'alcol sembra indurre un'anomala risposta neurale nelle aree cerebrali deputate alla capacità mnemonica (Lebel C., 2011; Sowell ER et al., 2008). I deficit di memoria conseguenti all'esposizione prenatale di alcol dipendono da un alterato funzionamento del circuito fronto-parietale. Le analisi dell'anatomia cerebellare mediante tecnica biometrica hanno rilevato inoltre una ipoplasia del cervelletto nei feti esposti all'alcol durante la gestazione. Nel feto, l'esposizione all'alcol provoca delle alterazioni microstrutturali nello splenio del corpo calloso, quindi anche a livello della sostanza bianca cerebrale che causano difficoltà delle abilità d'integrazione visuo-spaziale nel nascituro. Esistono quindi delle correlazioni tra difficoltà nelle abilità cognitivo-comportamentali e le anomalie nello spessore corticale dei soggetti con esposizione prenatale cronica all'alcol (Wozniak JR., 2009).

Alterazioni delle capacità di attenzione, di decisione, di controllo del comportamento, della memoria di lavoro negli adolescenti consumatori di alcol

L'uso precoce di alcol e la pratica del binge drinking espongono gli adolescenti al rischio di modulazioni neurobiologiche permanenti e al potenziale sviluppo di una alcolodipendenza. Gli studi di neuroimaging hanno contribuito significativamente alla identificazione delle aree nel cervello adolescente che vengono maggiormente alterate dall'uso di alcol. La pratica del binge drinking provoca danni precoci e marcati al cervello adolescente alterando, in particolare, le capacità di attenzione, di decisione, di controllo del comportamento, della memoria di lavoro, e sviluppando una maggiore reattività agli stimoli legati all'alcol (Schweinsburg A. et al. 2010, McQuenny T. et al. 2009). Inoltre, l'impatto dell'alcol sul neurosviluppo durante l'adolescenza si differenzia anche in base al genere maschile e femminile (Squeglia L. et al. 2011a e 2011b, Medina K. et al. 2008) richiedendo una valutazione specifica e differenziata. Infatti, gli studi di genere hanno evidenziato che la pratica del binge drinking durante l'adolescenza è associata anche a differenze specifiche nello spessore corticale frontale, e le femmine risultano più suscettibili agli effetti negativi dell'alcol sul neurosviluppo. I più recenti studi sui potenziali evento-correlati (Maurage P. et al. 2012, López-Caneda E. et al. 2012, Petit G. et al. 2012, Crego A. et al. 2010), impiegati per valutare i processi nervosi sensoriali, motori e cognitivi correlati all'uso di alcol durante l'adolescenza, hanno inoltre permesso di individuare alterazioni dei processi di percezione, attenzione, capacità decisionale, inibizione della risposta agli stimoli e della memoria di lavoro causate dalla pratica del binge drinking.

Ridotto volume cerebrale, ridotto volume cerebellare, assottigliamento del corpo calloso, allargamento dei ventricoli, aumentato volume del fluido cerebrospinale negli alcolisti

Già a partire dagli anni '70, sono state prodotte evidenze di un volume cerebrale marcatamente ridotto nei pazienti alcolisti (Carlen PL et al., 1978), differenze nel volume cerebellare rispetto ai soggetti sani (Haubek A & Lee K, 1979), assottigliamento del corpo calloso (Oishi M et al., 1999), allargamento dei ventricoli (Ishii T, 1983; Mutzell S, 1992), un aumentato volume del fluido cerebrospinale in varie zone del cervello (Jernigan TZ et

al., 1982). In particolare, l'ingrossamento dei ventricoli laterali (Kato A et al., 1991) ed una pronunciata atrofia progressiva della corteccia dei lobi frontali (Maes M et al., 2000) caratterizzano i pazienti alcolisti. Tutti gli studi moderni, effettuati con le più recenti metodiche di visualizzazione cerebrale, confermano grandemente la quantità di alterazioni morfologiche e di danni funzionali attribuibili all'abuso alcolico, soprattutto a carico dei lobi frontali, con conseguente compromissione delle capacità di ragionamento, di presa decisionale e di soluzione dei problemi. Gli studi su pazienti alcolisti rivelano anche alterazioni metaboliche focali ed una forte riduzione nella disponibilità di recettori per la dopamina (DA)D2 in molte regioni cerebrali che, secondo alcuni autori, resterebbe deficitaria anche dopo molti mesi di astinenza (Volkow ND et al. 2002).

## Nicotina

L'esposizione prenatale alla nicotina, a cui va incontro il feto attraverso il fumo materno, è stata descritta come la più vasta minaccia alla salute dei bambini nel mondo (Levin ED & Slotkin TA 1998). In Italia si stima che circa il 30% delle donne incinte non riesca ad abbandonare la sigaretta, nonostante i danni che questo comportamento arreca alla salute delle madri ma soprattutto dei nascituri (Ministero della Salute, 2009). Oltre al rischio di complicazioni nel decorso della gravidanza (placenta previa, gravidanza ectopica e parto prematuro, aborto spontaneo e mortalità perinatale, basso peso del feto alla nascita e possibili, gravi disturbi respiratori) alcuni ricercatori hanno trovato un'alta associazione tra l'esposizione prenatale alla nicotina ed i disturbi dello spettro autistico (Kalkbrenner A et al., 2012). Dai pochi studi di neuroimmagine che hanno indagato la relazione tra il fumo materno in gravidanza e lo sviluppo cerebrale nel feto, risulta che l'esposizione intrauterina alla nicotina è associata ad un alto numero di disturbi neurocognitivi nel nascituro (tra cui minore span di capacità di memoria di lavoro verbale e visuospatiale, coordinamento difettoso tra le regioni del cervello deputate all'elaborazione dell'informazione uditiva, compromissione dell'apprendimento uditivo), associati ad un peggior controllo degli impulsi e marcata inattenzione. Dal punto di vista morfologico è stata riportata una significativa riduzione della sostanza bianca corticale e del volume totale del parenchima cerebrale, un ridotto volume del cervelletto e del corpo calloso e, in generale, della testa del neonato. L'esposizione intrauterina al fumo di sigaretta è associata infine anche ad un minore quoziente intellettivo durante l'infanzia e l'adolescenza.

L'abitudine al fumo di sigaretta inizia solitamente in adolescenza, spesso prima dell'utilizzo di altre sostanze. Le evidenze di neuroimmagine riportano alterazioni microstrutturali nella sostanza bianca di adolescenti fumatori, associate ad alterate attivazioni cerebrali durante l'esecuzione di vari compiti neuropsicologici. Sono riportate anche compromissioni nelle funzioni cognitive superiori correlate con il fumo di sigaretta o con la sua astinenza in adolescenti, con deficit di attenzione visiva e verbale, di memoria visuospatiale e di memoria di lavoro (Jacobsen LK et al., 2007; Thatcher DL et al., 2010; Peters J et al., 2011; Rubinstein M et al., 2011)

In passato, un vasto numero di evidenze ottenute da modelli animali, aveva già dimostrato chiaramente che la nicotina diminuisce il numero di cellule cerebrali favorendo l'aumento dei marcatori di apoptosi (morte cellulare) (Xu Z. et al., 2001; Chen W.J. et al., 2003). Il fumo

Alto numero di disturbi neurocognitivi nel feto di madri fumatrici, peggior controllo degli impulsi e inattenzione

Deficit di attenzione visiva e verbale di memoria visuospatiale e di working memory

Diminuito numero di cellule cerebrali, atrofia cerebrale, ridotto volume e densità della sostanza grigia

di sigaretta mostra una stretta associazione con reperti anatomici di atrofia cerebrale generalizzata e con alterazioni della sostanza bianca frontale e parietale. Inoltre, il volume e la densità della sostanza grigia risultano minori nei fumatori in alcune specifiche regioni cerebrali, tra cui diverse zone prefrontali, parietali, temporali, il cervelletto e altre regioni che vengono compromesse anche nel morbo di Alzheimer (Gazdzinski S et al., 2005; Brody AL et al., 2004). Le ricerche che hanno confrontato fumatori adulti con soggetti di controllo, indicano anche che i fumatori hanno una minore densità di sostanza grigia nelle regioni frontali ed una maggiore concentrazione di recettori nicotinici. Gli studi funzionali dopo astinenza hanno identificato le aree anatomiche funzionalmente legate all'aumento di reattività in risposta a stimoli fumo-correlati e al peggioramento delle capacità attentive in astinenza di nicotina. Presi insieme, questi dati evidenziano come il fumo di sigaretta influenzi sia la struttura del cervello che la sua funzionalità.

## Inalanti

Riduzione dei volumi di materia grigia

La pratica dell'uso di sostanze inalanti ha pesanti ripercussioni sull'integrità neurobiologica dell'organismo, specialmente in giovane età, quando le varie strutture e funzioni organiche non sono ancora del tutto formate e risultano quindi maggiormente vulnerabili. Nonostante gli effetti tossici derivanti dall'uso di queste sostanze siano piuttosto severi, l'abuso di inalanti è uno dei problemi di assunzione di sostanze psicotrope meno studiati. Sono comunque disponibili studi di neuroimaging che descrivono le variazioni strutturali e funzionali di specifiche aree del cervello in seguito ad inalazione di alcune sostanze. In particolare per il toluene, solvente il cui uso come inalante risulta essere tra i più studiati, si assisterebbe a una riduzione dei volumi di materia grigia rispetto a soggetti di controllo, ad effetti sulla materia bianca e a neurotossicità ottica (Aydin K et al. 2009; Yücel M et al. 2010; Gupta SR et al. 2011).

## Gioco d'azzardo patologico

Anomalie nell'attivazione dei lobi frontali e dei circuiti neurali subcorticali-corticali, diminuita attivazione della corteccia orbitofrontale e della corteccia prefrontale ventro-mediale

Il gioco d'azzardo patologico viene considerato una forma di dipendenza comportamentale che presenta alcuni tratti caratteristici in comune con la dipendenza da sostanze stupefacenti. Date le somiglianze tra gioco d'azzardo patologico e dipendenza da droghe, la ricerca in questo campo ha fatto assunti e utilizzato paradigmi simili a quelli usati nella ricerca sui disturbi da uso di sostanze. Le tecniche di neuroimmagine, però, sono state introdotte solo recentemente per studiare la neurobiologia del gioco d'azzardo patologico. Attraverso studi con fMRI condotti su giocatori d'azzardo durante la visione di filmati sul gioco d'azzardo, sono state osservate spesso anomalie nell'attivazione dei lobi frontali e dei circuiti neurali subcorticali-corticali che proiettano alla corteccia frontale, insieme ad una diminuita attivazione della corteccia orbitofrontale e della corteccia prefrontale ventro-mediale. Gli studi presenti in letteratura suggeriscono numerose somiglianze rispetto ai processi decisionali relativi alla valutazione dei rischi/benefici, alle scelte e alle risposte impulsive che accomunano i giocatori d'azzardo con i tossicodipendenti (Clark L et al., 2009; Goudriaan AE et al., 2010; de Ruiter MB et al., 2009; Dannon PN et al., 2011; de Greck M et al., 2010; Miedl SF et al., 2010; van Holst RJ et al., 2012; Joutsa J et al., 2011). L'analisi dei livelli di coinvolgimento delle diverse aree cerebrali correlate all'impulsività e alla com-

pulsività necessita di studi più approfonditi, mostrando sia le somiglianze sia le differenze tra le due patologie.

## Dipendenza da Internet

La dipendenza da Internet (IAD) non solo risulta frequentemente associata ad altre patologie (depressione e ansia sociale) ma avrebbe numerosi aspetti in comune con la dipendenza da sostanze. L'ipotesi è che il circuito cerebrale che media il desiderio, indotto attraverso stimolazione, attivi aree cerebrali comuni a quelle coinvolte dal craving per sostanze stupefacenti e psicotrope (Ko C.-H. et al. 2011, Han D. et al. 2011). Infatti, grazie agli studi di neuroimaging è stato possibile individuare, in persone affette da IAD, anomalie strutturali e funzionali simili a quelle identificate in persone tossicodipendenti (Yuan K. et al. 2011a). Le persone affette da dipendenza da Internet sarebbero caratterizzate, in modo analogo ad altre forme di dipendenza, da alterazioni del sistema dopaminergico a capo dei meccanismi di ricompensa e punizione (Dong G. et al. 2011, Liu J. et al. 2010). La IAD, inoltre, provocherebbe alterazioni metaboliche in aree cerebrali implicate nel controllo degli impulsi, nel sistema di gratificazione e nella rappresentazione di esperienze passate (Park H. et al. 2010, Kim S. et al. 2011). Le indagini di morfometria basata su voxel (VBM) e di imaging con tensore di diffusione (DTI) hanno inoltre evidenziato variazioni volumetriche della materia grigia nella corteccia cingolata (Zhou Y. et al. 2011) ed anomalie microstrutturali della materia bianca (Yuan K. 2011b et al.). Tali alterazioni spiegherebbero i disturbi comportamentali, emotivi e la compromissione funzionale della capacità di controllo cognitivo riscontrate nelle persone con dipendenza da Internet. In particolare, lo studio di Lin F. et al. 2012 propone di considerare l'integrità della materia bianca quale nuovo potenziale target per il trattamento della dipendenza da Internet, mentre i livelli dell'anisotropia frazionaria (FA) potrebbero essere impiegati per valutare l'efficacia di specifici interventi per il trattamento della dipendenza da Internet.

Alterazioni metaboliche in aree cerebrali implicate nel controllo degli impulsi, nel sistema di gratificazione e nella rappresentazione di esperienze passate

## Dipendenza da cibo

La dipendenza da cibo rappresenta una delle cosiddette "nuove dipendenze" per la quale non è ancora disponibile una precisa definizione. Si parla di comportamenti anomali di assunzione di cibo, disturbi dell'alimentazione fino all'obesità e la dipendenza da cibo può essere dunque descritta come un problema cronico recidivante causato da diversi fattori che aumentano il craving per il cibo, portando ad uno stato di elevato piacere, di sensazione di energia o di eccitazione. La neurobiologia che sottende a tali comportamenti, presenta aree di sovrapposizione con i comportamenti indotti dal consumo di droghe. Numerosi studi evidenziano, infatti, il coinvolgimento di circuiti neuronali e ormonali comuni tra dipendenza da sostanze e dipendenza da cibo, anche se sussistono alcune differenze (Volkow ND et al. 2011; Dietrich, M. e Horvath, T, 2009). Il neuroimaging funzionale offre la possibilità di studiare tali sovrapposizioni e differenze, al fine di comprendere come alcune caratteristiche piacevoli del cibo - odore, aspetto, sapore - funzionano o meno da caratteristiche di rinforzo in modo analogo a quanto avviene per le droghe. In particolare, con l'uso di tecniche come la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) e la Risonanza Magnetica (MRI), è stato possibile evidenziare aree funzionali e neuroanatomiche modificate

Coinvolgimento di circuiti neuronali e ormonali comuni tra dipendenza da sostanze e dipendenza da cibo



in funzione dei comportamenti di assunzione di cibo, con risultati di varie ricerche che indicherebbero come il cibo, in modo analogo alle droghe, moduli il rilascio del neurotrasmettitore dopamina nell'area cerebrale mesolimbica a livelli che correlano con la sensazione di ricompensa soggettiva (Stice E et al. 2008; Stice E et al., 2008b; Volkow ND et al., 2011; Volkow ND et al., 2008a; Wang et al. 2002; Pelchat ML et al., 2004).

## Conclusioni

Alla luce delle evidenze scientifiche riportate in questa sintesi, risulta ampiamente documentato che le droghe agiscono sulle strutture e i sistemi cerebrali alterando le funzioni neuropsicologiche associate e le diverse tecniche di neuroimmagine (Risonanza Magnetica funzionale, Tomografia ad Emissione di Positroni, ecc.) hanno dato una grande contributo nell'identificare le basi neurobiologiche della dipendenza da sostanze e nello spiegare i deficit riscontrati nel consumatore di droghe (ad esempio, alterazione del sistema dopaminergico della gratificazione, dei processi decisionali e deficit di controllo prefrontale sui comportamenti, ecc.). I correlati neurali, funzionali e strutturali, dei comportamenti di dipendenza, rilevabili anche attraverso le neuroimmagini, riportano evidenze che, perciò, potrebbero condurre a nuovi modelli interpretativi e, sulla base di questi, a nuovi modelli di diagnosi, cura e riabilitazione. Tutto ciò, potrà essere di ausilio agli operatori del settore per meglio comprendere, investigare, gestire e curare la grave malattia della dipendenza e permettere che costoro, con il proprio lavoro quotidiano, possano meglio aiutare le persone che usano droghe, o che già hanno sviluppato una dipendenza, e le loro famiglie, a trovare la giusta comprensione del fenomeno ed un adeguato supporto clinico e riabilitativo.

## Biografia

1. Arnold R, Johnson C, McNulty B, Gaisie G. Substantia nigra MR imaging signal changes and cardiomyopathy following prenatal exposure to cocaine and heroin. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2008 Apr; 29 (4) :828-9
2. Arnone D, Barrick TR, Chengappa S, Mackay CE, Clark CA, Abou-Saleh MT. Corpus callosum damage in heavy marijuana use: preliminary evidence from diffusion tensor tractography and tract-based spatial statistics. *Neuroimage.* 2008 Jul 1;41(3):1067-74. Ashtari, M., Cervellione, K. L., Hasan, K. M., McIlree, C., Wu, J., Kester, H., et al. (2007). White matter development during late adolescence in healthy males: a cross-sectional diffusion imaging study. *Neuroimage*, 501-510.
3. Ashtari M, Cervellione K, Cottone J, Ardekani BA, Kumra S. Diffusion abnormalities in adolescents and young adults with a history of heavy cannabis use. *Journal of Psychiatric Research* 43 (2009) 189–204.
4. Auer, J., Berent, R., Weber, T., Lassnig, E., & Eber, B. (2002). Subarachnoid haemorrhage with "Ecstasy" abuse in a young adult. *Neurol Sci.*
5. Aydin K, Kircan S, Sarwar S, Okur O, Balaban E. Smaller gray matter volumes in frontal and parietal cortices of solvent abusers correlate with cognitive deficits. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2009 Nov;30(10):1922-8. Epub 2009 Jul 30.
6. Barnea-Goraly, N., Menon, V., Eckert, M., Tamm, L., Bammer, R., Karchemskiy, A., et al. (2005). White matter development during childhood and adolescence: a cross-sectional diffusion tensor imaging study. *Cereb. Cortex*, 1848–1854.
7. Barnett, M.H., Miller, L.A., Reddel, S.W., Davies, L., 2001. Reversible delayed leukoencephalopathy following intravenous heroin overdose. *J. Clin. Neurosci.* 8,165–167.
8. Becker B, Wagner D, Gouzoulis-Mayfrank E, Spuentrup E, Daumann J. The impact of early-onset cannabis use on functional brain correlates of working memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010
9. Borne, J., Riascos, R., Cuellar, H., Vargas, D., Rojas, R., 2005. Neuroimaging in drug and substance abuse. Part II. Opioids and solvents. *Top. Magn. Reson. Imaging* 16, 239–245.
10. Brody, A. L., Mandelkern, M. A., Jarvik, M. E., Lee, G. S., Smith, E. C., Huang, J. C., et al. (2004). Differences between smokers and nonsmokers in regional gray matter volumes and densities. *Biol. Psychiatry*, 77–84.
11. Carhart-Harris RL, Leech R, Erritzoe D, Williams TM, Stone JM, Evans J, Sharp DJ, Feilding A, Wise RG, Nutt DJ., Functional Connectivity Measures After Psilocybin Inform a Novel Hypothesis of Early Psychosis. *Schizophr Bull.* 2012 Oct 8.
12. Carlen PL, Wortzman G, Holgate RC, Wilkinson DA, Rankin JG (1978) Reversible cerebral atrophy in recently abstinent chronic alcoholics measured by computed tomographic scans. *Science* 200:1076–1078.
13. Chambers , R. A., & Potenza, M. N. (2003). Neurodevelopment, Impulsivity, and Adolescent Gambling.

Journal of Gambling Studies, 53-84.

14. Chang L., Yakupov R., Cloak C., Ernst T. Marijuana use is associated with a reorganized visual-attention network and cerebellar hypoactivation *Brain* (2006), 129, 1096–1112
15. Chang, W.L., Chang, Y.K., Hsu, S.Y., Lin, G.J., Chen, S.C., 2009. Reversible delayed leukoencephalopathy after heroin intoxication with hypoxia: a case report. *Acta Neurol. Taiwan* 18, 198–202.
16. Chen, W. J., Edwards, R. B., Romero, R. D., Parnell, S. E., & Monk, R. J. (2003). Long-term nicotine exposure reduces Purkinje cell number in the adult rat cerebellar vermis. *Neurotoxicol. Teratol.*, 329–334.
17. Clark L, Lawrence AJ, Astley-Jones F, et al. Gambling nearmisses enhance motivation to gamble and recruit win-related brain circuitry. *Neuron* 2009, 61:481–490.
18. Cloak C. et al.; 2009. Lower diffusion in white matter of children with prenatal methamphetamine exposure
19. Cohen-Zion, M., Drummong, S.P.A., Padula, C.B., Winward, J., Kanady, J., Medina, K.L., & Tapert, S.F. (2009). Sleep Architecture in Adolescent Marijuana and Alcohol Users during Acute and Extended Abstinence. *Addictive Behaviors*, 34(11), 967-9.
20. Crego A, Rodriguez-Holguin S, Parada M et al. (2010), Reduced anterior prefrontal cortex activation in young binge drinkers during a visual working memory task, *Drug and Alcohol Dependence*, 109:45–56.
21. Dannon PN, Kushnir T, Aizer A, Gross-Isseroff R, Kotler M, Manor D Alternation learning in pathological gamblers: an fMRI Study. *Brain Imaging and Behavior* (2011) 5:45–51
22. de Greck M, Enzi B, Prösch U, Gantman A, Tempelmann C, Northoff G. Decreased neuronal activity in reward circuitry of pathological gamblers during processing of personal relevant stimuli. *Hum Brain Mapp.* 2010 Nov;31(11):1802-12.
23. de Ruiter MB, Veltman DJ, Goudriaan AE, et al. Response perseveration and ventral prefrontal sensitivity to reward and punishment in male problem gamblers and smokers. *Neuropsychopharmacology* 2009, 34:1027–1038.
24. de Win, M. L., Jager, G., Booij, J., Reneman, L., Schilt, T., & Lavini, C. (2008). Sustained effects of ecstasy on the human brain: A prospective neuroimaging study in novel users. *Brain*, 2936-2945.
25. Dietrich, M. and Horvath, T. (2009) Feeding signals and brain circuitry. *Eur. J. Neurosci.* 30, 1688–1696.
26. DiFranza, J. R. (2008). Hooked from the First Cigarette. *Scientific American Magazine*, 689-98.
27. DiFranza, J. R., Rigotti, N. A., McNeill, A. D., Ockene, J. K., Savageau, J. A., St Cyr, D., et al. (2000). Initial symptoms of nicotine dependence in adolescents. *Tobacco Control*, 9:313–319.
28. DiFranza, J. R., Savageau, J. A., Rigotti, N. A., Fletcher, K., Ockene, J. k., McNeill, A. D., et al. (2002). Development of symptoms of tobacco dependence in youths: 30 month follow up data from the DANDY study. *Tobacco Control*, 11:228–235.
29. Dipietro J.A., Suess P.E, Wheeler J.S., Smouse P.H, Newlin D.B., Reactivity and regulation in cocaine-exposed neonates, *Infant Behav. Dev.* 18 (1995) 407–414
30. Dong G, Huang J, Du X (2011), Enhanced reward sensitivity and decreased loss sensitivity in Internet addicts: An fMRI study during a guessing task, *J Psychiatr Res*, 45:1525-1529.
31. Downer EJ, Campbell VA. Phytocannabinoids, CNS cells and development: A dead issue? *Drug Alcohol Rev* 2010;29:91–98
32. Eldreth DA, Matochik JA., Cadet JL., Bolla KI. Abnormal brain activity in prefrontal brain regions in abstinent marijuana users *NeuroImage* 23 (2004) 914– 920
33. Ernst T, Chang L (2008) Adaptation of brain glutamate plus glutamine during abstinence from chronic methamphetamine use. *J NeuroimmunePharmacol* 3:165–172
34. Fernandez-Ruiz J, Berrendero F, Hernandez ML, Ramos JA. (2000) The endogenous cannabinoid system and brain development. *Trends Neurosci.* 23, 14-20.
35. Fowler JS, Volkow ND, Logan J, et al. Fast uptake and long-lasting binding of ethamphetamine in the human brain: comparison with cocaine. *Neuroimage.* 2008;43(4):756–763
36. Fried PA, Watkinson, B. (1990). 36- and 48-month neurobehavioural follow-up of children prenatally exposed to marijuana, cigarettes, and alcohol. *Journal of Developmental and Behavioural Pediatrics*, 11, 49-58.
37. Fried PA., Watkinson B. (2001) Differential effects on facets of attention in adolescents prenatally exposed to cigarettes and marihuana. *Neurotoxicol Teratol* 23:421-430.
38. Garavan H., Morgan R.E, Mactutus C.F., Levitsky D.A., Booze R.M., Prenatal cocaine exposure impairs selective attention: evidence from serial reversal and extradimensional shift tasks, *Behav. Neurosci.* 114 (2000) 725–738
39. Gazdzinski S, Durazzo TC, Studholme C, Song E, Banys P, Meyerhoff DJ., Quantitative brain MRI in alcohol dependence: preliminary evidence for effects of concurrent chronic cigarette smoking on regional brain volumes, *Alcohol Clin Exp Res.* 2005 Aug;29(8):1484-95.
40. Giedd JN. Structural magnetic resonance imaging of the adolescent brain. *Ann N Y Acad Sci* 2004:1021.
41. Giedd, J. N. (2006). Structural Magnetic Resonance Imaging of the Adolescent Brain. *Adolescent Brain Development: Vulnerabilities and Opportunities*, 77–85.
42. Giorgio, A., Watkins, K. E., Douaud, G., James, A. C., James, S., De Stefano, N., et al. (2008). Changes in white matter microstructure during adolescence. *NeuroImage*, 52–61.
43. Goudriaan AE, de Ruiter MB, van den Brink W, et al. Brain activation patterns associated with cue reactivity and craving in abstinent problem gamblers, heavy smokers and healthy controls: an fMRI study. *Addict Biol* 2010 15, 491–503
44. Gu H, Salmeron BJ, Ross TJ, Geng X, Zhan W, Stein EA, Yang Y., Mesocorticolimbic circuits are impaired in chronic cocaine users as demonstrated by resting-state functional connectivity, *Neuroimage.* 2010 Nov 1;53(2):593-601. Epub 2010 Jul 11.
45. Gupta SR, Palmer CA, Curé JK, Balos LL, Lincoff NS, Kline LB. Toluene optic neurotoxicity: magnetic resonance imaging and pathologic features. *Hum Pathol.* 2011 Feb;42(2):295-8.
46. Gruber, S.A., Yurgelun-Todd, D.A., 2005. Neuroimaging of marijuana smokers during inhibitory processing: a pilot investigation. *Brain Res. Cogn. Brain Res.* 23, 107–118.
47. Han DH, Bolo N, Daniels MA et al. (2011), Brain activity and desire for Internet video game play, *Comprehensive Psychiatry*, 52:88–95.
48. Haubek A, Lee K (1979) Computed tomography in alcoholic cerebellar atrophy. *Neuroradiology* 18:77–79.

49. Honey RAE, Honey GD, O'Loughlin C, Sharar SR, Kumaran D, Bullmore ET, Menon DK, Donovan T, Lupson VC, Bisbrown-Chippendale R, Fletcher PC (2004) Acute ketamine administration alters the brain responses to executive demands in a verbal working memory task: an fMRI study. *Neuropsychopharmacology* 29:1203–1214.
50. Ishii T (1983) A comparison of cerebral atrophy in CT scan findings among alcoholic groups. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 309:1–30.
51. Jacobsen, L. K., Mencl, W. E., Constable, R. T., Westerveld, M., & Pugh, K. R. (2007). Impact of smoking abstinence on working memory neurocircuitry in adolescent daily tobacco smokers. *Psychopharmacology*, 557–566.
52. Jacobsen, L. K., Picciotto, M. R., Heath, C. J., Frost, S. J., Tsou, K. A., Dwan, R. A., et al. (2007). Prenatal and Adolescent Exposure to Tobacco Smoke Modulates the Development of White Matter Microstructure. *The Journal of Neuroscience*, 13491–13498.
53. Jacobsen, L. K., Pugh, K. R., Constable, R.T., Westerveld, M., & Mencl, W. E. (2007). Functional correlates of verbal memory deficits emerging during nicotine withdrawal in abstinent adolescent cannabis users. *Biol Psychiatry*, 61(1):31-40.
54. Jacobsen, L. K., Slotkin, T. A., Westerveld, M., Mencl, W. E., & Pugh, K. R. (2006). Visuospatial Memory Deficits Emerging During Nicotine Withdrawal in Adolescents with Prenatal Exposure to Active Maternal Smoking. *Neuropsychopharmacology*, 1550–1561. Lenroot, R. K., & Giedd, J. N. (2006). Brain development in children and adolescents: Insights from anatomical magnetic resonance imaging. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 718–729.
55. Jager G, Block RI, Luijten M, Ramsey NF, Cannabis use and memory brain function in adolescent boys: a cross-sectional multicenter functional magnetic resonance imaging study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2010 Jun;49(6):561-72, 572.e1-3. Epub 2010 Apr 14.
56. Jarvis K, DelBello MP, Mills N, Elman I, Strakowski SM, Adler CM.J, Neuroanatomic comparison of bipolar adolescents with and without cannabis use disorders, *Child Adolesc Psychopharmacol*. 2008 Dec;18(6):557-63.
57. Jernigan TL, Zatz LM, Ahumada AJ Jr, Pfefferbaum A, Tinklenberg JR, Moses JA Jr (1982) CT measures of cerebrospinal fluid volume in alcoholics and normal volunteers. *Psychiatry Res* 7:9–17.
58. Joutsa J, Saunavaara J, Parkkola R, Niemelä S, Kaasinen V. Extensive abnormality of brain white matter integrity in pathological gambling, *Psychiatry Research: Neuroimaging* (2011)
59. Kalkbrenner, A. E., Braun, J. M., Durkin, M. S., Maenner, M. J., Cuniff, C., Lee, L., et al. (2012). Maternal Smoking during Pregnancy and the Prevalence of Autism Spectrum Disorders, Using Data from the Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network. *Environmental Health Perspectives*.
60. Kato A, Tsuji M, Nakamura M, Nakajima T (1991) Computerized tomographic study on the brain of patients with alcohol dependence. *Jpn J Psychiatry Neurol* 45:27–35.
61. Kim YT, Kwon DH, Chang Y (2011) Impairments of facial emotion recognition and theory of mind in methamphetamine abusers. *Psychiatry Res* 186:80–84
62. King, G., Alicata, D., Cloak, C., & Chang, L. (2010). Psychiatric symptoms and HPA axis function in adolescent methamphetamine users. *J. Neuroimmune Pharmacol*, 582–591.
63. Kloos, A., Weller, R. A., Chan, R., & Weller, E. B. (2009). Gender differences in adolescent substance abuse. *Curr Psychiatry Rep*, 11(2), 120-126.
64. Ko C-H, Yen J-Y, Yen C-F et al. (2012), The association between Internet addiction and psychiatric disorder: A review of the literature, *European Psychiatry* 27(1):1-8.
65. Lebel C, Roussotte F, Sowell ER. Imaging the Impact of Prenatal Alcohol Exposure on the Structure of the Developing Human Brain. *Neuropsychol Rev*. 2011 June; 21(2): 102–118.
66. Levin, E. D., & Slotkin, T. A. (1998). Developmental neurotoxicity of nicotine. In C. L. Slikker W, *Handbook of Developmental Neurotoxicology* (pp. 587–615 ). San Diego Academic Press.
67. Li ZH, Liu YF, Li KN, Duanmu HZ, Chang ZQ, Li ZQ, Zhang SZ, Xu Y., Analysis of functional and pathway association of differential co-expressed genes: a case study in drug addiction. *J Biomed Inform*. 2012 Feb;45(1):30-6. Epub 2011 Aug 28.
68. Li Z, Coles CD, Lynch ME, Hamann S, Peltier S, LaConte S, Hu X., Prenatal cocaine exposure alters emotional arousal regulation and its effects on working memory, *Neurotoxicol Teratol*. 2009 Nov-Dec;31(6):342-8. Epub 2009 Aug 21.
69. Lin F, Zhou Y, Du Y et al. (2012), Abnormal White Matter Integrity in Adolescents with Internet Addiction Disorder: A Tract-Based Spatial Statistics Study, *PLoS ONE* 7(1): e30253.
70. Liu J., Cohen R.A., Gongvatana A., Sheinkopf S.J., Lester B.M., Impact of Prenatal Exposure to Cocaine and Tobacco on Diffusion Tensor Imaging and Sensation Seeking in Adolescents *The Journal of Pediatrics* Volume 159, Issue 5, November 2011, Pages 771–775
71. López-Caneda E, Cadaveira F, Crego A et al. (2012), Hyperactivation of right inferior frontal cortex in young binge drinkers during response inhibition: a follow-up study. *Addiction*.
72. Mabbott, D. J., Noseworthy, M., Bouffet, E., Laughlin, S., & Rockel, C. (2006). White matter growth as a mechanism of cognitive development in children. *NeuroImage*, 936 –946.
73. Maes M, Vandoolaeghe E, Degroote J, Altamura C, Roels C, Hermans P (2000) Linear CT-scan measurements in alcohol-dependent patients with and without delirium tremens. *Alcohol* 20:117–123.
74. Matochik, J.A., Eldreth, D.A., Cadet, J.-L., Bolla, K.I., in press. Altered brain tissue composition in heavy marijuana users. *Alcohol and Drug Dependence*.
75. Maurage P, Joassin F, Speth A et al. (2012), Cerebral effects of binge drinking: respective influences of global alcohol intake and consumption pattern, *Clin Neurophysiol* 123(5):892-901.
76. McKetin, R., McLaren, J., Lubman, D. I., & Hides, L. (2006). The prevalence of psychotic symptoms among methamphetamine users. *Addiction*, 1473–1478.
77. McQueeney T, Schweinsburg BC, Schweinsburg AD et al. (2009), Altered White Matter Integrity in Adolescent Binge Drinkers, *Alcohol Clin Exp Res* 33(7):1278–1285.
78. Medina KL, McQueeney T, Bonnie J et al. (2008), Prefrontal cortex volumes in adolescents with alcohol use disorders: unique gender effects, *Alcohol Clin Exp Res*, 32(3):386-394.

79. Medina, K.L., Schweinsburg, A.D., Cohen-Zion, M., Nagel, B.J., & Tapert, S.F. (2007). Effects of alcohol and combined marijuana and alcohol use during adolescence on hippocampal asymmetry. *Neurotoxicology and Teratology*, 29, 141-152.
80. Miedl SF, Fehr T, Meyer G, et al.: Neurobiological correlates of problem gambling in a quasi-realistic blackjack scenario as revealed by fMRI. *Psychiatry Res* 2010, 181:165-173.
81. Ministero della Salute (2009). Attività per la prevenzione del tabagismo. Roma.
82. Molloy, S., Soh, C., Williams, T.L., 2006. Reversible delayed posthypoxic leukoencephalopathy. *Am. J. Neuro-radiol.* 27, 1763-1765.
83. Mutzell S (1992) Computed tomography of the brain, hepatotoxic drugs and high alcohol consumption in male alcoholic patients and a random sample from the general male population. *Ups J Med Sci* 97:183-194.
84. Nordahl TE, Salo R, Natsuaki Y, Galloway GP, Waters C, Moore CD, Kile S, Buonocore MH (2005) Methamphetamine users in sustained abstinence: a proton magnetic resonance spectroscopy study. *Arch Gen Psychiatry* 62:444-452
85. O'Hearn, E., Battaglia, G., De Souza, E. B., Kuhar, M. J., & Molliver, M. E. (1988). Methylenedioxymphetamine (MDA) and methylenedioxymphetamine (MDMA) cause selective ablation of serotonergic axon terminals in forebrain: immunocytochemical evidence for neurotoxicity. *J Neurosci*, 8:2788-2803.
86. Oishi M, Mochizuki Y, Shikata E (1999) Corpus callosum atrophy and cerebral blood flow in chronic alcoholics. *J Neurol Sci* 162:51-55.
87. Park H.S., Kim S.H., Bang S.A. et al. (2010) Altered Regional Cerebral Glucose Metabolism in Internet Game Overusers: A 18F-fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography Study, *CNS Spectr*, 15(3):159-166.
88. Pelchat ML, Johnson A, Chan R, Valdez J, Ragland JD. Images of desire: food-craving activation during fMRI. *Neuroimage*. 2004 Dec;23(4):1486-93.
89. Peters, J., Bromberg, U., Schneider, S., Brassen, S., Menz, M., Banaschewski, T., et al. (2011). Lower Ventral Striatal Activation During Reward Anticipation in Adolescent Smokers. *Am J Psychiatry*, 168:540-549.
90. Petit G, Kornreich C, Maurice P et al. (2012), Early attentional modulation by alcohol-related cues in young binge drinkers: an event-related potentials study, *Clin Neurophysiol.* 123(5):925-36.
91. Qiu, D., Tan, L. H., Zhou, K., & Khong, P. L. (2008). Diffusion tensor imaging of normal white matter maturation from late childhood to young adulthood: voxel-wise evaluation of mean diffusivity, fractional anisotropy, radial and axial diffusivity, and correlation with reading development. *Neuroimage*, 223-232.
92. Rao H, Wang J, Giannetta J, Korczykowski M, Shera D, Avants BB, Gee J, Detre JA, Hurt H: Altered resting cerebral blood flow in adolescents with in utero cocaine exposure revealed by perfusion functional MRI. *Pediatrics* 2007; 120:e1245-e1254.
93. Ricaurte, G. A., Schuster, C. R., & Seiden, L. S. (1980). Long-term effects of repeated methylamphetamine administration on dopamine and serotonin neurons in the rat brain: a regional study. *Brain Res*, 193:153-163.
94. Richardson GA, Day NL, Goldschmidt L. (1995) Prenatal alcohol, marijuana, and tobacco use: infant mental and motor development. *Neurotoxicol Teratol* 17:479-487.
95. Rose, J.S., Branchey, M., Buydens-Branch, L., Stapleton, J.M., Chasten, K., Werrell, A., Maayan, M.L., 1996. Cerebral perfusion in early and late opiate withdrawal: a technetium-99m-HMPAO SPECT study. *Psychiatry Res.* 67, 39-47.
96. Rubinstein, M. L., Luks, T. L., Dryden, W. Y., Rait, M. A., & Simpson, G. V. (2011). Adolescent Smokers Show Decreased Brain Responses to Pleasurable Food Images Compared With Nonsmokers. *Nicotine & Tobacco Research*, 13:751-755.
97. Salo R, Buonocore MH, Leamon M, Natsuaki Y, Waters C, Moore CD, Galloway GP, Nordahl TE (2011a) Extended findings of brain metabolite normalization in MA-dependent subjects across sustained abstinence: a proton MRS study. *Drug Alcohol Depend* 113:133-138
98. Salo R, Nordahl TE, Galloway GP, Moore CD, Waters C, LeamonMH(2009b) Drug abstinence and cognitive control in methamphetamine-dependent individuals. *J Subst Abuse Treat* 37:292-297
99. Schweinsburg AD, McQueeney T, Nagel BJ et al. (2010), A preliminary study of functional magnetic resonance imaging response during verbal encoding among adolescent binge drinkers, *Alcohol*. 44(1):111-117.
100. Silveri Marisa M., John Eric Jensen, Isabelle M. Rosso, Jennifer T. Sneider, Deborah A. Yurgelun-Todd. Preliminary evidence for white matter metabolite differences in marijuana dependent young men using 2D j-resolved magnetic resonance spectroscopy imaging at 4 tesla. *Psychiatry Research: Neuroimaging* 191 (2011) 201-211.
101. Simon SL, Dean AC, Cordova X, Monterosso JR, London ED (2010) Methamphetamine dependence and neuropsychological functioning: evaluating change during early abstinence. *J Stud Alcohol Drugs* 71:335-344
102. Smith AM, Fried PA, Hogan MJ, Cameron I. (2006). Effects of prenatal marijuana on visuospatial working memory: An fMRI study in young adults. *Neurotoxicology and Teratology*, 28, 286-295.
103. Sowell, E.R.; Mattson, S.N.; Kan, E. Abnormal cortical thickness and brain-behavior correlation patterns in individuals with heavy prenatal alcohol exposure. *Cerebral Cortex* 18(1):136-144, 2008
104. Squeglia LM, Sorg SF, Schweinsburg AD, Pulido C, Tapert SF (2011 b), Adolescent Binge Drinking Linked to Abnormal Spatial Working Memory Brain Activation: Differential Gender Effects, *Alcohol Clin Exp Res*, 35(10):1-11.
105. Squeglia LM, Sorg SF, Schweinsburg AD et al. (2011 a), Binge drinking differentially affects adolescent male and female brain morphometry, *Psychopharmacology (Berl)*. 220(3):529-39.
106. Stice E, Spoor S, Bohon C, Small DM. (2008b) Relation between obesity and blunted striatal response to food is moderated by Taq1A A1 allele. *Science* 2008; 322(5900): 449-52.
107. Stice E, Spoor S, Bohon C, Veldhuizen MG, Small DM. (2008a) Relation of reward from food intake and anticipated food intake to obesity: a functional magnetic resonance imaging study. *J Abnorm Psychol*; 117(4): 924-35.
108. Tapert SF, Schweinsburg AD, Drummond SP et al. Functional MRI of inhibitory processing in abstinent adolescent marijuana users. *Psychopharmacology* 2007 October; 194 (2): 173-183.
109. Trezza V, Cuomo V, Vanderschuren LJMJ (2008) Cannabis and the developing brain: Insights from behaviour. *European Journal of Pharmacology* 585 441-452.
110. van Holst RJ, Veltman DJ, Büchel C, van den Brink W, Goudriaan AE. Distorted expectancy coding in problem gambling: is the addictive in the anticipation? *Biol Psychiatry*. 2012 Apr 15;71(8):741-8.
110. Volkow ND, Wang GJ, Baler RD. Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity.

- Trends Cogn Sci. 2011 Jan;15(1):37-46. Epub 2010 Nov 24.
111. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Telang F. (2008a) Overlapping neuronal circuits in addiction and obesity: evidence of systems pathology. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*; 363(1507): 3191-200.
  112. Volkow ND, Wang GJ, Maynard L, Fowler JS, Jayne B, Telang F, Logan J, Ding YS, Gatley SJ, Hitzemann R, Wong C, Pappas N (2002) Effects of alcohol detoxification on dopamine D2 receptors in alcoholics: a preliminary study. *Psychiatry Res* 116:163–172.
  113. Volkow, N. D., Chang, L., Wang, G. J., Fowler, J. S., Franceschi, D., & Sedler, S. (2001). Loss of Dopamine Transporters in Methamphetamine Abusers Recovers with Protracted Abstinence. *The Journal of Neuroscience*, 9414–9418
  114. Wagner, G. C., Ricaurte, G. A., Johanson, C. E., Schuster, C. R., & Seiden, L. S. (1980). Amphetamine induces depletion of dopamine and loss of dopamine uptake sites in caudate. *Neurology*, 30:547–550.
  115. Wang GJ, Volkow ND, Felder C, et al. Enhanced resting activity of the oral somatosensory cortex in obese subjects. *Neuroreport* 2002; 13(9): 1151-5.
  116. Wang X, Li B, Zhou X, Liao Y, Tang J, Liu T, Hu D, Hao W. Changes in brain gray matter in abstinent heroin addicts. *Drug Alcohol Depend*. 2012 Jun 18.
  117. Walhovd KB, Westlye LT, Moe V, Slinning K, Due-Tønnessen P, Bjørnerud A, van der Kouwe A, Dale AM, Fjell AM. White matter characteristics and cognition in prenatally opiate- and polysubstance-exposed children: a diffusion tensor imaging study. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2010 May;31(5):894-900.
  118. Warner TD, Behnke M, Eyler FD, Padgett K, Leonard C, Hou W, Garvan CW, Schmalfuss IM, Blackband SJ: Diffusion tensor imaging of frontal white matter and executive functioning in cocaine-exposed children. *Pediatrics* 2006; 118: 2014–2024.
  119. Wozniak, J.R.; Mueller, B.A.; Chang, P.N. Diffusion tensor imaging in children with fetal alcohol spectrum disorders. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 30(10):1799–1806, 2006
  120. Xu, J., Mendrek, A., Cohen, M. S., Monterosso, J., Rodriguez, P., Simon, S. L., et al. (2005). Brain Activity in Cigarette Smokers Performing a Working Memory Task: Effect of Smoking Abstinence. *BIOL PSYCHIATRY*, 143–150.
  121. Yuan K., Qin W., Liu Y., Tian J. (2011a), Internet addiction Neuroimaging findings, *Communicative & Integrative Biology* 4:6, 637-639.
  122. Yücel M, Zalesky A, Takagi MJ, Bora E, Fornito A, Ditchfield M, Egan GF, Pantelis C, Lubman DI. White-matter abnormalities in adolescents with long-term inhalant and cannabis use: a diffusion magnetic resonance imaging study. *J Psychiatry Neurosci*. 2010 Nov;35(6):409-12.
  123. Zhou Y, Lin F-C, Du Y-S et al. (2011), Gray matter abnormalities in Internet addiction: A voxel-based morphometry study, *European Journal of Radiology* 79:92–95.
  124. Zhou, F. C., & Bledsoe, S. (1996). Methamphetamine causes rapid varicosis, perforation and definitive degeneration of serotonin fibers: an immunocytochemical study of serotonin transporter. *Neuroscience-Net*, 1–17.



## **Parte 1**

---

### **Aspetti generali**







# 1.1 Introduzione

## Le neuroimmagini delle dipendenze

Nora D. Volkow<sup>1</sup>, Gene-Jack Wang<sup>2</sup>, Joanna S. Fowler<sup>2</sup>, Dardo Tomasi<sup>3</sup>, Ruben Baler<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Institute on Drug Abuse, Bethesda, Maryland

<sup>2</sup> Brookhaven National Laboratory, Upton, New York

<sup>3</sup> National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, Bethesda, Maryland

Sintesi

Le moderne tecniche di imaging hanno permesso ai ricercatori di scrutare in modo non invasivo il cervello umano e di indagare, tra le altre cose, gli effetti acuti e le conseguenze a lungo termine dell'uso di droga. Nel presente articolo vengono analizzate le tecniche di imaging più comunemente utilizzate e quelle emergenti nel campo della ricerca sulla dipendenza, viene illustrato in che modo esse generano le immagini caratteristiche e viene descritto il razionale su cui ci si basa per la loro interpretazione. Inoltre, vengono riportati esempi di risultati determinanti conseguiti dalle neuro immagini che illustrano il contributo che ciascuna tecnica può apportare per ampliare la nostra comprensione delle basi neurobiologiche dell'uso di droga e della dipendenza, e il loro possibile impiego nelle future applicazioni cliniche e terapeutiche.

### 1. Introduzione

Le acquisizioni scientifiche degli ultimi 20-30 anni hanno dimostrato che la tossicodipendenza è una malattia cronica del cervello (1). Le principali evidenze a supporto di questa tesi sono state ricavate dagli studi di imaging sul cervello condotti su tossicodipendenti durante o in seguito a vari periodi di esposizione alle sostanze. Questi studi hanno fornito informazioni sugli effetti neurobiologici delle droghe, hanno contribuito a illustrare le cause e i meccanismi della vulnerabilità all'abuso di droghe, e hanno permesso di approdare a conoscenze sulle esperienze soggettive e sui comportamenti dei tossicodipendenti, inclusa la loro difficoltà a raggiungere una guarigione duratura, senza recidive. In un futuro non troppo lontano, le tecniche di imaging del cervello potrebbero essere impiegate per valutare il grado e il tipo di disfunzione cerebrale dei pazienti tossicodipendenti, adattando i loro trattamenti e monitorando la loro risposta alla terapia.

Le sette principali tecniche di imaging del cervello - la risonanza magnetica strutturale (MRI), la risonanza magnetica funzionale (fMRI), testing-state fMRI, l'imaging con tensore di diffusione (DTI), la spettroscopia di risonanza magnetica (MRS), la tomografia ad emissione di positroni (PET), e la tomografia computerizzata ad emissione di fotoni singoli (SPECT) - rivelano diversi aspetti della struttura e/o della funzione cerebrale (2-6). Considerate singolarmente, esse forniscono informazioni altamente complementari sull'anatomia e sulla composizione del tessuto cerebrale, sui processi biochimici, fisiologici e funzionali, sui livelli dei neurotrasmettitori, sull'utilizzo dell'energia e sul flusso sanguigno, sulla distribuzione e sulla cinetica della sostanza. Associate tra di loro e in combinazione con altre tecniche di ricerca, contribuiscono a migliorare sempre più la nostra comprensione sull'uso di droga e sulla tossicodipendenza.

## 2. Tecniche di imaging basate sulla risonanza magnetica

L'imaging a risonanza magnetica strutturale (sMRI)

La sMRI traduce il diverso contenuto d'acqua delle singole aree cerebrali nelle diverse tonalità di grigio che definiscono le forme e le dimensioni delle varie sotto-aree del cervello. Una scansione MRI emette una radiofrequenza specifica che stimola gli atomi di idrogeno nella molecola d'acqua, la quale restituisce parte di questa energia sotto forma di un segnale caratteristico NMR. Non tutti i protoni "risuonano" in questo modo, ma comunque in sufficiente quantità perché l'immagine risultante, generata dal computer, fornisca una mappa molto dettagliata dei tessuti e delle strutture del cervello. Questo strumento pertanto, può essere utilizzato per individuare la presenza di tessuto anomalo, osservando i cambiamenti nella densità e nella composizione del tessuto. Attraverso la lettura di una sMRI, è possibile distinguere facilmente la materia grigia, la materia bianca e altri tipi di tessuti, sia normali, come i vasi sanguigni, sia anomali, come i tumori, analizzando la loro diversa gradazione e il loro contrasto con le aree circostanti.

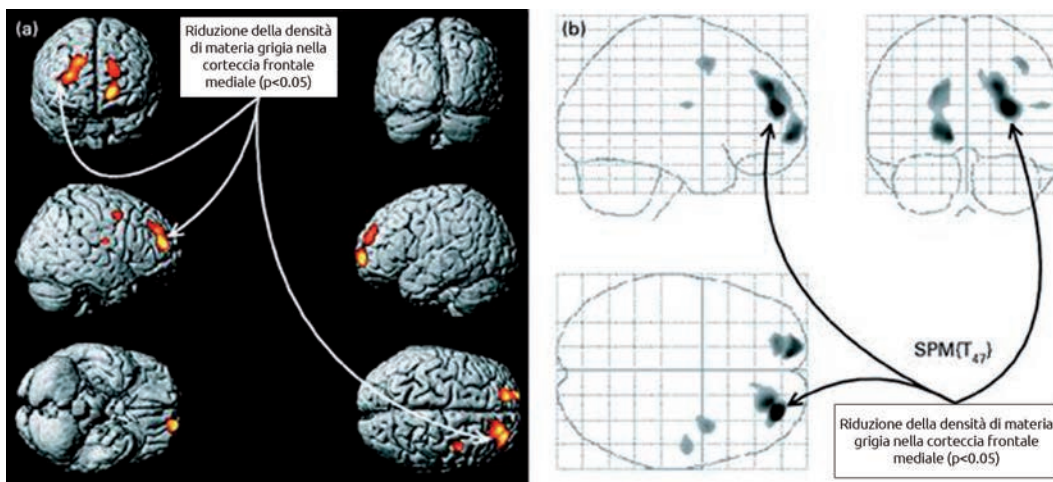
L'osservazione di tali fenomeni permette ai ricercatori di focalizzarsi sulle aree su cui agiscono maggiormente le droghe. È importante sottolineare che questi risultati iniziali spesso portano a ulteriori indagini, con altri strumenti e tecniche di ricerca al fine di determinare le ragioni dei cambiamenti strutturali così come delle loro conseguenze funzionali e comportamentali. Di seguito vengono illustrate le evidenze dettagliate degli studi con sMRI secondo cui l'esposizione cronica alle droghe potrebbe determinare sia un aumento che una riduzione del volume di specifiche aree cerebrali.

L'esposizione alle droghe può provocare anomalie nella corteccia prefrontale e in altre regioni cerebrali

Numerosi studi condotti con sMRI hanno documentato che le sostanze stupefacenti possono causare variazioni del volume e della composizione del tessuto della corteccia prefrontale (PFC), una regione del cervello che presiede il pensiero logico, la capacità di perseguire obiettivi, di pianificare e le strategie di autoregolazione. Queste variazioni a loro volta sono associate probabilmente ai deficit cognitivi e dei processi decisionali dei soggetti tossicodipendenti. A questo riguardo, un altro studio realizzato con sMRI ha riscontrato che gli individui con una storia di poliabuso di sostanze mostravano lobi prefrontali di dimensioni minori rispetto a quelli dei gruppi di controllo appaiati (7). Questi risultati si aggiungono alle crescenti evidenze che associano le anomalie prefrontali all'uso contemporaneo di più sostanze (8-10). Attraverso la sMRI, ad esempio, Schlaepfer e colleghi hanno riscontrato che i tessuti del lobo frontale dei tossicodipendenti cronici contenevano una percentuale di materia bianca inferiore rispetto ai gruppi di controllo appaiati (11). È interessante notare che simili deficit nel contenuto di materia bianca sono stati riscontrati in individui con altri disturbi psichiatrici spesso concomitanti all'uso di sostanze.

Relativamente all'uso di stimolanti, Kim e colleghi (12) hanno documentato una riduzione della densità di materia grigia nella corteccia frontale mediale destra di consumatori di metamfetamine in astinenza (Figura 1). Questa minore densità era correlata con una peggiore performance nel Task Wisconsin Card Sorting (TWCS), un test che misura la capacità di un individuo di modificare strategie cognitive. La materia grigia risultava più vicina alla normalità nei soggetti in astinenza da più di 6 mesi rispetto ad altri con un'astinenza più breve. In un altro studio con sMRI, dei consumatori di cocaina, in astinenza da 20 giorni, mostravano una riduzione della densità della materia grigia nelle regioni della corteccia frontale. È interessante notare che non sono state riscontrate differenze in relazione alla densità della materia bianca (13).

Figura 1 - MRI: Le metanfetamine riducono la materia grigia. La zona in giallo e in rosso nella visualizzazione centrale del cervello indica una riduzione della densità della materia grigia nella corteccia mediale frontale. Lo stesso deficit viene presentato da altre prospettive nelle visualizzazioni a fianco. Ristampato con il permesso (12).



Per quanto riguarda le altre regioni del cervello, diversi studi con sMRI hanno evidenziato un ampliamento dei gangli basali del cervello in soggetti dipendenti da cocaina (14) e in soggetti dipendenti da metanfetamine (15, 16) rispetto a quelli sani. Questo risultato è simile ad altri emersi in individui schizofrenici che sono stati trattati con antipsicotici convenzionali (17). Il fatto che le sostanze stimolanti, quali la cocaina o le metanfetamine, e gli antipsicotici tipici che occupano i recettori della dopamina nei gangli basali sembrano determinare l'ampliamento dei gangli basali e siano collegati alla psicosi, supportano l'ipotesi che l'iperstimolazione della dopamina nelle strutture dei gangli basali contribuisca all'insorgere della psicosi. Infine, un'analisi morfometrica automatizzata delle immagini RM ha inoltre dimostrato che un gruppo di consumatori cronici di metamfetamine presentava gravi deficit di materia grigia nelle corteccie cingolate, limbiche e paralimbiche. Presentavano anche un ippocampo più piccolo rispetto ai non-consumatori di droghe. L'ippocampo è un'area di cruciale importanza per la conservazione della memoria e il suo volume diminuisce in relazione a prestazioni più scarse nel word recall test, un test di valutazione della memoria (18). Inoltre, gli studi con sMRI hanno anche riportato una riduzione del volume dell'amigdala in soggetti cocainomani (19).

L'abuso di alcol fornisce un caso di studio sull'utilità della risonanza magnetica per valutare il danno strutturale che può derivare dall'uso cronico di una sostanza psicoattiva. I ricercatori che utilizzano la sMRI hanno riferito una riduzione della materia grigia corticale, più prominente nella corteccia prefrontale (PFC), in pazienti affetti da alcol-dipendenza in trattamento (20). In un altro studio, i ricercatori hanno riscontrato che gli individui alcol-dipendenti presentano una riduzione dell'intero cervello, della corteccia prefrontale e della materia grigia corticale parietale rispetto ai gruppi di controllo (21). E due ulteriori studi hanno dimostrato che la corteccia frontale e altre strutture di soggetti alcol dipendenti cominciavano a recuperare i loro volumi normali entro poche settimane dalla sospensione dell'uso di alcol (22-24) (25 vedi Mann et al., per una rassegna completa sul brain imaging dell'alcolismo). Un altro studio con MRI ha indicato che l'amigdala, una struttura cerebrale che contribuisce a plasmare le nostre risposte emotive in base alle esperienze, risulta relativamente più piccola nei bambini degli alcolisti (26, 27), il che potrebbe essere un indizio

di vulnerabilità ai disturbi di abuso di alcol dipendente dal cervello.

#### Risonanza magnetica funzionale (fMRI)

Come la sMRI, la fMRI produce immagini attraverso l'applicazione di un campo magnetico e la rilevazione dell'energia a radiofrequenza derivante dalla stimolazione di protoni in molecole d'acqua. Tuttavia, la fMRI è una tecnica ultraveloce che può fotografare l'intero cervello in un secondo e ha la capacità di rilevare le variazioni del rapporto tra emoglobina ossigenata e deossigenata nel letto capillare del cervello attraverso il confronto tra compito e condizioni basali. Dal momento che i neuroni utilizzano l'ossigeno come fonte di energia principale, questa misura risulta essere un indicatore affidabile dell'attività del cervello. In un'immagine fMRI, le differenze nel contenuto di ossigeno appaiono come variazioni di intensità del segnale, che viene indicato come dipendente dal livello di ossigenazione del sangue, o contrasto BOLD.

Negli studi con fMRI, vengono confrontate immagini multiple, che possono essere di singoli o più individui. Le immagini di un singolo individuo, ricavate in condizioni diverse - per esempio, a riposo e alle prese con compiti cognitivi, come puzzle, o prima e dopo l'assunzione di una sostanza - consentono la mappatura delle regioni del cervello attivate durante l'esecuzione di tali compiti o in risposta ad esperienze o esposizioni chimiche. Studi di individui appartenenti a gruppi diversi - per esempio, tossicodipendenti e non-tossicodipendenti - possono rivelare differenze nelle regioni cerebrali che i due gruppi sfruttano per svolgere compiti identici o per rispondere agli stimoli o alle esposizioni. A loro volta, le differenze nei modelli di attività cerebrale rivelate dalla fMRI forniscono informazioni preziose su una vasta gamma di aspetti. Ad esempio, gli studi hanno messo in correlazione i modelli delle aree cerebrali in risposta all'assunzione di una sostanza con una vulnerabilità all'uso di droghe, con sintomi e comportamenti di dipendenza, e con capacità cognitive a lungo termine. La fMRI viene sempre più utilizzata per studiare il modello di interazioni associate ad un determinato compito e in che modo queste differiscono in funzione delle prestazioni e della variabilità interindividuale. Questo cambiamento di enfasi, dall'individuazione di una specifica area cerebrale verso l'identificazione di reti (aree che lavorano insieme) riflettono la consapevolezza che qualsiasi processo cerebrale è il risultato di interazioni complesse di reti dinamiche che vengono distribuite tra le diverse le regioni aree cerebrali.

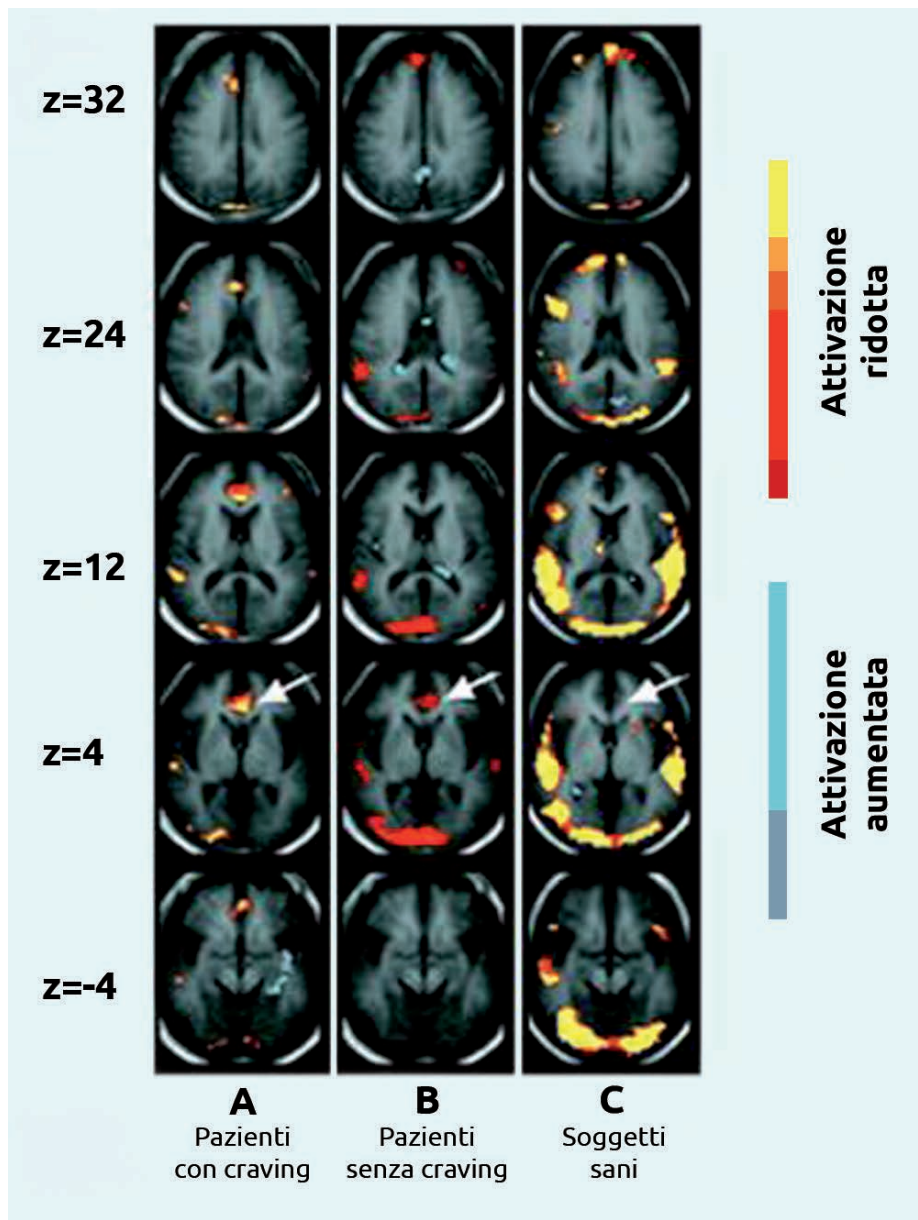
#### Effetti stimolanti correlati con l'attività cerebrale in aree diverse

L'fMRI è stata impiegata per ricavare informazioni dettagliate sui ruoli delle diverse aree cerebrali nel mediare l'euforia indotta dalla cocaina e il successivo craving e, più recentemente, sul coinvolgimento delle reti funzionali nel sistema di ricompensa della droga e nella tossicodipendenza. In una indagine, i volontari a cui era stata somministrata una infusione di cocaina hanno riportato euforia durante il breve periodo in cui una serie di aree, tra cui il caudato (un'area dei gangli basali), il cingolo, e la maggior parte dei PFC laterali presentavano alti livelli di attività. Secondo quanto riferito dai partecipanti, il craving aveva inizio quando si attenuava l'euforia e persisteva fino a quando una serie di aree cerebrali, compreso il nucleo accumbens (NAc), rimaneva attivo (28, 29). Due studi più recenti inoltre hanno riscontrato correlazioni tra il craving e l'attività del NAc, anche se, probabilmente a causa di differenze nei metodi di studio, l'euforia è stata associata ad una diminuzione, piuttosto che ad un aumento dell'attività cerebrale in aree tra cui il NAc, il giro inferiore frontale/orbitofrontale, e il cingolo anteriore. Il craving era correlato positivamente con l'attività in queste aree (30, 31).

Altri studi con fMRI hanno dimostrato che la vulnerabilità degli individui dipendenti da cocaina a stimoli correlati alla sostanza ha una base neurologica. Wexler e colleghi 32 ad esempio, hanno documentato l'attivazione della corteccia cingolata anteriore, un'area

associata con l'elaborazione emozionale, in soggetti con dipendenza da cocaina durante la loro esposizione a video contenenti stimoli associati alla cocaina, anche senza craving (Fig.2). Ciò indica che le risposte emotive degli individui affetti da dipendenza agli stimoli hanno una componente inconscia. I soggetti mostravano inoltre, una minore attivazione nel lobo frontale rispetto ai soggetti sani durante la visione di video contenenti stimoli alla cocaina, il che indica che la loro capacità di controllare la loro risposta agli stimoli risultava inibita. La ricerca con la fMRI ha messo in relazione i deficit cognitivi dei consumatori cronici di sostanze stimolanti con alterazioni droga-correlate dell'attivazione cerebrale. In uno studio, la dipendenza da metanfetamine e la scarsa capacità decisionale era correlata con una ridotta attivazione del PFC (33). In un altro, è stato riscontrato che i consumatori cronici di cocaina avevano livelli anormalmente bassi di attività nelle aree della linea mediana del cingolo anteriore, le quali sono fondamentali per il controllo cognitivo e comportamentale (34).

Figura 2 - fMRI: la risposta del cervello agli stimoli della cocaina punta all'area del cingolo anteriore, che viene attivata (giallo) nei pazienti con dipendenza da cocaina (a sinistra), ma non in volontari sani (a destra). Ristampato con il permesso (32).







### I geni influenzano la risposta alle droghe e la vulnerabilità all'uso

Più di recente, si è cominciato ad indagare con metodi innovativi di fMRI il ruolo dei geni nell'uso di droga. In uno di questi studi, una variante del gene che influenza il metabolismo dei neurotrasmettitori, tra cui la dopamina e la noradrenalina, sembra influenzare la risposta del cervello alle anfetamine (35). Uno studio simile con fMRI ha mostrato che gli individui con una particolare variazione nel gene trasportatore della serotonina sperimentavano una maggiore attivazione dell'amigdala, un'area associata alla paura e all'ansia, in risposta a stimoli paurosi (36). Questa particolare variazione genetica aumenta probabilmente la sensibilità allo stress e ad accresce la vulnerabilità all'uso di droghe.

### Spettroscopia a Risonanza Magnetica (MRS)

La MRS è una speciale applicazione della risonanza magnetica funzionale, che utilizza diverse impostazioni dello scanner. Nella MRS, gli impulsi magnetici e l'energia a radiofrequenza sono calibrati in modo da stimolare un nucleo specifico di interesse (ad esempio il protone, il carbonio, il fosforo o il fluoro) nelle molecole situate in aree d'interesse del cervello. L'insieme di tutti i segnali di ritorno (risonanza) viene registrato e analizzato con sofisticati programmi per computer che separano i segnali per ciascuna metabolita. Il risultato di questi segnali può essere visualizzato come diversi picchi di un metabolita su uno spettro. Così, oltre a creare mappe cerebrali strutturali (sMRI) e funzionali (fMRI), la tecnologia della risonanza magnetica può anche essere utilizzata per rilevare e misurare composti chimici importanti nel cervello. Per essere rilevabile dalla MRS, tuttavia, un composto deve rispondere in modo univoco alla magnetizzazione e alla stimolazione di energia e deve essere presente in concentrazioni relativamente elevate (in genere nell'intervallo millimolare). Se queste due condizioni sono soddisfatte, le scansioni MRS possono rivelare l'ubicazione e le concentrazioni delle sostanze chimiche bersaglio nei tessuti cerebrali (37). Tra le sostanze chimiche naturalmente presenti nel cervello, due che possono essere studiate con MRS sono l'N-acetilaspargato (NAA), che i ricercatori utilizzano come indicatore di salute delle cellule neuronali (38), e il mioinositolo, che è principalmente presente nelle cellule di supporto dette gliali (39), fornendo così un indicatore della salute gliale. Altre molecole che possono essere facilmente rilevate sono i composti colinici, che sono coinvolti nella sintesi delle membrane cellulari, e i composti di creatina, che sono importanti per il mantenimento dell'energia cellulare. Tra le sostanze d'abuso che penetrano nel cervello dopo essere state ingerite o somministrate, l'alcol è facilmente rilevabile con la MRS (40). La MRS è stata utilizzata per identificare i cambiamenti biochimici droga-correlati, che indicano un danno alla salute e al funzionamento delle cellule cerebrali. Spesso, questi studi si concentrano sulle aree del cervello che hanno dimostrato avere effetti sui modelli preclinici e sulla neuropatologia dell'abuso di sostanze. In alcuni casi, le alterazioni biochimiche sono state direttamente correlate con deficit cognitivi e comportamentali (41, 42).

### Risultati basati sulla MRS

Uno dei principali contributi degli studi con MRS nell'ambito della dipendenza è stata la scoperta che le droghe agiscono sui marcatori associati con l'infiammazione, con il metabolismo energetico del cervello, e con la salute dei neuroni. Ad esempio, Ernst e colleghi (2000) hanno riscontrato che i consumatori di metamfetamina mostrano una ridotta concentrazione di NAA nei loro gangli basali e nella materia bianca frontale, rispetto ai non consumatori, risultato questo che potrebbe aiutare a spiegare le difficoltà cognitive incontrate da coloro che fanno uso di metamfetamine, dal momento che le concentrazioni di NAA sono correlate con le performance cognitive anche nei non-tossicodipendenti (43). Anche gli individui con dipendenza da cocaina mostrano livelli più bassi di NAA, che indicano un danno neuronale, così come elevati livelli di creatina e mioinositolo che riflettono anche l'aumento dell'attività delle cellule gliali o dell'infiammazione (44).

Un altro studio con MRS ha valutato le possibili interazioni tra l'HIV e le droghe d'abuso sui metaboliti cerebrali. Una ricerca, ad esempio, ha riscontrato che l'uso di metamfetamine e l'HIV facevano diminuire il NAA nel cervello, in particolare nello striato, mentre la colina e il mioinositolo venivano incrementati ulteriormente nei lobi frontali (15). L'uso cronico di marijuana e l'infezione da HIV sono ciascuno separatamente associati a più bassi livelli di glutammato, ma insieme, sembrano moderare la perdita di glutammato nella materia bianca frontale mentre si acuisce nei gangli basali (45).

Le tecniche di risonanza magnetica come la MRS risultano particolarmente utili per studiare gli effetti delle droghe nella popolazione pediatrica in quanto non comportano radiazioni. Smith e colleghi (46, 47) hanno realizzato studi con MRS su bambini che erano stati esposti alla cocaina o alle metanfetamine nel periodo prenatale e hanno scoperto che i loro livelli di creatina cerebrale totale erano elevati, indicando anomalie nel metabolismo energetico.

La Resting-State fMRI è una tecnica relativamente recente che permette di esplorare la natura modulare della funzione corticale e di valutare la connettività funzionale in stato di riposo (RFC). Le immagini generate attraverso questo approccio fanno affidamento sul fatto che le fluttuazioni spontanee a bassa frequenza dei segnali BOLD provenienti da alcune regioni cerebrali (a riposo) sono maggiormente correlate tra loro rispetto alle fluttuazioni provenienti da altre aree (48). Le mappe di connettività funzionale risultanti rivelano l'esistenza di legami temporalmente dinamici all'interno e fra le diverse zone cerebrali che includono il controllo inibitorio, la modalità visiva, uditiva, di default, l'attenzione dorsale e le reti senso motorie (49). Inoltre, la non casualità di tale attività cerebrale spontanea non correlata a compiti, indica che le sue reti funzionali costituenti sono organizzate in modo molto coerente.

È importante sottolineare che l'emergere di ampie banche dati RFC, tra le popolazioni sane consentirà di sondare il coinvolgimento di specifici geni nell'organizzazione funzionale del cervello. Inoltre, essa potrebbe anche fornire una preziosa base normativa con cui confrontare vari stati di alterazione del cervello che derivano da turbe biologiche, dello sviluppo e/o ambientali, così come un mezzo per monitorare l'efficacia del trattamento e prevedere gli esiti clinici (50). Ad esempio, i primi studi hanno riscontrato anomalie RFC nella PFC (51) e nel circuito mesocorticolimbico di consumatori di cocaina (52). Se confermati da studi futuri, tali risultati potrebbero aggiungere informazioni importanti per migliorare la nostra comprensione dei vari deficit cognitivi e comportamentali osservati in soggetti dipendenti da cocaina.

L'fMRI in tempo reale rappresenta un'altra innovazione tecnologica nel campo della fMRI, che aiuterà ad ampliare le opzioni di trattamento. Questa tecnica è emersa come risultato dei progressi negli algoritmi di imaging che consentono l'elaborazione molto veloce delle immagini, fornendo un ritorno immediato di tali informazioni ai soggetti sottoposti a scansione. In questo modo, il segnale in tempo reale può essere utilizzato per l'aggiornamento, attraverso biofeedback, dei circuiti neurali, come per esempio il rafforzamento della funzione esecutiva frontale (53). Questo approccio, che ha dimostrato la sua utilità per i pazienti con dolore cronico, viene studiato come un possibile trattamento per la dipendenza e per altri disturbi psichiatrici.

Oltre a misurare la posizione delle molecole d'acqua nel cervello per generare una mappa delle strutture cerebrali grossolane, una tecnica recente MRI chiamata imaging con tensore di diffusione (DTI) rileva le direzioni della diffusione dell'acqua nel cervello, che a sua

Risonanza  
magnetica  
funzionale  
a riposo (Resting-  
State fMRI)

Neurofeedback

L'imaging con  
tensore di  
diffusione

volta riflette il posizionamento delle strutture dei tessuti sottili e i tratti di collegamento. Il DTI è stato utilizzato per dimostrare i cambiamenti in vivo nello sviluppo del cervello in diversi gruppi di età (54, 55) e in molti stati patologici differenti. Essendo questa tecnica relativamente nuova, pochi sono gli studi ad oggi realizzati con DTI sul cervello dei tossicodipendenti. Gli alcolisti tuttavia, hanno mostrato anomalie cerebrali significative attraverso il DTI (56, 57). In particolare, l'anisotropia frazionale, una misura dell'orientamento della diffusione dell'acqua che riflette la coerenza delle tracce di fibre nel cervello, risultava anormalmente bassa nella materia bianca degli alcolisti, mentre il coefficiente di diffusione era superiore alla norma. Questi risultati suggeriscono un aumento del liquido intracellulare o extracellulare e la possibile disorganizzazione della struttura fibrosa (57). Allo stesso modo, Warner e colleghi (58) hanno preso in esame alcuni bambini (con età media 10 anni) che erano stati esposti nel periodo prenatale alla cocaina e hanno riscontrato che, rispetto ai bambini non esposti, avevano una diffusione media significativamente più elevata nelle fibre del corpo calloso frontale sinistro e frontale destro, il che indica una compromissione o riduzione della maturazione lungo queste vie frontali della sostanza bianca. Questa tecnica estremamente sensibile nel valutare i cambiamenti nell'ambiente microscopico del cervello fornirà verosimilmente nuovi dati più significativi riguardo agli effetti delle droghe sul cervello. Poiché le tecniche di risonanza magnetica non sono invasive e radioattive, risultano particolarmente utili per il monitoraggio della crescita, dello sviluppo e degli effetti del trattamento nel tempo oltre che per studiare i bambini e gli adolescenti in quanto non si basano sull'utilizzo di radiazioni (come avviene invece per le tecnologie PET e SPECT, come di seguito illustrato).

### 3. Tecniche di imaging di medicina nucleare

La Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) e la Tomografia Computerizzata ad Emissione di Singoli Fotoni (SPECT)

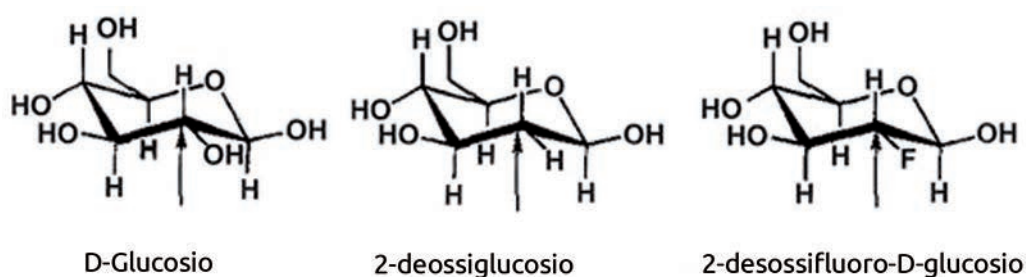
La PET e la SPECT sono indicate come "tecniche di medicina nucleare" in quanto prevedono l'iniezione di molecole marcate con isotopi radioattivi (o radiotraccianti) nel flusso sanguigno della persona oggetto di studio. Un'immagine PET o SPECT mostra la distribuzione di tali radiotraccianti una volta raggiunti i loro obiettivi nel cervello e negli altri organi. L'energia emessa dal radiotracciante interagisce con i rilevatori della strumentazione della PET o della SPECT. I computer dello strumento registrano la posizione del radioisotopo e utilizzano questa informazione per costruire una mappa 3D della distribuzione del radiotracciante nel cervello o nell'organismo.

Poiché le emivite degli isotopi PET o SPECT sono brevi, e la dose di radiazione netta è ridotta, quindi dell'ordine di altre procedure mediche diagnostiche, gli studi possono essere effettuati su volontari sani e al tempo stesso su pazienti tossicodipendenti. Tuttavia, la PET e la SPECT non vengono normalmente impiegate nei bambini sani. La PET e SPECT sono in realtà tecniche simili, differenti soprattutto nell'uso di diversi tipi di isotopi nei loro radiotraccianti. I radiotraccianti della PET incorporano isotopi che emettono radiazione di ( $\beta^+$ ) positroni. Un gruppo particolarmente importante di radiotraccianti PET incorpora isotopi che emettono positroni degli elementi chimici della vita, cioè, carbonio, ossigeno e azoto, in composti organici al posto degli elementi presenti in natura non radioattivi. Sostituendo, per esempio, il carbonio 11 radioattivo in carbonio-12 non radioattivo in una molecola della sostanza, per esempio, non altera le sue proprietà biochimiche nel cervello, ma lo rende rilevabile mediante imaging con PET. Il Carbonio-11 ha una emivita brevissima (20,4 minuti), cosa che lo rende ideale per l'impiego nell'uomo.



Uno strumento PET davvero prezioso è il 2-deossi-2-[18F] fluoro-D-glucosio (18FDG), un radiotracciante usato per misurare il metabolismo cerebrale del glucosio. Il FDG consiste di una molecola di glucosio in cui l'isotopo radioattivo fluoro-18 è stato sostituito con il gruppo ossidrilico presente in natura (Figura 3) (59). La capacità della PET di produrre un'immagine del metabolismo cerebrale del glucosio utilizzando 18FDG è un grande vantaggio, poiché il glucosio, insieme con l'ossigeno, è una fonte importante di energia del cervello. I radiotraccianti SPECT sono etichettati con radioisotopi emettitori di singoli fotoni. Quelli usati più comunemente sono lo iodio-123 e il tecnezio-99m.

**Figura 3 - Un gruppo ossidrilico (-OH) viene sostituito sulla molecola di glucosio con fluoro-18 per formare 18FDG, un radiotracciante che viene utilizzato per misurare il metabolismo del glucosio cerebrale. 18F si decompone attraverso l'emissione di positroni in due fotoni energetici che vengono rilevati da uno scanner PET per produrre un'immagine del metabolismo cerebrale del glucosio (59).**



Le tecniche di medicina nucleare sono particolarmente utili nella ricerca sulla dipendenza, perché sono in grado di misurare le concentrazioni di molecole che sono estremamente basse, nell'ordine nanomolare e picomolare, mentre va da un milionesimo a un miliardesimo la quantità minima necessaria per la visibilità con MRS (60, 61). Questo livello di sensibilità consente di studiare gli effetti delle droghe sui componenti fondamentali della comunicazione cellula-cellula, inclusi i recettori, i trasportatori e gli enzimi delle cellule coinvolti nella sintesi o nel metabolismo dei neurotrasmettitori (62). In particolare, molti studi con la PET hanno indagato il ruolo del neurotrasmettitore dopamina nell'abuso e nella dipendenza da droghe. I radiotraccianti per questi studi si attaccano ai composti che si legano alle varie proteine interagenti con la dopamina sulle cellule del cervello, tra cui i recettori della dopamina, i trasportatori della dopamina, gli enzimi che degradano la dopamina e gli enzimi sintetici (63-67).

La PET viene anche impiegata per studiare la farmacocinetica delle sostanze. Una serie di immagini ricavate ad intervalli appropriati forniscono la traccia dei movimenti delle sostanze dentro e fuori dal cervello, mostrano la quantità di sostanza che entra nel cervello, indicano in quale area del cervello si dirige, e per quanto tempo vi rimane (68). Questa informazione è fondamentale perché la percentuale con cui una sostanza penetra nel cervello determina in gran parte i suoi effetti euforizzanti e la sua capacità di dare dipendenza. La PET può anche essere utilizzata per valutare i tassi di metabolismo del glucosio, fornendo una alternativa alle misurazioni con MRI funzionale dei livelli di ossigeno nel sangue per determinare l'attività cellulare. Un uso comune della SPECT è quello di misurare il flusso sanguigno cerebrale. L'imaging cerebrale con la PET e con la SPECT hanno forse dimostrato ad oggi il loro maggiore utilizzo per aiutare ad analizzare in che modo le droghe influenzano i sistemi neurotrasmettitoriali che collegano e coordinano le cellule cerebrali. Molto di questo lavoro si è concentrato sul sistema della dopamina, ma si sta esplorando anche il

ruolo di altri neurotrasmettitori nell'abuso di sostanze e gli effetti delle droghe sul consumo di energia e sulla salute delle cellule.

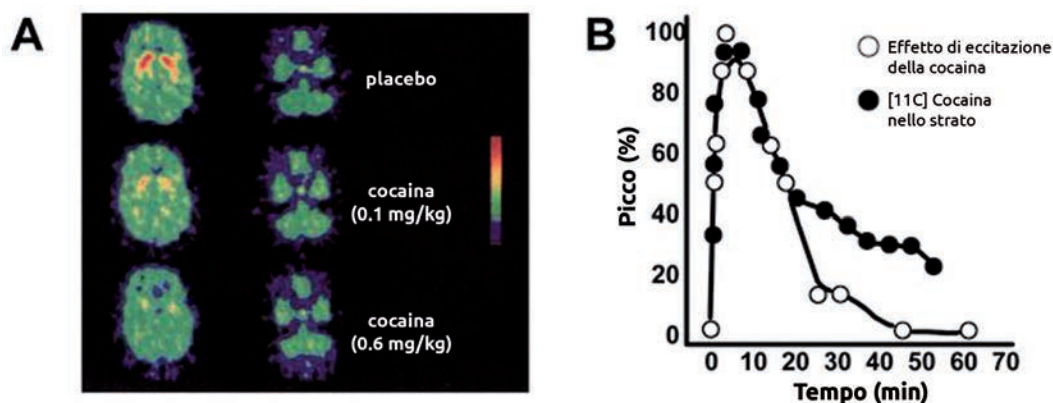
#### Risultati basati sulla PET e sulla SPECT

Il neurotrasmettitore dopamina ha un'elevata concentrazione nel corpo striato, che fa parte del circuito cerebrale della ricompensa. Gli alti e bassi di dopamina in queste aree sono indicatori fondamentali per determinare la quantità di piacere che ricaviamo dalle nostre esperienze, ma ci aiuta anche a concentrare la nostra attenzione su ciò che è importante. Gli studi realizzati con la PET hanno messo in correlazione la presenza e l'azione delle droghe in queste aree con le loro proprietà euforizzanti e la loro capacità di attirare l'attenzione completa della persona tossicodipendente, a scapito della maggior parte degli altri rinforzi naturali (1, 69-71).

In uno studio, è stata utilizzata la cocaina etichettata come carbonio-11 e impiegata l'imaging con la PET per tracciare il movimento della cocaina dentro e fuori dal cervello di consumatori della sostanza, mentre veniva registrata al tempo stesso anche l'intensità del loro sballo. I risultati hanno mostrato che l'euforia veniva bloccata e si attenuava in stretta correlazione temporale con il movimento della cocaina dentro e fuori dal corpo striato (72) (Figura 4). Con lo stesso disegno sperimentale con diversi radiotraccianti, attraverso la PET e la SPECT, è stato riscontrato che la cocaina, le anfetamine, e il metilfenidato, se somministrati per via endovenosa, producono lo sballo incrementando notevolmente la quantità di dopamina nello striato (73-75). Precedenti studi su animali avevano indicato che questo era probabilmente il caso, ma l'imaging della medicina nucleare ha permesso di documentare in modo non invasivo la correlazione come si verifica realmente negli esseri umani viventi. Tuttavia, altri studi PET hanno dimostrato che la responsabilità dell'abuso di qualsiasi droga dipende in realtà sia dall'entità del picco della dopamina che essa produce sia dalla velocità con cui la dopamina aumenta e diminuisce a livelli normali.

Esperimenti con la PET hanno identificato in che modo una droga, la cocaina, provoca il flusso di dopamina: la droga interferisce con la normale attività di una molecola chiamata trasportatore della dopamina che viene espressa sulla superficie cellulare del neurone pre-sinaptico (72). In questo modo, si interrompe l'equilibrio di rilascio e di ricaptazione della dopamina che mantiene i livelli di questo neurotrasmettitore entro limiti normali.

**Figura 4 - PET: l'attività della cocaina nello striato è alla base dell'euforia della cocaina. A** Ai soggetti dello studio è stato somministrato un radiotracciante della cocaina che punta verso il corpo striato, in cui sono espressi in concentrazioni elevate i recettori D2/3 della dopamina. **B.** La PET ha dimostrato che le loro sensazioni euforiche si alzavano e abbassavano in corrispondenza con il passaggio della sostanza dentro e fuori del corpo striato del cervello.



Gli studi con la PET hanno inoltre dimostrato che, mentre l'uso acuto di metamfetamina iper-attiva temporaneamente il sistema della dopamina, l'esposizione cronica alla sostanza riduce la disponibilità dei trasportatori della dopamina, il che può essere indice di una perdita di cellule dopaminergiche (76). I partecipanti allo studio con un minor numero di trasportatori della dopamina presentavano una memoria più scarsa e capacità motorie più lente e un altro studio riportava che la perdita dei trasportatori della dopamina era associata a psicosi (77).

L'uso cronico di metamfetamina esaurisce la funzione della dopamina

Gli studi con la PET sono stati utilizzati anche per esplorare l'impatto della cocaina sulle strutture e sull'attività cerebrali, e il loro legame con la capacità degli individui affetti da dipendenza di recuperare la funzione durante e dopo il trattamento. Tra i risultati più significativi di questo ambito di studio vi sono quelli che hanno dimostrato che la cocaina e le metanfetamine (78-80) riducono l'attività cellulare nella corteccia orbitofrontale (OFC), un'area del cervello della quale ci serviamo per prendere decisioni strategiche piuttosto che impulsive. I pazienti con lesioni traumatiche in questa area del cervello mostrano diversi deficit cognitivi, aggressività, scarsa capacità di giudizio delle conseguenze future, incapacità di inibire le risposte inappropriate, che ricordano quelli osservati nei tossicodipendenti (81-83). I radiotraccianti utilizzati in questi studi erano (18) il FDG e l'ossigeno-15 dell'acqua, che misurano il consumo cerebrale dei suoi due principali combustibili, il glucosio e l'ossigeno (84).

Gli stimolanti riducono l'attività cellulare nelle aree cerebrali deputate al giudizio

Infatti, è stato riscontrato un legame tra il metabolismo più basso nell'OFC ed una scarsa capacità di giudizio nei consumatori di cocaina (80). Con l'uso della PET, utilizzando l'acqua all'ossigeno-15 come radiotracciante, sono state riprese immagini seriali di consumatori di cocaina in astinenza da giorni erano alle prese con un gioco a carte a computer. I giocatori che avevano fatto uso di maggiori quantità di cocaina prima dell'astinenza mostravano una minore attività OFC e una performance più scarsa nel gioco.

Gli studi con la PET hanno dimostrato che i consumatori di alcol (85), di cocaina (78, 86), di eroina (87) e di metanfetamine (79) hanno tutti livelli ridotti di recettori D2 della dopamina cerebrale, una delle proteine di superficie delle cellule attivate dalla dopamina. Queste ed altre scoperte hanno sollevato l'ipotesi che le persone con bassi livelli di recettori D2 della dopamina, sia a causa della variabilità genetica, che delle esperienze di vita, o di entrambi, possono presentare un rischio più elevato di uso di droga e di dipendenza. Gli scienziati ipotizzano che tali individui ricavano livelli sub-ottimali di piacere mediato dalla dopamina da attività ordinarie e sono quindi più inclini a voler ripetere l'euforia successiva all'aumento massiccio, indotto dalla droga, della dopamina nello striato.

I livelli del recettore della dopamina potrebbero determinare la vulnerabilità all'uso e alla dipendenza

Gli studi con la PET hanno indicato che i sintomi della dipendenza da cocaina e il craving potrebbero essere causati almeno in parte dagli effetti della droga sulla altro sistema neurotrasmettitoriale, quello guidato dal peptide  $\mu$ -oppioide. In uno studio 88, alcuni individui con dipendenza da cocaina che erano entrati in trattamento in una clinica per interrompere l'uso della sostanza e vi erano rimasti per un mese in astinenza monitorata, hanno compilato delle schede di valutazione sul loro umore e sui sintomi del desiderio compulsivo e sono stati sottoposti a scansioni PET, una volta durante i primi 4 giorni in clinica e poi verso la fine del mese. Utilizzando un potente agonista oppioide come radiotracciante (il carbonio-11 carfentanil), si è scoperto che la gravità dei sintomi dei partecipanti erano correlati con i livelli del recettore  $\mu$ -oppioide in diverse aree cerebrali. Volendo interpretare questi risultati, si è suggerito che la cocaina potrebbe aver esaurito gli oppiacei naturali

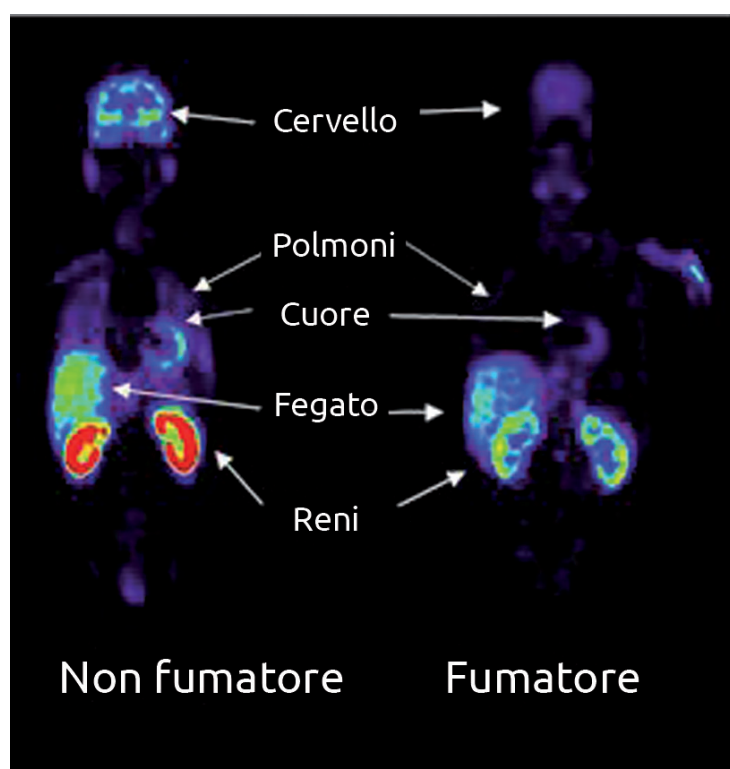
Il sistema  $\mu$ -oppioide ricopre un ruolo fondamentale nel craving da cocaina

dell'organismo, sia stimolando la produzione di recettori oppioidi come compensazione sia aumentando l'avidità dei recettori esistenti verso molecole oppioidi.

La nicotina non è  
l'unica responsabile  
della dipendenza  
da tabacco

Gli studi di imaging con la PET hanno confermato l'importanza della segnalazione della dopamina nell'abuso e nella dipendenza da nicotina 89, evidenziando anche la necessità di indagare il ruolo di altre sostanze chimiche presenti nel fumo di tabacco. Per esempio, gli studi hanno rinvenuto che uno o più componenti del fumo di tabacco possono ridurre i livelli di monoamino ossidasi A e B (MAO A e B), un enzima che distrugge la dopamina nel cervello e in tutto l'organismo (90-94) (Figura 5). Questa attività può portare al peggioramento della disregolazione della dopamina indotta dalla nicotina, che rafforza il desiderio di fumare e di far uso di altre sostanze. In realtà, recenti studi preclinici dimostrano che l'inibizione della MAO A aumenta l'auto-somministrazione di nicotina negli animali (95). Mentre l'inibizione del MAO A, piuttosto che del MAO B aumenta il rinforzo di nicotina nei ratti (96), uno studio recente che ha utilizzato la selegilina, un inibitore selettivo delle MAO B (alla dose di 10 mg/al giorno) ha aumentato in tutta sicurezza le percentuali di cessazione del fumo rispetto al placebo nei fumatori di sigarette con dipendenza da nicotina (97).

Figura 5 - PET: Il fumo riduce un enzima importante. In queste immagini PET composite di fumatori vs non fumatori, le frecce mostrano concentrazioni più basse dell'enzima monoaminossidasi in molti degli organi dei fumatori.



I risultati conseguiti con la PET secondo cui i fumatori presentano livelli relativamente più bassi di MAO potrebbe aiutare a spiegare il motivo per cui hanno un rischio ridotto di Morbo di Parkinson 98. Quando il MAO metabolizza la dopamina, un sottoprodotto è il perossido di idrogeno, una potenziale fonte di radicali liberi che può danneggiare le cellule nervose. I composti inibitori dei MAO sono stati isolati dal tabacco 99 e si sono dimostrati protettivi in un modello di roditore di Morbodi Parkinson 100.

## 4. Applicazioni cliniche dell'imaging

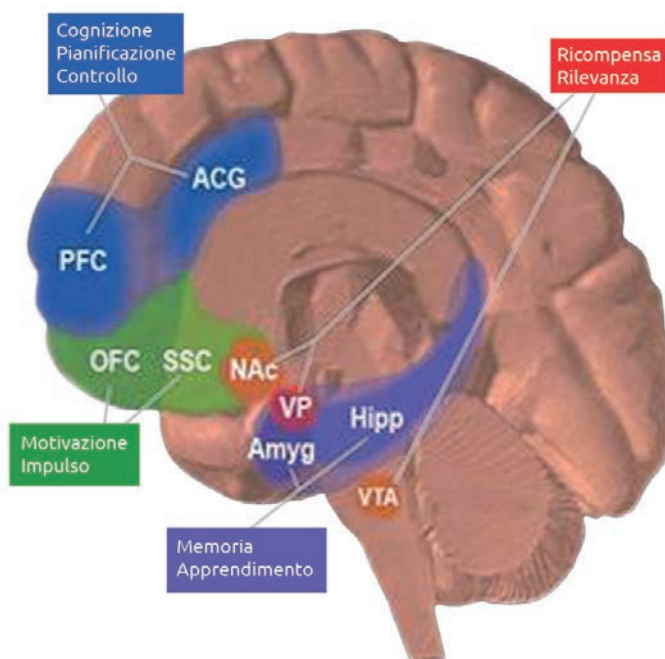
Le informazioni che la risonanza magnetica e gli studi di imaging nucleare hanno fornito sulle dinamiche cerebrali della dipendenza sono diventate una fonte primaria di strategie per lo sviluppo di farmaci. Le applicazioni cliniche dirette sono ancora poche, ma studi recenti indicano che le tecniche potrebbero in futuro migliorare la valutazione e il monitoraggio del paziente.

Gli studi di imaging, insieme ad altre ricerche, indicano nella stragrande maggioranza dei casi che la tossicodipendenza è una malattia del cervello e che quindi deve essere vista come un vero disturbo comportamentale. Per essere efficaci nel lungo termine, i trattamenti dovrebbero concentrarsi sul miglioramento e sul ripristino della funzione compromessa della dopamina e sull'elaborazione in una rete diffusa di circuiti cerebrali (Figura 6), e sfruttare gli approcci farmacologici e comportamentali efficaci.

Nell'area degli interventi farmacologici in particolare, i risultati di imaging hanno indicato molti possibili nuovi approcci. Una strategia in corso di valutazione attiva si basa sulla constatazione, fatta attraverso la PET, che le droghe stimolanti producono euforia, provocando un rapido picco di dopamina e, così facendo, riducono la capacità dei consumatori di provare piacere mentre le altre attività non correlate alla droga determinano un aumento più modesto dei loro neurotrasmettitori (101). I ricercatori stanno individuando e testando i farmaci che aumentano lievemente la quantità di dopamina che le cellule rilasciano durante attività normalmente gratificanti, nella speranza che questo consenta agli individui affetti da dipendenza di provare piacere naturalmente, senza l'ausilio di sostanze. Per esempio, gli inibitori delle MAO B e altri farmaci che soddisfano questo criterio sono stati impiegati con successo per trattare la dipendenza da fumo (97).

Sviluppo dei  
farmaci

**Figura 6 - Principali aree cerebrali coinvolte nella dipendenza.** La corteccia prefrontale (PFC) e la corteccia del cingolo anteriore (ACG) sono le aree centrali della cognizione, della pianificazione e del controllo inibitorio. Le cortecce orbitofrontale (OFC) e somatosensoria (SSC) hanno un ruolo determinante nel supportare la motivazione verso comportamenti diretti all'obiettivo. L'area tegmentale ventrale (VTA) e il nucleo accumbens (NAc) sono componenti fondamentali del sistema di ricompensa cerebrale. Il VTA, il NA, l'amigdala, e l'ippocampo sono i costituenti principali del sistema limbico che coordina i comportamenti, le emozioni e i ricordi.



Un'altra strategia farmacologica, che deriva da evidenze di imaging secondo cui i picchi di dopamina sono alla base dell'euforia prodotta dalla droga, cerca di ridurre l'eccitazione e il desiderio di sperimentarla nuovamente inibendo la risposta iniziale della dopamina a queste droghe. Nell'ambito di questa strategia, i ricercatori stanno testando i composti che aumentano il neurotrasmettitore gamma-aminobutirrico (GABA), che si è dimostrato in grado di inibire il rilascio di dopamina da parte delle cellule in risposta a stimoli droga-correlati (102). Studi clinici preliminari di questo approccio hanno prodotto risultati promettenti (103,104, 105). Anche altri farmaci interferiscono con le risposte delle cellule che ricevono dopamina e di conseguenza attenuano gli effetti di rinforzo delle droghe d'abuso. Ad esempio, gli antagonisti dei recettori selettivi dei cannabinoidi (CB1) si sono dimostrati in grado di modulare sia le risposte delle cellule che rilasciano e ricevono dopamina negli studi preclinici (106, 107).

Una terza strategia per contrastare l'euforia indotta dall'uso di sostanze si basa su un farmaco che attiva lo stesso sistema neurotrasmettitoriale cooptato dalla sostanza abusata, ma non produce alcun brusco picco di dopamina. Il trattamento della dipendenza da eroina con metadone e buprenorfina esemplifica questo approccio (108). Simili tentativi di trattare la dipendenza da stimolanti devono ancora produrre risultati positivi (109). Ad esempio, la sostituzione di cocaina con metilfenidato o anfetamine per via orale non ha diminuito il consumo di cocaina rispetto al placebo nella maggior parte degli individui tossicodipendenti. Tuttavia, il trattamento con metilfenidato per via orale ha ridotto il consumo di droga nei pazienti con comorbidità tra dipendenza e disturbo da deficit di attenzione e iperattività (110).

#### Valutazione e monitoraggio del paziente

Studi recenti indicano che l'imaging ha la capacità potenziale di aiutare i clinici a determinare il livello più appropriato di trattamento per i singoli pazienti e di monitorare i loro progressi nel percorso verso la guarigione. I risultati di un recente studio fMRI eseguito su un gruppo di soggetti di sesso maschile entrati in terapia per la dipendenza da metanfetamine ha rivelato due modelli contrastanti di attività cerebrale (durante un compito psicologico che richiedeva la capacità di prendere decisioni) in grado di predire con una precisione del 90 per cento quali di essi avrebbero avuto una ricaduta nel giro di 1-3 anni dopo la fine del trattamento (111). Coloro che hanno sperimentato una recidiva mostravano un'attività minore nel lobo prefrontale e anche nelle aree che prima non si riteneva potessero avere un ruolo nella dipendenza. Un altro studio ha riscontrato che una risposta più rapida del cingolo posteriore agli stimoli della cocaina distingueva coloro che avevano avuto una ricaduta da coloro che non l'avevano avuta, anche se entrambi i gruppi riportavano sensazioni di craving altrettanto intense (112).

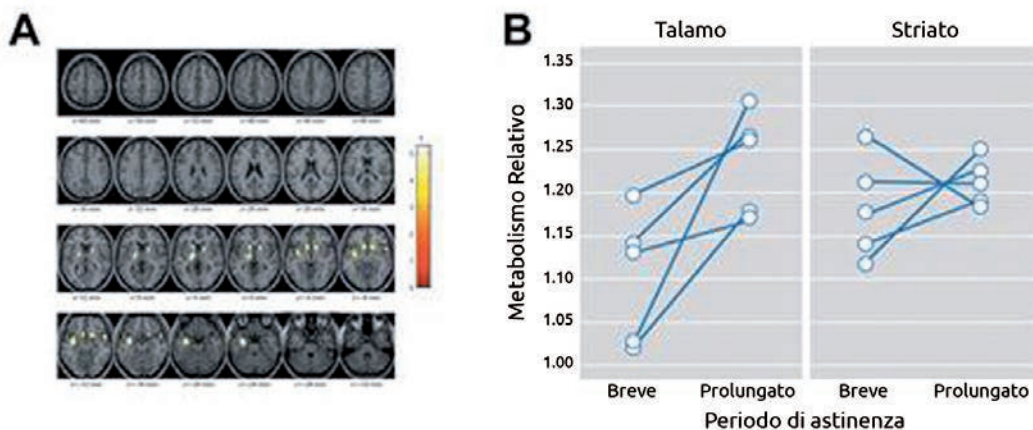
I ricercatori di imaging hanno anche documentato i cambiamenti che sembrano rappresentare la guarigione del cervello in risposta al trattamento. Un gruppo ha applicato la MRS per valutare gli effetti della terapia di mantenimento con metadone su soggetti con dipendenza da eroina (113). I livelli nei soggetti di alcuni metaboliti coinvolti nella produzione di energia cellulare, che risultavano anomali all'inizio del trattamento, hanno cominciato a cambiare nel corso del primo mese. I cambiamenti metabolici sono stati interpretati come evidenza che il passaggio dall'eroina al metadone potrebbe aver migliorato l'apporto di ossigeno ai neuroni. Questa interpretazione potrebbe spiegare i risultati di un altro studio condotto dallo stesso gruppo di ricerca secondo cui le abilità cognitive degli individui migliorano durante i primi 2 mesi di terapia con metadone (114).

Analogamente, gli studi hanno dimostrato che, mentre i consumatori di metanfetamine, dopo la disintossicazione, avevano un minor numero di trasportatori di dopamina rispetto



ad individui mai trattati, appaiati per età, quelli che sono rimasti in astinenza per 9 mesi hanno recuperato una quantità significativa di trasportatori (76, 115). Purtroppo, non hanno evidenziato anche un recupero dei deficit cognitivi e motori associati a bassi livelli di trasportatori. Gli studi con PET con 18FDG hanno anche mostrato una significativa ripresa del metabolismo del glucosio cerebrale nei consumatori di metamfetamine dopo una prolungata astinenza (115) (Figura 7).

**Figure 7 - PET: la guarigione del cervello si verifica con l'astinenza dalle metamfetamine. A.** Gli studi con la PET nei consumatori di metamfetamine mostrano che il metabolismo cerebrale è depresso nel talamo e nello striato poco dopo aver interrotto l'uso di metamfetamine. L'astinenza prolungata può portare a guarigione parziale, in particolare nel talamo.



## 5. Conclusioni

Le tecniche di imaging del cervello permettono di osservare gli effetti delle droghe mentre si verificano nel cervello e di confrontare la struttura, la funzione e il metabolismo cerebrale nei consumatori di sostanze e nei non-consumatori. I risultati fino ad oggi conseguiti hanno indicato chiaramente che la tossicodipendenza è una malattia del cervello, che provoca alterazioni misurabili in numerose aree, tra cui il circuito della ricompensa, il controllo inibitorio, la motivazione, l'intercezione, la memoria/apprendimento, e l'emozione/stress. Gli studi in corso continuano ad ampliare la nostra comprensione delle dinamiche alla base dello sviluppo, dei sintomi, e delle conseguenze della dipendenza, così come della guarigione.

Anche se non vi è ancora alcuna applicazione approvata clinicamente degli strumenti di imaging qui descritti su come potranno migliorare i risultati dei trattamenti delle tossicodipendenze, le opportunità traslazionali create da questa suite di tecnologie di imaging sono incredibilmente eccitanti e rappresentano un'area molto attiva e potenzialmente trasformativa della ricerca. In effetti, l'impatto della maggior parte di questi progressi sulla ricerca sulla dipendenza è stato notevole, e non vi è dubbio che, al ritmo attuale del progresso tecnologico, la traduzione nella clinica di queste nuove applicazioni di imaging sia solo una questione di tempo.

La versione originale di questa rassegna è stata precedentemente pubblicata come un capitolo nel libro "L'imaging del cervello umano nella salute e nella malattia"

Alcuni dei lavori descritti in questo articolo sono stati eseguiti presso il Brookhaven National Laboratory (contratto DEAC02-98CH10886) insieme al Department of Energy e sono

stati finanziati dall'Office of Biological and Environmental Research e dal National Institute on Drug Abuse (K24-DA16170 and Ko5-DA020001) e NIH GCRC (MO1RR10710).

## Bibliografia

1. Leshner, A.I. Addiction is a brain disease, and it matters. *Science* 278, 45-47 (1997).
2. Detre, J.A. & Floyd, T.F. Functional MRI and its applications to the clinical neurosciences. *Neuroscientist* 7, 64-79 (2001).
3. Duyn, J.H. & Koretsky, A.P. Novel frontiers in ultra-structural and molecular MRI of the brain. *Curr Opin Neurol* 24, 386-393 (2011).
4. Johansen-Berg, H. & Rushworth, M.F. Using diffusion imaging to study human connective anatomy. *Annu Rev Neurosci* 32, 75-94 (2009).
5. Bandettini, P.A. What's new in neuroimaging methods? *Ann N Y Acad Sci* 1156, 260-293 (2009).
6. Sharma, S. & Ebadi, M. SPECT neuroimaging in translational research of CNS disorders. *Neurochem Int* 52, 352-362 (2008).
7. Liu, X., Matochik, J.A., Cadet, J.L. & London, E.D. Smaller volume of prefrontal lobe in polysubstance abusers: a magnetic resonance imaging study. *Neuropsychopharmacology* 18, 243-252 (1998).
8. Goldstein, R.Z. & Volkow, N.D. Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry* 159, 1642-1652 (2002).
9. Stapleton, J.M., et al. Cerebral glucose utilization in polysubstance abuse. *Neuropsychopharmacology* 13, 21-31 (1995).
10. Volkow, N.D., et al. Changes in brain glucose metabolism in cocaine dependence and withdrawal. *Am J Psychiatry* 148, 621-626 (1991).
11. Schlaepfer, T.E., et al. Decreased frontal white-matter volume in chronic substance abuse. *Int J Neuropsychopharmacol* 9, 147-153 (2006).
12. Kim, S.J., et al. Prefrontal grey-matter changes in short-term and long-term abstinent methamphetamine abusers. *Int J Neuropsychopharmacol* 9, 221-228 (2006).
13. Matochik, J.A., London, E.D., Eldreth, D.A., Cadet, J.L. & Bolla, K.I. Frontal cortical tissue composition in abstinent cocaine abusers: a magnetic resonance imaging study. *Neuroimage* 19, 1095-1102 (2003).
14. Jacobsen, L.K., Giedd, J.N., Gottschalk, C., Kosten, T.R. & Krystal, J.H. Quantitative morphology of the caudate and putamen in patients with cocaine dependence. *Am J Psychiatry* 158, 486-489 (2001).
15. Chang, L., Ernst, T., Speck, O. & Grob, C.S. Additive effects of HIV and chronic methamphetamine use on brain metabolite abnormalities. *Am J Psychiatry* 162, 361-369 (2005).
16. Jernigan, T.L., et al. Effects of methamphetamine dependence and HIV infection on cerebral morphology. *Am J Psychiatry* 162, 1461-1472 (2005).
17. Gur, R.E., et al. Subcortical MRI volumes in neuroleptic-naïve and treated patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 155, 1711-1717 (1998).
18. Thompson, P.M., et al. Structural abnormalities in the brains of human subjects who use methamphetamine. *J Neurosci* 24, 6028-6036 (2004).
19. Makris, N., et al. Decreased absolute amygdala volume in cocaine addicts. *Neuron* 44, 729-740 (2004).
20. Pfefferbaum, A., Sullivan, E.V., Rosenbloom, M.J., Mathalon, D.H. & Lim, K.O. A controlled study of cortical gray matter and ventricular changes in alcoholic men over a 5-year interval. *Arch Gen Psychiatry* 55, 905-912 (1998).
21. Fein, G., et al. Cortical gray matter loss in treatment-naïve alcohol dependent individuals. *Alcohol Clin Exp Res* 26, 558-564 (2002).
22. Bendszus, M., et al. Sequential MR imaging and proton MR spectroscopy in patients who underwent recent detoxification for chronic alcoholism: correlation with clinical and neuropsychological data. *AJNR Am J Neuroradiol* 22, 1926-1932 (2001).
23. Pfefferbaum, A., et al. Longitudinal changes in magnetic resonance imaging brain volumes in abstinent and relapsed alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 19, 1177-1191 (1995).
24. O'Neill, J., Cardenas, V.A. & Meyerhoff, D.J. Effects of abstinence on the brain: quantitative magnetic resonance imaging and magnetic resonance spectroscopic imaging in chronic alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res* 25, 1673-1682 (2001).
25. Mann, K., et al. Neuroimaging in alcoholism: ethanol and brain damage. *Alcohol Clin Exp Res* 25, 1045-1095 (2001).
26. Wrase, J., et al. Amygdala volume associated with alcohol abuse relapse and craving. *Am J Psychiatry* 165, 1179-1184 (2008).
27. Hill, S.Y., et al. Right amygdala volume in adolescent and young adult offspring from families at high risk for developing alcoholism. *Biol Psychiatry* 49, 894-905 (2001).
28. Breiter, H.C., et al. Acute effects of cocaine on human brain activity and emotion. *Neuron* 19, 591-611 (1997).
29. Breiter, H.C. & Rosen, B.R. Functional magnetic resonance imaging of brain reward circuitry in the human. *Ann N Y Acad Sci* 877, 523-547 (1999).
30. Kufahl, P.R., et al. Neural responses to acute cocaine administration in the human brain detected by fMRI. *Neuroimage* 28, 904-914 (2005).
31. Risinger, R.C., et al. Neural correlates of high and craving during cocaine self-administration using BOLD fMRI. *Neuroimage* 26, 1097-1108 (2005).
32. Wexler, B.E., et al. Functional magnetic resonance imaging of cocaine craving. *Am J Psychiatry* 158, 86-95 (2001).
33. Paulus, M.P., et al. Behavioral and functional neuroimaging evidence for prefrontal dysfunction in methamphetamine-dependent subjects. *Neuropsychopharmacology* 26, 53-63 (2002).



34. Kaufman, J.N., Ross, T.J., Stein, E.A. & Garavan, H. Cingulate hypoactivity in cocaine users during a GO-NOGO task as revealed by event-related functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci* 23, 7839-7843 (2003).
35. Mattay, V.S., et al. Catechol O-methyltransferase val158-met genotype and individual variation in the brain response to amphetamine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 6186-6191 (2003).
36. Hariri, A.R., et al. Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science* 297, 400-403 (2002).
37. Ross, B., Kreis, R. & Ernst, T. Clinical tools for the 90s: magnetic resonance spectroscopy and metabolite imaging. *Eur J Radiol* 14, 128-140 (1992).
38. De Stefano, N., Matthews, P.M. & Arnold, D.L. Reversible decreases in N-acetylaspartate after acute brain injury. *Magn Reson Med* 34, 721-727 (1995).
39. Brand, A., Richter-Landsberg, C. & Leibfritz, D. Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. *Dev Neurosci* 15, 289-298 (1993).
40. Hetherington, H.P., et al. Spectroscopic imaging of the uptake kinetics of human brain ethanol. *Magn Reson Med* 42, 1019-1026 (1999).
41. Yang, S., et al. 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* 174, 171-176 (2009).
42. Cowan, R.L., Joers, J.M. & Dietrich, M.S. N-acetylaspartate (NAA) correlates inversely with cannabis use in a frontal language processing region of neocortex in MDMA (Ecstasy) polydrug users: a 3 T magnetic resonance spectroscopy study. *Pharmacol Biochem Behav* 92, 105-110 (2009).
43. Rae, C., et al. Metabolic abnormalities in developmental dyslexia detected by 1H magnetic resonance spectroscopy. *Lancet* 351, 1849-1852 (1998).
44. Chang, L., Ernst, T., Strickland, T. & Mehlinger, C.M. Gender effects on persistent cerebral metabolite changes in the frontal lobes of abstinent cocaine users. *Am J Psychiatry* 156, 716-722 (1999).
45. Chang, L., Cloak, C., Yakupov, R. & Ernst, T. Combined and independent effects of chronic marijuana use and HIV on brain metabolites. *J Neuroimmune Pharmacol* 1, 65-76 (2006).
46. Smith, L.M., et al. Brain proton magnetic resonance spectroscopy in children exposed to methamphetamine in utero. *Neurology* 57, 255-260 (2001).
47. Smith, L.M., et al. Brain proton magnetic resonance spectroscopy and imaging in children exposed to cocaine in utero. *Pediatrics* 107, 227-231 (2001).
48. Raichle, M.E. & Snyder, A.Z. A default mode of brain function: a brief history of an evolving idea. *Neuroimage* 37, 1083-1090; discussion 1097-1089 (2007).
49. Damoiseaux, J.S., et al. Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 13848-13853 (2006).
50. Biswal, B.B., et al. Toward discovery science of human brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 4734-4739 (2010).
51. Kelly, C., et al. Reduced interhemispheric resting state functional connectivity in cocaine addiction. *Biol Psychiatry* 69, 684-692 (2011).
52. Gu, H., et al. Mesocorticolimbic circuits are impaired in chronic cocaine users as demonstrated by resting-state functional connectivity. *Neuroimage* 53, 593-601 (2011).
53. Berman, B.D., Horowitz, S.G., Venkataraman, G. & Hallett, M. Self-modulation of primary motor cortex activity with motor and motor imagery tasks using real-time fMRI-based neurofeedback. *Neuroimage* (2011).
54. Gilmore, J.H., Lin, W. & Gerig, G. Fetal and neonatal brain development. *Am J Psychiatry* 163, 2046 (2006).
55. Huang, H., et al. White and gray matter development in human fetal, newborn and pediatric brains. *Neuroimage* 33, 27-38 (2006).
56. Daurignac, E., et al. Applications of morphometric and diffusion tensor magnetic resonance imaging to the study of brain abnormalities in the alcoholism spectrum. *Alcohol Clin Exp Res* 29, 159-166 (2005).
57. Pfefferbaum, A. & Sullivan, E.V. Disruption of brain white matter microstructure by excessive intracellular and extracellular fluid in alcoholism: evidence from diffusion tensor imaging. *Neuropsychopharmacology* 30, 423-432 (2005).
58. Warner, T.D., et al. Diffusion tensor imaging of frontal white matter and executive functioning in cocaine-exposed children. *Pediatrics* 118, 2014-2024 (2006).
59. Fowler, J.S. & Ido, T. Initial and subsequent approach for the synthesis of 18FDG. *Semin Nucl Med* 32, 6-12 (2002).
60. Fowler, J.S., Ding, Y.S. & Volkow, N.D. Radiotracers for positron emission tomography imaging. *Semin Nucl Med* 33, 14-27 (2003).
61. Kung, H.F., Kung, M.P. & Choi, S.R. Radiopharmaceuticals for single-photon emission computed tomography brain imaging. *Semin Nucl Med* 33, 2-13 (2003).
62. Volkow, N.D., Fowler, J.S. & Wang, G.J. Positron emission tomography and single-photon emission computed tomography in substance abuse research. *Semin Nucl Med* 33, 114-128 (2003).
63. Halldin, C., Gulyas, B., Langer, O. & Farde, L. Brain radioligands--state of the art and new trends. *Q J Nucl Med* 45, 139-152 (2001).
64. Rinne, J.O., et al. PET examination of the monoamine transporter with [11C]beta-CIT and [11C]beta-CFT in early Parkinson's disease. *Synapse* 21, 97-103 (1995).
65. Wong, D.F., et al. In vivo imaging of baboon and human dopamine transporters by positron emission tomography using [11C]WIN 35,428. *Synapse* 15, 130-142 (1993).
66. Volkow, N.D., et al. A new PET ligand for the dopamine transporter: studies in the human brain. *J Nucl Med* 36, 2162-2168 (1995).
67. Volkow, N.D., et al. PET evaluation of the dopamine system of the human brain. *J Nucl Med* 37, 1242-1256 (1996).
68. Fowler, J.S., Volkow, N.D., Wang, G.J., Ding, Y.S. & Dewey, S.L. PET and drug research and development. *J Nucl Med* 40, 1154-1163 (1999).
69. Di Chiara, G. & Imperato, A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentra-

- tions in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85, 5274-5278 (1988).
70. Di Chiara, G. Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *Eur J Pharmacol* 375, 13-30 (1999).
  71. Volkow, N.D., Fowler, J.S. & Wang, G.J. The addicted human brain: insights from imaging studies. *J Clin Invest* 111, 1444-1451 (2003).
  72. Volkow, N.D., et al. Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy. *Nature* 386, 827-830 (1997).
  73. Laruelle, M., et al. SPECT imaging of striatal dopamine release after amphetamine challenge. *J Nucl Med* 36, 1182-1190 (1995).
  74. Volkow, N.D., et al. Reinforcing effects of psychostimulants in humans are associated with increases in brain dopamine and occupancy of D(2) receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 291, 409-415 (1999).
  75. Drevets, W.C., et al. Amphetamine-induced dopamine release in human ventral striatum correlates with euphoria. *Biol Psychiatry* 49, 81-96 (2001).
  76. Volkow, N.D., et al. Association of dopamine transporter reduction with psychomotor impairment in methamphetamine abusers. *Am J Psychiatry* 158, 377-382 (2001).
  77. Sekine, Y., et al. Association of dopamine transporter loss in the orbitofrontal and dorsolateral prefrontal cortices with methamphetamine-related psychiatric symptoms. *Am J Psychiatry* 160, 1699-1701 (2003).
  78. Volkow, N.D., et al. Decreased dopamine D2 receptor availability is associated with reduced frontal metabolism in cocaine abusers. *Synapse* 14, 169-177 (1993).
  79. Volkow, N.D., et al. Low level of brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in the orbitofrontal cortex. *Am J Psychiatry* 158, 2015-2021 (2001).
  80. Bolla, K.I., et al. Orbitofrontal cortex dysfunction in abstinent cocaine abusers performing a decision-making task. *Neuroimage* 19, 1085-1094 (2003).
  81. Eslinger, P.J., Grattan, L.M., Damasio, H. & Damasio, A.R. Developmental consequences of childhood frontal lobe damage. *Arch Neurol* 49, 764-769 (1992).
  82. Bechara, A., Damasio, A.R., Damasio, H. & Anderson, S.W. Insensitivity to future consequences following damage to human prefrontal cortex. *Cognition* 50, 7-15 (1994).
  83. Bechara, A., et al. Decision-making deficits, linked to a dysfunctional ventromedial prefrontal cortex, revealed in alcohol and stimulant abusers. *Neuropsychologia* 39, 376-389 (2001).
  84. Raichle, M.E., Martin, W.R., Herscovitch, P., Mintun, M.A. & Markham, J. Brain blood flow measured with intravenous H<sub>2</sub>(15)O. II. Implementation and validation. *J Nucl Med* 24, 790-798 (1983).
  85. Volkow, N.D., et al. Decreases in dopamine receptors but not in dopamine transporters in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 20, 1594-1598 (1996).
  86. Volkow, N.D., et al. Effects of chronic cocaine abuse on postsynaptic dopamine receptors. *Am J Psychiatry* 147, 719-724 (1990).
  87. Wang, G.J., et al. Dopamine D2 receptor availability in opiate-dependent subjects before and after naloxone-precipitated withdrawal. *Neuropsychopharmacology* 16, 174-182 (1997).
  88. Zubieta, J.K., et al. Increased mu opioid receptor binding detected by PET in cocaine-dependent men is associated with cocaine craving. *Nat Med* 2, 1225-1229 (1996).
  89. Brody, A.L., et al. Smoking-induced ventral striatum dopamine release. *Am J Psychiatry* 161, 1211-1218 (2004).
  90. Fowler, J.S., Logan, J., Wang, G.J. & Volkow, N.D. Monoamine oxidase and cigarette smoking. *Neurotoxicology* 24, 75-82 (2003).
  91. Fowler, J.S., et al. Low monoamine oxidase B in peripheral organs in smokers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 11600-11605 (2003).
  92. Fowler, J.S., et al. Comparison of monoamine oxidase a in peripheral organs in nonsmokers and smokers. *J Nucl Med* 46, 1414-1420 (2005).
  93. Fowler, J.S., et al. Inhibition of monoamine oxidase B in the brains of smokers. *Nature* 379, 733-736 (1996).
  94. Fowler, J.S., et al. Brain monoamine oxidase A inhibition in cigarette smokers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 14065-14069 (1996).
  95. Guillem, K., et al. Monoamine oxidase inhibition dramatically increases the motivation to self-administer nicotine in rats. *J Neurosci* 25, 8593-8600 (2005).
  96. Guillem, K., et al. Monoamine oxidase A rather than monoamine oxidase B inhibition increases nicotine reinforcement in rats. *Eur J Neurosci* 24, 3532-3540 (2006).
  97. George, T.P., et al. A preliminary placebo-controlled trial of selegiline hydrochloride for smoking cessation. *Biol Psychiatry* 53, 136-143 (2003).
  98. Morens, D.M., Grandinetti, A., Reed, D., White, L.R. & Ross, G.W. Cigarette smoking and protection from Parkinson's disease: false association or etiologic clue? *Neurology* 45, 1041-1051 (1995).
  99. Khalil, A.A., Steyn, S. & Castagnoli, N., Jr. Isolation and characterization of a monoamine oxidase inhibitor from tobacco leaves. *Chem Res Toxicol* 13, 31-35 (2000).
  100. Castagnoli, K., et al. Studies on the interactions of tobacco leaf and tobacco smoke constituents and monoamine oxidase. *Neurotox Res* 4, 151-160 (2002).
  101. Volkow, N.D., Fowler, J.S., Wang, G.J., Swanson, J.M. & Telang, F. Dopamine in drug abuse and addiction: results of imaging studies and treatment implications. *Arch Neurol* 64, 1575-1579 (2007).
  102. Di Ciano, P. & Everitt, B.J. The GABA(B) receptor agonist baclofen attenuates cocaine- and heroin-seeking behavior by rats. *Neuropsychopharmacology* 28, 510-518 (2003).
  103. Brodie, J.D., Figueroa, E. & Dewey, S.L. Treating cocaine addiction: from preclinical to clinical trial experience with gamma-vinyl GABA. *Synapse* 50, 261-265 (2003).
  104. Brodie, J.D., et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of vigabatrin for the treatment of cocaine dependence in Mexican parolees. *Am J Psychiatry* 166, 1269-1277 (2009).
  105. Brodie, J.D., Figueroa, E., Laska, E.M. & Dewey, S.L. Safety and efficacy of gamma-vinyl GABA (GVG) for the treatment of methamphetamine and/or cocaine addiction. *Synapse* 55, 122-125 (2005).
  106. De Vries, T.J., et al. A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med* 7, 1151-1154 (2001).
  107. Julian, M.D., et al. Neuroanatomical relationship between type 1 cannabinoid receptors and dopaminergic

- systems in the rat basal ganglia. *Neuroscience* 119, 309-318 (2003).
108. Kreek, M.J., LaForge, K.S. & Butelman, E. Pharmacotherapy of addictions. *Nat Rev Drug Discov* 1, 710-726 (2002).
109. Shearer, J. The principles of agonist pharmacotherapy for psychostimulant dependence. *Drug Alcohol Rev* 27, 301-308 (2008).
110. Grabowski, J., et al. Replacement medication for cocaine dependence: methylphenidate. *J Clin Psychopharmacol* 17, 485-488 (1997).
111. Paulus, M.P., Tapert, S.F. & Schuckit, M.A. Neural activation patterns of methamphetamine-dependent subjects during decision making predict relapse. *Arch Gen Psychiatry* 62, 761-768 (2005).
112. Kosten, T.R., et al. Cue-induced brain activity changes and relapse in cocaine-dependent patients. *Neuropsychopharmacology* 31, 644-650 (2006).
113. Silveri, M.M., et al. Cerebral phosphorus metabolite and transverse relaxation time abnormalities in heroin-dependent subjects at onset of methadone maintenance treatment. *Psychiatry Res* 131, 217-226 (2004).
114. Gruber, S.A., et al. Methadone maintenance improves cognitive performance after two months of treatment. *Exp Clin Psychopharmacol* 14, 157-164 (2006).
115. Wang, G.J., et al. Partial recovery of brain metabolism in methamphetamine abusers after protracted abstinence. *Am J Psychiatry* 161, 242-248 (2004).



## **Parte 2**

---

### **Gli effetti del consumo di sostanze stupefacenti sul cervello**





## 2.1 Uso di sostanze stupefacenti e cervello: le nuove frontiere del neuroimaging

Giada Zoccatelli<sup>1</sup>, Franco Alessandrini<sup>1</sup>, Giovanni Serpelloni<sup>2</sup>, Andrea Federspiel<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

<sup>2</sup> Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, Roma

<sup>3</sup> Department of Psychiatric Neuropsychology, University Hospital of Psychiatry, Bern, Switzerland

### 1. Tecniche di Neuroimaging nella dipendenza patologica

Le scoperte scientifiche degli ultimi anni hanno dimostrato che la tossicodipendenza è una malattia cronica del cervello (Volkow et al., 2004). In particolare, l'uso di droga porta al danneggiamento delle strutture cerebrali implicate nel ragionamento sociale, nell'apprendimento e nella gratificazione dell'individuo, con conseguenti importanti effetti sull'adattamento sociale (Cohen P., 2004).

La possibilità di studiare con le moderne tecniche di visualizzazione cerebrale (neuroimaging) il cervello di chi utilizza sostanze stupefacenti, permette di dimostrare scientificamente quali effetti nocivi (o "gravi alterazioni"), anche permanenti, possa provocare l'uso di sostanze sullo sviluppo e sul funzionamento delle funzioni cerebrali, portando questo ad una ricaduta sulle politiche di prevenzione, mirate principalmente agli adolescenti, relativamente non solo all'abuso ma anche semplicemente all'uso di sostanze stupefacenti. Le diverse tecniche di neuroimmagine rendono possibile visualizzare oltre che la sede e l'estensione del danno cerebrale (molto importante in ambito neurologico e chirurgico), anche l'impatto che i processi mentali hanno sull'attività cerebrale. Nel campo delle dipendenze patologiche, queste tecniche possono fornire informazioni importanti sugli effetti neurobiologici delle diverse sostanze stupefacenti sul cervello e permettono di comprendere le cause e i meccanismi della vulnerabilità all'uso delle droghe. Tutto questo rende possibile una conoscenza approfondita delle esperienze soggettive e dei comportamenti dei consumatori, compresi i loro sforzi per guarire, da un punto di vista anche neurobiologico. Le neuroimmagini non rappresentano quindi metodiche puramente sperimentali, bensì strumenti utili per conoscere i meccanismi neurali della dipendenza, per individuare le cure più adeguate per i pazienti e per monitorare la risposta alle terapie.

Neuroimmagini come strumenti per conoscere i meccanismi della dipendenza

Le principali tecniche di neuroimmagine comprendono:

- la Tomografia Assiale Computerizzata (TAC),
- la Risonanza Magnetica per Immagini (RMI),
- la Tomografia a Emissione di Positroni (PET),
- la Tomografia Computerizzata a Emissione di Singolo Fotone (SPECT).

Le principali tecniche di neuroimaging

Esse rivelano diversi aspetti della struttura o del funzionamento del cervello (Tabella 1), dalla conoscenza dell'anatomia e della composizione tissutale del cervello, dei processi biochimici, fisiologici e funzionali, all'attività dei neurotrasmettitori, la distribuzione delle sostanze e la loro cinetica. Tutte insieme, e associate ad altre tecniche di ricerca, tali tecniche consentono una comprensione multidimensionale di una complessa malattia quale

l'uso e la dipendenza da droghe.

Tabella 1 - Principali tecniche di neuroimmagine e loro descrizione.

Tecniche di neuroimmagine	Descrizione
TAC (Tomografia Assiale Computerizzata)	Indagine morfo-funzionale radiologica di elevato potere risolutivo. Le radiazioni, trasformate in impulsi elettrici, vengono elaborate per ottenere immagini di sottili strati del corpo indagato. Rappresenta la principale metodica nello studio del Sistema Nervoso Centrale e dell'encefalo soprattutto per quanto riguarda la patologia vascolare, traumatica e neoplastica.
RMI (Risonanza Magnetica per Immagini)	Tecnica utilizzata per produrre immagini ad alta definizione dell'interno del corpo umano. Sfrutta le proprietà fisiche dell'atomo di idrogeno sottoposto a campi magnetici ed impulsi a radio-frequenza, e consente di studiare in particolare i tessuti molli del corpo.
PET (Tomografia a Emissione di Positroni)	Metodica di medicina nucleare e diagnostica medica che, basandosi sull'impiego di determinati traccianti radioattivi, consente di ottenere dettagliate informazioni sui processi metabolico-funzionali dell'organismo. È usata estensivamente in oncologia clinica (per avere rappresentazioni dei tumori e per la ricerca di metastasi) e nelle ricerche cardiologiche e neurologiche.
SPECT (Tomografia Computerizzata a Emissione di Singolo Fotone)	Tecnica tomografica di imaging medico della medicina nucleare che adopera la radiazione ionizzante nota come "raggi gamma". Fornisce dati biotopologici tridimensionali. Utilizzata principalmente per lo studio di alcune patologie come i processi espansivi (tumori) e nella diagnosi differenziale delle demenze.

## 1.1 Risonanza Magnetica (RM)

La scoperta e la successiva introduzione nella pratica clinica dell'imaging con Risonanza Magnetica (RM) ha profondamente modificato e ampliato la diagnostica neurologica. La neuroradiologia, una branca della radiologia mirata allo studio dell'anatomia e del funzionamento del Sistema Nervoso Centrale (encefalo e midollo spinale) e periferico, si è particolarmente avvantaggiata dallo sviluppo delle moderne tecniche di RM per la diagnosi delle alterazioni neurologiche.

La RM è oggi l'esame radiologico più importante in neurologia. Essa rappresenta una metodica innocua poiché utilizza campi magnetici senza radiazioni ionizzanti.

La nascita di apparecchiature RM a campo magnetico ultra alto (3.0 Tesla o più) assicura un'ottima risoluzione spaziale delle strutture cerebrali e spinali (Figura 1). Sono ben visualizzati tutti i processi che comportano un'alterazione strutturale del tessuto nervoso come le infiammazioni, le ischemie, la neurodegenerazione come nella malattia di Alzheimer e di altre malattie neurodegenerative. È inoltre adatta per una diagnosi precoce e differenziale di tumori o metastasi cerebrali e nella maggior parte dei casi viene eseguita per confermarne o escluderne la presenza in caso di sintomi sospetti.

Visualizzazione  
delle alterazioni  
strutturali



Figura 1 - Macchina di Risonanza Magnetica ad alto campo magnetico.



La RM può essere eseguita con o senza iniezione endovenosa di un mezzo di contrasto, che, a differenza del mezzo di contrasto usato per la TAC (Tomografia Assiale Computerizzata), ha nessuno o pochi effetti collaterali. Il mezzo di contrasto facilita la visualizzazione di processi infiammatori e di tessuti molto vascolarizzati, come ad esempio nel caso di tumori. Il paziente viene fatto sdraiare su un tavolo mobile e, posizionata la bobina sul distretto corporeo da esaminare (ad esempio sul capo, per lo studio dell'encefalo), fatto entrare all'interno del magnete. Al paziente viene chiesto di rimanere immobile per tutta la durata dell'esame (in media 20 minuti).

Per le sue caratteristiche intrinseche, non invasività e sensibilità diagnostica, possiamo considerare la RM il "gold standard" tra le metodiche diagnostiche per lo studio di una vasta gamma di patologie cerebrali (patologie tumorali, vascolari, neurodegenerative), e recentemente di possibile applicazione nel campo della tossicodipendenza.

#### 1.1.1 Tecniche avanzate di Risonanza Magnetica Nucleare: la Spettroscopia protonica (MRS)

La spettroscopia con RM (MRS) può essere definita una sorta di "biopsia" in vivo non invasiva in grado di fornire informazioni metaboliche fondamentali nello studio delle patologie neurologiche. La MRS sfrutta un principio fisico, detto "chemical shift", secondo cui la frequenza di risonanza di un nucleo atomico dipende dalla natura dell'ambiente in cui il nucleo si trova. Solitamente con la RM si considera la frequenza di risonanza degli atomi d'idrogeno (costituenti delle molecole d'acqua presenti nei vari tessuti dell'organismo umano) all'interno di un campo magnetico esterno, ossia quello generato dal magnete.

La MRS distingue le molecole che contengono particolari nuclei atomici. Il segnale di MRS viene definito "spettro" e corrisponde ad un asse cartesiano sul qual è possibile distinguere dei picchi. Ad ogni molecola corrisponde un picco; l'area del picco è proporzionale al numero dei nuclei rilevati e quindi alla concentrazione del metabolita nel punto di misurazione.

Spettroscopia  
protonica per  
informazioni  
metaboliche

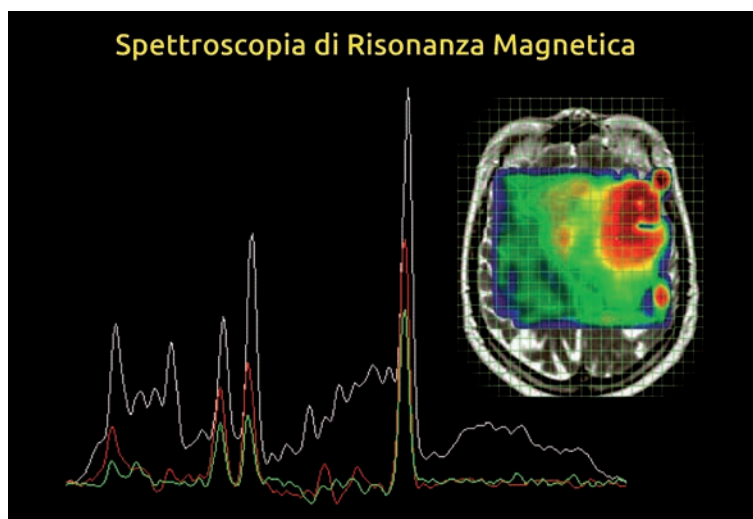
Per lo studio del metabolismo cerebrale viene studiato principalmente il nucleo del protone ( $^1\text{H}$ ) a causa della sua maggiore concentrazione nel tessuto encefalico e quindi l'alto

La tecnica

segnale di rilevazione. La spettroscopia all'idrogeno ( $^1\text{H}$ -MRS) rappresenta oggi la metodica principalmente utilizzata a scopo clinico perché permette di ottenere spettri ad alta risoluzione e consente di individuare numerosi metaboliti cerebrali con diverso significato biochimico, variabili secondo i parametri di acquisizione e il tipo di sequenza utilizzati. La tecnica consiste nel determinare un volume d'interesse (VOI) e misurare la concentrazione dei metaboliti presenti in quella zona abbattendo il segnale dell'acqua, molto più elevato di quello dei metaboliti, per permettere la misurazione delle varie molecole. Per fare questo vengono usate apposite sequenze con tempi di eco (TE) più o meno lunghi a seconda delle sostanze da misurare.

E' possibile misurare un singolo VOI oppure sezioni multiple di più VOI (Figura 2). Questa seconda scelta è maggiormente opportuna nel caso siano necessarie informazioni su aree estese del SNC. Infatti, in un breve periodo di acquisizione, viene campionato maggior tessuto nervoso, ottenendo le immagini di distribuzione dei metaboliti.

Figura 2 - Sulla destra, rappresentazione grafica dei picchi dei principali metaboliti cerebrali (spettro). Sulla sinistra, una sequenza multi-voxel chiamata CSI (chemical shift imaging): l'immagine mostra una sezione assiale dell'encefalo con sovrapposta una griglia (VOI). Ciascun quadrato corrisponde ad un voxel che fornisce informazioni sul tipo e la quantità di metaboliti presenti nell'area. La concentrazione dei metaboliti è rappresentata mediante una scala colorimetrica (in rosso la maggior concentrazione). Fonte: <http://limpeter-mrblog.blogspot.it>



#### Possibilità di rilevazione

La MRS è in grado di rilevare N-Acetil-Aspartato (NAA), Colina (Cho), Creatina e fosfocreatina (Cr), Lattato (Lac), Glutammato e Glutamina (Glx), Mio-inositolo (Mi) e AcidoGammaAminoButirrico (GABA).

L'NAA rappresenta un indice di funzionalità neuronale in quanto presente solo nei neuroni e non nelle cellule gliali mature; si registra una riduzione permanente dell'NAA nelle malattie degenerative (malattia d'Alzheimer) e nella morte neuronale (ictus), oppure transitoria nelle disfunzioni neuronali acute come le malattie demielinizzanti o nelle aree di penombra ischemica.

Elevati livelli di Cho (colina, acetilcolina, glicerofosforicolina e fosfocolina) sono associati ad un aumento della proliferazione cellulare come nei tumori cerebrali o nelle malattie demielinizzanti.

Il Mi è un indice di densità delle cellule gliali, considerato utile nella diagnosi differenziale delle demenze.

Il Lac è prodotto dalla glicolisi anaerobica in condizioni di ischemia e ipossia, ma anche indicativo di elevato metabolismo cellulare, ad esempio, nei tumori cerebrali.

La Cr riflette, infine, le riserve di metabolismo energetico delle cellule.

La sequenza di MRS viene acquisita durante una normale sessione di esame. Al paziente viene chiesto di rimanere fermo per circa 6 minuti, il tempo necessario per l'acquisizione delle immagini. La sequenza particolarmente sensibile al movimento richiede l'assoluta immobilità della testa, per lo studio dell'encefalo, affinché sia possibile rilevare in modo corretto gli spettri dei vari metaboliti. È da considerarsi tra le sequenze meno invasive di RM poiché poco rumorosa.

Esecuzione  
dell'esame

L'esame può essere più o meno lungo a seconda del numero di campionamenti effettuati. Per campionamenti multipli un esame MRS può durare in media 20 minuti. L'analisi dei metaboliti si effettua successivamente all'esame, in fase di post-elaborazione, tramite l'utilizzo di software dedicati.

Poiché la MRS viene considerata una sorta di biopsia non invasiva, essa viene principalmente utilizzata per la diagnosi differenziale delle neoplasie. La presenza o l'assenza di alcuni metaboliti, e soprattutto i rapporti tra gli stessi, permette allo specialista di discriminare tra lesioni tumorali diverse (alto o basso grado di malignità) fornendo un'informazione importante per la scelta del piano terapeutico (ad esempio, radioterapia o intervento chirurgico), per il monitoraggio della crescita neoplastica e dell'efficacia della terapia.

Campi di  
applicazione

Viene tuttavia utilizzata con successo anche per altri campi di ricerca sia clinica che sperimentale, ad esempio per lo studio della funzionalità metabolica dopo trauma cranico in ambito sportivo (Alessandrini F., Zoccatelli G., 2010), nell'epilessia, nelle patologie generative, nella tossicodipendenza. In quest'ultimo ambito la MRS rappresenta un marker innovativo in grado di definire l'alterazione metabolica dopo assunzione di diverse sostanze d'abuso, il grado di compromissione dei metaboliti dopo uso cronico, i tempi di recupero cerebrale dopo astinenza completa. La MRS può quindi essere usata per individuare il più corretto piano terapeutico che porti al riequilibrio metabolico cerebrale in soggetti con problemi di dipendenza. Offre inoltre un'opportunità di prevenzione nello studio delle dinamiche metaboliche nei giovani ragazzi che fanno uso di droghe, per prevenire ulteriori e più severe alterazioni cerebrali.

### 1.1.2 Tecniche avanzate di Risonanza Magnetica Nucleare: la Risonanza Magnetica funzionale (fMRI)

La Risonanza Magnetica funzionale (dall'inglese "functional Magnetic Resonance" o fMRI), è una tecnica completamente non invasiva, basata sulle modificazioni di segnale in vivo indotte dalla variazione dello stato di ossigenazione dell'emoglobina nel sangue. La fMRI si è affiancata alle metodiche medico nucleari (PET, SPECT), all'Elettroencefalografia (EEG) e alla Magnetoencefalografia (MEG) nello studio della funzione cerebrale.

Una tecnica  
non invasiva  
che registra  
la variazione  
dell'ossigenazione  
dell'emoglobina  
nel sangue

Le sue caratteristiche intrinseche sono l'assenza di invasività (non viene somministrato mezzo di contrasto paramagnetico), l'elevata risoluzione spaziale e temporale, la facile riproducibilità e la possibilità di co-registrazione con immagini anatomiche di alta qualità. La modificazione dello stato di ossigenazione dell'emoglobina nei globuli rossi è il principio teorico dell'effetto BOLD (Blood Oxygen Level Dependent), sul quale la fMRI si basa.

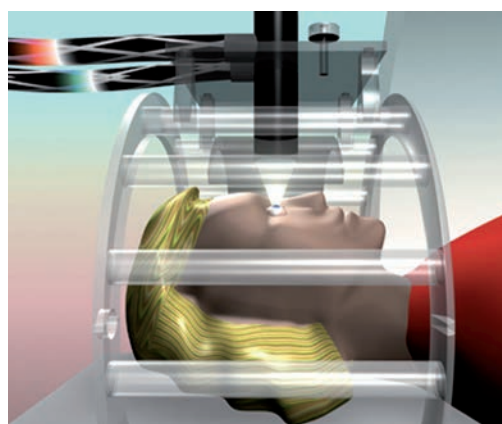
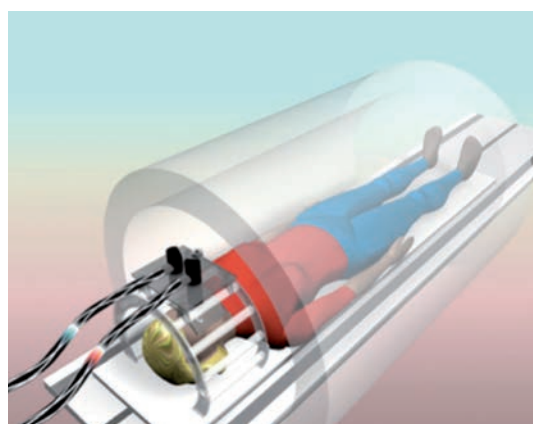
Stimolazioni corticali opportunamente applicate a specifiche aree del cervello inducono

variazioni di un certo numero di parametri fisiologici. In particolare, la perfusione cerebrale delle aree stimulate aumenta in conseguenza dell'incremento dell'attività neuronale, che libera localmente sostanze vasodilatatrici tra cui l'ossido nitrico (NO). L'incremento locale del flusso ematico avviene in misura maggiore dell'aumento del consumo di ossigeno; il risultato di questo disaccoppiamento è un incremento della concentrazione di ossi-emoglobina con riduzione paradossa della desossi-emoglobina sul versante venoso del letto capillare. L'ossi-emoglobina in eccesso provoca a sua volta un cambiamento locale delle proprietà magnetiche del sangue a livello vascolare e una variazione di segnale che viene rilevata dalla RM. Sfruttando quindi il disaccoppiamento fra la fisiologica energetica richiesta e l'aumentato apporto ematico causato dalla maggiore attività neuronale si ottengono le immagini di fMRI. In questo modo, lo stato di ossigenazione del sangue viene utilizzato come mezzo di contrasto endogeno. L'utilità clinica e l'affidabilità di questa metodica sono state in seguito confermate da molti studi e, più recentemente, dalla validazione intraoperatoria, che ha dimostrato la precisa corrispondenza delle aree attivate ottenute mediante RM con i risultati della stimolazione diretta in ambito chirurgico (Stippich C. et al., 2007; Sunaert S. 2006).

#### Esecuzione dell'esame

La metodica si caratterizza inoltre per la semplice esecuzione dell'esame. Prima della scansione vera e propria, il paziente viene istruito al compito che dovrà compiere una volta all'interno dello scanner. Gli viene chiesto di simulare il movimento da compiere (ad esempio, apertura e chiusura della mano) o il compito mentale da eseguire (ad esempio, leggere delle parole proiettate su un monitor). Un'apparecchiatura RM compatibile costituita da un monitor e occhiali montati sopra alla bobina d'acquisizione delle immagini permette al paziente di visualizzare i compiti visivi (Figura 3, a destra) da eseguire durante la scansione di fMRI. La collaborazione del soggetto è particolarmente necessaria, richiesta non solo per mantenere un'assoluta immobilità per tutta la durata dell'esame ma anche per la partecipazione attiva durante l'esecuzione dei paradigmi e dei compiti funzionali richiesti.

**Figura 3 - Simulazione grafica di un esame fMRI all'encefalo. Il paziente esegue il compito cognitivo richiesto (ad esempio, la lettura di parole per lo studio dell'abilità linguistica) mediante un sistema costituito da monitor e occhiali di visualizzazione. Se è richiesta una risposta attiva del soggetto, alcune apparecchiature sono dotate di joystick o pulsantiere che registrano i tempi di risposta agli stimoli proposti.**



I campi di applicazione sono innumerevoli, volti a studiare e misurare i cambiamenti emodinamici del cervello in diverse condizioni di stimolazione (attiva o passiva) e con l'utilizzo di diversi paradigmi sperimentali (visivi, motori, cognitivi, ecc.). La fMRI viene utilizzata principalmente in ambito neurochirurgico per la pianificazione pre e post chirurgica delle strutture e delle funzioni corticali in rapporto con una lesione. In sala operatoria poi, con paziente sveglio, per il monitoraggio intraoperatorio delle aree cerebrali eloquenti e/o motorie (awake surgery) permette la programmazione della strategia chirurgica al fine di ridurre al minimo i rischi di deficit post operatorio. La fMRI viene utilizzata per studiare i diversi processi cognitivi (linguaggio, attenzione, memoria, decisione) nel normale e nel patologico, nel campo dell'epilessia ai fini di valutazione della lateralizzazione verbale pre-lobectomia, nello stroke per il monitoraggio del recupero funzionale dopo insulto ischemico cerebrale, nelle malattie degenerative (demenza di Alzheimer), nello studio neurofisiologico dei disturbi d'ansia e di panico. Le dipendenze risultano uno dei più recenti campi di applicazione, che consente la comprensione dei meccanismi che creano e sostengono questo tipo di patologia.

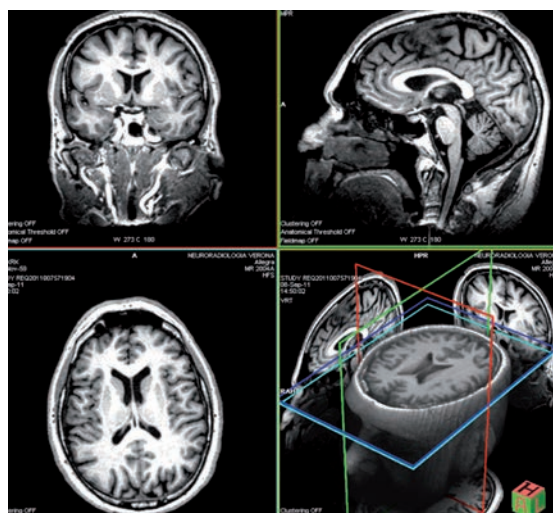
### 1.1.3 Tecniche avanzate di Risonanza Magnetica Nucleare: la Risonanza Magnetica strutturale

Lo studio delle alterazioni cerebrali da un punto di vista morfologico si configura come un successivo e necessario completamento delle acquisizioni funzionali, e necessita di acquisizioni volumetriche di RM per lo studio di parametri quantitativi (ad esempio, analisi dello spessore corticale del tessuto cerebrale), al fine di valutarne le caratteristiche morfometriche.

L'utilizzo di macchinari RM ad alto campo magnetico permette di ottenere immagini dettagliate della struttura cerebrale, analizzabili poi da software dedicati per la visualizzazione e il confronto delle diverse componenti cerebrali (materia grigia e bianca). Questi parametri, integrati e correlati a quelli ottenuti dagli screening neuropsicologici atti a valutare le funzioni cognitive, permettono di avere informazioni scientifiche su tutte le strutture corticali e sottocorticali. Lo studio delle alterazioni morfologiche richiede solitamente l'utilizzo di una sequenza RM volumetrica (pesata in T1) che permetta di ricostruire in modo tridimensionale la superficie cerebrale (Figura 4).

Informazioni di tipo  
strutturale

Figura 4 - Esempio di ricostruzione 3D della superficie corticale. Fonte: Addiction Neuroscience Group, 2010.



### Tecniche per l'analisi strutturale

Con l'utilizzo di speciali software dedicati alla segmentazione della sostanza grigia e bianca è poi possibile misurare lo spessore della corteccia cerebrale, la profondità dei solchi e osservare in toto l'anatomia del cervello. Tra le tecniche più importanti utilizzate per l'analisi strutturale, si ricorda la morfometria basata sui voxel (dall'inglese "voxel-based morphometry" o VBM) che esamina le differenze focali nell'anatomia del cervello per singolo voxel usando l'approccio della mappatura statistica parametrica e la più recente tecnica dello spessore corticale ("cortical thickness o CT") che permette una precisa valutazione quantitativa morfo-volumetrica del cervello calcolando lo spessore della corteccia espresso in millimetri. Lo studio dello spessore corticale unitamente alle indagini strutturali tramite ricostruzione delle fibre di sostanza bianca (Diffusion Tensor Imaging, DTI), dello studio dei metaboliti cerebrali (Spettroscopia, MRS) e delle variazioni di flusso sanguigno cerebrale (Arterial Spin Labeling, ASL), permette di arrivare ad una precoce definizione dei marker neurali che caratterizzano un cervello che assume, o ha assunto, droghe.

### Esecuzione dell'esame

Al soggetto che svolge l'esame viene quindi solamente chiesto di rimanere fermo all'interno dello scanner, al fine di evitare artefatti da movimento che andrebbero ad alterare la qualità dell'immagine acquisita e, di conseguenza, la corretta ricostruzione dell'encefalo da parte del software.

Sostanzialmente l'analisi dello spessore corticale consiste nell'esecuzione di un'unica sequenza volumetrica, ossia acquisita nei tre piani (longitudinale, coronale e sagittale) della durata media di 7-8 minuti circa, in modo assolutamente non invasivo per il soggetto e secondo metodiche di ricostruzione che avvengono successivamente nella fase di post-elaborazione.

### Campi di applicazione

La corteccia cerebrale è uno strato laminare continuo formato dai neuroni, dalla glia e da fibre nervose senza mielina. La corteccia cerebrale umana è spessa 2-4 mm e gioca un ruolo centrale in meccanismi mentali complicati come la memoria, la concentrazione, il pensiero, il linguaggio e la coscienza. Lo spessore della corteccia non rimane inalterato durante la vita della persona, in quanto, in relazione all'età e allo sviluppo, si hanno precise modificazioni, responsabili, tra l'altro, di periodi di particolare "verve" emotiva e di conseguenti variazioni nel tono dell'umore. È quindi comprensibile che i campi di applicazione per l'analisi dello spessore corticale siano molti e in continuo sviluppo. Si studia la variabilità dello spessore corticale in presenza di malattie degenerative (malattia d'Alzheimer), psicosi (schizofrenia), disturbi dell'umore (depressione), epilessia, tumori cerebrali e così via. Si può studiare la plasticità neuronale dopo assunzione di farmaci, disturbi post-traumatici da stress, psicoterapie e, non per ultimo, l'influenza delle droghe sullo sviluppo cerebrale in particolare degli adolescenti che ancora non hanno completato lo sviluppo delle connessioni neurali. I dati sullo spessore corticale con RM possono quindi fornire importanti informazioni sulla vulnerabilità e plasticità cerebrale in diversi campi di ricerca, dalle demenze alla tossicodipendenza.

#### *1.1.4 Tecniche avanzate di Risonanza Magnetica Nucleare: il Tensore di Diffusione (DTI)*

### Tensore di Diffusione (DTI)

L'imaging pesato in diffusione (dall'inglese Diffusion Weighted Imaging o DWI) permette di studiare in RM i movimenti casuali delle molecole d'acqua, un fenomeno biologico noto come diffusività (una misura dell'ampiezza del movimento di diffusione). La diffusività delle molecole d'acqua può essere normalmente ristretta dalla presenza di vari componenti biologiche (membrane, organelli intracellulari, macromolecole e così via) in varie direzio-

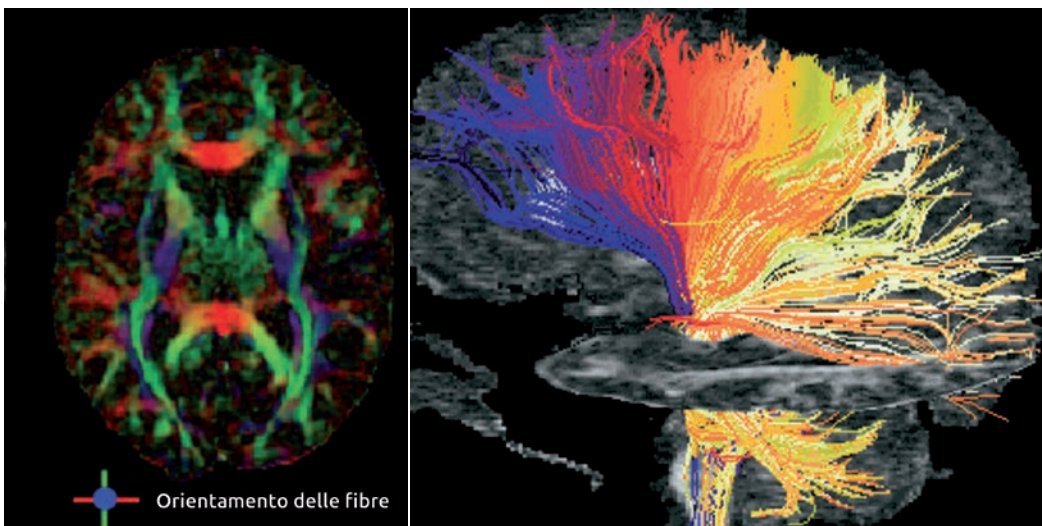


ni (diffusione isotropica) oppure in una particolare direzione (diffusione anisotropica). La MR utilizza sequenze ultraveloci sensibili al movimento in grado di generare mappe sulla diffusività delle molecole d'acqua (mappe di ADC) e sull'anisotropia, una misura della direzionalità del movimento. Maggiore è la densità delle strutture che impediscono il libero movimento delle molecole e più basso è il valore di ADC. L'ADC fornisce quindi in modo non invasivo informazioni sulla densità cellulare. Alti valori di FA suggeriscono invece un'organizzazione microstrutturale più strutturata.

Il movimento delle molecole d'acqua in tessuti fortemente strutturati come la sostanza bianca cerebrale è anisotropico per le molecole perpendicolari alle fibre, per la presenza di multipli strati di mielina che ne restringono il flusso, rispetto alle molecole che si muovono parallele alle fibre (Basser et al. 1994; Basser 1995; Basser and Pierpaoli 1996, 1998). La differenza tra questi due tipi di movimento (perpendicolare e parallelo) è alla base della tecnica di RM chiamata Tensore di Diffusione (DTI). Mediante questa metodica è possibile quantificare sia l'ampiezza dell'anisotropia (anisotropia frazionaria o FA) sia la direzionalità preferenziale delle molecole d'acqua. La FA viene utilizzata come misura di integrità delle fibre (Basser and Pierpaoli, 1996).

Esistono diversi software di elaborazione del segnale DTI, i più comuni utilizzano regioni di interesse (ROI) dalle quali far partire la ricostruzione tridimensionale delle fibre che passano per quella zona, ottenendo così una rappresentazione grafica 3D dei principali fasci di fibra (tratto corticospinale, fascicolo uncinato e arcuato, radiazioni ottiche, ecc.). Del fascio tracciato è possibile conoscere diversi parametri, come gli indici di integrità assonale (FA) e di diffusività (ADC), in grado di fornire utili informazioni sulla funzionalità microstrutturale del tessuto nervoso nella zona di interesse.

**Figura 5 - Immagine di diffusione mediante DTI. A destra una mappa bidimensionale con rappresentate le diverse direzioni delle fibre secondo uno schema colorimetrico (tabella di gradienti). A colore diverso corrisponde una diversa direzione. A sinistra, una rappresentazione tridimensionale di alcuni fasci (corona radiata). Fonte: <http://limpeter-mriblog.blogspot.it>**



La sequenza DTI viene acquisita in modo assolutamente non invasivo per il soggetto, al quale viene solamente richiesto di restare immobile durante l'esame per evitare artefatti da movimento. Alla sequenza è applicata una tabella dei gradienti, ossia una matrice vettoriale con diverse direzionalità, che permette durante la fase di elaborazione delle immagini di ottenere le mappe di FA, ADC e la ricostruzione tridimensionale dei diversi fasci di fibra

(Figura 5).

L'analisi dell'integrità della sostanza bianca cerebrale è applicata soprattutto in caso di patologie demielinizzanti (ad esempio sclerosi multipla), malattie degenerative (malattia di Alzheimer) e tumori cerebrali che infiltrano i fasci di fibre. I campi d'interesse tuttavia possono essere moltissimi, dallo studio della connettività funzionale nel cervello in via di sviluppo (studio delle dinamiche di organizzazione cerebrale nell'infanzia e adolescenza) all'analisi delle alterazioni per degenerazione della sostanza bianca per disturbi come ADHD, autismo, e psicosi fino all'uso di sostanze stupefacenti e alcol.

### *1.1.5 Tecniche avanzate di Risonanza Magnetica Nucleare: la perfusione senza mezzo di contrasto (continuous Arterial Spin Labeling o cASL)*

Una tecnica per la quantificazione della perfusione

Rispetto alle comuni tecniche nucleari, la cASL (continuous Arterial Spin Labeling) permette di studiare in modo assolutamente non invasivo le variazioni di flusso sanguigno. Essa costituisce quindi una tecnica per la quantificazione della perfusione. Non viene iniettato alcun mezzo di contrasto paramagnetico esterno ma vengono magnetizzate le molecole d'acqua come tracciante endogeno.

Questa tecnica di RM permette di ottenere mappe colorimetriche della distribuzione del flusso sanguigno cerebrale (CBF) ed eventuali alterazioni di flusso. Essa risulta quindi facilmente applicabile in studi di neuroscienze, con la possibilità di molteplici acquisizioni senza alcun rischio per il soggetto. Fornisce inoltre informazioni di perfusione cerebrale, ossia indica la fornitura di ossigeno e sostanze nutritive al tessuto nervoso per mezzo del flusso ematico.

Sequenze di acquisizione

Nel cervello dell'uomo l'aumento dell'attività neurale è anche accompagnata da un cambiamento del flusso sanguigno cerebrale (CBF), del volume (CBV) e dell'ossigenazione (CMRO<sub>2</sub>). Questi cambiamenti metabolici possono essere misurati attraverso l'analisi del segnale BOLD (blood oxygenation level dependent) (Ogawa S et al. 1990; Bandettini PA et al. 1992), ossia la modificazione dello stato di ossigenazione dell'emoglobina nei globuli rossi, come con la fMRI. Il segnale BOLD rappresenta tuttavia una misura indiretta del metabolismo cerebrale poiché è una somma di tre parametri (CBF, CBV e CMRO<sub>2</sub>). Attraverso la tecnica ASL è possibile misurare in modo non invasivo un singolo parametro, il CBF, una misura diretta della risposta neuronale.

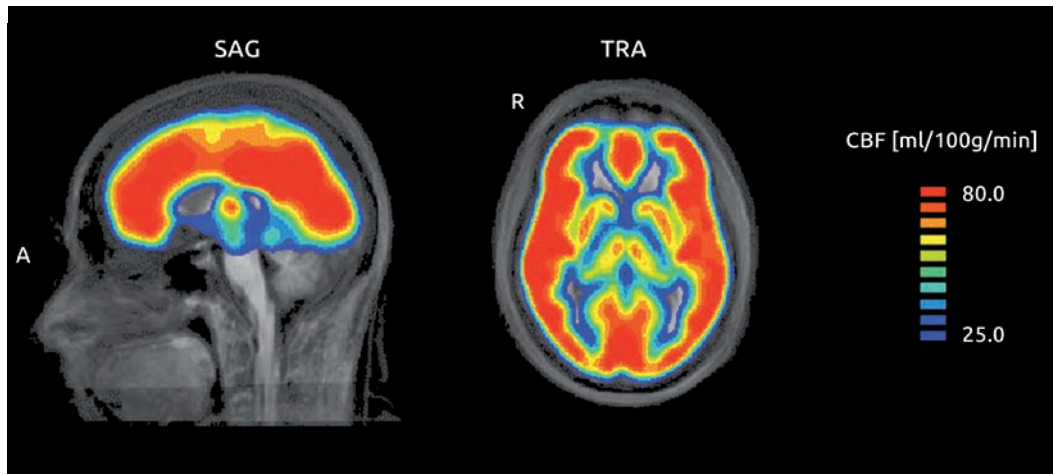
La tecnica di Arterial Spin Labeling (ASL) è stata per la prima volta descritta dal professor Detre (Detre JA et al. 1992) ed estesa allo studio dell'uomo due anni più tardi dal professor Roberts (Roberts DA et al. 1994). La tecnica ASL viene comunemente suddivisa in continuous arterial spin labeling (CASL, vedi Detre et al.) dove il sangue viene magnetizzato in modo continuo utilizzando impulsi a radiofrequenza costanti, e in pulsed arterial spin labeling (PASL) dove tutto il sangue contenuto in una fetta di acquisizione viene magnetizzato contemporaneamente utilizzando un solo impulso a radiofrequenza (Calamante F et al. 1999). Entrambe le metodiche permettono di ottenere immagini paragonabili a quelle di tecniche nucleari più invasive come PET e SPECT (Figura 6).

Per ovviare ad alcune limitazioni della metodica CASL (rischio di una sottostima del flusso sanguigno e attenuazione del segnale per effetto della magnetizzazione) nel 1999 Wong (Wong EC et al. 1999) ha sviluppato una sequenza QUIPSS (Quantitative Imaging of Perfusion Using a Single Subtraction) per evitare questi effetti di transito temporale del flusso. Recentemente è stata sviluppata un'altra sequenza (Wu WC et al. 2007; Dai W et al.) deno-



minata pseudocontinuous ASL (pCASL), che utilizza treni di impulsi a radiofrequenza.

Figura 6 - Rappresentazione sagittale (SAG) e assiale (TRA) del cervello. L'immagine colorata corrisponde alla mappa di CBF ottenuta con tecnica cASL. Le variazioni di colore riflettono la diversa distribuzione del flusso sanguigno nell'encefalo. In rosso le zone di maggior flusso sanguigno (corteccia cerebrale), in blu le aree di minor flusso (ventricoli cerebrali) espresso in ml/100g/min. Fonte: Federspiel A. et al., 2006.



Attualmente le sequenze ASL possono essere implementate ed utilizzate nei protocolli standard di acquisizione MR. La tecnica ASL offre un metodo unico e non invasivo per investigare le dinamiche del flusso sanguigno cerebrale nell'uomo. Il paziente all'interno dello scanner non deve svolgere alcun compito e non viene somministrato alcun mezzo di contrasto. La sequenza ASL viene acquisita come una sequenza standard di RM, l'elaborazione e l'analisi del segnale avviene tramite software dedicati in una fase successiva di elaborazione.

Esecuzione  
dell'esame

In letteratura è possibile trovare moltissimi studi che hanno applicato con successo la tecnica ASL per progetti volti ad indagare il flusso sanguigno cerebrale in soggetti sani di controllo (Federspiel A et al. 2006; Jann K et al. 2010), in pazienti con schizofrenia (Horn H et al. 2009; Homan P et al. 2011; Walther S et al. 2011), in pazienti affetti da epilessia (Hauf M et al. 2009; Pendse N et al. 2010), stroke (Lovblad KO et al. 2008; Altrichter S, Z Kulcsar, et al. 2009; Altrichter S, N Pendse, et al. 2009; Viallon M et al. 2010; Wissmeyer M et al. 2010) e in persone con dipendenza da sostanze stupefacenti (Wang Z et al. 2007).

Campi di  
applicazione

## 1.2 La Tomografia ad Emissione di Positroni (PET)

La Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) rappresenta probabilmente la tecnica di elezione nell'ambito dell'Imaging Molecolare. Si basa sull'utilizzo dei radiofarmaci, molecole marcate con un radioisotopo a breve emivita, che vengono iniettate nel paziente per via endovenosa per eseguire l'analisi tomografica. Tali radioisotopi arrivano al cervello e la loro emissione può essere valutata per mezzo di rilevatori posti all'esterno del corpo (Figura 7). L'analisi computerizzata di questi dati rivela l'assunzione e l'uso differenziato delle sostanze nelle varie regioni del corpo. Il radioisotopo più comunemente usato è il glucosio radioattivo che è assunto nelle diverse regioni cerebrali in quantità relative al livello delle attività metaboliche rispettive.

Utilizzo di  
radiofarmaci  
per l'analisi  
tomografica

Figura 7 - Apparecchiatura PET. Il paziente viene fatto sdraiare sul lettino dopo somministrazione del tracciante radioattivo a livello venoso. Successivamente, vengono acquisite le immagini per l'analisi tomografica.



#### Esecuzione dell'esame

Il tracciante viene iniettato in una vena del braccio o della mano. E' necessario un digiuno assoluto da almeno 8 ore. L'iniezione non comporta di solito nessuna reazione allergica o effetti collaterali. Dopo l'iniezione è importante rilassarsi ed evitare l'attività fisica, per ridurre la captazione muscolare del tracciante.

L'esame inizia di solito circa 60 minuti dopo la somministrazione del radiofarmaco; la durata dell'esame varia dai 40 ai 60 minuti, durante i quali il paziente dovrà rimanere disteso sul lettino della macchina.

Una trasformazione di colore produce un'immagine che fa risaltare le aree con attività metabolica intensa. È possibile così ottenere mappe metaboliche del cervello durante i processi cognitivi superiori, i movimenti, le risposte a stimoli sensoriali.

#### Vantaggi e svantaggi

La PET ha assunto negli ultimi anni un ruolo di primo piano nella diagnostica clinica, in quanto, grazie ai traccianti marcati, permette di studiare in modo non invasivo e soprattutto in vivo i processi biochimici e fisiologici che avvengono nei tessuti e negli organi, di studiare in vivo la biodistribuzione (cioè la distribuzione nei tessuti viventi) di svariati precursori metabolici e di ottenere immagini funzionali che descrivono la bioripartizione del tracciante. Inoltre, la recente diffusione di questa tecnica è da attribuire principalmente all'evoluzione dei tomografi utilizzati per l'esame, in grado di fornire in tempi relativamente brevi immagini total body con una risoluzione spaziale ottimale (anche di pochi millimetri).

Lo svantaggio rimane la scarsa risoluzione temporale e, per il paziente, l'uso di traccianti radioattivi.

#### Campi di applicazione

Il campo di applicazione principale resta quello oncologico, anche se diversi traccianti trovano impiego nello studio di alterazioni cardiologiche e di patologie del Sistema Nervoso Centrale e Periferico. Nel campo delle tossicodipendenze, la PET può essere utilizzata per lo studio metabolico e recettoriale delle diverse sostanze d'abuso a livello del tessuto encefalico.

### 1.3 La Tomografia Computerizzata a Emissione di Singolo Fotone (SPECT)

La Tomografia Computerizzata a Emissione di Singolo Fotone (dall'inglese SPECT) è una tecnica di imaging nucleare che utilizza la radiazione ionizzata nota come raggi gamma. Utilizza per questo motivo una gamma camera, costituita da due elementi fondamentali (un collimatore e un sistema di localizzazione fotonica) per l'acquisizione di immagini scintigrafiche.

Anche la SPECT, come la PET, si basa sull'iniezione di traccianti radioattivi. Il decadimento radioattivo nel tempo dei raggi gamma fornisce informazioni circa la posizione in cui i traccianti si sono depositati e fornisce quindi dati sulla biodistribuzione del radiofarmaco. Il tempo di dimezzamento degli isotopi è tuttavia molto più alto con la SPECT rispetto alla PET, quest'ultima consente quindi di ridurre i costi e rendere più facile l'applicazione clinica dell'esame. Un altro aspetto svantaggioso della SPECT è la singola emissione di raggi gamma, che compromette la precisione della localizzazione in cui il decadimento radioattivo è avvenuto e si traduce in una più bassa risoluzione rispetto alla PET (10 millimetri rispetto a 5). L'esame rimane comunque sicuro per il paziente e di facile applicabilità.

Dati sulla  
biodistribuzione  
del radiofarmaco

**Figura 8 - Apparecchiatura SPECT.** È visibile ai lati del lettino la gamma camera, costituita dai due elementi: il collimatore e il sistema di localizzazione fotonica per l'acquisizione di immagini scintigrafiche.



Mediante un'agocannula, il radiofarmaco che serve per l'esame viene iniettato in una vena del braccio. Solitamente i radiofarmaci utilizzati per la SPECT cerebrale di perfusione sono il Tc 99m HM-PAO o il Tc 99m ECD. Dopo avere tolto l'agocannula precedentemente inserita, il paziente viene trasferito nel locale diagnostico dove si esegue l'esame e viene disteso supino sul lettino dello strumento esplorante (Gamma Camera) che serve per ottenere le immagini, con la testa posizionata in un apposito appoggio. Non sussistono difficoltà per le persone che soffrono di claustrofobia. Generalmente è consigliato un digiuno di circa 2/4 ore prima dell'inizio dell'indagine.

È condizione indispensabile per un'ottimale riuscita dell'esame ridurre al minimo i movimenti del capo durante l'esecuzione dello stesso. Terminata questa fase preparatoria (di norma di durata almeno di 20'), il paziente viene introdotto mediante lo scorrimento del

Esecuzione  
dell'esame

lettino, nell'apposita apertura dello strumento esplorante (Gamma Camera) che serve ad ottenere immagini del cervello (simili alla TAC) mediante una rotazione di 360° intorno alla testa ed inizierà l'esame vero e proprio. La durata dell'esame è di almeno 30 minuti. L'esame è di semplice esecuzione, non doloroso e privo di rischi per la persona che vi si sottopone.

#### Campi di applicazione

Campo principale di applicazione della SPECT è lo studio del flusso ematico cerebrale sia in condizioni fisiologiche sia in vari tipi di patologie neurologiche vascolari e degenerative. Si possono rilevare entro poche ore dall'insorgenza di un evento ischemico le modificazioni della perfusione del sangue corrispondenti alla sintomatologia clinica quando ancora la TAC risulta negativa. Negli attacchi ischemici transitori (TIA), la SPECT rimane l'unico esame in grado di evidenziare bene le zone di alterata perfusione, nonché le regioni ipoperfuse lontane dall'area ischemica, espressione di una ridotta attività funzionale per il fenomeno della disconnessione neuronale (diaschisi). Ancora, mediante la SPECT è possibile evidenziare precocemente l'insorgenza del vasospasmo dopo emorragia subaracnoidea ed è possibile monitorare i risultati dopo interventi di rivascolarizzazione carotidea o rilevare l'entità delle variazioni del flusso del sangue durante gli attacchi di emicrania. È possibile evidenziare difetti di perfusione distrettuale nelle malattie degenerative (ad esempio, malattia di Alzheimer) o aumenti del flusso distrettuale nelle fasi critiche delle epilessie. L'identificazione di queste aree può essere importante nelle forme epilettiche suscettibili di terapia chirurgica. La metodica trova applicazione anche in campo psichiatrico (nella schizofrenia, nelle sindromi ossessive, nelle sindromi depressive).

## 1.4 Altre metodiche di diagnosi

#### Stimolazione/ inibizione della corteccia cerebrale

La Stimolazione Magnetica Transcranica (TMS) è una tecnica relativamente nuova ma di comprovata efficacia nel panorama delle metodiche a disposizione delle neuroscienze. Essa consente di stimolare o inibire la corteccia cerebrale in modo non invasivo. Le sue caratteristiche tecniche la rendono un importante e promettente strumento di analisi delle funzioni cognitive superiori e della via motoria centrale, rendendo possibile l'esplorazione dell'eccitabilità corticale e della conduzione motoria (Fregni F. et al., 2007).

La TMS consiste sostanzialmente nella generazione di un campo magnetico che induce un'attività elettrica nel cervello. Questa corrente elettrica provoca la depolarizzazione delle cellule nervose, cioè le eccita, producendo la stimolazione o l'interruzione dell'attività cerebrale per pochi millisecondi. In ultima analisi, la TMS provoca un'interferenza temporanea e locale con l'attività cerebrale normale e quindi, con i processi di elaborazione che sono svolti dall'attività cerebrale interessata dall'interferenza (Bonfiglioli & Castiello 2005).

#### Esecuzione dell'esame

Il soggetto sottoposto ad una seduta con TMS è seduto su una poltrona confortevole, è vigile e, se lo studio lo richiede, deve svolgere un determinato compito durante la stimolazione. Al momento dell'emissione dell'impulso, la bobina di stimolazione (o "coil") viene mantenuta in una posizione fissa sulla superficie della testa del soggetto (Figura 9). La TMS impiega un impulso magnetico di forte intensità, focalizzato in una porzione limitata di spazio, che viene somministrato attraverso il coil. Il flusso magnetico viene generato dal passaggio estremamente rapido di corrente elettrica nel coil. Una volta generato, questo impulso magnetico passa attraverso lo scalpo, l'osso della scatola cranica e le meningi, fino a raggiungere il cervello. Come un qualsiasi campo magnetico induce corrente elettrica in un conduttore che venga posto al suo interno (principio dell'induzione elettromagnetica di

Faraday)), così l'impulso magnetico della TMS induce una corrente elettrica sulla superficie del cervello quando lo raggiunge.

La corteccia cerebrale è infatti costituita in gran parte da neuroni, che sono i conduttori elettrici dei potenziali d'azione nel Sistema Nervoso Centrale. Nell'area interessata dall'arrivo del campo magnetico, i neuroni verranno quindi attivati in un modo artificiale dalla corrente elettrica generata dal campo.

Nell'arco di questi vent'anni, grazie allo sviluppo delle conoscenze tecnologiche e al miglioramento delle procedure sperimentali impiegate, la TMS è divenuta una tecnica usata di routine nella pratica clinica neurologica, nonché uno strumento di elezione per l'esplorazione delle funzioni cognitive del cervello umano. Sono stati sviluppati diversi ambiti applicativi (ad esempio, per lo studio della percezione, dell'attenzione e del linguaggio) per lo studio e il trattamento di alcuni disturbi neurologici e psichiatrici.

Campi di  
applicazione

**Figura 9 - Esempio di stimolatore TMS. Il sistema è dotato di uno schermo touch-screen dal quale è possibile programmare i parametri della stimolazione. Sotto, è visibile lo stimolatore dal quale esce il cavo del coil, visibile in basso a destra.**



## 2. Conclusioni

Il campo delle dipendenze rappresenta oggi uno dei più recenti campi di applicazione per le tecniche di neuroimmagine. L'applicazione delle diverse metodiche messe a disposizione dalla Risonanza Magnetica e dalla Medicina Nucleare consente la comprensione dei meccanismi che creano e sostengono la dipendenza da sostanze d'abuso.

Neurotrasmettitori come la dopamina e i suoi recettori giocano un ruolo chiave sul "sistema della gratificazione" e rappresentano un eccitante naturale. Il neurotrasmettitore GABA (acido gamma-aminobutirrico, che ha funzioni inibitorie), può venire invece considerato "il sistema inibitorio". Nelle persone dipendenti da sostanze, sia il sistema dopaminergico sia il sistema inibitorio del GABA risultano danneggiati, con conseguenze devastanti sulla struttura cognitivo-comportamentale del tossicodipendente. Molti studi hanno utilizzato inizialmente la PET per identificare i cambiamenti neuronali misurando direttamente il flusso ematico cerebrale (CBF) (Mintun MA et al. 1984). Tuttavia, la limitata risoluzione temporale e la scarsa ripetibilità della metodica PET (invasività data dall'uso di traccianti radioattivi), hanno reso la Risonanza Magnetica Funzionale il "gold standard" degli studi funzionali sulle dipendenze, sia per l'ottima risoluzione spaziale e temporale che per la

non-invasività sul soggetto. Mediante l'uso di diversi stimoli evocativi (ad esempio, la somministrazione di una bassa dose di sostanza, l'esposizione ad un evento stressante o ad un elemento che precedentemente era associato all'assunzione della sostanza gratificante), è stato possibile individuare i circuiti neuronali e le strutture corticali direttamente coinvolte dagli effetti acuti e cronici dell'abuso di cocaina e altre sostanze (psicostimolanti, alcol, nicotina ed oppiacei); identificare le aree cerebrali che sostengono la ricerca compulsiva della droga ed il suo desiderio ("craving"); rendere visibili e comprensibili i danni che il cervello subisce.

La mappatura funzionale consente una maggiore conoscenza delle aree funzionali coinvolte nel comportamento assuntivo permettendo inoltre di sviluppare nuove strategie terapeutiche. In particolare, è stata osservata una riduzione dei livelli di attivazione cerebrale nella corteccia prefrontale (che regola le funzioni cognitive razionali quali analisi, presa di decisioni, ecc.) ed una maggiore attivazione delle aree della corteccia limbica (regola le funzioni emotive, motivazionali e di apprendimento) nelle persone dipendenti, che potrebbe spiegare la perdita di controllo inibitorio sul desiderio compulsivo di ricerca della sostanza. Risultati importanti si sono ottenuti anche dallo studio del "fattore stress" (lo stress può aumentare il desiderio di droga e ridurre drasticamente il funzionamento della corteccia prefrontale) e del sistema ormonale (fattori ormonali spiegano la diversa reazione al fenomeno del "craving" tra uomini e donne e quindi le differenze di genere nell'uso cronico di droghe). La possibilità, inoltre, di mappare con la Risonanza Magnetica Funzionale le aree cerebrali del craving apre la strada a nuove e più mirate terapie, differenziando le persone con più alto rischio di ricaduta da quelle per cui il rischio è più basso, e individuando contemporaneamente quali aree del cervello possono controllare gli impulsi assuntivi. Le tecniche avanzate di neuroimmagine nel campo delle neuroscienze forniscono così nuove e sempre più chiare prove scientifiche delle modificazioni che, qualsiasi tipo di droga, può portare nell'organismo di chi ne fa uso.

La dipendenza è una malattia complessa ma curabile, che colpisce le funzioni cerebrali e modifica il comportamento. L'uso di cocaina altera la struttura e le funzioni cerebrali provocando cambiamenti che persistono nel tempo, anche dopo l'interruzione dell'uso, oltre ad esporre le persone al rischio di sviluppare numerosi altri disturbi fisici e mentali legati agli effetti tossici della droga stessa. Proprio perché la tossicodipendenza coinvolge così tanti aspetti della vita personale di un individuo, non esiste un unico trattamento efficace in assoluto. La ricerca scientifica e la pratica clinica hanno dimostrato l'importanza dell'assistenza continua per il trattamento della dipendenza, con una varietà di approcci integrati nelle comunità diurne e residenziali.

Le nuove scoperte scientifiche nel campo delle neuroimmagini offrono numerose opportunità anche in ambito clinico, per la prevenzione e la cura della tossicodipendenza: l'opportunità di migliorare la diagnosi, di monitorare la progressione di un'eventuale alterazione cerebrale e valutare l'efficacia di nuove terapie farmacologiche e comportamentali.



## Bibliografia

- Altrichter S, Kulcsar Z, Jagersberg M, Federspiel A, Viallon M, Schaller K, Rufenacht DA, Lovblad KO. 2009. Arterial spin labeling shows cortical collateral flow in the endovascular treatment of vasospasm after post-traumatic subarachnoid hemorrhage. *J Neuroradiol.* 36:158-161.
- Altrichter S, Pendse N, Wissmeyer M, Jagersberg M, Federspiel A, Viallon M, Seeck M, Lovblad KO. 2009. Arterial spin-labeling demonstrates ictal cortical hyperperfusion in epilepsy secondary to hemimegalencephaly. *J Neuroradiol.* 36:303-305.
- Anker J.J., Zlebnik N.E., Navin S.F., Carroll M.E. Responding during signaled availability and nonavailability of iv cocaine and food in rats: age and sex differences, *Psychopharmacology*, published on line 08 February 2011.
- Bandettini PA, Wong EC, Hinks RS, Tikofsky RS, Hyde JS. 1992. Time course EPI of human brain function during task activation. *Magn Reson Med.* 25:390-397.
- Barrós-Loscertales, A., et al., Reduced striatal volume in cocaine-dependent patients, *NeuroImage* (2011).
- Biswal, B., Yetkin, F.Z., Haughton, V.M. & Hyde, J.S. (1995) Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn. Reson. Med.*, 34, 537-541.
- Breiter, H.C., Gollub, R.L., Weisskoff, R.M., Kennedy, D.N., Makris, N., Berke, J.D., Goodman, J.M., Kantor, H.L., Gastfriend, D.R., Riorden, J.P., Mathew, R.T., Rosen, B.R. & Hyman, S.E. (1997) Acute effects of cocaine on human brain activity and emotion. *Neuron*, 19, 591-611.
- Calamante F, Thomas DL, Pell GS, Wiersma J, Turner R. 1999. Measuring cerebral blood flow using magnetic resonance imaging techniques. *J Cereb Blood Flow Metab.* 19:701-735.
- Ciccocioppo Roberto et al. Neuropeptide S facilitates cue-induced relapse to cocaine seeking through activation of the hypothalamic hypocretin system. *PNAS*. Published online before print October 25, 2010.
- Camprodon Joan Albert, Martínez-Raga José, Alonso-Alonso Miguel, Mei-Chiung Shih Alvaro Pascual-Leone One session of high frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) to the right prefrontal cortex transiently reduces cocaine craving. *Drug Alcohol Depend* 86(1):91-4 (2007).
- Cohen, Peter (2004), The social and health consequences of cocaine use. An introduction. Presentation held at the Nationale Designerdrogen- und Kokainkonferenz, 3-4 June, 2004, Kursaal Bern, Bundesamt für Gesundheit, Bern, Switzerland.
- Dai W, Garcia D, de Bazelaire C, Alsop DC. 2008. Continuous flow-driven inversion for arterial spin labeling using pulsed radio frequency and gradient fields. *Magn Reson Med.* 60:1488-1497.
- Detre JA, Leigh JS, Williams DS, Koretsky AP. 1992. Perfusion imaging. *Magn Reson Med.* 23:37-45.
- Dunning JP, Parvaz Ma, Hajcak G, et al. Motivated attention to cocaine and emotional cues in abstinent and current cocaine users – an ERP study. *European Journal of Neuroscience*, Apr 2011, 33(7).
- Fregni F, Liguori P., Fecteau S., Nietsche MA., Pascual-Leone A., Boggio PS. (2008a). Cortical stimulation of the frontal cortex with transcranial direct stimulation reduces cue-provoked smoking craving: a randomized, sham-controlled study. *J.Clin.Psychiatry* 69 (1), 32-40.
- Gollub, R.L., Breiter, H.C., Kantor, H., Kennedy, D., Gastfriend, D., Mathew, R.T., Makris, N., Guimaraes, A., Riorden, J., Campbell, T., Foley, M., Hyman, S.E., Rosen, B. & Weisskoff, R. (1998) Cocaine decreases cortical cerebral blood flow but does not obscure regional activation in functional magnetic resonance imaging in human subjects. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 18, 724-734.
- Gu, H., Salmeron, B.J., Ross, T.J., Geng, X., Zhan, W., Stein, E.A. & Yang, Y. (2010) Mesocorticolimbic circuits are impaired in chronic cocaine users as demonstrated by resting-state functional connectivity. *Neuroimage*, 53, 593-601.
- Federspiel A, Muller TJ, Horn H, Kiefer C, Strik WK. 2006. Comparison of spatial and temporal pattern for fMRI obtained with BOLD and arterial spin labeling. *J Neural Transm.* 113:1403-1415.
- Hallett M (2007) Transcranial magnetic stimulation: a primer. *Neuron* 55:187-199.
- Hanlon CA, Wesley MJ, Stapleton JR, Laurienti PJ, Porrino LJ. The association between frontal-striatal connectivity and sensorimotor control in cocaine users. *Drug Alcohol Depend.* 2011 Jun 1;115(3):240-3.
- Hanlon, C.A., Wesley, M.J., Stapleton, J.R., Laurienti, P.J. & Porrino, L.J. (2010) The association between frontal-striatal connectivity and sensorimotor control in cocaine users. *Drug Alcohol Depend.*, 115, 240-243.
- Hauf M, Wiest R, Nirkko A, Strozzi S, Federspiel A. 2009. Dissociation of epileptic and inflammatory activity in Rasmussen Encephalitis. *Epilepsy Res.* 83:265-268.
- Homan P, Kindler J, Federspiel A, Flury R, Hubl D, Hauf M, Dierks T. 2011. Muting the voice: a case of arterial spin labeling-monitored transcranial direct current stimulation treatment of auditory verbal hallucinations. *Am J Psychiatry.* 168:853-854.
- Horn H, Federspiel A, Wirth M, Muller TJ, Wiest R, Wang JJ, Strik W. 2009. Structural and metabolic changes in language areas linked to formal thought disorder. *Br J Psychiatry.* 194:130-138.
- Jann K, Koenig T, Dierks T, Boesch C, Federspiel A. 2010. Association of individual resting state EEG alpha frequency and cerebral blood flow. *Neuroimage.* 51:365-372.
- Ke Y, Streeter CC, Nassar LE, Sarid-Segal O, Hennen J, Yurgelun-Todd DA, Awad LA, Rendall MJ, Gruber SA, Nason A, Mudrick MJ, Blank SR, Meyer AA, Knapp C, Ciraulo DA, Renshaw PF. Frontal lobe GABA levels in cocaine dependence: a two-dimensional, J-resolved magnetic resonance spectroscopy study. *Psychiatry Res.* 2004 Apr 30;130(3):283-93.
- Koob, G.F. (2009) Neurobiological substrates for the dark side of compulsivity in addiction. *Neuropharmacology*, 56(Suppl 1), 18-31.
- 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 Mar;31(3):644-50.
- Kufahl, P.R., Li, Z., Risinger, R.C., Rainey, C.J., Wu, G., Bloom, A.S. & Li, S.J. (2005) Neural responses to acute cocaine administration in the human brain detected by fMRI. *Neuroimage*, 28, 904-914.
- Licata SC, Renshaw PF. Neurochemistry of drug action: insights from proton magnetic resonance spectroscopic imaging and their relevance to addiction. *Ann N Y Acad Sci.* 2010 Feb;1187:148-71.

31. Luo, F., Schmidt, K.F., Fox, G.B. & Ferris, C.F. (2009) Differential responses in CBF and CBV to cocaine as measured by fMRI: implications for pharmacological MRI signals derived oxygen metabolism assessment. *J. Psychiatr. Res.*, 43, 1018–1024.
32. Lovblad KO, Altrichter S, Viallon M, Sztajzel R, Delavelle J, Vargas MI, El-Koussy M, Federspiel A, Sekoranj L. 2008. Neuro-imaging of cerebral ischemic stroke. *J Neuroradiol.* 35:197-209.
33. Luh WM, Wong EC, Bandettini PA, Hyde JS. 1999. QUIPSS II with thin-slice T11 periodic saturation: a method for improving accuracy of quantitative perfusion imaging using pulsed arterial spin labeling. *Magn Reson Med.* 41:1246-1254.
34. Mintun MA, Raickel ME, Martin WRW, Herscovitch P. Brain oxygen utilization measured with O-15 radiotracers and position emission tomography. *Journal Nuclear Medicine* 25, 177-187.
35. Ogawa S, Lee TM, Nayak AS, Glynn P. 1990. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. *Magn Reson Med.* 14:68-78.
36. Politi E., Fauci E., Santoro A., Smeraldi E. Daily sessions of transcranial magnetic stimulation to the left pre-frontal cortex gradually reduce cocaine craving. *The American journal on addictions/American Academy of Psychiatrists in Alcoholism and Addictions*, Vol. 17, No. 4. (g 2008), pp. 345-346.
37. Prisciandaro JJ, McRae-Clark AL, Moran-Santa Maria MM, Hartwell KJ, Brady KT. Psychoticism and neuroticism predict cocaine dependence and future cocaine use via different mechanisms. *Drug Alcohol Depend.* 2011 Jul 1;116(1-3):80-5.
38. Pendse N, Wissmeyer M, Altrichter S, Vargas M, Delavelle J, Viallon M, Federspiel A, Seeck M, Schaller K, Lovblad KO. 2010. Interictal arterial spin-labeling MRI perfusion in intractable epilepsy. *J Neuroradiol.* 37:60-63.
39. Roberts DA, Detre JA, Bolinger L, Insko EK, Leigh JS, Jr. 1994. Quantitative magnetic resonance imaging of human brain perfusion at 1.5 T using steady-state inversion of arterial water. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 91:33-37.
40. Rossi S, Rossini PM (2004) TMS in cognitive plasticity and the potential for rehabilitation. *Trends Cogn Sci* 8:273–279
41. Singh A., Khaja A., Alpert MA., Cocaine and aortic dissection, *Vascular Medicine*, 2010 April, vol.15 - n.2, pp.127-133.
42. Stippich C., Rapps N., Dreyhaupt J. Localizing and lateralizing language in patients with brain tumors: feasibility of routine preoperative functional MR imaging in 81 consecutive patients. *Radiology* 2007; 243: 828-836.
43. Sunaert S. Presurgical planning for tumors resectioning. *Journal Magnetic Resonance Imaging* 2006; 23: 887-905.
44. Tucker KA, Potenza MN, Beauvais JE, Browndyke JN, Gottschalk PC, Kosten TR. Perfusion abnormalities and decision making in cocaine dependence. *Biol Psychiatry.* 2004 Oct 1;56(7):527-30.
45. Viallon M, Altrichter S, Pereira VM, Nguyen D, Sekoranj L, Federspiel A, Kulcsar Z, Sztajzel R, Ouared R, Bonvin C, Pfeuffer J, Lovblad KO. 2010. Combined use of pulsed arterial spin-labeling and susceptibility-weighted imaging in stroke at 3T. *Eur Neurol.* 64:286-296.
46. Walther S, Federspiel A, Horn H, Razavi N, Wiest R, Dierks T, Strik W, Muller TJ. 2011. Resting state cerebral blood flow and objective motor activity reveal basal ganglia dysfunction in schizophrenia. *Psychiatry Res.* 192:117-124.
47. Wang Z, Faith M, Patterson F, Tang K, Kerrin K, Wileyto EP, Detre JA, Lerman C. 2007. Neural substrates of abstinence-induced cigarette cravings in chronic smokers. *J Neurosci.* 27:14035-14040.
48. Wissmeyer M, Altrichter S, Pereira VM, Viallon M, Federspiel A, Seeck M, Schaller K, Lovblad KO. 2010. Arterial spin-labeling MRI perfusion in tuberous sclerosis: correlation with PET. *J Neuroradiol.* 37:127-130.
49. Wong EC, Buxton RB, Frank LR. 1999. Quantitative perfusion imaging using arterial spin labeling. *Neuroimaging Clin N Am.* 9:333-342.
50. Wu WC, Fernandez-Seara M, Detre JA, Wehrli FW, Wang J. 2007. A theoretical and experimental investigation of the tagging efficiency of pseudocontinuous arterial spin labeling. *Magn Reson Med.* 58:1020-1027.
51. Volkow, N.D., Fowler, J.S., Wang, G.J. & Swanson, J.M. (2004) Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. *Mol. Psychiatry*, 9, 557–569.
52. Zhijia Yuan, Zhongchi Luo, Nora D. Volkow, Yingtian Pan, Congwu Du. Imaging separation of neuronal from vascular effects of cocaine on rat cortical brain in vivo. *NeuroImage* 54 (2011) 1130–1139.



## Sezione 1

---

## CANNABIS





## 2.1.1 Esposizione prenatale alla cannabis: gli effetti sul cervello

Catia Seri<sup>1</sup>, Elisa Bellamoli<sup>2</sup>, Franco Alessandrini<sup>3</sup>, Giada Zoccatelli<sup>3</sup>, Giovanni Serpelloni<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Sistema Nazionale di Allerta Precoce e Risposta Rapida sulle Droghe, Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, Roma

<sup>2</sup> Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona

<sup>3</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

<sup>4</sup> Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, Roma

### 1. Esposizione intrauterina alla cannabis

La cannabis e i suoi derivati sono sostanze assunte dai giovani in numerosi paesi nel mondo. Tra i consumatori molto spesso sono incluse anche giovani donne in età fertile che potenzialmente potrebbero essere in stato di gravidanza. Purtroppo, come riportato da vari studi (Fried PA & Smith AM, 2001), nei Paesi occidentali la cannabis risulta essere tra le droghe illecite più abusate dalle donne in gravidanza, con conseguente esposizione prenatale del feto a tali sostanze. L'esposizione del feto alla cannabis espone il cervello del nascituro, in fase di sviluppo, a gravi danni fisiologici e neurologici e le cui conseguenze possono protrarsi per tutta la vita (Downer EJ & Campbell VA 2010, Trezza , et al. 2008; Fernandez-Ruiz J et al., 2000; 3. Day NL et al., 1994; Fried PA & Watkinson B, 1990, 1992, 2000; 2001; Fried PA et al., 1992, 1998, 2003; Goldschmidt L et al., 2000, 2004, 2008; Richardson GA et al., 1995, 2002).

Inoltre, la nocività e la pericolosità dell'esposizione alla cannabis vengono aggravate dal fatto che, sempre più frequentemente, sul mercato illecito vengono immessi sia prodotti a base di particolari specie di cannabis, con percentuali di principio attivo (delta-9-tetraidrocannabinolo o THC) anche 10 volte superiore rispetto alla cannabis tradizionale, sia miscele vegetali contenenti cannabinoidi sintetici molto più potenti del THC. Questi prodotti hanno effetti neurotossici così potenti da costituire un rischio elevato di danni al Sistema Nervoso Centrale (SNC). Nelle donne in gravidanza questo rischio si ripercuote drammaticamente sulla salute del nascituro.

Nell'uomo, è noto che il sistema endocannabinoide ricopre un ruolo cruciale nello sviluppo del SNC perché modula le decisioni sulla sorte delle cellule nei progenitori neurali e influenza la migrazione, la sopravvivenza, e la differenziazione dei neuroni (Harcany T et al., 2008). Inoltre, esiste una forte relazione mesocorticolimbica tra lo sviluppo del sistema endocannabinoide ed i sistemi neuronali rilevanti per l'umore, la cognizione, la ricompensa ed il comportamento finalizzato ad uno scopo. Nel cervello di un feto umano, infatti, a metà della gestazione i recettori cannabinoidi sono espressi prevalentemente nelle popolazioni di cellule mesocorticolimbiche ed il sistema degli endocannabinoidi è parte integrante della formazione di vie di proiezione e circuiti locali interneurali con le strutture mesocorticolimbiche.

Una review di Jutras-Aswad e colleghi (2009) ha esaminato le conseguenze neurobiologiche dell'esposizione alla cannabis durante la gravidanza e il primo periodo dopo la nascita. Il tema è stato affrontato prendendo in considerazione l'impatto che la cannabis ha sullo sviluppo dei sistemi di neurotrasmettitori rilevanti per i disturbi psichiatrici e la sua asso-

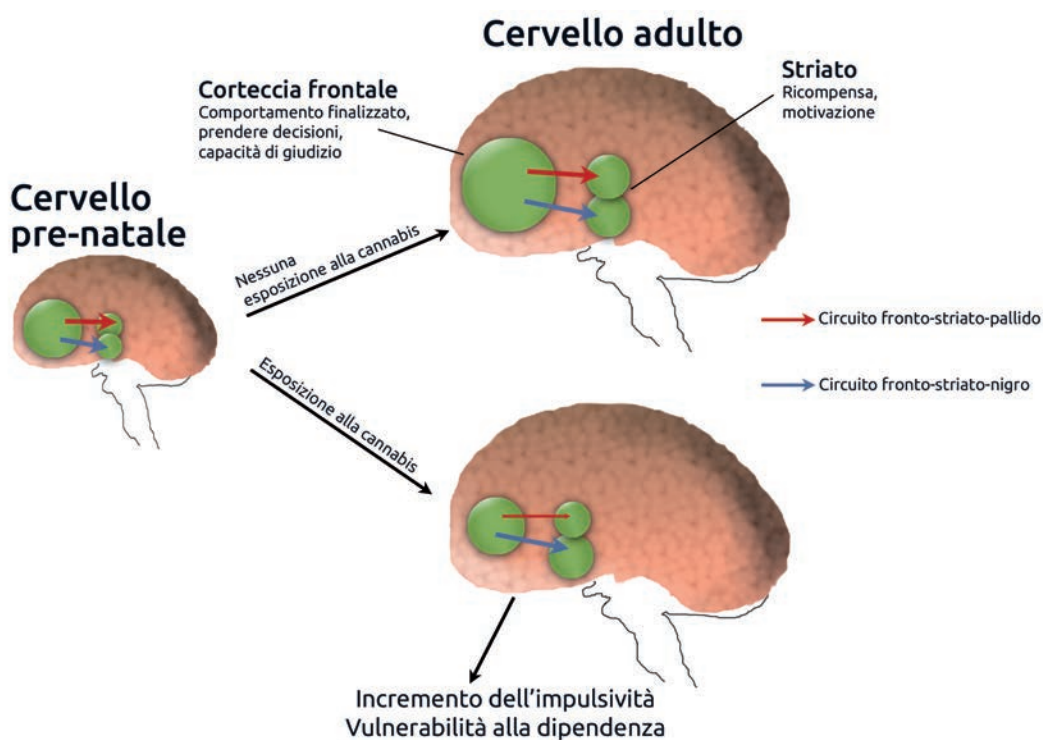
[Introduzione](#)

[Il sistema endocannabinoide](#)

ciazione con questi disturbi nel corso della vita. Gli autori sostengono che l'identificazione degli individui a rischio di disturbi psichiatrici potrebbe essere agevolata dallo studio dell'esposizione intrauterina alla cannabis associato allo studio delle mutazioni genetiche dei sistemi neurali, che hanno forti relazioni con le funzioni degli endocannabinoidi, come la dopamina, gli oppioidi endogeni, il glutammato, ed il GABA. Per esempio, varie perturbazioni neuronali a livello dei circuiti dello striato pallido (proencefaline ed il recettore D2 della dopamina), evidenti nel cervello di un feto umano, possono essere alla base di comportamenti impulsivi e di altri disturbi che si manifestano negli adulti esposti all'uso di cannabis durante la vita intrauterina.

Si suppone, infine, che l'esposizione fetale alla cannabis alteri lo sviluppo della corteccia prefrontale e del circuito fronto-striato-pallido, che sottostanno al controllo inibitorio (Jutras-Aswad D et al., 2009) (Figura 1).

Figura 1 - Diagramma concettuale che mostra gli effetti ipotizzati dell'esposizione prenatale alla cannabis sull'organizzazione funzionale delle vie frontostriate e le conseguenze comportamentali associate. Si ipotizza che l'esposizione del feto alla cannabis alteri lo sviluppo della corteccia prefrontale e del circuito fronto-striato-pallido, che sottostanno al controllo inibitorio. Fonte: Jutras-Aswad D et al., 2009.



Espressione genica  
dell'mRNA per  
i recettori CB1  
nell'area limbica del  
cervello fetale

La cannabis agisce attivando i recettori cannabinoidi di tipo 1 (CB1) espressi prevalentemente nel Sistema Nervoso Centrale, recettori che sono presenti nel cervello già a livello dello sviluppo fetale. Il primo studio sull'espressione dell'mRNA per i recettori CB1 nel cervello fetale umano (approssimativamente alla ventesima settimana di sviluppo) è stato effettuato con studi di autoradiografia da Wang e collaboratori (Wang X et al, 2003). Dai risultati è emerso che il cervello fetale mostrava delle aree distinte di espressione dell'mRNA per i CB1. L'osservazione più sorprendente è stata la presenza di una intensa espressione genica nella regione ippocampale cornus ammonis e nel gruppo dei nuclei della base del complesso amiloide. Nell'insieme, l'elevata espressione genica nell'ippocampo e nell'amigdala fetale indicano che queste strutture limbiche possono essere le più vulnerabili ad una

esposizione prenatale alla cannabis. Ogni alterazione dei circuiti neuronali corticali e delle aree limbiche durante la fase di sviluppo fetale può risentire dunque degli effetti negativi dell'esposizione prenatale alla cannabis con possibili ripercussioni sulle funzioni cognitive dei nati (Wang X et al, 2003).

Uno studio con fMRI (Smith AM et al., 2004) ha esaminato le alterazioni del funzionamento neuronale in 31 adolescenti di età compresa tra i 18 e i 22 anni (età media 21 anni) esposti in fase prenatale alla marijuana, assunta dalle rispettive madri durante la gravidanza. Lo studio ha seguito lo sviluppo cognitivo dei ragazzi fino ai venti anni. Sono stati raccolti dati sul tipo di esposizione prenatale alla droga, sulle abilità cognitive e comportamentali sviluppate dall'infanzia all'età adulta e l'eventuale utilizzo di droghe tra i ragazzi. La fMRI ha studiato la performance cognitiva dei partecipanti durante l'esecuzione di un compito Go/NoGo, necessario all'attivazione dei circuiti mentali coinvolti nell'inibizione dei comportamenti (Figura 2). L'esposizione prenatale alla droga ha comportato un'aumentata attività neurale nella corteccia prefrontale bilaterale e nella corteccia pre-motoria destra durante il compito (Figura 3). Vi è stata inoltre un'attenuata risposta neuronale nel cervelletto sinistro. E' stata infine osservata una relazione positiva tra l'attività nella corteccia prefrontale bilaterale e la quantità di marijuana a cui i soggetti erano stati esposti in fase prenatale.

Effetti sulla  
corteccia  
prefrontale  
e alterazioni  
dell'inibizione  
comportamentale

Figura 2 - Le linee blu evidenziano le aree cerebrali dove il decremento dell'attività neurale era correlato significativamente all'aumento dell'esposizione prenatale alla marijuana nell'analisi del cervello durante un compito Go/NoGo. Fonte: Smith AM et al., 2004.

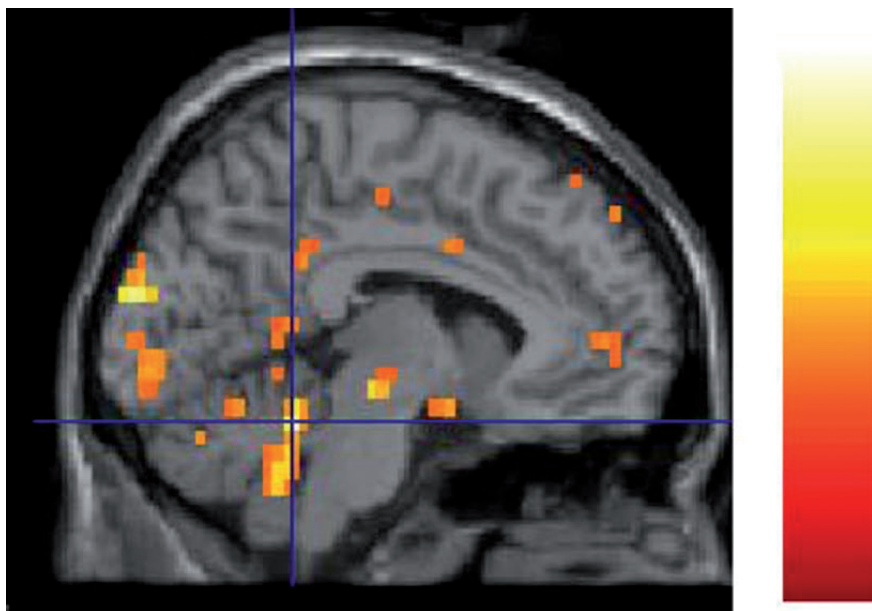
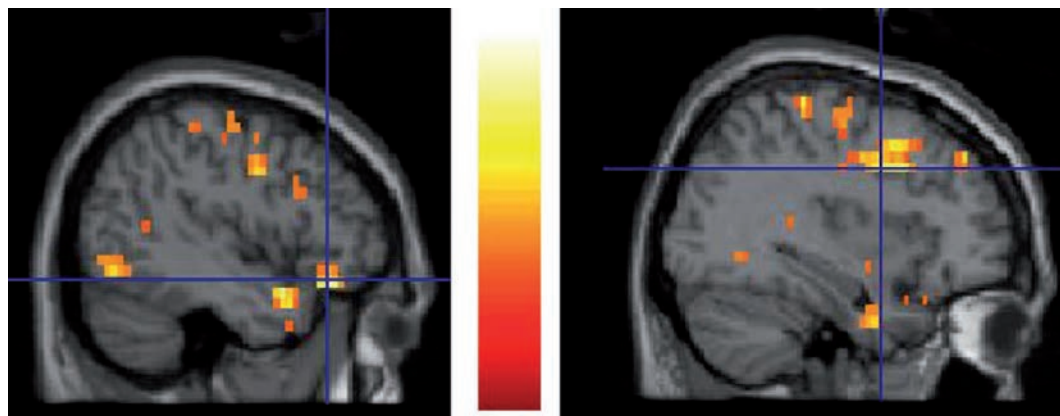


Figura 3 - Le linee blu evidenziano le aree cerebrali identificate come ROI (regioni di interesse) dove l'aumento dell'attività neurale era correlato significativamente all'aumento dell'esposizione prenatale alla marijuana durante il compito assegnato. (A) Voxel significativamente più attivato nel giro frontale orbitale laterale sinistro secondo le coordinate  $x,y,z = -45,30,5$  (valore di  $Z = 4.25$ ; dimensioni del cluster = 15 voxels e  $P = 0.045$ ). (B) Voxel significativamente più attivato nella corteccia pre-motoria destra secondo le coordinate  $x,y,z = 36,9,45$  (valore di  $Z = 3.01$ ; dimensioni del cluster = 21 voxels e  $P = 0.022$ ). I riferimenti spaziali dei voxel sono stati espressi secondo le coordinate standard di riferimento MNI. Fonte: Smith AM et al., 2004.



I risultati di fMRI dimostrano che l'esposizione prenatale alla marijuana, spesso accompagnata anche da esposizione a nicotina, caffeina e alcol, è collegata a modifiche nell'attività neurale durante le risposte d'inibizione comportamentale, visibili fino dalla giovane età. Gli autori ipotizzano che l'esposizione prenatale alla marijuana comporterebbe un ritardo nello sviluppo delle interconnessioni neuronali della corteccia prefrontale, possibilmente dovuto ad una modifica dei siti dei recettori cannabinoidi fetali (Smith AM et al., 2004).

Effetti sulla  
corteccia  
prefrontale e  
alterazioni della  
memoria di lavoro  
visuo-spaziale

Successivamente, su un analogo campione di soggetti, Smith e collaboratori (2006) hanno dimostrato con un altro studio in fMRI che l'esposizione prenatale alla marijuana ha conseguenze neurofisiologiche che perdurano nel tempo fino all'età adulta. Gli autori hanno osservato effetti significativi nella corteccia prefrontale, nel giro ippocampale, nel putamen, nel cuneo e nel cervelletto durante l'esecuzione di un compito per valutare le funzioni esecutive (visuospatial 2-back task). Risultati relativi alla PFC hanno mostrato che all'aumentare della quantità di marijuana a cui erano stati esposti i feti si osservava una significativa diminuzione dell'attività neurale nelle aree cerebrali di destra (Figura 4) e un aumento significativo dell'attività in quelle di sinistra (Figura 5).

Figura 4 - Le linee blu e le linee circolari bianche evidenziano le aree cerebrali dove è stata osservata, durante l'esperimento, una relazione negativa significativa tra l'attività neurale e l'aumento dell'esposizione prenatale alla marijuana nel confronto '2-Back minus Match to Centre'. Tutte le regioni sono nella parte destra del cervello A. corteccia premotoria, B. ippocampo, C. corteccia visiva, D. corteccia prefrontale mediale. Fonte: Smith AM et al., 2006.

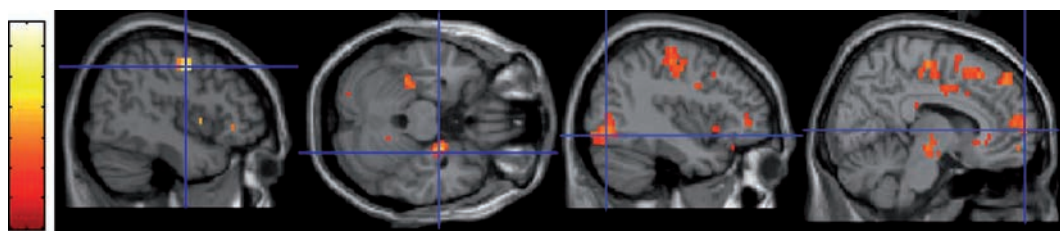
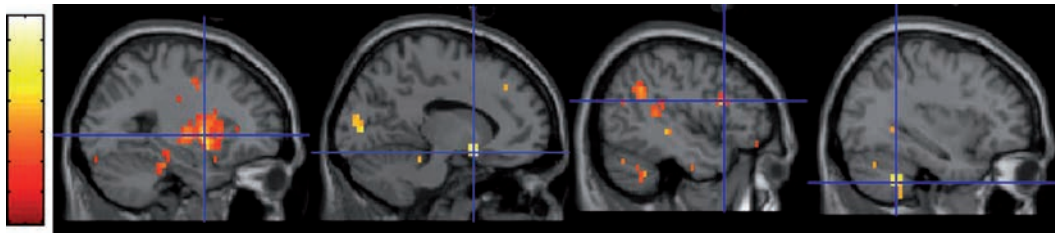


Figura 5 - Le linee blu e le linee circolari bianche evidenziano le aree cerebrali dove è stata osservata, durante l'esperimento, una relazione positiva tra l'attività neuronale e l'aumento dell'esposizione prenatale alla marijuana. Tutte le regioni sono nella parte sinistra del cervello A. putamen, B. giro frontale mediale, C. corteccia prefrontale dorsolaterale, D. cervelletto. Fonte: Smith AM et al., 2006.



I risultati dello studio sono consistenti con l'ipotesi secondo la quale l'esposizione prenatale alla marijuana interessa il sistema neuronale coinvolto nelle funzioni esecutive, specificatamente a livello della corteccia prefrontale (Smith AM et al., 2006).

## 2. Conclusioni

In letteratura sono ancora scarsi i dati che documentano le variazioni strutturali cerebrali in seguito all'esposizione prenatale alla cannabis, anche a causa delle difficoltà tecniche e della complessità di studio del cervello fetale. Tuttavia, diversi studi clinici hanno evidenziato come, l'esposizione prenatale alla cannabis, conduca a deficit delle funzioni esecutive in aree cerebrali complesse portando i ricercatori ad ipotizzare che gli effetti dell'esposizione sulle funzioni cognitive superiori siano mediati preferenzialmente attraverso la corteccia prefrontale e le sue connessioni con altre parti del cervello (Derauf C et al. 2009 e riferimenti bibliografici in esso contenuti).

I dati disponibili, da studi epidemiologici sull'uomo e da studi su animali rispetto all'esposizione prenatale alla cannabis, sottolineano l'importanza del sistema di segnalazione endocannabinoide nel modulare lo sviluppo cerebrale. Una migliore comprensione del funzionamento di questo sistema potrà contribuire a definire i cambiamenti molecolari che sottendono alle variazioni neurocomportamentali osservate nei neonati sottoposti ad esposizione prenatale alla cannabis e l'impatto sul neurosviluppo delle interferenze prodotte dalle droghe sul sistema endocannabinoide durante la gravidanza (Chia-Shan Wu et al., 2011).



## Bibliografia

1. Chia-Shan Wu, Christopher P Jew & Hui-Chen Lu. Lasting impacts of prenatal cannabis exposure and the role of endogenous cannabinoids in the developing brain. *Future Neurol.* (2011) 6(4), 459–480.
2. Downer EJ, Campbell VA. Phytocannabinoids, CNS cells and development: A dead issue? *Drug Alcohol Rev* 2010;29:91–98.
3. Day NL, Richardson GA, Goldschmidt L, Robles N, Taylor PM, Stoffer DS, et al. (1994). Effect of prenatal marijuana exposure on the cognitive development of offspring at age three. *Neurotoxicology and Teratology*, 16, 169-175.
4. Derauf C, Minal Kekatpure M, Neyzi N, Lester B, Kosofsky B. Neuroimaging of Children Following Prenatal Drug Exposure. *Semin Cell Dev Biol.* 2009 June ; 20(4): 441–454. doi:10.1016/j.semcdb.2009.03.001.
5. Fernandez-Ruiz J, Berrendero F, Hernandez ML, Ramos JA. (2000) The endogenous cannabinoid system and brain development. *Trends Neurosci.* 23, 14-20.
6. Fried, PA., Smith, A.M. (2001). A literature review of the consequences of prenatal exposure: an emerging theme of a deficiency in aspects of executive function. *Neurotoxicology and Teratology*; 23, 1-11.
7. Fried PA., Watkinson B. (2001) Differential effects on facets of attention in adolescents prenatally exposed to cigarettes and marijuana. *Neurotoxicol Teratol* 23:421-430.
8. Fried PA, Watkinson, B. (1990). 36- and 48-month neurobehavioural follow-up of children prenatally exposed to marijuana, cigarettes, and alcohol. *Journal of Developmental and Behavioural Pediatrics*, 11, 49-58.
9. Fried PA, Watkinson B. (2000). Visuo-perceptual functioning differs in 9- to 12-year-olds prenatally exposed to cigarettes and marijuana. *Neurotoxicology and Teratology*, 22, 11- 20.
10. Fried PA, Watkinson B, & Gray R. (1992). A follow-up study of attentional behaviour in 6-year-old children exposed prenatally to marijuana, cigarettes, and alcohol. *Neurotoxicology and Teratology*, 14, 299-311.
11. Fried PA, Watkinson B, & Gray R. (1998). Differential effects on cognitive functioning in 9- to 12-year-olds prenatally exposed to cigarettes and marijuana. *Neurotoxicology and Teratology*, 20, 293-306.
12. Fried PA, Watkinson B, Gray R (2003) Differential effects on cognitive functioning in 13- to 16-year-olds prenatally exposed to cigarettes and marijuana. *Neurotoxicol Teratol* 25:427–436.
13. Goldschmidt L, Day NL, & Richardson GA. (2000). Effects of prenatal marijuana exposure on child behaviour problems at age 10. *Neurotoxicology and Teratology*, 22, 325-336.
14. Goldschmidt L, Richardson GA, Cornelius MD, & Day NL. (2004). Prenatal marijuana and alcohol exposure and academic achievement at age 10. *Neurotoxicology and Teratology*, 26, 521-532.
15. Goldschmidt L, Richardson GA, Willford J, & Day NL. (2008). Prenatal marijuana exposure and intelligence test performance at age 6. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 47, 254-263.
16. Harkany T, Keimpema E, Barabás K, Mulder J. Endocannabinoid functions controlling neuronal specification during brain development. *Mol Cell Endocrinol.* 2008 Apr 16;286(1-2 Suppl 1):S84-90. Epub 2008 Mar 4.
17. Jutras-Aswad D, Di Nieri JA, Harkany T, Hurd YL. Neurobiological consequences of maternal cannabis on human fetal development and its neuropsychiatric outcome. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience.* Volume 259, Number 7 / October, 2009.
18. Richardson GA, Day NL, Goldschmidt L. (1995) Prenatal alcohol, marijuana, and tobacco use: infant mental and motor development. *Neurotoxicol Teratol* 17:479-487.
19. Richardson GA, Ryan C, Willford J, Day NL, Goldschmidt L. (2002) Prenatal alcohol and marijuana exposure. Effects on neuropsychological outcomes at 10 years. *Neurotoxicol Teratol* 24:309–320.
20. Smith, A.M., Fried, P.A., Hogan, M.J., Cameron, I. (2004). Effects of prenatal marijuana on response inhibition: An fMRI study in young adults. *Neurotoxicology and Teratology*, 26, 533-542.
21. Smith AM, Fried PA, Hogan MJ, Cameron I. (2006). Effects of prenatal marijuana on visuospatial working memory: An fMRI study in young adults. *Neurotoxicology and Teratology*, 28, 286-295.
22. Trezza V, Cuomo V, Vanderschuren LJMJ (2008) Cannabis and the developing brain: Insights from behaviour. *European Journal of Pharmacology* 585 441-452.
23. Wang X, Dow-Edwards D, Keller E, Hurd YL. Preferential limbic expression of the cannabinoid receptor mRNA in the human fetal brain. *Neuroscience.* 2003;118(3):681-94.

## 2.1.2 Gli effetti del consumo di cannabis sul cervello degli adolescenti

Elisa Bellamoli<sup>1</sup>, Franco Alessandrini<sup>2</sup>, Giada Zoccatelli<sup>2</sup>, Giovanni Serpelloni<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona

<sup>2</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

<sup>3</sup> Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri, Roma

### 1. Gli effetti del consumo di cannabis in adolescenza

Se la vita intrauterina è il primo momento in cui il cervello di una persona può essere esposto alla cannabis, il secondo momento in cui ciò può avvenire è l'adolescenza, attraverso l'uso in prima persona della sostanza.

L'uso di cannabis generalmente ha inizio durante l'adolescenza quando il cervello è ancora in fase di sviluppo (Giedd JN et al., 2004). La ricerca ha dimostrato che i consumatori di cannabis adolescenti presentano delle difficoltà cognitive, come una scarsa attenzione, una rallentata capacità di apprendimento e di memorizzazione, una ridotta velocità di elaborazione cognitiva delle informazioni (Jacobus J et al., 2009). Tali problemi neuropsicologici potrebbero avere importanti ripercussioni sulla vita quotidiana del ragazzo, con difficoltà nel raggiungimento di successi scolastici e lavorativi, nonché mancata realizzazione sociale (Porath-Waller AJ, 2009).

Jacobus e colleghi (2009) hanno pubblicato una revisione di studi sul funzionamento neuropsichico, la struttura ed il funzionamento cerebrale in relazione all'uso di marijuana in adolescenza. Le ricerche mostrano significative anomalie nel funzionamento neurologico associate al consumo di cannabis in adolescenza. Le conclusioni a cui sono giunti questi autori sono che gli adolescenti che fanno un uso cronico di marijuana tendono a mostrare compromissione nell'attenzione, nell'apprendimento, e nella velocità di processamento delle informazioni; aumento della fatica durante l'esecuzione di compiti cognitivi; compromissione negli indicatori oggettivi della qualità del sonno; leggere anomalie nella struttura cerebrale. Alcune anomalie appaiono persistere anche dopo un mese di astinenza, ma sembrano risolversi in tre mesi se l'astinenza viene mantenuta.

Le evidenze suggeriscono che gli individui che iniziano a consumare cannabis in età precoce possono essere più vulnerabili a deficit neuropsicologici duraturi rispetto ai soggetti che hanno iniziato ad usarla più tardi (Porath-Waller AJ, 2009). Ogni deficit cognitivo prodotto dall'assunzione di cannabis in adolescenza può avere implicazioni non favorevoli per il successivo funzionamento in ambito scolastico, lavorativo e sociale anche in età adulta.

Studi di neuroimmagine hanno iniziato ad indagare le conseguenze strutturali sul cervello derivanti dall'uso di cannabis, studiando il volume, la morfometria e l'integrità del cervello dei consumatori di cannabis.

Oltre agli studi sulla struttura cerebrale dei consumatori di cannabis, vi sono studi che indagano il funzionamento cerebrale di questi soggetti in stato di riposo oppure durante l'esecuzione di un compito cognitivo. Gli studi funzionali in questo settore possono indaga-

Introduzione

Anomalie nel  
funzionamento  
neurologico  
associate al  
consumo di  
cannabis in  
adolescenza

Studi di  
neuroimaging  
strutturale e  
funzionale su  
consumatori di  
cannabis

re il funzionamento cerebrale della persona in stato di intossicazione acuta dalla sostanza oppure dopo un periodo di astinenza. Esempi di entrambe le tipologie di studio vengono di seguito descritti.

## 2. Studi di neuroimaging strutturale su adolescenti consumatori di cannabis

Studi sulla  
struttura cerebrale  
e il consumo  
di cannabis in  
adolescenza

Studi di neuroimmagine hanno recentemente iniziato ad esplorare il volume, la morfometria e l'integrità del cervello anche di adolescenti che fanno uso di cannabis, focalizzandosi sui sistemi associati con la vulnerabilità ai disturbi neurocognitivi e dell'umore.

Le tecniche di Risonanza Magnetica (RM) hanno quantificato la densità dei tessuti, differenziato la composizione dei tessuti, e valutato l'organizzazione e l'integrità dei tessuti in vivo.

Un maggior volume  
della corteccia  
prefrontale nei  
consumatori di  
cannabis risulta  
dannoso

Attraverso la RM ad alta risoluzione, Medina e colleghi (Medina KL et al., 2007) hanno esaminato il volume cerebrale di un gruppo di consumatori di cannabis adolescenti (di 16-19 anni), dopo un mese di astinenza. In una delle prime analisi, è emerso che i consumatori di cannabis adolescenti ( $n=26$ , di 15-18 anni, con forte abuso alcolico aggiuntivo) non differivano in modo significativo dai gruppi di controllo sani ( $n=21$ ) nel volume ippocampale, anche se le correlazioni tra volume ippocampale e memoria verbale risultavano anomale rispetto ai soggetti di controllo. Inoltre, è stato rilevato che un incremento dell'uso di cannabis o la presenza di sintomi di dipendenza predicevano fortemente un maggiore volume dell'ippocampo sinistro. Date le difficoltà osservate in questi consumatori di cannabis adolescenti a mantenere l'attenzione e a ripetere sequenze, è stato misurato il volume della corteccia prefrontale di 16 consumatori di cannabis e di 16 soggetti sani. Sono state rilevate interazioni marginali gruppo-per-genere con la cannabis nel predire il volume della corteccia prefrontale; le femmine consumatrici di cannabis mostravano un volume della corteccia prefrontale relativamente maggiore, mentre i maschi presentavano un volume più ridotto rispetto al gruppo dello stesso genere (Medina KL et al., 2009). Anche lo status del gruppo e il volume totale della corteccia prefrontale contribuivano a predire il funzionamento esecutivo. Nei consumatori di cannabis (in particolare nelle ragazze), un maggior volume della corteccia prefrontale era associato ad un minor funzionamento esecutivo a fronte di un minore volume nei gruppi di controllo. Ciò indica che un maggior volume della corteccia prefrontale nei consumatori di cannabis risulta dannoso.

Anomalie della  
struttura cerebrale  
di adolescenti  
consumatori di  
cannabis con  
disturbo bipolare

Simili anomalie della struttura cerebrale sono state riscontrate in adolescenti con disturbo bipolare. Jarvis e colleghi (2008) hanno riferito che adolescenti bipolari con disturbo da uso di cannabis presentano una riduzione del volume di materia grigia nel giro fusiforme sinistro, un aumento della materia grigia nel caudato destro, nel giro precentrale, nel giro occipitale e fusiforme mediale destro, e nel verme del cervelletto, rispetto agli adolescenti bipolari senza uso passato di cannabis.

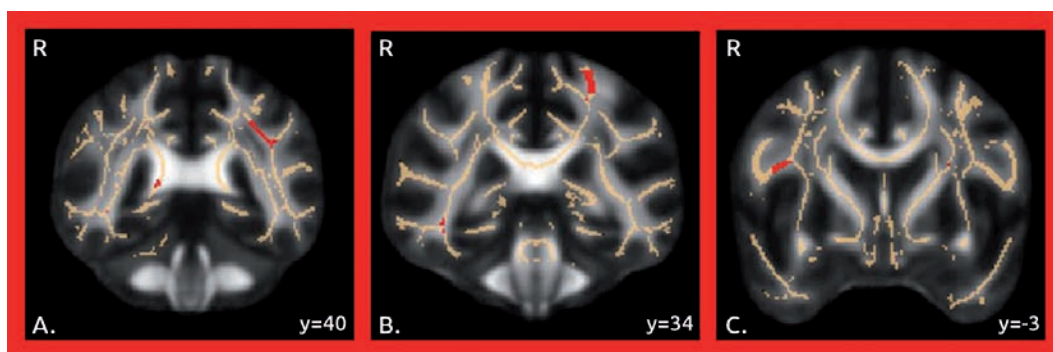
Riduzione  
dell'integrità della  
materia bianca

In adolescenti consumatori di cannabis sono state osservate, inoltre, lievi anomalie della materia bianca. Medina e colleghi (Medina KL et al., 2007B) hanno riscontrato anche che un aumento dei sintomi depressivi nei consumatori di cannabis era associato ad un ridotto volume della materia bianca: questo suggerisce che il consumo di cannabis durante l'ado-

lescenza potrebbe compromettere le connessioni della materia bianca tra le aree coinvolte nella regolazione dell'umore. Gli stessi autori hanno recentemente confermato che la qualità della materia bianca è inferiore nei consumatori di cannabis adolescenti ( $n=36$ , 16-19 anni) rispetto ai pari sani ( $n=36$ ) (Bava S et al., 2009). Attraverso l'imaging del tensore di diffusione (DTI), una tecnica di RM che quantifica i cambiamenti microstrutturali della materia bianca, è stato riscontrato che i consumatori di cannabis presentano anisotropia frazionaria notevolmente inferiore (FA) in 10 aree cerebrali, in particolare nel circuito parietale frontale che comprende le fibre dell'area frontale inferiore, lo splenio del corpo calloso, il giro postcentrale e il fascicolo longitudinale superiore sinistro (Figura 1). Un aumento dell'anisotropia frazionaria è stato rilevato inoltre nel lobo occipitale, nella capsula interna e nella porzione arcuata del fascicolo longitudinale superiore, indicando un possibile sovrareclutamento di queste aree cerebrali nei consumatori di cannabis, rispetto ai gruppi di controllo. Con un'eccezione (DeLisi LE et al., 2006), questi risultati sono coerenti con altri studi che dimostrano una riduzione dell'integrità della materia bianca nei giovani adulti consumatori di cannabis che hanno iniziato l'uso durante l'adolescenza (Arnone D et al., 2008; Ashtari M et al., 2009).

In uno studio di follow-up sulle relazioni tra l'integrità della materia bianca e il funzionamento cognitivo, Bava e colleghi (2009) hanno evidenziato che una minore FA nelle aree temporali era associata a scarsa attenzione, memoria di lavoro e velocità di elaborazione. Una minore qualità della materia bianca nelle aree anteriori era associata ad una minor capacità di memoria verbale. Al contrario, una maggiore FA nelle aree cerebrali occipitali è stata correlata ad un miglioramento della memoria di lavoro e della sequenza visuo-motoria.

**Figura 1 - Anisotropia frazionaria (FA) in 36 consumatori di cannabis adolescenti e 36 soggetti sani. Le aree rosse indicano minore FA nei consumatori di cannabis rispetto ai gruppi di controllo ( $p<.01$ ) (A= fascicolo longitudinale superiore sinistro, B= giro postcentrale, C= giro frontale inferiore), indicando una ridotta qualità della materia bianca associata all'uso di cannabis. Fonte: Bava S et al., 2009.**

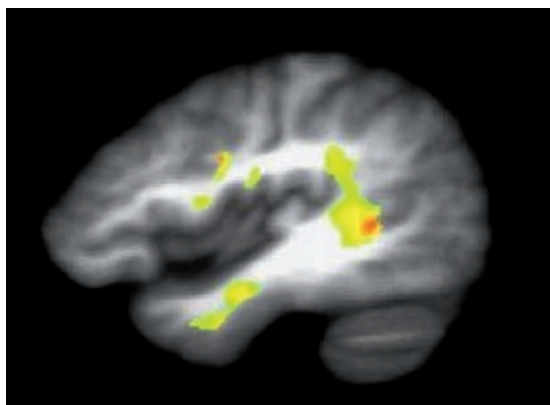


La ricerca di Ashtari e collaboratori (2009) ha utilizzato le scansioni di Diffusion Tensor Imaging (DTI) che misura i movimenti delle molecole d'acqua attraverso i tessuti cerebrali. I pattern anomali di diffusione dell'acqua che sono stati trovati in adolescenti e giovani adulti con una storia di uso frequente di cannabis suggeriscono un danno o un arresto dello sviluppo della guaina mielinica che circonda gli assoni dei neuroni. Sono state evidenziate, quindi anomalie cerebrali diffuse che coinvolgono in particolare aree ancora in fase

Alterazione della  
traiettorie di  
maturazione del  
cervello

di sviluppo durante gli anni dell'adolescenza, soprattutto la connessione fronto-temporale tramite il fascicolo arcuato. Sebbene i dati di questo studio debbano essere ritenuti preliminari perché le anomalie potrebbero riflettere l'uso combinato di marijuana e alcol, le conclusioni della ricerca supportano l'ipotesi che l'uso cronico di cannabis durante l'adolescenza possa effettivamente alterare la normale traiettoria della maturazione cerebrale (Figura 2).

Figura 2 - In questa immagine di RM sono evidenziate in giallo le aree che presentano le anomalie più significative nel cervello di un fumatore cronico di marijuana. Fonte: Ashtari M et al., 2009.



Anomalie dello  
sfoltimento  
della materia  
grigia e della  
mielinizzazione  
della materia  
bianca

Complessivamente, gli studi sopra descritti indicano che l'uso di cannabis durante l'adolescenza può portare ad anomalie dello sfoltimento della materia grigia e della mielinizzazione della materia bianca nelle aree cerebrali associate alla velocità psicomotoria, al funzionamento esecutivo, al controllo emotivo, all'apprendimento e alla memoria, anche dopo un mese di astinenza monitorata (Medina K. et al., 2011).

Alterazioni della  
connettività  
assonale: uno  
studio australiano

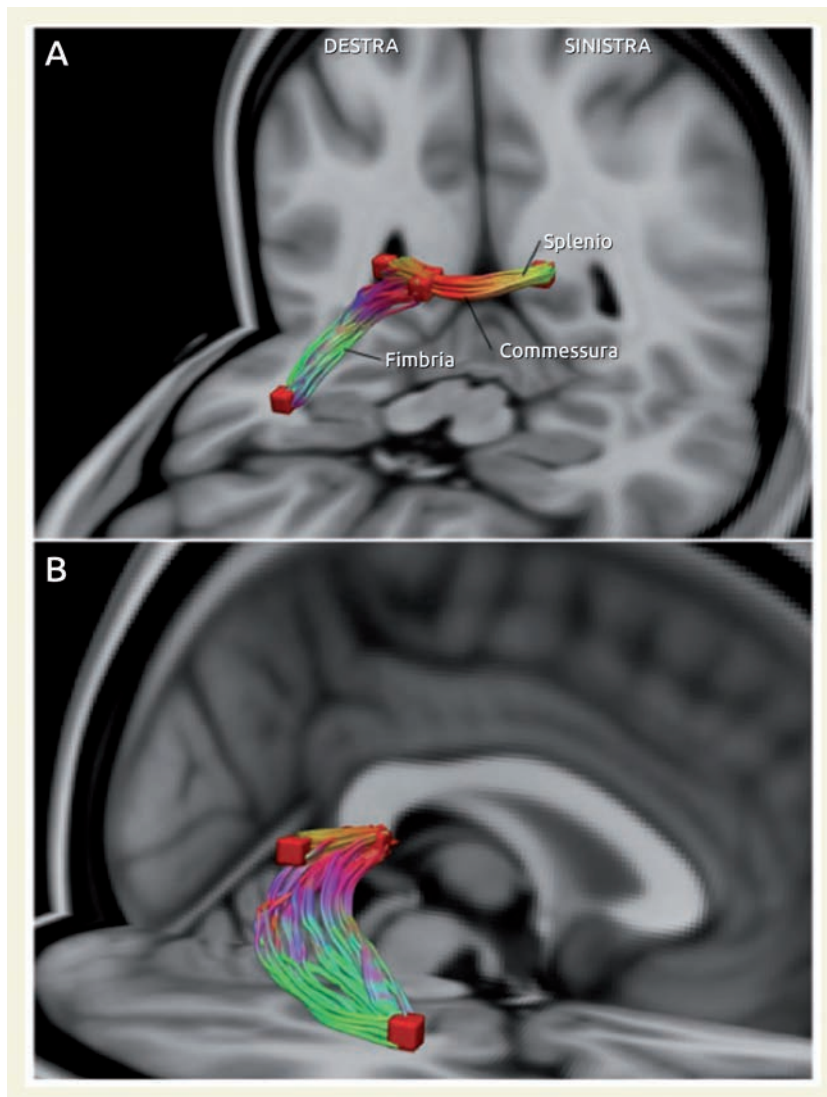
L'uso prolungato di cannabis in adolescenza o nella prima età adulta risulta pericoloso per la materia bianca del cervello, lo ribadiscono Zalesky e colleghi (2012) del Melbourne Neuropsychiatry Centre in uno studio recentemente pubblicato.

I ricercatori hanno condotto uno studio che ha indagato per la prima volta l'impatto del consumo di cannabis specificatamente sulla connettività delle fibre assionali. Lo scopo di questa ricerca era esaminare le vie delle fibre assionali dell'intero cervello per studiare i cambiamenti microstrutturali connessi all'uso prolungato di cannabis e per verificare se l'età di inizio d'uso regolare di cannabis fosse associata alla gravità di queste alterazioni.

Allo studio hanno partecipato 59 consumatori di cannabis (età media 33,4 anni, deviazione standard 10,9) con una lunga storia di uso della sostanza e 33 soggetti di controllo (età media 31,5 anni, d.s. 12,0). Tutti i consumatori di cannabis avevano fatto uso regolare della sostanza durante l'adolescenza o la prima età adulta, periodi in cui è ancora in corso lo sviluppo della materia bianca e i recettori dei cannabinoidi risultano abbondanti proprio nelle vie della sostanza bianca. I soggetti sono stati sottoposti a RM encefalica ed esaminati con immagini di RM pesate in diffusione e tecniche di mappatura della connettività cerebrale. Dai dati è emerso che la connettività assonale risulta compromessa nella fimbria destra dell'ippocampo (fornice), nello splenio del corpo calloso e nelle fibre commissurali che si estendono fino al precuneo. In queste vie, l'analisi della diffusività radiale e assiale, che rappresentano una misura dell'integrità microstrutturale, ha evidenziato un'associazione tra la gravità delle alterazioni riscontrate e l'età in cui ha avuto inizio l'uso regolare di can-

nabis (Figura 3). I risultati, quindi, indicano che l'uso precoce e prolungato di cannabis è particolarmente pericoloso per la materia bianca del cervello in fase di sviluppo, portando ad alterazioni della connettività cerebrale che, secondo gli autori, potrebbero essere alla base dei deficit cognitivi e della vulnerabilità ai disturbi psicotici, depressivi e d'ansia dei consumatori di cannabis.

Figura 3 - La fimbria destra dell'ippocampo, la commissura ippocampale e lo splenio comprendevano meno fibre nei consumatori di cannabis rispetto ai non utilizzatori ( $P < 0.05$ , corretto). I voxel collegati tra loro da meno fibre sono rappresentati in colore rosso e le corrispondenti fibre tramite cui sono interconnessi sono colorate in modo tale che: sinistra-destra è rosso, superiore-inferiore è blu e anteriore-posteriore è di colore verde. A e B mostrano diversi punti di vista obliqui. Lo splenio e la commissura ippocampale sono oscurate in B dalla fetta sagittale dell'immagine sottostante. Fonte: Zalesky A et al., 2012.



Lopez-Larson e collaboratori (2011) hanno recentemente pubblicato uno dei primi studi che ha confrontato lo spessore corticale di un gruppo di adolescenti con uso abituale di cannabis rispetto ad un gruppo di non consumatori della sostanza. Essi hanno utilizzato tecniche di RM basate sulla ricostruzione della superficie corticale per confrontare i 18 ragazzi dei due gruppi. I dati, acquisiti mediante una RM, hanno fornito immagini tridimensionali dell'encefalo per la ricostruzione corticale e la segmentazione volumetrica delle

Alterazione dello  
spessore corticale



diverse regioni cerebrali. L'analisi statistica tra i due gruppi si è basata sul confronto delle mappe corticali, considerando come variabili covariate il genere e l'età dei partecipanti.

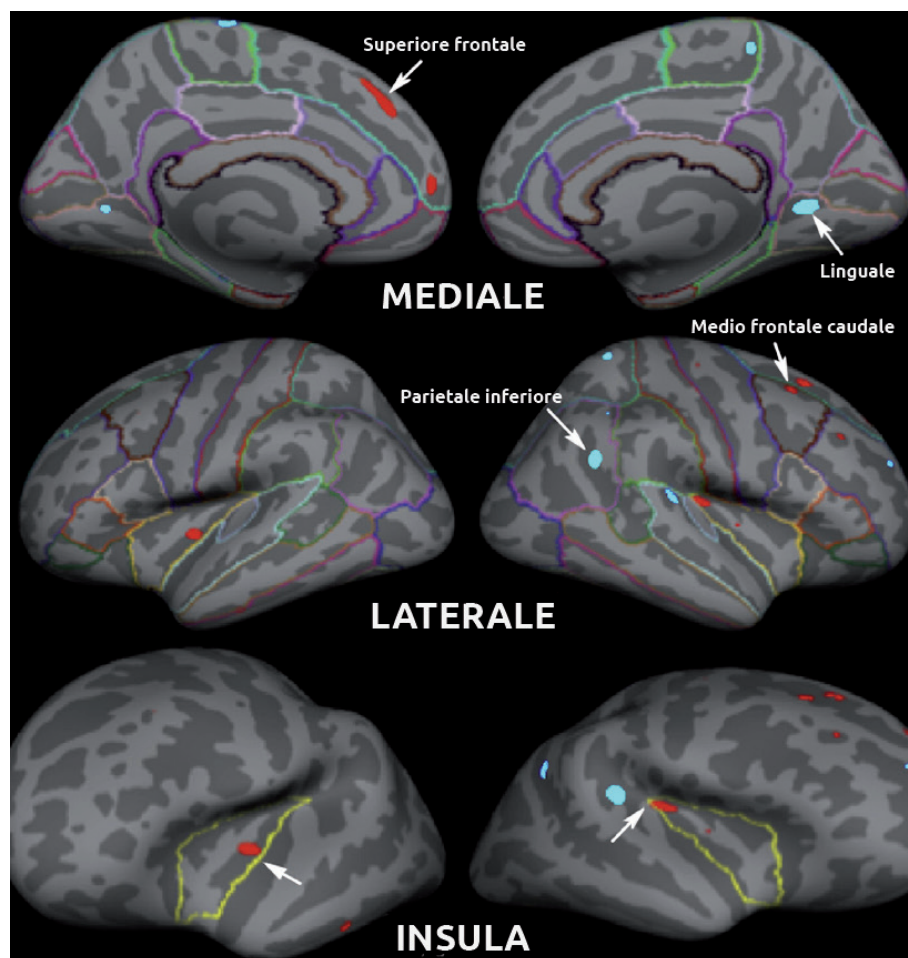
Diciotto adolescenti con uso pesante di cannabis e altrettanti soggetti di controllo non consumatori simili per età sono stati sottoposti a una RM.

Rispetto ai non consumatori, i ragazzi che consumavano marijuana mostravano un ridotto spessore corticale nella corteccia frontale media caudale destra, nell'insula bilaterale e in entrambe le corteccie frontali superiori.

I consumatori di marijuana presentavano inoltre un maggior spessore corticale nel giro linguale bilaterale, nella corteccia temporale superiore destra, nella regione parietale inferiore destra e paracentrale sinistra (Figura 4).

L'aumentato spessore corticale in queste regioni corrisponde a un ritardato o mancato sfoltimento delle sinapsi neuronali meno forti, processo che normalmente avviene durante la crescita cerebrale per consolidamento delle sinapsi più utilizzate. È stato inoltre riscontrato che l'età d'inizio d'uso cronico della sostanza correla con l'alterato sviluppo della sostanza grigia cerebrale nel lobo frontale. I risultati di questo studio sono coerenti con quelli di studi precedenti che hanno documentato anomalie nelle regioni prefrontale e insulare. Questo studio inoltre ha individuato una riduzione dello spessore nell'insula: questa alterazione potrebbe rappresentare un marcatore biologico di aumentato rischio futuro per lo sviluppo di dipendenza da stupefacenti.

**Figura 4 - Differenze nello spessore corticale dell'intero cervello tra adolescenti consumatori di cannabis e controlli sani. Il colore rosso indica che lo spessore corticale è maggiore nei controlli rispetto ai consumatori di cannabis e l'azzurro indica che lo spessore corticale è maggiore nei consumatori di cannabis rispetto ai controlli. Fonte: Lopez-Larson MP et al., 2011.**





Uno studio ha esaminato l'influenza dell'uso di cannabis sulla "girificazione" del cervello, ossia la formazione dei giri e dei solchi cerebrali (Mata I et al., 2010). Il team di ricercatori spagnoli ha studiato la morfologia del cervello in un campione di 30 ragazzi utilizzando la RM per determinare se gli adolescenti e i giovani che ne fanno uso abbiano anomalie cerebrali. I ricercatori hanno confrontato la conformazione strutturale dell'encefalo di questi ragazzi con un gruppo di 44 volontari sani.

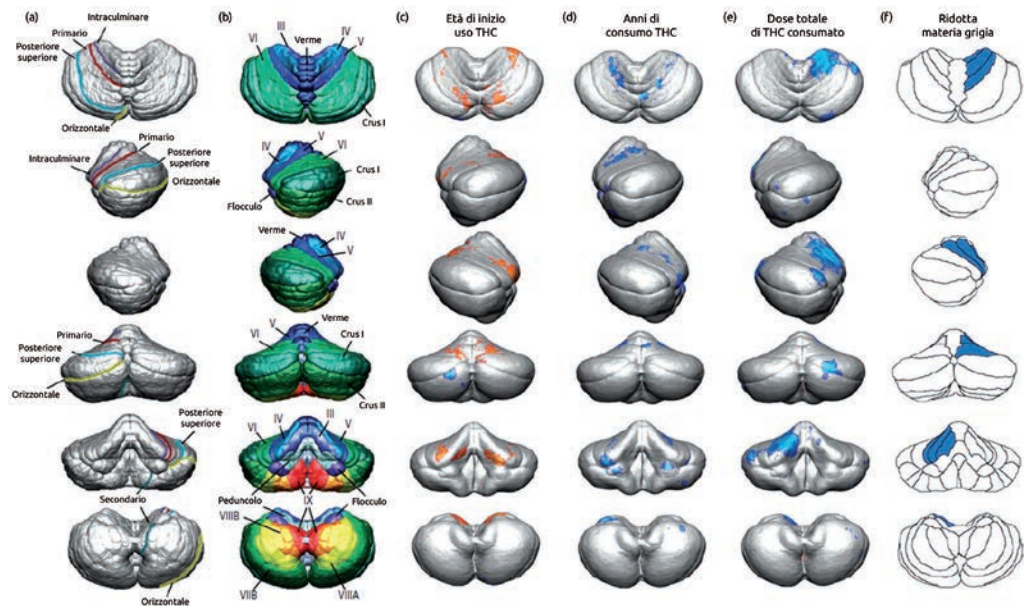
Rallentata  
girificazione  
cerebrale

I risultati ottenuti dalla ricostruzione della morfologia cerebrale hanno dimostrato che assumendo cannabis, si assiste ad una riduzione dei solchi cerebrali in entrambi gli emisferi, oltre ad uno spessore corticale più sottile nel lobo frontale destro. La formazione dei giri e dei solchi del cervello rappresenta un normale processo evolutivo, mentre l'uso di cannabis in giovane età sembra portare ad importanti alterazioni morfologiche e asimmetrie emisferiche, che si manifestano attraverso una rallentata girificazione cerebrale. Un cervello sotto l'effetto della cannabis sembra infatti rallentare o distruggere il suo normale processo evolutivo, mostrando una morfologia prematura, simile per struttura ad un cervello di età inferiore rispetto alla propria tappa evolutiva.

In letteratura sono riportati casi di attacchi di panico, disforia, deliri a contenuto persecutorio e paranoia con il consumo di cannabis. Negli adolescenti, l'uso di cannabis può inoltre favorire l'insorgenza di disturbi psichici o slatentizzare vere e proprie sindromi psichiatriche. L'analisi volumetrica con Risonanza Magnetica (RM) delle strutture cerebrali di persone con diagnosi d'esordio schizofrenico (First-Episode Schizophrenia, FES) mostra una perdita di tessuto nervoso nella zona mediana del cervelletto nota come "verme cerebellare". Il cervelletto è deputato al controllo di diverse funzioni, come il linguaggio, il movimento, e di alcune emozioni come la paura e il piacere. È una struttura ricca di recettori cannabinoidi di tipo 1 (CB1), responsabili della diversificazione neuronale durante il processo di maturazione cerebrale. Il principio attivo della cannabis, legandosi ai recettori CB1, interferisce e modifica il processo di diversificazione neuronale durante l'adolescenza, favorendo una patologia cerebellare con sintomi simili alla schizofrenia. Cohen e collaboratori (2011) hanno studiato con RM e analisi dello spessore corticale la sostanza grigia e bianca del cervelletto di ragazzi con diagnosi di FES e uso o non uso di cannabis. È stato fatto un confronto con ragazzi senza disturbi psichiatrici ma con uso di cannabis. Questi ultimi hanno mostrato una riduzione della sostanza grigia nel lobulo cerebellare destro dipendente dalla dose di cannabis assunta, oltre alla tendenza ad una profonda riduzione neuronale nel terzo lobulo con una più giovane età di inizio d'uso della sostanza. Il volume cerebellare totale risultava tuttavia vicino alla normalità. Al contrario, i soggetti con FES hanno mostrato una riduzione globale del volume cerebellare più marcatamente nel verme, nei peduncoli e nei lobuli rispetto ai controlli. Lo studio evidenzia gli effetti neuropatologici della cannabis correlati alla precoce età d'inizio d'uso della sostanza sul cervelletto, in particolare nei soggetti senza diagnosi di FES ma consumatori di cannabis (Figura 5).

Riduzione globale  
del volume  
cerebellare nei  
soggetti con  
schizofrenia

Figura 5 - Dall'alto al basso, vista del cervelletto da sinistra, destra, posteriore, anteriore, e inferiore. Le correlazioni delle mappe di materia grigia cerebellare con (c) l'età di inizio d'uso di cannabis, (d) gli anni d'uso, e (e) l'esposizione cumulativa alla sostanza nel corso della vita. (f) Gli effetti della storia d'uso di THC in età giovanile sono stati statisticamente confermati per i lobuli destri III, IV, e V. Fonte: Cohen M et al., 2011.



Aumento del volume del cervelletto e peggior funzionamento esecutivo

Anche Medina e colleghi (2010) hanno studiato la morfometria del cervelletto di adolescenti consumatori cronici di marijuana.

I partecipanti allo studio sono stati 16 consumatori di cannabis e altrettanti soggetti di controllo di età compresa tra i 16 e i 18 anni. I consumatori di cannabis sono stati sottoposti ad una RM e a dei test neuropsicologici dopo un mese di astinenza dalla sostanza. Dall'analisi delle immagini di RM pesate in T1 è stato riscontrato un incremento del volume del verme del cervelletto posteriore inferiore nei consumatori di cannabis rispetto ai gruppi di controllo. Tale incremento era associato ad un minor funzionamento esecutivo.

### 3. Studi di neuroimaging funzionale su adolescenti consumatori di cannabis

Alterazioni del funzionamento cerebrale

Oltre agli studi sulla struttura cerebrale dei consumatori di cannabis, vi sono studi che indagano il funzionamento cerebrale di questi soggetti in stato di riposo oppure durante l'esecuzione di un compito cognitivo. Gli studi funzionali in questo settore possono indagare il funzionamento cerebrale della persona in stato di intossicazione acuta dalla sostanza oppure dopo un periodo di astinenza.

In alcuni studi che utilizzano anche le neuroimmagini su adolescenti (Padula CB et al. 2007; Tapert SF et al., 2008), non emergono differenze significative in termini di prestazione a compiti specifici. Tuttavia, emergono differenze significative a livello di attivazione cerebrale tra consumatori di cannabis e soggetti di controllo.

Alcuni studi hanno utilizzato la fMRI per identificare i pattern di attività cerebrale che sono specifici dell'uso di cannabis in adolescenza. In generale, i ricercatori hanno confrontato il segnale del livello dipendente dall'ossigenazione del sangue (BOLD) tra gli adolescenti

che hanno fatto uso di cannabis e quello del gruppo di controllo durante la prestazione in identici compiti cognitivi. Per accertarsi che le differenze tra i due gruppi fossero verosimilmente attribuibili all'uso cronico della sostanza e non semplicemente agli effetti acuti, ai partecipanti di questi studi è stato richiesto di mantenere l'astinenza da tutte le droghe illecite per almeno 28 giorni prima di sottoporsi alla RM.

Giovani adulti che iniziano a far uso di cannabis precocemente (prima dei 16 anni) mostrano più accentuate anomalie del funzionamento cerebrale rispetto a coloro che iniziano più tardi (Becker B et al., 2010).

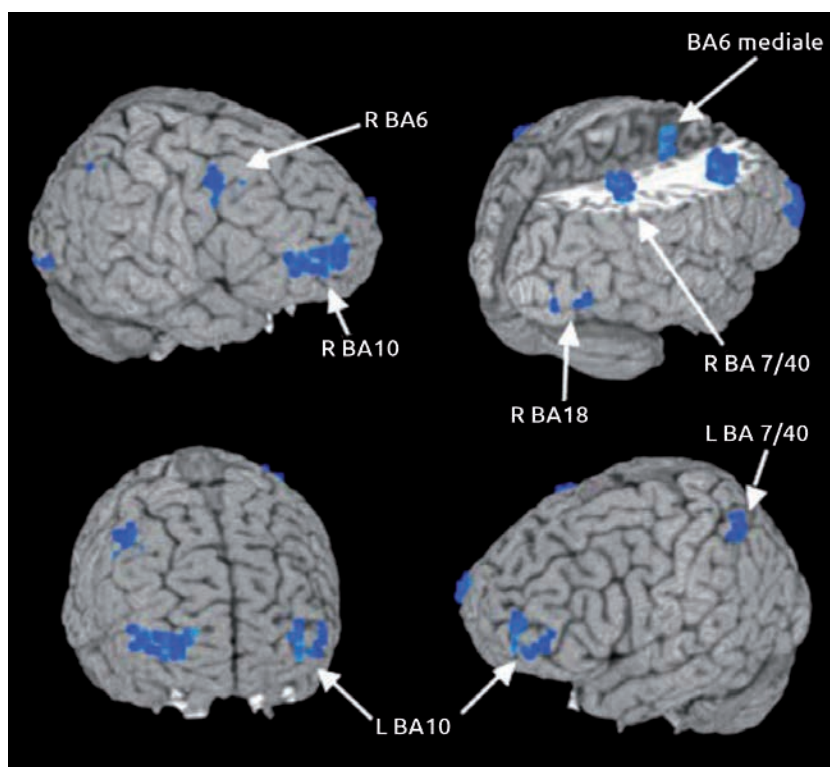
Gli studi su adolescenti con fMRI hanno rilevato anomalie della corteccia prefrontale, dei pattern di attivazione limbica e parietale nei consumatori di cannabis, rispetto ai gruppi di controllo, in risposta all'inibizione cognitiva (Tapert SF et al., 2007), della memoria verbale di lavoro (Jacobsen LK et al., 2007; Jager G et al., 2010), e della memoria spaziale di lavoro (Schweinsburg AD et al., 2005, 2008). Jager e colleghi (2010) hanno riportato che adolescenti consumatori (di 13-19 anni) mostrano un'eccessiva attivazione delle aree della corteccia prefrontale durante un compito di memoria verbale, specialmente durante la codifica iniziale, rispetto ai soggetti di controllo non consumatori.

Eccessiva  
attivazione  
della corteccia  
prefrontale  
durante un compito  
di memoria verbale

Tapert e colleghi (2007) hanno evidenziato una risposta cerebrale anomala ad un compito di controllo inibitorio (go/no-go) con fMRI. Sono stati confrontati un gruppo di consumatori di cannabis dopo 28 giorni di astinenza monitorata e un gruppo di coetanei non consumatori della sostanza. Gli adolescenti che hanno fatto uso di marijuana hanno mostrato una maggiore attivazione, in particolare nella corteccia prefrontale dorsolaterale e in quella parietale. Tenuto conto dell'uso di alcol, i consumatori di cannabis mostravano un aumento dell'attivazione della corteccia prefrontale dorsolaterale destra, frontale mediale bilaterale, parietale e occipitale durante compiti di controllo inibitorio, rispetto al gruppo di controllo, e avevano un rendimento più scarso (Figura 6). Questo risultato suggerisce che gli adolescenti che hanno fatto uso di cannabis necessitano di risorse neurali aggiuntive rispetto ai coetanei per mantenere adeguato il controllo esecutivo durante la risposta inibitoria. Quindi, anche dopo 28 giorni di astinenza, essi fanno maggior fatica nel procesamiento cerebrale durante questo tipo di compito.

Difficoltà di  
processamento  
nei consumatori di  
cannabis

Figura 6 - Differenze nel segnale BOLD durante un compito di inibizione del comportamento tra adolescenti consumatori di marijuana dopo 28 giorni di astinenza monitorata e adolescenti non consumatori. Le aree in blu mostrano dove i consumatori hanno avuto una risposta BOLD più significativa durante le prove inibitorie (no-go) rispetto ai non consumatori. Fonte: Tapert SF et al., 2007.

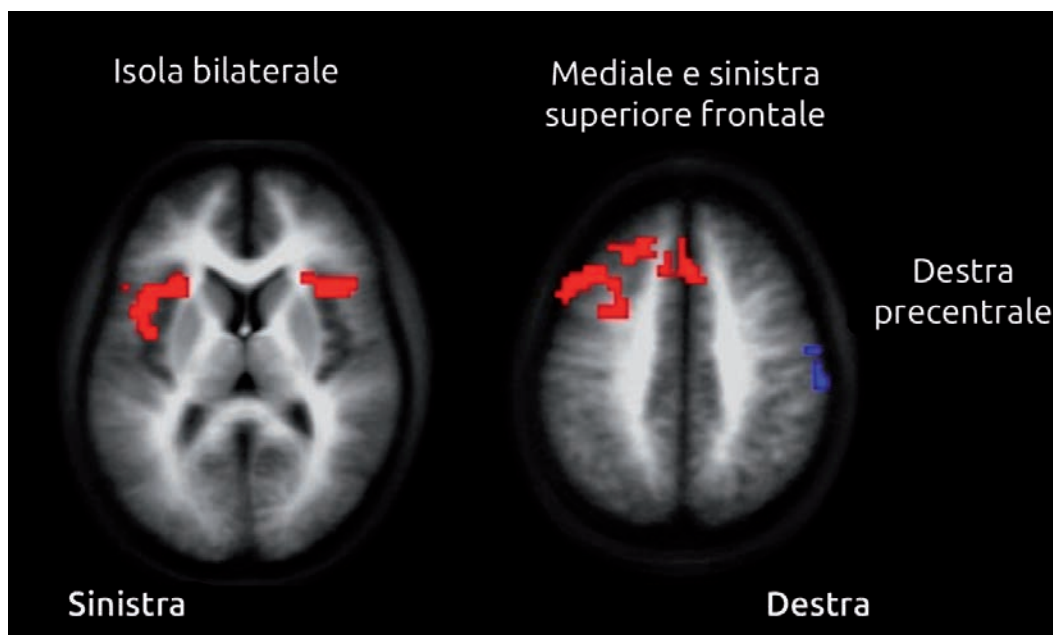


Schweinsburg e i suoi collaboratori (2008), invece, hanno visto che gli adolescenti con una storia di uso più intenso di cannabis (ad esempio, con inizio precoce, per un periodo più lungo, per più volte nel corso della vita) hanno mostrato una minor attivazione rispetto a coloro che ne hanno fatto un uso più moderato o hanno iniziato più recentemente. Questo suggerisce che l'esposizione alla cannabis può avere differenti effetti sul cervello durante lo sviluppo adolescenziale, e che i meccanismi compensatori possono vacillare dopo un uso eccessivo della sostanza. L'uso di cannabis in adolescenza è stato anche associato ad un aumento dell'attivazione nelle aree parietali, temporali superiori, ippocampali, e nel cingolato posteriore durante compiti che richiedono l'utilizzo della memoria di lavoro, e un aumento dell'attivazione frontale e parietale durante compiti di inibizione della risposta (Schweinsburg AD et al. 2008a).

I consumatori di cannabis adolescenti con un uso passato più ridotto mostravano maggior attivazione sia nei compiti di inibizione cognitiva che di memoria di lavoro spaziale (Tapert SF et al., 2007; Schweinsburg AD et al., 2008), mentre gli adolescenti con un uso passato più intenso (esordio precoce, durata maggiore, maggiore uso nel corso della vita) avevano un'attivazione minore di quella dei soggetti di controllo. Questo risultato indica che durante l'esposizione iniziale alla cannabis il cervello potrebbe compensare efficacemente attraverso il reclutamento di risorse neuronali aggiuntive, sebbene questa compensazione potrebbe non funzionare in caso di aumentata esposizione negli anni dell'adolescenza. Rimane ancora poco chiaro se sia possibile un recupero del funzionamento cerebrale dopo un'astinenza protratta.

Nello studio di Schweinsburg (2010), consumatori di cannabis recenti hanno mostrato un'aumentata attivazione in aree cerebrali quali l'insula e la corteccia prefrontale rispetto ai consumatori astinenti (Figura 7). Queste evidenze preliminari indicano che l'insufficiente risposta cerebrale osservata nei consumatori di cannabis adolescenti potrebbe cominciare a normalizzarsi dopo alcune settimane di astinenza (Medina KL & Tapert SF, 2011).

Figura 7 - L'insufficiente risposta cerebrale ad un compito di memoria di lavoro spaziale sembra normalizzarsi dopo alcune settimane di astinenza nei consumatori di cannabis adolescenti. Consumatori recenti mostrano un aumento dell'attivazione BOLD (rosso) nelle aree cerebrali dell'insula e della corteccia prefrontale rispetto ai consumatori astinenti. Fonte: Schweinsburg AD et al., 2010.



Evidenze di una riorganizzazione dei network neuronali in adolescenti con storia di uso cronico di cannabis sono state trovate nell'esecuzione di compiti che comportano l'utilizzo della working memory (memoria di lavoro) riguardante lo spazio. In entrambi i gruppi, una prestazione migliore di working memory spaziale è stata correlata con l'attivazione di un network che supporta la percezione spaziale e la memoria di lavoro, che include la corteccia prefrontale e le regioni parietali (Schweinsburg AD et al. 2008b). Tuttavia, gli adolescenti che fanno uso di cannabis hanno mostrato un modello diverso rispetto al gruppo di controllo, con un incremento dell'attivazione nel lobo parietale destro insieme ad una diminuita attivazione nella corteccia prefrontale dorsolaterale destra. Questo risultato suggerisce un indebolimento nella capacità di fare affidamento ai centri del funzionamento esecutivo ed un passaggio ai network che servono per i compiti spaziali e i processi attentivi. L'aumento dell'affidamento alle zone parietali durante l'esecuzione di compiti in cui è necessario l'impiego della memoria di lavoro riferita allo spazio è stata replicata in un'altra ricerca (Padula CB et al., 2007), e una correlazione positiva tra la performance e l'attivazione del giro temporale superiore sinistro negli adolescenti che consumano cannabis suggerisce che essi abbiano impiegato le strategie verbali per raggiungere buoni punteggi nella prestazione al compito, cosa che non si è verificata nel gruppo di controllo. Nei soggetti che consumano cannabis vi sarebbe, dunque, un'alterazione dei percorsi neurali necessari per affrontare il compito richiesto.

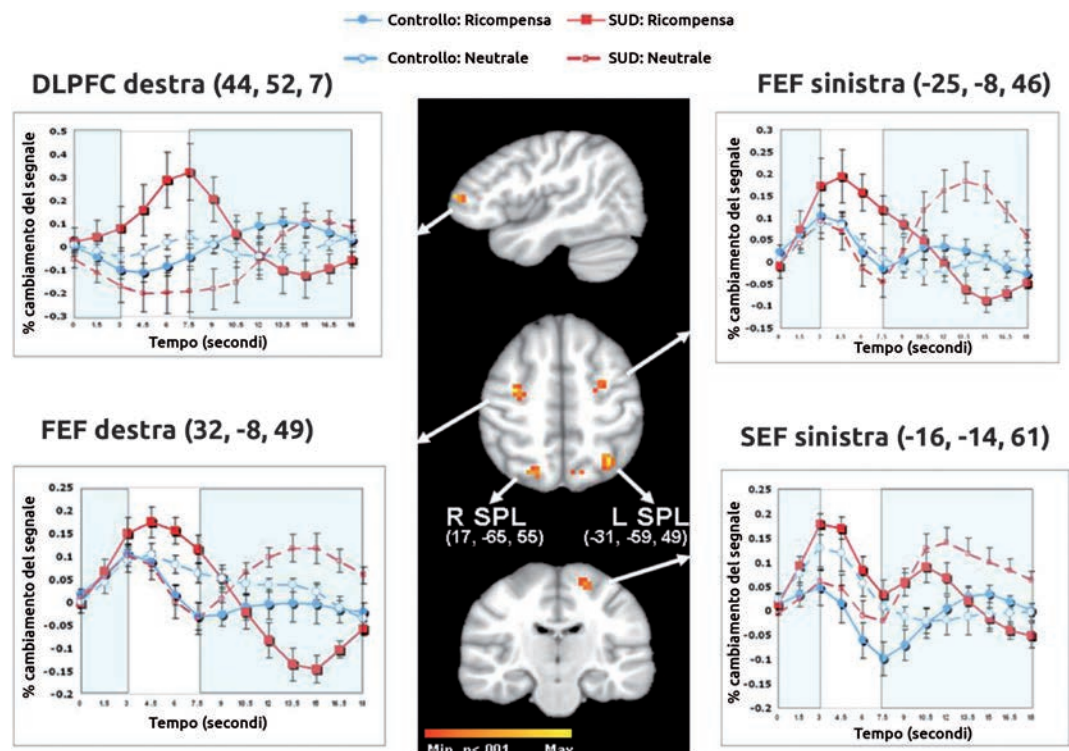
Riorganizzazione  
dei network  
neurali



Differenze  
nell'attivazione  
cerebrale durante  
la preparazione ad  
inibire una risposta

L'efficace inibizione della risposta è una componente chiave del recupero dalla dipendenza. Alcune ricerche suggeriscono che l'inibizione della risposta possa essere migliorata attraverso la contingente ricompensa. Lo studio di Chung e colleghi (2010) ha esaminato l'effetto dell'incentivo monetario sull'inibizione della risposta in adolescenti con e senza uso di cannabis utilizzando un compito di ricompensa svolto durante la fMRI. Questo compito permette di indagare come la ricompensa (incentivo monetario) potrebbe modulare il controllo inibitorio nel corso delle tre fasi del compito: presentazione dello stimolo (ricompensa o prova neutra), preparazione della risposta ed esecuzione della risposta. Gli adolescenti con disturbo da uso di cannabis nel corso della vita ( $n = 12$ ) sono stati confrontati con un gruppo di controllo. L'incentivo monetario ha facilitato il controllo inibitorio negli adolescenti che avevano usato cannabis; per i controlli sani, la differenza nel tasso di errore per le prove neutre e con ricompensa non è risultata significativa. Non sono emerse differenze significative in termini di prestazioni comportamentali tra i gruppi nelle prove neutre e di ricompensa, tuttavia, sono state trovate differenze di gruppo nell'attivazione cerebrale regionale. Durante la fase di preparazione della risposta nelle prove di ricompensa, i ragazzi consumatori di cannabis, rispetto ai controlli, hanno mostrato una maggior attivazione delle aree prefrontali e del controllo oculo-motorio, regioni del cervello che sono state associate con l'efficace inibizione della risposta (Figura 8). I risultati di questo studio, quindi, indicano differenze nell'attivazione cerebrale tra adolescenti con disturbo da uso di cannabis e soggetti di controllo mentre si preparano ad inibire una risposta prepotente nel contesto di una ricompensa, e sostengono un possibile ruolo degli incentivi nel migliorare l'inibizione della risposta tra i giovani consumatori di cannabis.

Figura 8 - Confronto tra adolescenti con disturbo da uso di sostanze e soggetti di controllo durante il periodo di preparazione: regioni di interesse selezionate e tempi associati. Fonte: Chung T et al., 2010.



## Alterazioni metaboliche

Vi sono pochi dati sugli esseri umani che documentano in vivo i cambiamenti biochimici del cervello dopo l'esposizione cronica alla marijuana. Gli studi precedenti con la spettroscopia di RM protonica hanno dimostrato una riduzione del glutammato nei gangli della base e dei livelli di N-acetilaspargato nella corteccia prefrontale dorsolaterale in adulti consumatori cronici di marijuana. Studi simili non sono stati riportati in popolazioni di adolescenti. Un recente studio di Prescott e collaboratori (2011) ha utilizzato la spettroscopia di RM protonica per determinare se ci fossero riduzioni di glutammato, N-acetilaspargato e/o concentrazioni di altri metaboliti protonici nella corteccia cingolata anteriore (ACC) di adolescenti consumatori di marijuana rispetto ai non consumatori della sostanza. 17 adolescenti che facevano uso di marijuana (età media 17,8 anni) e altrettanti soggetti di controllo (età media 16,2 anni) sono stati sottoposti ad una RM. I consumatori di marijuana presentavano una riduzione statisticamente significativa nella corteccia cingolata anteriore di glutammato, N-acetil-aspartato, creatina totale e mioinositolo. Non sono state rilevate differenze significative nella materia bianca e grigia o nel contenuto del liquido cerebrospinale tra i due gruppi. I ridotti livelli di glutammato e N-acetilaspargato nel campione di adolescenti consumatori di marijuana sono coerenti con i precedenti dati di 1H MRS sugli esseri umani, e probabilmente riflettono un'alterazione della neurotrasmissione e dell'integrità neuro-nale glutammatergica nel cingolato anteriore in questi individui. I minori livelli di creatina totale e mioinositolo osservati in questi soggetti possono suggerire rispettivamente un'alterazione dello stato energetico e del metabolismo gliale nella ACC.

Con la tecnica SPECT in cui si utilizzano isotopi ad emissione di raggi gamma (fotoni singoli), si possono condurre degli studi di flusso ematico cerebrale che consentono di visualizzare la distribuzione del tracciante radioattivo. Questa tecnica ha permesso di approfondire le conoscenze su alcune patologie come il deterioramento mentale.

## Immagini di SPECT

Le immagini vengono esaminate per simmetria e livelli di attività indicate da tonalità di colore e comparate alle immagini di cervelli di soggetti sani. L'immagine SPECT di un cervello normale rivela una distribuzione omogenea e uniforme del tracciante in tutta la corteccia cerebrale, e il cervelletto risulta l'area che mostra l'attività più intensa.

Gli esperti di solito sono allertati se si presenta una di queste tre situazioni:

- è visibile troppa attività in una certa area;
- si vede troppo poca attività in una certa area;
- si vedono aree asimmetriche di attività, che dovrebbe essere simmetrica.

Studi di casi singoli con la SPECT (Amen DG & Waugh M, 1998) suggeriscono che il consumo di marijuana causa tipicamente una diminuzione della perfusione ematica nel lobo temporale. Il danno può essere leggero o grave a seconda di quanto tempo e quanto frequentemente la persona ha usato la sostanza, quali altre sostanze ha assunto e quanto vulnerabile è il cervello del soggetto (Figure 9-12).

## Diminuzione della perfusione ematica nel lobo temporale



Figura 9 - Immagine SPECT del metabolismo cerebrale di un soggetto che non fa uso di cannabis (vista della superficie inferiore del cervello). Fonte: Amen DG & Waugh M, 1998.

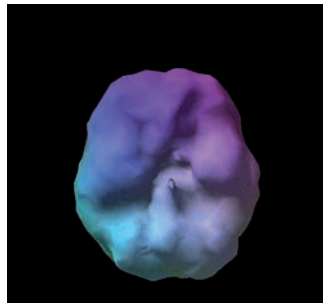


Figura 10 - Soggetto di 16 anni; 2 anni di consumo giornaliero di Cannabis (vista della superficie inferiore, diminuzione dell'attività della corteccia prefrontale e del lobo temporale). Fonte: Amen DG & Waugh M, 1998.

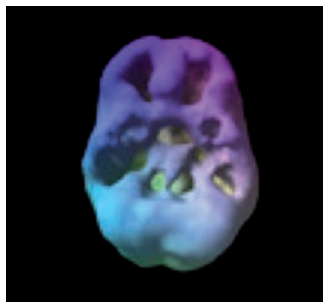
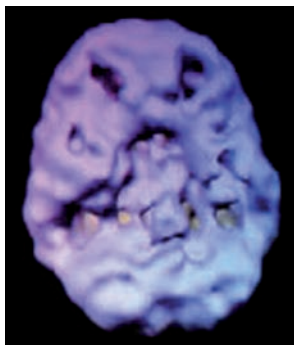


Figura 11 - Soggetto di 18 anni; 3 anni di consumo di Cannabis 4 volte alla settimana (vista della superficie inferiore, diminuzione dell'attività della corteccia prefrontale e del lobo temporale). Fonte: Amen DG & Waugh M, 1998.



Figura 12 - Soggetto di 28 anni; 10 anni di uso soprattutto nel fine settimana (vista della superficie inferiore, diminuzione dell'attività della corteccia prefrontale e del lobo temporale). Fonte: Amen DG & Waugh M, 1998.



### 3. Conclusioni

Generalmente, l'inizio d'uso della cannabis avviene durante gli anni dell'adolescenza (Degenhardt L et al., 2008). Dagli studi sugli animali e sugli umani emerge che l'adolescenza è un periodo di vulnerabilità poiché è una fase cruciale per lo sviluppo cerebrale che durante questo periodo raggiunge il suo picco. Gli adolescenti che usano cannabis regolarmente infatti presentano in genere una riduzione della velocità psicomotoria, della ripetizione sequenziale, dell'attenzione complessa, dell'inibizione cognitiva e dell'apprendimento verbale rispetto agli adolescenti astinenti. Tali difficoltà cognitive permangono anche dopo almeno un mese di astinenza, anche se vi sono evidenze che un'astinenza protratta per almeno tre mesi potrebbe portare al recupero di questi deficit. Gli studi qui presentati indicano che il consumo cronico di cannabis durante gli anni dell'adolescenza provocano anomalie strutturali della materia grigia e della materia bianca che sono correlate ai deficit cognitivi menzionati sopra. Infine, aumentano le evidenze secondo cui l'uso pesante di cannabis in età adolescenziale potrebbe compromettere l'attivazione cerebrale, causando una insufficiente attivazione neurale precoce e una diminuita attivazione con un uso continuato in età adulta. Anche se la maggioranza degli studi citati sopra hanno tenuto conto della storia familiare d'uso di sostanze ed escluso la comorbidità con disturbi psichiatrici, è ancora difficile determinare se le anomalie cerebrali e cognitive possano essere precedenti all'inizio dell'uso di cannabis. I fattori di rischio associati alla sperimentazione precoce di sostanze (quali ad esempio, scarsa inibizione cognitiva, disturbi della condotta, e storia familiare di uso di sostanze) sono essi stessi correlati a lievi anomalie cerebrali (Nigg JT et al., 2004; Tapert SF & Brown SA, 2000; Tapert SF et al., 2002). Perciò, sono necessari studi longitudinali su adolescenti prima che avvenga l'esposizione alla cannabis per verificare l'influenza dell'uso cronico di cannabis in età precoce sullo sviluppo cerebrale degli adolescenti. Queste lievi anomalie cerebrali e deficit cognitivi negli adolescenti potrebbero determinare importanti conseguenze psicologiche. Gli effetti cronici di forte consumo di cannabis sul cervello potrebbero indurre problemi cognitivi ancora più marcati negli adolescenti che fanno uso di cannabis (Cohen-Zion M et al., 2007). Questa compromissione cognitiva potrebbe determinare un minor rendimento scolastico, scelte potenzialmente rischiose, scarso controllo emotivo (Kloos A et al., 2009). Alla luce di questi aspetti, è di fondamentale importanza diffondere i risultati della ricerca a genitori, insegnanti e clinici per aiutare a prevenire il forte consumo di cannabis e ad identificare gli adolescenti a

maggior rischio di problemi neurocognitivi. Poiché gli adolescenti potrebbero essere particolarmente vulnerabili, è necessario identificare precocemente l'uso di cannabis e cercare trattamenti efficaci per aiutare gli adolescenti a smettere l'uso di questa sostanza (Medina KL & Tapert SF, 2011).

## Bibliografia

1. Amen, D. G. & Waugh, M. High resolution brain SPECT imaging of marijuana smokers with AD/HD. *Journal of Psychoactive Drugs*;30, 1998 209-14.
2. Arnott D, Barrick TR, Chengappa S, Mackay CE, Clark CA, Abou-Saleh MT. Corpus callosum damage in heavy marijuana use: preliminary evidence from diffusion tensor tractography and tract-based spatial statistics. *Neuroimage*. 2008 Jul 1;41(3):1067-74.
3. Aronowitz B, Liebowitz MR, Hollander E et al. Neuropsychiatric and neuropsychological findings in conduct disorder and attention-deficit hyperactivity disorder. *Journal of Neuropsychiatry & Clinical Neurosciences* (1994), 6, 245-249.
4. Ashtari M, Cervellione K, Cottone J, Ardekani BA, Kumra S. Diffusion abnormalities in adolescents and young adults with a history of heavy cannabis use. *Journal of Psychiatric Research* 43 (2009) 189-204.
5. Ashtari M, Cervellione KL, Hasan KM et al. White matter development during late adolescence in healthy males: a cross sectional diffusion tensor imaging study. *Neuroimage* (2007);35(2):501-10.
6. Bava S, Frank LR, McQueeney T, Schweinsburg BC, Schweinsburg AD, Tapert SF. Altered white matter microstructure in adolescent substance users. *Psychiatry Res*. 2009 Sep 30;173(3):228-37.
7. Barnea-Goraly N, Menon V, Eckert M et al. White matter development during childhood and adolescence: a cross-sectional diffusion tensor imaging study. *Cereb Cortex*(2005);15(12):1848-54.
8. Becker B, Wagner D, Gouzoulis-Mayfrank E, Spuentrup E, Daumann J. The impact of early-onset cannabis use on functional brain correlates of working memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010
9. Cohen M, Rasser PE, Peck G, Carr VJ, Ward PB, Thompson PM, Johnston P, Baker A, Schall U. Cerebellar grey-matter deficits, cannabis use and first-episode schizophrenia in adolescents and young adults. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2011 May 4:1-11.
10. Cohen-Zion, M., Drummong, S.P.A., Padula, C.B., Winward, J., Kanady, J., Medina, K.L., & Tapert, S.F. (2009). Sleep Architecture in Adolescent Marijuana and Alcohol Users during Acute and Extended Abstinence. *Addictive Behaviors*, 34(11), 967-9.
11. Chung T, Geier C, Luna B, Pajtek S, Terwilliger R, Thatcher D, Clark DB. Enhancing response inhibition by incentive: comparison of adolescents with and without substance use disorder. *Drug Alcohol Depend*. 2011 May 1;115(1-2):43-50.
12. Degenhardt L, Chiu WT, Sampson N, Kessler RC, Anthony JC, Angermeyer M, Bruffaerts R, de Girolamo G, Gureje O, Huang Y, Karam A, Kostyuchenko S, Lepine JP, Mora ME, Neumark Y, Ormel JH, Pinto-Meza A, Posada-Villa J, Stein DJ, Takeshima T, Wells JE. Toward a global view of alcohol, tobacco, cannabis, and cocaine use: findings from the WHO World Mental Health Surveys. *PLoS Med*. 2008 Jul 1;5(7):e141.
13. Delisi LE, Bertisch HC, Szulc KU, Majcher M, Brown K, Bappal A, Ardekani BA. A preliminary DTI study showing no brain structural change associated with adolescent cannabis use. *Harm Reduct J*. 2006 May 9;3:17.
14. Giedd JN. Structural magnetic resonance imaging of the adolescent brain. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1021.
15. Gogtay N, Giedd JN, Lusk L, Hayashi KM, Greenstein D, Vaituzis AC, et al. Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:8174-9
16. Gonzalez R. Acute and non-acute effects of cannabis on brain functioning and neuropsychological performance. *Neuropsychol Rev*. 2007 Sep;17(3):347-61. Review.
17. Hüppi PS, Dubois J. Diffusion tensor imaging of brain development. *Semin Fetal Neonatal Med* 2006;11:489-97.
18. Jacobsen, L. K., Pugh, K. R., Constable, R.T., Westerveld, M., & Mencl, W. E. (2007). Functional correlates of verbal memory deficits emerging during nicotine withdrawal in abstinent adolescent cannabis users. *Biol Psychiatry*, 61(1):31-40.
19. Jacobus J., Bava S., Cohen-Zion M., Mahmood O., Tapert S.F. Functional consequences of marijuana use in adolescents. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 92 (2009) 559-565.
20. Jager G, Block RI, Luijten M, Ramsey NF. Cannabis Use and Memory Brain Function in Adolescent Boys: A Cross-Sectional Multicenter Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2010 Jun;49(6):561-572.
21. Jernigan T, Gamst A. Changes in volume with age: consistency and interpretation of observed effects. *Neurobiol Aging* 2005;26:1271-4.
22. Kloos, A., Weller, R. A., Chan, R., & Weller, E. B. (2009). Gender differences in adolescent substance abuse. *Curr Psychiatry Rep*, 11(2), 120-126.
23. Lopez-Larson MP, Bogorodzki P, Rogowska J, McGlade E, King JB, Terry J, Yurgelun-Todd D. Altered prefrontal and insular cortical thickness in adolescent marijuana users. *Behav Brain Res*. 2011 Jun 20;220(1):164-72.
24. Luna B, Sweeney JA. The emergence of collaborative brain function: fMRI studies of the development of response inhibition. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1021:296-309.
25. Mata I, Perez-Iglesias R, Roiz-Santiañez R, Tordesillas-Gutierrez D, Pazos A, Gutierrez A, Vazquez-Barquero JL, Crespo-Facorro B. Gyrification brain abnormalities associated with adolescence and early-adulthood cannabis use. *Brain research* (2010) 297-304
26. Martín-Santos R., Fagundo A.B., Crippa J.A., Atakan Z., Bhattacharyya S., Allen P., Fusar-Poli P., Borgwardt S., Seal M., Busatto G.F., McGuire P. Neuroimaging in cannabis use: a systematic review of the literature. *Psychol*

- Med. 2010 Mar; 40(3):383-98. Epub 2009 Jul 23.
27. Medina, K.L., McQueeney, T., Nagel, B.J., Hanson, K.L., Yang, T., & Tapert, S.F. (2009). Prefrontal morphometry in abstinent adolescent marijuana users: Subtle gender effects. *Addiction Biology*, 14(4), 457-68.
  28. Medina, K.L., Nagel, B.J., McQueeney, T., Park, A., & Tapert, S.F. (2007B). Depressive symptoms in adolescents: Associations with white matter volume and marijuana use. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 48(6), 592-600
  29. Medina, K.L., Nagel, B.J., & Tapert, S.F. (2010). Cerebellar vermis abnormality in adolescent marijuana users. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 182(2), 152-159.
  30. Medina, K.L., Schweinsburg, A.D., Cohen-Zion, M., Nagel, B.J., & Tapert, S.F. (2007). Effects of alcohol and combined marijuana and alcohol use during adolescence on hippocampal asymmetry. *Neurotoxicology and Teratology*, 29, 141-152.
  31. Medina KL & Tapert SF Effetti cronici dell'uso di marijuana sul cervello e sulle capacità cognitive dell'adolescente. In *Cannabis e danni alla salute – Aspetti tossicologici, neuropsichici, medici, sociali e linee di indirizzo per la prevenzione e il trattamento*. Serpelloni G, Diana M, Gomma M, Rimondo C (a cura di) (2011) Cierre Grafica (Verona)
  32. Nigg, J.T., Glass, J.M., Wong, M.M., Poon, E., Jester, J.M., Fitzgerald, H.E., Puttler, L.I., Adams, K.M., & Zucker, R.A. (2004). Neuropsychological executive functioning in children at elevated risk for alcoholism: Findings in early adolescence. *Journal of Abnormal Psychology* Vol 113(2)2004 p.302-314.
  33. Padula CB, Schweinsburg AD, Tapert SF. Spatial working memory performance and fMRI activation interactions in abstinent adolescent marijuana users. *Psychol Addict Behav*. 2007 December; 21 (4): 478-487.
  34. Pfefferbaum A, Mathalon DH, Sullivan EV, Rawles JM, Zipursky RB, Lim KO. A quantitative magnetic resonance imaging study of changes in brain morphology from infancy to late adulthood. *Arch Neurol* 1994;51:874-87.
  35. Porath-Waller A.J. Canadian Centre on Substance Abuse. Clearing the Smoke on Cannabis. Chronic Use and Cognitive Functioning and Mental Health (2009).
  36. Schweinsburg AD, Brown SA, Tapert SF. The influence of marijuana use on neurocognitive functioning in adolescents. *Curr Drug Abuse Rev*. 2008 Jan;1(1):99-111. Review.
  37. Schweinsburg, A.D., Nagel, B.J., Schweinsburg, B.C., Park, A., Theilmann, R.J. et al. (2008). Abstinent adolescent marijuana users show altered fMRI response during spatial working memory. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 163, 40-51.
  38. Schweinsburg, A. D., Nagel, B.N., & Tapert, S. F. (2005). fMRI reveals alteration of spatial working memory networks across adolescence. *J Int Neuropsych Soc*, 11(5), 631-644.
  39. Schweinsburg, AD, Schweinsburg, BC, Medina, KL, McQueeney, T, Brown, SA, & Tapert, SF (in press). The influence of recency of use on fMRI response during spatial working memory in adolescent marijuana users. *Journal of Psychoactive Drugs*.
  40. Sowell ER, Thompson PM, Holmes CJ, Jernigan TL, Toga AW. In vivo evidence for post adolescent brain maturation in frontal and striatal regions. *Nat Neurosci* 1999;2:859-61.
  41. Sowell ER, Mattson SN, Thompson PM, Jernigan TL, Riley EP, Toga AW. Mapping callosal morphology and cognitive correlates: effects of heavy prenatal alcohol exposure. *Neurology* 2001;57:235-44.
  42. Sowell ER, Thompson PM, M., LC, Welcome SE, Kan E, Toga AW. Longitudinal mapping of cortical thickness and brain growth in normal children. *J Neurosci* 2004;24:8223-31.
  43. Tapert SF, Baratta MV, Abrantes AM, Brown SA (2002). Attention dysfunction predicts substance involvement in community youths. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*; 41(6):680-6.
  44. Tapert S.F. & Brown S.A. (2000). Substance dependence, family history of alcohol dependence, and neuropsychological functioning in adolescence. *Addiction*, 95, 1043-1053.
  45. Tapert, S. F., Granholm, E., Leedy, N. G., & Brown, S. A. (2002). Substance use and withdrawal: Neuropsychological functioning over 8 years in youth. *J Int Neuropsychol Soc*, 8(7), 873-883.
  46. Tapert SF, Schweinsburg AD, Drummond SP et al. Functional MRI of inhibitory processing in abstinent adolescent marijuana users. *Psychopharmacology* 2007 October; 194 (2): 173-183.
  47. Yakovlev PI, Lecours AR. The myelogenetic cycles of regional maturation of the brain. In: Mikowski A, editor. *Regional development of the brain in early life*. Oxford, England: Blackwell Scientific; 1967. p. 3-70.
  48. Zalesky A, Solowij N, Yücel M, et al. Effect of long-term cannabis use on axonal fibre connectivity. *Brain*. 2012 Jul;135(Pt 7):2245-55.



## 2.1.3 Alterazioni neurochimiche negli adolescenti fumatori cronici di marijuana: uno studio di spettroscopia all'idrogeno (MRS-H<sup>1</sup>)

Andrew P. Prescott<sup>1,2</sup>, Allison E. Locatelli<sup>1</sup>, Perry F. Renshaw<sup>1,3</sup>, Deborah A. Yurgelun-Todd<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Brain Institute, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, UT 84108, USA

<sup>2</sup> Department of Radiology, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, UT 84108, USA

<sup>3</sup> Department of Psychiatry, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, UT 84108, USA

### Abstract

Tutti gli studi di neuroimaging e di neuropsicologia concordano sul fatto che un forte consumo di marijuana è associato a disfunzioni della corteccia cingolata. Tuttavia i dati sull'uomo che documentano alterazioni cerebrali biochimiche in vivo dopo esposizione cronica alla marijuana sono limitati. Precedenti studi di spettroscopia protonica di risonanza magnetica hanno dimostrato livelli ridotti di glutammato nei gangli basali e di N-acetil-aspartato nella corteccia prefrontale dorsolaterale in adulti consumatori cronici di marijuana. Non sono riferiti studi analoghi sulla popolazione adolescente. Questo studio si è basato sulla spettroscopia protonica di risonanza magnetica per determinare se fossero riscontrabili riduzioni di glutammato, N-acetil-aspartato e/o altre concentrazioni di metaboliti contenenti protoni nella corteccia cingolata anteriore (ACC) degli adolescenti consumatori di marijuana rispetto ad adolescenti non consumatori. Adolescenti consumatori di marijuana (N = 17; età media 17,8 anni) e soggetti di controllo, comparabili per età (N = 17; età media 16,2 anni) sono stati sottoposti a scansione con il sistema di MRI Siemens Trio 3T. I dati della spettroscopia protonica di risonanza magnetica sono stati acquisiti da un voxel di 22,5 mL posizionato bilateralmente rispetto all'ACC. Gli spettri sono stati tarati utilizzando un software commerciale e il valore dei diversi metaboliti, espressi come numeri integrali, è stato ottenuto normalizzando gli spettri in base al segnale di soppressione dell'acqua. Sono state effettuate analisi di varianza e di covarianza per raffrontare i livelli metabolitici intragruppo. Il gruppo consumatore di marijuana ha dimostrato riduzioni statisticamente significative di glutammato nel cingolo anteriore (-15%,  $p < 0,01$ ), di N-acetil-aspartato (-13%,  $p = 0,02$ ), di creatina totale (-10%,  $p < 0,01$ ) e di mioinositolo (-10%,  $p = 0,03$ ). La segmentazione tissutale tipizzata intra-voxel non ha rilevato differenze significative a livello di sostanza grigia/bianca o di contenuto di fluido cerebrospinale nei due gruppi. I ridotti livelli di glutammato e di N-acetil-aspartato nel gruppo di adolescenti consumatori di marijuana sono coerenti con i precedenti studi sull'uomo di MRS-H1 ed è probabile che corrispondano ad un'alterazione della neurotrasmissione glutammatergica del cingolo anteriore e dell'integrità neuronale di questi soggetti. I ridotti livelli di creatina totale e di mioinositolo osservati in questi soggetti potrebbero far ipotizzare rispettivamente un'alterazione dell'ACC e del metabolismo gliale. Tali risultati integrano precedenti studi di fMRI che evidenziavano un'alterazione della funzione del cingolo in consumatori di marijuana.

## 1. Introduzione

La marijuana è la sostanza illecita più comunemente utilizzata tra gli adolescenti negli Stati Uniti, con una prevalenza d'uso annua stimata a circa l'11%, il 24% e il 32% per le rispettive fasce d'età 13-14, 15-16 e 17-18 (Johnson et al. 2008). Si ritiene che un forte consumo di marijuana durante l'adolescenza possa causare un mutamento dei processi di maturazione neuronale registrati in questa fase critica dello sviluppo, provocando alterazioni neurobiologiche che si diffondono in tutti i circuiti cerebrali del soggetto adulto (Rubino e Parolaro, 2008). Tali cambiamenti possono determinare in ultima analisi alterazioni delle capacità decisionali, dell'elaborazione emotiva e delle prestazioni cognitive (Realini et al., 2009). Inoltre i cambiamenti neurobiologici indotti da marijuana possono rappresentare un rischio per lo sviluppo di psicosi nei soggetti a rischio (Semple et al., 2005).

Tutti gli studi di neuroimaging e di neuropsicologia concordano sul fatto che nei soggetti adulti l'uso cronico di marijuana è strettamente associato a disfunzioni del cingolo. Gli studi di risonanza magnetica funzionale (fMRI) negli adulti fumatori cronici di marijuana hanno dimostrato che i cambiamenti nell'attivazione della corteccia cingolata anteriore (ACC) sono associati ad un'alterazione della risposta affettiva (Gruber et al., 2009) e dei processi inibitori (Gruber e Yurgelun-Todd, 2005). Uno studio di imaging con tomografia a emissione di positroni (PET) e test di Stroop ha riferito ipoattività dell'ACC nei consumatori cronici di marijuana in astinenza da 25 giorni, implicando deficit persistenti delle funzioni cognitive esecutive (Eldreth et al., 2004). Inoltre uno studio di Bolla et al. (2002) ha dimostrato che il risultato del test di Stroop era correlato alla frequenza d'uso di cannabis, mentre un'indagine più recente ha rilevato che i soggetti con un pregresso uso di cannabis commettevano molti più errori su prove incongruenti del test di Stroop (Battisti et al., 2010).

Le alterazioni funzionali a livello di ACC nei consumatori cronici di marijuana sono molto spesso accompagnate da cambiamenti neurochimici. Il delta-9-tetraidrocannabinolo (delta-9-THC), il principale composto psicoattivo della marijuana, attiva il recettore cannabinoidi di tipo 1 (CB1) (Devane et al., 1988), un recettore accoppiato alla proteina G presente nel Sistema Nervoso Centrale. Molti recettori CB1 sono localizzati nelle terminazioni assoniche neuronali glutammatergiche dove, attraverso l'inibizione di correnti  $Ca^{2+}$  e la modulazione del gating del canale  $K^{+}$ , inibiscono il rilascio di glutammato (Hoffman et al., 2010). Il legame del glutammato corticale con il sottotipo di recettore N-metil-D-aspartato (NMDAR) raggiunge il picco durante la prima adolescenza per poi ridursi significativamente e rapidamente con l'età (Insel et al. 1990). Pertanto il glutammato svolge un ruolo critico nel rimodellamento neurochimico durante l'adolescenza e l'alterazione dei processi di sviluppo glutammatergici rappresenta una possibile conseguenza dell'uso cronico di marijuana. La quantificazione in vivo di tali differenze neurochimiche potrebbe fornire informazioni uniche e complementari ai dati emergenti di neuroimaging comportamentale, strutturale e funzionale.

La spettroscopia all'idrogeno (MRS-H1), tecnica di misurazione non invasiva che permette di rilevare un ampio spettro di neurometaboliti e neurotrasmettitori aminoacidi in vivo, è stata adottata per studiare i cambiamenti cerebrali biochimici derivanti dall'utilizzo cronico di marijuana nella popolazione adulta. Un precedente studio di MRS-H1 ha registrato una riduzione del glutammato dei gangli basali, della colina e del mioinositolo negli adulti consumatori cronici di marijuana rispetto a soggetti di controllo (Chang et al., 2006). Un successivo studio di imaging spettrografico MRS-H1 ha rilevato, nei fumatori occasionali di marijuana, una concentrazione ridotta di N-acetil-aspartato nella corteccia prefrontale



dorsolaterale, il che probabilmente corrisponde ad un'alterazione o disfunzione neuronale in questi soggetti (Hermann et al., 2007). La domanda critica se esistano o meno analoghe differenze neurochimiche negli adolescenti consumatori cronici di marijuana resta ad oggi aperta. Scopo dello studio è analizzare i livelli di neurometaboliti nell'ACC degli adolescenti consumatori di marijuana rispetto a controlli non consumatori. Sulla base dei precedenti dati di neuroimaging funzionale e sulla base dei risultati della MRS-H1 su adulti consumatori cronici di marijuana, abbiamo ipotizzato una riduzione delle concentrazioni di glutammato e di N-acetil-aspartato nell'ACC degli adolescenti consumatori di marijuana rispetto ai controlli.

## 2. Materiali e metodi

L'Institutional Review Board (IRB) dell'Università dello Utah ha approvato questo studio, che corrisponde ai criteri di ricerca sull'uomo secondo l'Accordo di Helsinki. Sono stati reclutati diciassette adolescenti consumatori di marijuana (MJ) e diciassette controlli sani della stessa età (HC) nella regione Salt Lake (Utah) attraverso annunci locali e passaparola. I soggetti MJ non erano a conoscenza dei criteri specifici (ad es. consumo di marijuana totale nell'arco della vita) o dello scopo dello studio al momento del reclutamento. Inizialmente tutti i soggetti sono stati sottoposti a una selezione telefonica per ottenere informazioni preliminari sull'uso di marijuana, e i soggetti MJ sono stati poi reclutati se riferivano di aver fumato almeno 100 volte nel corso dell'anno precedente. La Tabella 1 presenta le caratteristiche demografiche e le informazioni sulle variabili cliniche rilevanti per entrambe le coorti, inclusi i dati relativi alla scala di Hamilton per la depressione (HAM-D) e alla scala di Hamilton per l'ansia (HAM-A). I controlli non presentavano disturbi di Asse I secondo i criteri diagnostici del DSM-IV in base a interviste strutturate e cliniche, e non evidenziavano anamnesi familiare nei parenti di primo grado di disturbo bipolare o psicosi. I criteri di esclusione per tutti i soggetti riguardavano gravi handicap senso-motori (per es. sordità, cecità e paralisi); QI totale < 70; precedenti di claustrofobia, autismo, schizofrenia, anoressia nervosa o bulimia, altre dipendenze da droghe o dipendenza/abuso di alcol (nei 2 mesi precedenti allo scanning), patologia medica o neurologica attiva, precedenti terapie elettroconvulsivanti TEC; corpi metallici o impianti; gravidanza o allattamento in corso. Tutti i soggetti hanno fornito il consenso scritto e i genitori (o tutore legale) hanno fornito il consenso informato scritto per la partecipazione dei figli minorenni. Tutti gli adolescenti minori di 18 anni hanno compilato la Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia per bambini e adolescenti (K-SADS-PL) (Kaufman et al., 1997), mentre i partecipanti maggiori di 18 anni hanno compilato l'Intervista clinica strutturata per il DSM-IV Patient Version (SCID-P). Il giorno dello scanning tutti i soggetti HC e MJ sono stati sottoposti a test tossicologico sull'urina (iScreen™, San Diego, CA) per individuare la presenza di cocaina, metanfetamina, tetraidrocannabinolo, oppiacei e benzodiazepine. I soggetti risultati positivi ad altre sostanze illecite sono stati esclusi dallo studio. In caso di effettivo arruolamento, è stato conservato un campione di urina, sottoposto ad analisi quantitativa di 9-carbossi-tetraidrocannabinolo tramite LC-MS/MS (ARUP Laboratories, Salt Lake City, UT). Il valore massimo e il valore minimo di rilevamento per questa analisi erano rispettivamente pari a 1000 e 4ng/ml. Inoltre sono state ottenute da tutti i partecipanti informazioni riguardanti l'età del primo utilizzo di marijuana, l'età di utilizzo regolare e la frequenza di utilizzo. L'utilizzo totale di marijuana nel corso della vita è stato calcolato moltiplicando la media degli

spinelli fumati a settimana per la durata di utilizzo. Nessun soggetto riportava precedenti psichiatriche durante l'intervista telefonica, mentre le interviste diagnostiche dirette hanno rivelato che due soggetti MJ riferivano casi di abuso di alcol ma non di dipendenza, un soggetto MJ riportava un caso di abuso di alcol e di dipendenza e due soggetti dichiaravano un caso di depressione e di assunzione di antidepressivi al momento dello studio.

**Tabella 1 - Caratteristiche demografiche dei gruppi di soggetti HC e MJ, inclusi i dati sulle variabili cliniche per la coorte MJ.**

	HC N=17	MJ N=17
<b>Sesso:</b> maschio/femmina	8/9	15/2
<b>Età (anni):</b> media $\pm$ DS/range	16.2 $\pm$ 2.1/13-19	17.8 $\pm$ 1.1/16-19
<b>Età primo utilizzo (anni):</b> media $\pm$ DS/range	Non applicabile	15 $\pm$ 1.5/12-17
<b>Età utilizzo regolare (anni):</b> media $\pm$ DS/range	Non applicabile	15.8 $\pm$ 1.5/12-17
<b>Uso totale di MJ (numero di spinelli):</b> media $\pm$ DS/range	Non applicabile	1367 $\pm$ 1292/235-5250
<b>Test urina (ng/mL):</b> media $\pm$ DS/range	Non applicabile	399 $\pm$ 381/16-1000*
<b>Scala Depressione:</b> media $\pm$ DS/range	0.2 $\pm$ 0.4/0-1	1.8 $\pm$ 3.3/0-11
<b>Scala Ansia:</b> media $\pm$ DS/range	1.5 $\pm$ 2.4/0-7	1.9 $\pm$ 2.1/0-7

\* Due soggetti hanno evidenziato un totale negativo di cannabinoidi nell'urina subito prima dell'esame, mentre tre soggetti hanno evidenziato un totale di cannabinoidi superiore al range dinamico previsto dalla procedura del test (>1000g/ml). DS= deviazione standard.

#### Acquisizione dati

Tutte le misurazioni di MRS-H1 sono state condotte con uno scanner di RM a corpo intero Siemens MAGNETOM Trio™ 3.0T (Erlangen, Germania). Per tutti gli studi è stato utilizzato il software VB15 fornito da Siemens e non sono stati effettuati aggiornamenti hardware durante gli 8 mesi di durata dello studio. Inoltre le coorti HC e MJ sono state sottoposte a scansione interlacciata durante il periodo sperimentale. È stata usata una bobina di rilevazione magnetica a polarizzazione circolare per la trasmissione delle onde di radiofrequenza e una bobina di sola ricezione (phased array) a 12 canali per la ricezione del segnale. I soggetti erano in posizione supina all'interno della bobina da testa e sono stati applicati dei cuscini di spugna per ridurre al massimo i movimenti del capo del soggetto. La bobina è stata utilizzata con una configurazione a quattro cluster, ciascuno comprendente tre bobine individuali. Ciò ha consentito la ricezione del segnale e la produzione di dati da due cluster di bobine orientati anteriormente e due posteriormente. La compensazione dei gradienti di campo (B0) è stata inizialmente effettuata sul campo visivo di tutto il capo tramite metodo FASTMAP (Gruetter, 1993). Sono state utilizzate immagini MR tridimensionali (3D) ad alto contrasto e ad alta risoluzione pesate in T1 MP-RAGE per facilitare l'accurato posizionamento del voxel MRS e per la segmentazione tissutale tipizzata intravoxel (TR/TE/TI=2000/3.53/1100 ms; FOV=256x256x224 mm; risoluzione isotropica 1 mm orizzontale). È stata adottata una sequenza di spettroscopia a risoluzione puntuale (PRESS) per acquisire gli spettri di 1H MRS da un voxel di 3.0 cm x 2.5 cm x 3.0 cm con la dimensione inferiore lungo l'asse antero-posteriore. Il voxel MRS è stato posto obliquamente lungo il piano sagittale e posizionato bilateralmente per coprire una sostanza a predominanza grigia nell'ACC. È stata effettuata un'ulteriore compensazione locale del B0 sul voxel MRS

attraverso le normali routine automatiche e manuali per assicurare un'ampiezza del segnale di soppressione dell'acqua  $\leq 9$  Hz. La soppressione del volume esterno è stata raggiunta tramite sei bande di saturazione posizionate ad almeno 2 cm dalle facce del voxel MRS, e la saturazione delle bande è stata raggiunta utilizzando impulsi RF a pieno passaggio adiabatici secanti iperbolici. L'eliminazione dell'acqua a tre impulsi attraverso lo schema di effetti T1 (WET: Ogg et al., 1994) è stata intervallata con il modulo di soppressione del volume esterno per la soppressione totale dell'acqua. Per l'eccitazione e la rifocalizzazione selettiva della sezione, la frequenza del trasmettitore è stata posiziona-ta rispettivamente a 3.0 e 4.7 ppm per le acquisizioni di acqua soppressa e non soppressa. I parametri di acquisizione della MRS PRESS per ogni base dati sono i seguenti: TR=2000 ms, TE=30 ms, numero di eccitazioni (NEX)=128. È stato inoltre acquisito uno spettro di riferimento dell'acqua non soppressa (TR/TE=2000/30ms; NEX=4) utilizzato per la correzione della corrente di vortice degli spettri dei metaboliti e per la normalizzazione delle aree di picco dei metaboliti.

La segmentazione tissutale tipizzata del cervello in toto è stata effettuata su tutte le immagini MP-RAGE tramite lo strumento FAST (Zhang et al., 2001) fornito con la FMRIB Software Library disponibile gratuitamente (FSL; Smith et al., 2004). Successivamente sono state utilizzate funzioni scritte in MATLAB (versione R2009b, The MathWorks, Natick, MA) per estrarre il volume 3D corrispondente al voxel MRS posizionato per ottenere il contenuto tissutale intravoxel della materia grigia (GM), della materia bianca (WM) e del fluido cerebrospinale (CSF) per ogni soggetto. La frazione di materia grigia è stata calcolata in rapporto alla sostanza cerebrale totale, ovvero  $100 \times GM / (WM + GM)$ .

Segmentazione  
tissutale

Tutti i dati riguardanti il decadimento libero dell'induzione (FID) sono stati salvati come file Siemens TWIX e trasferiti su personal computer per essere elaborati da funzioni di pre-elaborazione scritte e sviluppate con MATLAB. La correzione del peso e del profilo/fase del segnale è specifica per cluster di bobina e deve essere presa in considerazione prima della combinazione del segnale. Queste fasi sono state condotte in modo automatico dalle funzioni scritte in MATLAB e sono state apportate le correzioni segnalate di seguito. Il file di intestazione TWIX contiene coefficienti della funzione di pesatura specifici per singolo cluster di bobina, calcolati nel corso dei protocolli di routine del servizio Siemens. I FID dei singoli metaboliti e dell'acqua non soppressa di un determinato cluster di bobina sono moltiplicati per i fattori di pesatura rilevanti prima della ricombinazione dei cluster di bobina. La correzione della corrente di vortice è stata effettuata utilizzando un metodo a dominio di tempo precedentemente riferito in letteratura (Klose, 1990). In sostanza, i FID riguardanti i metaboliti con soppressione dell'acqua di un determinato cluster di bobina sono stati corretti per la corrente di vortice dividendo ogni punto per un fattore di fase determinato dal corrispondente punto di acqua non soppressa. L'analisi estensiva dei dati in vivo ha dimostrato che la sola correzione della corrente di vortice specifica per cluster ha prodotto quattro gruppi di FID con fase identica (dati non riportati). Successivamente ciò ha permesso la combinazione diretta dei quattro FID prima di qualsiasi fitting spettrale.

Elaborazione dati

Il fitting spettrale e la quantificazione del segnale sono stati effettuati tramite il software commerciale Linear Combination (LC) Model (Provencher, 1993; versione 6.1.4E). Gli spettri PRESS sono stati tarati utilizzando una base simulata generata attraverso la teoria della matrice densità come descritto in un precedente lavoro (Choi et al., 2008). Per le simulazioni, gli spostamenti chimici dei protoni e i valori costanti di accoppiamento (J) abbiamo

Quantificazione  
spettrale

usato i valori pubblicati in letteratura (Govindaraju et al., 2000) e sono state generate funzioni di base per un totale di quattordici metaboliti, ovvero: alanina (Ala), aspartato (Asp), creatina totale (tCr: creatina + fosfocreatina), acido  $\gamma$ -amino butirrico (GABA), glutamina (Gln), glutammato (Glu), glicerofosfocolina (GPC), mioinositolo (Ins), lattato (Lac), N-acetil-asparato (NAA), N-acetil-aspartil-glutammato (NAAG), fosforilcolina (PCh), scillo-inositolo (sl) e taurina (Tau). Si segnala che gli integrali di GPC e di PCh sono stati combinati per fornire una stima quantitativa di colina totale (tCho). La "finestra di analisi" dell'LC Model è stata settata per coprire un range da 0.5 a 4.5 ppm. L'LC Model riporta stime di disuguaglianza di Cramér-Rao (CRLB) per ogni metabolita incluso nella base, il che consente l'acquisizione di fit spettrali affidabili. I fit dei metaboliti con CRLB<20% osservati in entrambi i gruppi di soggetti sono stati inclusi nell'analisi finale. Le aree di picco dei metaboliti sono state corrette per la frazione CSF utilizzando dati MRI segmentati e quindi normalizzati utilizzando il corrispondente integrale del segnale dell'acqua non soppressa (in scala:  $\times 10^{-9}$ ). I rapporti metabolita/acqua calcolati sono presentati come media  $\pm$  deviazione standard (DS).

#### Analisi statistica

L'analisi della varianza one-way (ANOVA) è stata adottata per comparare i livelli di metaboliti medi per gruppo tramite OriginPro (versione 8.0; OriginLab Corporation, Northampton, MA). Inoltre l'analisi della covarianza (ANCOVA) per due campioni indipendenti è stata condotta con un calcolatore gratuito. L'analisi ANCOVA è stata utilizzata per testare le variabili demografiche potenzialmente confondenti (età e sesso), i fattori biologici (contenuto tissutale intravoxel) e i parametri tecnici MRS-correlati, incluso il rapporto segnale/rumore (SNR) e la full width half maximum (FWHM). I valori SNR e FWHM sono stati estratti direttamente dai file elaborati dall'LC Model per ogni soggetto sottoposto a scansione.

### 3. Risultati

#### Segmentazione tissutale

La Figura 1 (a) e (b) mostra le sezioni assiale e sagittale di singola porzione tissutale estratte da dati 3D MPRAGE registrati in un soggetto MJ. Il rettangolo nero corrisponde al voxel MRS posizionato a livello di ACC, obliquo rispetto al piano sagittale. La Tabella 2 riporta il contenuto tissutale intravoxel medio per gruppo per entrambe le coorti, e l'analisi statistica non ha rivelato differenze significative tra le stesse.

Figura 1 - (a) Sezione assiale di singola porzione tissutale segmentata estratta da dati 3D MPRAGE di femmina MJ di 19 anni. La materia bianca, la materia grigia e il fluido cerebrospinale sono rappresentati rispettivamente da pixel di colore bianco, grigio chiaro e grigio scuro. (b) Corrispondente sezione sagittale di singola porzione tissutale segmentata estratta dagli stessi dati MPRAGE. Il rettangolo nero rappresenta il posizionamento del voxel MRS a livello di ACC, obliquo lungo la dimensione sagittale. Per questo soggetto le frazioni di tessuto di materia bianca, materia grigia e fluido cerebrospinale sono state stimate rispettivamente al 67%, al 23% e al 10%.

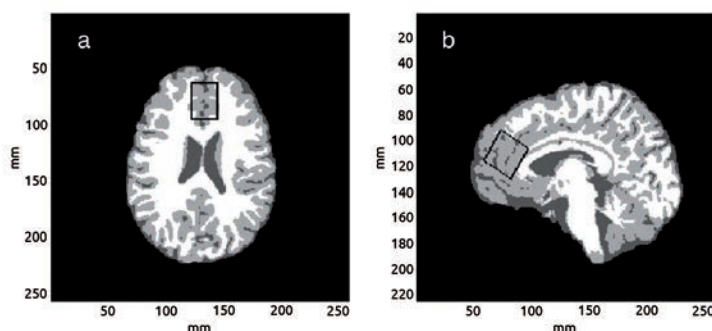


Tabella 2 - Frazione di materia grigia intravoxel e di contenuto di fluido cerebrospinale espresso come frazione % media del gruppo  $\pm$  DS.

Tipo di tessuto	HC	MJ	Dati statistici
GM	71 $\pm$ 5	72 $\pm$ 4	$F_{(1,32)}=0.90$ , $p=0.34$
CSF	9 $\pm$ 5	8 $\pm$ 4	$F_{(1,32)}=0.40$ , $p=0.54$

La Figura 2 mostra gli spettri MRS-H1 tarati con l'LC Model registrati in un soggetto HC e in un soggetto MJ (cfr. didascalia figura per i valori spettrali e per ulteriori dettagli). I parametri SNR e FWHM medi ( $\pm$  DS) del gruppo erano rispettivamente MJ 43 $\pm$ 11; HC 49 $\pm$ 8,  $F_{(1,32)}=3.1$ ,  $p=0.1$  e MJ 5.3 $\pm$ 1.1 Hz; HC 4.9 $\pm$ 0.7Hz,  $F_{(1,32)}=1.82$ ,  $p=0.2$ . La tabella 3 riporta i valori CRLB risultanti per 6 metaboliti individuali, con valori CRLB medi stimati <20% per entrambi i gruppi di soggetti. Tali metaboliti sono Asp, tCr, Glu, Ins, NAA e tCho.

Analisi spettrale e statistica

Figura 2 - Dati MRS-H1 PRESS tarati con LC Model di soggetto HC di 13 anni (a) e di soggetto MJ di 19 anni (b). Gli spettri tracciati in nero corrispondono ai dati "grezzi" MRS-H1 con i fit di LC Model sovrapposti in rosso. Gli spettri residui (dati grezzi meno fit LC Model) si trovano al di sotto di ciascuno spettro. Le attribuzioni di segnale evidenziate in (a) si basano su (Covinduraju et al., 2000) e possono essere direttamente trasposte sullo spettro (b).

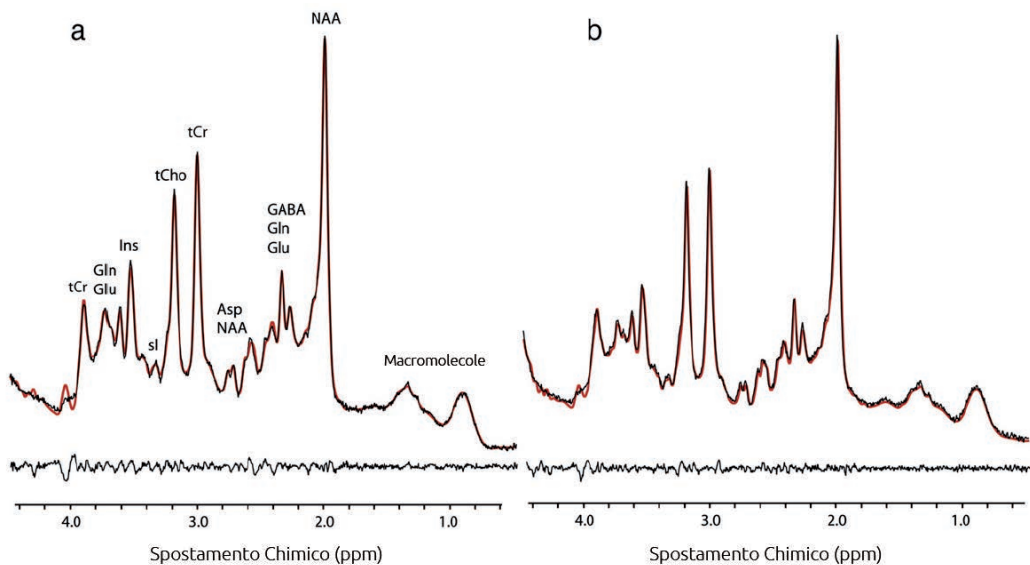
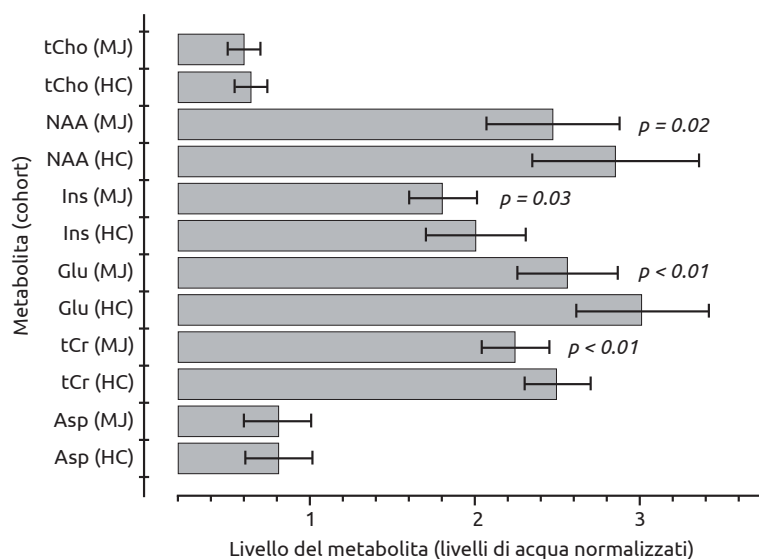


Tabella 3 - Valori medi CRLB ( $\pm$ DS) del gruppo elaborati con LC Model per sei metaboliti con valori medi stimati <20% per entrambe le coorti.

Metabolita	HC	MJ
Asp	14 $\pm$ 3	14 $\pm$ 3
tCho	2 $\pm$ 0,2	2,3 $\pm$ 0,5
tCr	2 $\pm$ 0,2	2 $\pm$ 0,4
Glu	5,2 $\pm$ 0,7	5,9 $\pm$ 0,8
Ins	3,1 $\pm$ 0,7	3,5 $\pm$ 0,5
NAA	2,3 $\pm$ 0,5	2,7 $\pm$ 0,6

La Figura 3 mostra un istogramma con i rapporti medi metabolita/acqua del gruppo per Asp, tCr, Glu, Ins, NAA e tCho. La coorte MJ ha evidenziato un livello significativamente ridotto nell'ACC dei livelli di acqua normalizzata di Glu (MJ  $2.55 \pm 0.30$ ; HC  $3.00 \pm 0.39$ ,  $F_{(1,32)} = 12.5$ ,  $p < 0.01$ ), tCr (MJ  $2.24 \pm 0.23$ ; HC  $2.49 \pm 0.19$ ,  $F_{(1,32)} = 9.3$ ,  $p < 0.01$ ), Ins (MJ  $1.80 \pm 0.20$ ; HC  $2.00 \pm 0.30$ ,  $F_{(1,32)} = 5.3$ ,  $p = 0.03$ ) e NAA (MJ  $2.46 \pm 0.40$ ; HC  $2.84 \pm 0.50$ ,  $F_{(1,32)} = 5.8$ ,  $p = 0.02$ ). Non sono state osservate differenze significative dell'ACC nei livelli di Asp (MJ  $0.80 \pm 0.20$ ; HC  $0.81 \pm 0.20$ ,  $F_{(1,32)} = 0.05$ ,  $p = 0.8$ ) o di tCho (MJ  $0.60 \pm 0.10$ ; HC  $0.64 \pm 0.10$ ,  $F_{(1,32)} = 3.5$ ,  $p = 0.1$ ). È importante notare che l'integrale del segnale grezzo dell'acqua (unità arbitrarie) si è dimostrato coerente nelle due coorti di soggetti (MJ  $2.85 \pm 0.11$ ; HC  $2.8 \pm 0.11$ ,  $F_{(1,32)} = 0.9$ ,  $p = 0.35$ ). Nella maggior parte dei casi, i test ANCOVA effettuati per la covarianza degli effetti di età, sesso, SNR, FWHM e frazione di sostanza grigia hanno prodotto effetti trascurabili sui livelli di metaboliti medi nei gruppi HC e MJ (dati non riportati). Tuttavia la covarianza per il sesso ha aumentato la rilevanza dei ridotti livelli di Glu nell'ACC osservati nei soggetti MJ ( $F_{(1,31)} = 16.2$ ,  $p < 0.001$ ), mentre la covarianza per l'SNR ha mitigato la rilevanza dei risultati riguardanti il NAA ( $F_{(1,31)} = 2.1$ ,  $p = 0.02$ ). Infine l'analisi di correlazione effettuata per esaminare il rapporto tra i livelli di metabolita e l'utilizzo totale di marijuana nell'arco della vita, l'età di primo utilizzo di marijuana e la concentrazione di cannabinoidi al momento della scansione, non ha raggiunto la significatività statistica per nessun metabolita. Inoltre per ciascun metabolita non è stata osservata alcuna correlazione tra la concentrazione di HAM-D e di metaboliti.

Figura 3 - Rapporti metabolita/acqua misurati per 6 metaboliti nelle coorti HC e MJ. Si riportano i valori medi del gruppo; le barre di errore rappresentano la DS.



## 4. Discussione

In base ai dati in nostro possesso, questo è il primo studio ad aver utilizzato MRS-H1 in vivo per individuare alterazioni nei metaboliti e neurotrasmettitori a livello di ACC negli adolescenti consumatori di marijuana rispetto ai soggetti di controllo non consumatori. I risultati principali di questo studio sono individuabili in livelli significativamente ridotti di Glu (-15%), NAA (-13%), Ins (-10%) e tCr (-10%) nell'ACC della popolazione adolescente MJ.

La stabilità fisiologica, sulla quale esiste ampio consenso, della risonanza del protone metile (CH<sub>3</sub>) del tCr per età, sesso e varietà di patologie cerebrali, ne ha determinato la frequente adozione come riferimento interno per la normalizzazione dei dati. Tuttavia livelli ridotti di tCr sono stati osservati in molti tipi di tumore (Howe e Opstad, 2003) e a seguito di evento ischemico (Munoz Maniega et al., 2008) e una recente indagine ha inoltre dimostrato livelli differenziali di tCr in soggetti con disturbo bipolare, pazienti schizofrenici e controlli sani (Ongur et al., 2009). Pertanto per il presente studio MRS trasversale abbiamo inizialmente misurato i livelli di tCr dell'ACC in entrambi i gruppi di soggetti in base al segnale dell'acqua tissutale come standard di riferimento interno. Questa analisi ha messo in luce livelli significativamente ridotti di tCr normalizzato per l'acqua nella coorte MJ sebbene per entrambi i gruppi fossero stati calcolati integrali di segnale dell'acqua e voxel MRS delle frazioni di GM, WM e CSF comparabili. Pertanto per il presente studio è stato fondamentale che tutti i livelli di metabolita fossero normalizzati per l'acqua tissutale.

Sono stati utilizzati i metodi di imaging spettroscopico MRSI e MRS-H1 per analizzare gli effetti dell'uso cronico di marijuana sui metaboliti cerebrali nella popolazione adulta (Chang et al., 2006; Hermann et al., 2007) ancorché nessuno di questi precedenti studi riferisse livelli ridotti di tCr nell'ACC dei consumatori di marijuana. La concentrazione ridotta di tCr osservata in questo studio riflette probabilmente lo status energetico alterato dell'ACC nel gruppo di adolescenti MJ, benché a causa della natura composita del picco del protone tCr non sia ancora chiaro se la riduzione osservata dipenda dalla modulazione della creatina e/o della fosfocreatina. Ulteriori studi di spettroscopia RM fosforo (<sup>31</sup>P) condotti su coorti di adolescenti MJ e HC saranno fondamentali per analizzare questo potenziale squilibrio creatina/fosfocreatina.

Il livello ridotto di Glu nell'ACC (-15%) rilevato nella popolazione adolescente MJ è uno dei risultati più rilevanti di questo studio. Questa osservazione è coerente con i livelli ridotti di Glu nei gangli basali (-12%) precedentemente registrati negli adulti consumatori di marijuana (Chang et al., 2006) pur non essendo state riferite analoghe misurazioni MRS-H1 a voxel singolo dell'ACC. Il tono glutammatergico dell'ACC è chiaramente alterato nella popolazione adolescente MJ sebbene, come di seguito evidenziato, non si possano trarre conclusioni univoche basate sui livelli ridotti di Glu nell'ACC osservati nel presente studio. Il Glu viene innanzitutto immagazzinato nelle vescicole dei neuroni ed è il principale neurotrasmettitore eccitatorio del cervello dei mammiferi. Inoltre il Glu è il precursore del GABA (principale neurotrasmettitore inibitorio) e del NAAG (neurotrasmettitore peptidico). In quanto neurotrasmettitore, il Glu viene rilasciato nello spazio sinaptico e viene rapidamente trasportato nelle cellule astroglia dove viene convertito enzimaticamente in Gln. Successivamente il Gln viene reinviato ai neuroni per la conversione in Glu. Tuttavia i livelli ridotti di Glu potrebbero derivare da alterazione neuronale (conversione Gln → Glu) e/o da disfunzione gliale con ridotto assorbimento di Glu o reinvio compromesso del Gln ai neuroni. La riduzione del Glu nell'ACC della nostra popolazione MJ è interessante e potrebbe essere correlata alle alterazioni comportamentali osservate nei consumatori di marijuana. È noto che i recettori CB1 si trovano in posizione presinaptica nei neuroni e che l'attivazione di tali recettori, così come attraverso il composto attivo della cannabis (Δ<sup>9</sup>-THC), comporta la soppressione del rilascio dei neurotrasmettitori di glutammato e GABA (Hajos e Freund, 2002).

Il glutammato e il GABA sono i principali neurotrasmettitori aminoacidi eccitatori e inibitori del Sistema Nervoso Centrale e pertanto la modulazione del rilascio presinaptico di tali neurotrasmettitori determinerà alterazioni della plasticità sinaptica neuronale. È probabile che tali alterazioni della plasticità sinaptica siano associate ad una funzione neurocognitiva



alterata nei consumatori di marijuana, incluse le alterazioni mediate dalla rete del cingolo. Tuttavia saranno necessari ulteriori dati spettroscopici riguardanti la concentrazione di Gln e GABA nell'ACC al fine di disporre di informazioni critiche per trarre conclusioni più avvalorate. I valori CRLB osservati per il Gln e il GABA nel presente studio sono stati ritenuti non affidabili per l'inserimento nella nostra analisi finale dei dati. Per questo stiamo attualmente studiando strategie alternative di acquisizione ed elaborazione MRS-H1 per migliorare la quantificazione di Gln e di GABA (Schulte e Boesiger, 2006; Schulte et al., 2006).

Anche la riduzione di NAA a livello di ACC (-13%) osservata nella popolazione MJ è in linea con la letteratura precedente. Ridotti livelli di NAA sono stati dimostrati anche in un precedente studio MRS-H1 che ha riferito un decremento significativo dei livelli di NAA a carico della corteccia prefrontale dorsolaterale (-11%) nel maschio adulto fumatore occasionale di marijuana rispetto ai controlli sani (Hermann et al., 2007). Il NAA è un marker putativo della vitalità neuronale e il presente studio suggerisce una ridotta integrità neuronale e assonale (perdita e/o disfunzione) a livello di ACC nell'adolescente consumatore di marijuana. Poiché l'uso di cannabis è ritenuto un potenziale fattore di rischio per lo sviluppo di psicosi nei soggetti predisposti (Semple et al., 2005), è importante notare che i livelli ridotti di NAA nell'ACC degli adolescenti consumatori di marijuana sono analoghi alla riduzione della concentrazione di NAA nel lobo frontale e nell'ACC in pazienti schizofrenici (Buckley et al., 1994; Cecil et al., 1999; Ende et al., 2000).

Inoltre abbiamo rilevato una riduzione significativa dei livelli di Ins nell'ACC (-10%). L'Ins si trova principalmente negli astrociti e pertanto viene considerato un marker gliale (Brand et al., 1993). Ridotti livelli di Ins nella corteccia prefrontale sono stati precedentemente rilevati utilizzando MRS-H1 in condizioni caratterizzate da una significativa perdita gliale, quale un grave disturbo depressivo (Coupland et al., 2005). I ridotti livelli di Ins rilevati nel presente studio possono essere una conseguenza di perdita e/o disfunzione gliale.

Precedenti studi di MRS-H1 hanno rilevato alterazioni delle concentrazioni di metaboliti correlate all'età in soggetti adulti sani (Brooks et al., 2001; Sailasuta et al. 2008; Chang et al., 2009), ma la letteratura che documenta alterazioni metaboliche durante l'adolescenza è ad oggi limitata.

Uno studio di MRS-H1 ha analizzato i livelli di NAA in tutto l'arco dell'infanzia e dell'adolescenza dimostrando un aumento del rapporto NAA/Cho nella materia grigia con il raggiungimento del livello di picco a circa 10 anni di età e in successivo declino (Horska et al., 2002). Analoghe alterazioni di sviluppo sono possibili per Glu, Ins, e tCr e, per contribuire a inserire i risultati di questo studio in un contesto più ampio, saranno fondamentali ulteriori esaustivi studi MRS-H1 trasversali e longitudinali su popolazioni adolescenti sane.

L'analisi ANCOVA eseguita per verificare gli effetti delle variabili demografiche, tecniche e biologiche potenzialmente confondenti ha identificato principalmente effetti trascurabili sulla rilevanza statistica dei ridotti livelli di metaboliti nella popolazione MJ rispetto ai controlli, benché la covarianza per il sesso abbia aumentato la rilevanza dei risultati del Glu. Si noti che, sebbene di età analoga, i soggetti HC e MJ non erano confrontabili per sesso. Pertanto, per valutare più approfonditamente la potenziale influenza del sesso sui livelli di metaboliti, l'analisi ANOVA è stata ripetuta escludendo tutti i soggetti di sesso femminile dalle due coorti (MJ N=15; HC N=8). I risultati di questi test hanno evidenziato una riduzione di Glu ( $F(1,21)=21$ ,  $p<0.001$ ), NAA ( $F(1,21)=7.2$ ,  $p=0.01$ ), tCr ( $F(1,21)=17$ ,  $p<0.001$ ) e Ins ( $F(1,21)=4.7$ ,  $p=0.04$ ) nei soggetti MJ, confermando che alterazioni neurochimiche indotte dalla marijuana sono indipendenti dal sesso. Inoltre la covarianza per SNR ha eliminato la significatività dei ridotti livelli di NAA nella popolazione MJ. Questa osservazione può essere razionalizzata in quanto il software LC Model valuta l'SNR basandosi sulla risonanza

maggiormente individuata nella finestra di analisi (0.5-4.5 ppm), utilizzando così la risonanza NAA 2.0 ppm per tutti i calcoli di SNR del presente studio. Abbiamo osservato un minore SNR stimato per la coorte MJ prossimo alla significatività statistica ( $p=0.1$ ) e abbiamo motivo di credere che ciò dimostri ulteriormente la riduzione di NAA in questa popolazione. Ne consegue che la covarianza della concentrazione di NAA per l'SNR viola sostanzialmente l'analisi ANCOVA e produce medie arrotondate errate e inaffidabili. L'analisi di correlazione non ha raggiunto significatività statistica per nessun livello di metabolita rispetto a dati variabili clinici benché il nostro attuale campione MJ sia relativamente limitato ( $N=17$ ). Stiamo progettando di arruolare altri soggetti MJ per studi analoghi ed è allo studio un aumento del numero di campioni riducendo l'età sia di primo uso che di uso regolare di marijuana.

Come precedentemente descritto, il nostro campione MJ comprendeva alcuni soggetti con precedenti di dipendenza o abuso comorbido di alcol e due soggetti con precedenti di depressione che stavano assumendo antidepressivi al momento della risonanza. La presenza di comorbidità e/o storia di comorbidità all'interno del gruppo MJ potrebbe essere un potenziale fattore confondente nel presente studio; successive indagini dovrebbero analizzare la relazione tra i consumatori di sola marijuana e quelli con diagnosi di comorbidità. Va tuttavia sottolineato che è stato riferito un disturbo dell'umore comorbido in soggetti con consumo di sostanze (Grella et al., 2001; Lubman et al., 2007; Guillem et al., 2009). Per esempio in uno studio di Lubman et al. (2007) sono stati riferiti tassi elevati di prevalenza di disturbi psichiatrici comorbidi e si è riscontrato che il 49% di quegli studi corrispondeva ai criteri di disturbo dell'umore attuale, con un 68% che riferiva precedenti nell'arco della vita. Ciò è coerente con un lavoro più recente in cui su 90 consumatori di cannabis un disturbo dell'umore era presente nel 48% dei soggetti negli ultimi 12 mesi (Guillem et al., 2009).

Limiti dello studio

Autodichiarazioni inaccurate riguardo l'età di prima assunzione di marijuana, di uso regolare e dell'assunzione totale non possono essere escluse. È difficile stabilire quanto autodichiarazioni inaccurate possano aver influito sulla nostra analisi di correlazione. Il test tossicologico delle urine per i cannabinoidi ha registrato un cutoff positivo relativamente ridotto (4 ng/mL), anche se a causa degli effetti della eliminazione della droga non è possibile utilizzare i dati per escludere in maniera assoluta un precedente uso di cannabis all'interno della popolazione HC. Un uso regolare di marijuana all'interno di questo gruppo sembra improbabile in quanto i soggetti sono stati tutti intervistati con domande aperte sul precedente utilizzo di sostanze. La ricerca futura si avvarrà l'analisi del capello per accertare la presenza di fumatori di cannabis ed escludere potenziali soggetti HC.

I parametri della dimensione del voxel sono stati selezionati per ottimizzare il tempo SNR per unità e prendiamo atto dei conseguenti effetti sul volume parziale. L'obiettivo principale del presente studio era quello di valutare le potenziali anomalie metaboliche nel volume lordo dell'ACC ma successivi studi potranno tuttavia far acquisire dati MRS-H1 da più sottoregioni dell'ACC. La segmentazione voxel MRS basata su dati di immagini MPAGE ad alta risoluzione ha evidenziato un differenziale relativamente ridotto tra i contenuti tissutali della materia grigia e della materia bianca all'interno dei due gruppi, così ipotizzando un posizionamento analogo dei voxel in tutti gli studi.

Le differenze tra gruppi nei tempi di rilassamento spin-spin ( $T_2$ ) e spin-lattice ( $T_1$ ) del metabolita potrebbero spiegare il rapporto differenziale metabolita/acqua osservato nel nostro studio. La presente sezione discute brevemente questi effetti per il tCr e per l'acqua anche se le argomentazioni potrebbero tradursi direttamente nelle riduzioni osservate per Glu, Ins e NAA. Basandoci sui tempi di rilassamento precedentemente riportati  $T_2$  CH3 tCr

3.0 T (164ms; Choi et al., 2006) e T1 (1100ms; Traber et al., 2004) i nostri calcoli mostrano che una riduzione del 34% nel T2 del tCr (104 ms) o un aumento del 30% nel T1 del tCr (1440 ms) spiegherebbero i livelli ridotti di tCr/acqua qui riportati. Benché i valori del metabolita siano stati corretti per la frazione CSF è utile prendere in considerazione la possibilità di differenziare i tempi di rilassamento tissutali e del CSF e il modo in cui le variazioni delle frazioni tissutali possono alterare i rapporti metabolita/acqua calcolati. Sulla base dei dati dell'ACC PRESS multi-TE (30-1000 ms) dell'acqua non soppressa registrati in 10 soggetti presso il nostro laboratorio, abbiamo calcolato la media dei tempi di rilassamento T2 del CSF e del tessuto rispettivamente a  $437 \pm 80$  e  $69 \pm 2$  ms. Pertanto frazioni differenziali di CSF produrrebbero valori di denominatori variabili in tutti i soggetti e ciò spiegherebbe i rapporti variabili metabolita/acqua. Utilizzando i nostri valori stimati di CSF e di acqua tissutale T2 abbiamo calcolato che è necessario un aumento della frazione di CSF dal 9 al 15% per spiegare la riduzione del 15% del Glu rilevata nei soggetti adolescenti MJ. Per il presente studio ciò è altamente improbabile a causa di frazioni molto simili di CSF tra le coorti HC e MJ. Abbiamo eseguito un'analoga analisi delle alterazioni frazionali di CSF in relazione ai tempi di rilassamento longitudinale utilizzando precedenti valori T1 di CSF (4163 ms; Lin et al., 2001) e di tessuto (1100 ms; Wansapura et al., 1999). Tale analisi ipotizza che, con una frazione iniziale di CSF del 9%, è necessario un aumento, di fatto irrealistico, del 23% del contenuto tissutale per spiegare la riduzione del 15% di Glu nei soggetti MJ. Ancorché sia improbabile che questi effetti dell'acqua abbiano influenzato significativamente i risultati, il nostro protocollo è stato modificato per misurare e tenere conto di questi effetti per ogni singolo soggetto.

#### Punti di forza dello studio

I nuovi risultati di questo studio forniscono un contributo unico per comprendere le alterazioni neurochimiche negli adolescenti che usano marijuana e sono complementari al corpus di dati neuropsicologici e di neuroimaging che emergono da questi gruppi. Abbiamo compiuto uno sforzo considerevole per arruolare coorti di soggetti ben caratterizzati. Solo tre soggetti MJ su diciassette presentavano depressione attuale o pregressa. Data la comorbidità di uso di alcol e marijuana, è utile notare che solo due dei diciassette soggetti MJ corrispondevano ai criteri diagnostici relativi al disturbo da abuso di alcol.

Da un punto di vista tecnico, tutti i dati acquisiti e analizzati nel presente studio sono risultati di alta qualità, caratterizzati da un elevato SNR e da una ridotta ampiezza del segnale. I fit spettrali hanno adottato metodi di simulazione spettrale all'avanguardia che generano spettri di base per singolo metabolita basati sull'effettiva sequenza PRESS utilizzata per studi in vivo. Per i raffronti tra gruppi sono stati utilizzati solo i metaboliti con adeguati ridotti valori CRLB riportati da LC Model (indicativo di fit spettrali affidabili). Abbiamo inoltre condotto numerose analisi ANCOVA per verificare la possibilità di variabili demografiche, biologiche o tecniche confondenti al fine di analizzare le alterazioni metaboliche rilevate nella popolazione MJ.

## 5. Conclusioni

In conclusione, i ridotti livelli di Glu e di NAA nella coorte MJ sono coerenti con i precedenti dati MRS-H1 su soggetti adulti e probabilmente riflettono un'alterazione della neurotrasmissione glutammatergica e della vitalità neuronale a carico dell'ACC di questi soggetti. I ridotti livelli di tCr e di Ins osservati nei soggetti MJ possono implicare rispettivamente

un'alterazione dello status energetico e del metabolismo gliale dell'ACC. Tali risultati approfondiscono precedenti dati fMRI che riportavano un'alterata funzione del cingolo in soggetti forti consumatori di marijuana. Stiamo attualmente investigando ulteriori modalità per sviluppare e implementare una metodologia che permetta la misurazione concomitante e affidabile di Glu, Gln e GABA per applicarla ad analoga popolazione adolescente.

Tradotto e riprodotto ad opera della redazione dall'originale versione in inglese pubblicata in *Neuroimage*. 2011 Jul 1;57(1):69-75, con il permesso dell'Editore. Titolo originale: Neurochemical alterations in adolescent chronic marijuana smokers: a proton MRS study.

## Bibliografia

1. Battisti RA, Roodenrys S, Johnstone SJ, Pesa N, Hermens DF, Solowij N. Chronic cannabis users show altered neurophysiological functioning on Stroop task conflict resolution. *Psychopharmacology*. 2010;212:613–624.
2. Bolla KI, Brown K, Eldreth D, Tate K, Cadet JL. Dose-related neurocognitive effects of marijuana use. *Neurology*. 2002;59:1337–1343.
3. Brand A, Richter-Landsberg C, Leibfritz D. Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. *Dev Neurosci*. 1993;15:289–298.
4. Brooks JC, Roberts N, Kemp GJ, Gosney MA, Lye M, Whitehouse GH. A proton magnetic resonance spectroscopy study of age-related changes in frontal lobe metabolite concentrations. *Cereb Cortex*. 2001;11:598–605.
5. Buckley PF, Moore C, Long H, Larkin C, Thompson P, Mulvany F, Redmond O, Stack JP, Ennis JT, Waddington JL. <sup>1</sup>H-magnetic resonance spectroscopy of the left temporal and frontal lobes in schizophrenia: clinical, neurodevelopmental, and cognitive correlates. *Biol Psychiatry*. 1994;36:792–800.
6. Cecil KM, Lenkinski RE, Gur RE, Gur RC. Proton magnetic resonance spectroscopy in the frontal and temporal lobes of neuroleptic naive patients with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 1999;20:131–140.
7. Chang L, Cloak C, Yakupov R, Ernst T. Combined and independent effects of chronic marijuana use and HIV on brain metabolites. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2006;1:65–76.
8. Chang L, Jiang CS, Ernst T. Effects of age and sex on brain glutamate and other metabolites. *Magn Reson Imaging*. 2009;27:142–145.
9. Choi C, Bhardwaj PP, Seres P, Kalra S, Tibbo PG, Coupland NJ. Measurement of glycine in human brain by triple refocusing <sup>1</sup>H-MRS in vivo at 3.0T. *Magn Reson Med*. 2008;59:59–64.
10. Choi C, Coupland NJ, Bhardwaj PP, Kalra S, Casault CA, Reid K, Allen PS. T2 measurement and quantification of glutamate in human brain in vivo. *Magn Reson Med*. 2006;56:971–977.
11. Coupland NJ, Ogilvie CJ, Hegadoren KM, Seres P, Hanstock CC, Allen PS. Decreased prefrontal Myo-inositol in major depressive disorder. *Biol Psychiatry*. 2005;57:1526–1534.
12. Devane WA, Dysarz FA, 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*. 1988;34:605–613.
13. Eldreth DA, Matochik JA, Cadet JL, Bolla KI. Abnormal brain activity in prefrontal brain regions in abstinent marijuana users. *Neuroimage*. 2004;23:914–920.
14. Ende G, Braus DF, Walter S, Weber-Fahr W, Soher B, Maudsley AA, Henn FA. Effects of age, medication, and illness duration on the N-acetyl aspartate signal of the anterior cingulate region in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2000;41:389–395.
15. Govindaraju V, Young K, Maudsley AA. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed*. 2000;13:129–153.
16. Grella CE, Hser YI, Joshi V, Rounds-Bryant J. Drug treatment outcomes for adolescents with comorbid mental and substance use disorders. *Journal of Nervous and Mental Disease*. 2001;189:384–392.
17. Gruber SA, Rogowska J, Yurgelun-Todd DA. Altered affective response in marijuana smokers: an fMRI study. *Drug Alcohol Depend*. 2009;105:139–153.
18. Gruber SA, Yurgelun-Todd DA. Neuroimaging of marijuana smokers during inhibitory processing: a pilot investigation. *Brain Res Cogn Brain Res*. 2005;23:107–118.
19. Gruetter R. Automatic, localized in vivo adjustment of all first- and second-order shim coils. *Magn Reson Med*. 1993;29:804–811.
20. Guillem E, Pelissolo A, Vorspan F, Bouchez-Arbabzadeh S, Lepine JP. Sociodemographic profiles, addictive and mental comorbidity in cannabis users in an outpatient specific setting. *Encephale-Revue De Psychiatrie Clinique Biologique Et Therapeutique*. 2009;35:226–233.
21. Hajos N, Freund TF. Pharmacological separation of cannabinoid sensitive receptors on hippocampal excitatory and inhibitory fibers. *Neuropharmacology*. 2002;43:503–510.
22. Hermann D, Sartorius A, Welzel H, Walter S, Skopp G, Ende G, Mann K. Dorsolateral prefrontal cortex N-acetylaspartate/total creatine (NAA/tCr) loss in male recreational cannabis users. *Biol Psychiatry*. 2007;61:1281–1289.
23. Helsinki Accord, <http://ohsr.od.nih.gov/guidelines/helsinki.html>.
24. Hoffman AF, Laaris N, Kawamura M, Masino SA, Lupica CR. Control of cannabinoid CB1 receptor function on glutamate axon terminals by endogenous adenosine acting at A1 receptors. *J Neurosci*. 2010;30:545–555.
25. Horska A, Kaufmann WE, Brant LJ, Naidu S, Harris JC, Barker PB. In vivo quantitative proton MRSI study of brain development from childhood to adolescence. *J Magn Reson Imaging*. 2002;15:137–143.
26. Howe FA, Opstad KS. <sup>1</sup>H MR spectroscopy of brain tumours and masses. *NMR Biomed*. 2003;16:123–131.
27. Insel TR, Miller LP, Gelhard RE. The ontogeny of excitatory amino acid receptors in rat forebrain—I. N-methyl-



- D-aspartate and quisqualate receptors. *Neuroscience*. 1990;35:31–43.
28. Klose U. In vivo proton spectroscopy in presence of eddy currents. *Magn Reson Med*. 1990;14:26–30.
  29. Lin C, Bernstein M, Huston J, Fain S. In vivo and in vitro measurements of T1 relaxation at 3.0T. *Proc 9th meeting ISMRM*; Glasgow. 2001. p. 1391.
  30. Lubman DI, Allen NB, Rogers N, Cementon E, Bonomo Y. The impact of co-occurring mood and anxiety disorders among substance-abusing youth. *J Affect Disord*. 2007;103:105–112.
  31. Munoz Maniega S, Cvorovic V, Armitage PA, Marshall I, Bastin ME, Wardlaw JM. Choline and creatine are not reliable denominators for calculating metabolite ratios in acute ischemic stroke. *Stroke*. 2008;39:2467–2469.
  32. Ogg RJ, Kingsley PB, Taylor JS. WET, a T1- and B1-insensitive water-suppression method for in vivo localized <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *J Magn Reson B*. 1994;104:1–10.
  33. Ongur D, Prescott AP, Jensen JE, Cohen BM, Renshaw PF. Creatine abnormalities in schizophrenia and bipolar disorder. *Psychiatry Res*. 2009;172:44–48.
  34. Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med*. 1993;30:672–679.
  35. Realini N, Rubino T, Parolaro D. Neurobiological alterations at adult age triggered by adolescent exposure to cannabinoids. *Pharmacol Res*. 2009;60:132–138.
  36. Rubino T, Parolaro D. Long lasting consequences of cannabis exposure in adolescence. *Mol Cell Endocrinol*. 2008;286:S108–S113.
  37. Sailasuta N, Ernst T, Chang L. Regional variations and the effects of age and gender on glutamate concentrations in the human brain. *Magn Reson Imaging*. 2008;26:667–675.
  38. Schulte RF, Boesiger P. ProFit: two-dimensional prior-knowledge fitting of J-resolved spectra. *NMR Biomed*. 2006;19:255–263.
  39. Schulte RF, Lange T, Beck J, Meier D, Boesiger P. Improved two-dimensional J-resolved spectroscopy. *NMR Biomed*. 2006;19:264–270.
  40. Semple DM, McIntosh AM, Lawrie SM. Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review. *J Psychopharmacol*. 2005;19:187–194.
  41. Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TE, Johansen-Berg H, Bannister PR, De Luca M, Drobnjak I, Flitney DE, Niazy RK, Saunders J, Vickers J, Zhang Y, De Stefano N, Brady JM, Matthews PM. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage*. 2004;23 Suppl 1:S208–S219.
  42. Traber F, Block W, Lamerichs R, Gieseke J, Schild HH. <sup>1</sup>H metabolite relaxation times at 3.0 tesla: Measurements of T1 and T2 values in normal brain and determination of regional differences in transverse relaxation. *J Magn Reson Imaging*. 2004;19:537–545.
  43. Vassar Stats, <http://faculty.vassar.edu/lowry/ancova2L.html> (ultimo accesso 14/01/2011).
  44. Wansapura JP, Holland SK, Dunn RS, Ball WS, Jr. NMR relaxation times in the human brain at 3.0 tesla. *J Magn Reson Imaging*. 1999;9:531–538.
  45. Zhang Y, Brady M, Smith S. Segmentation of brain MR images through a hidden Markov random field model and the expectation-maximization algorithm. *IEEE Trans Med Imaging*. 2001;20:45–57.

## 2.1.4 Alterazioni dello spessore corticale prefrontale e insulare in adolescenti consumatori di marijuana

Melissa P. Lopez-Larson<sup>1 2 3</sup>, Piotr Bogorodski<sup>4</sup>, Jadwiga Rogowska<sup>5</sup>, Erin McGladea<sup>3</sup>, Jace B. King<sup>1</sup>, Janine Terry<sup>1</sup>, Deborah Yurgelun-Todd<sup>1 2 3</sup>

<sup>1</sup> The Brain Institute, University of Utah, Salt Lake City, UT, United States

<sup>2</sup> University of Utah Medical School, Salt Lake City, UT, United States

<sup>3</sup> VISN 19 MIRREC, Salt Lake City, UT, United States

<sup>4</sup> Institute of Radioelectronics, Warsaw Technical University, Warsaw, Poland

<sup>5</sup> Brain Imaging Center, McLean Hospital/Harvard Medical School, Belmont, MA, United States

[Abstract](#)

I dati riguardanti l'impatto della marijuana (MJ) sullo sviluppo corticale durante l'adolescenza sono limitati. L'adolescenza è un periodo di importante maturazione cerebrale e alterazioni dello spessore corticale possono essere indicative di disturbi del normale sviluppo corticale. Questa indagine ha applicato tecniche basate sulla ricostruzione della superficie corticale, per raffrontare misurazioni dello spessore corticale in adolescenti consumatori di MJ rispetto ad adolescenti non consumatori.

Diciotto adolescenti con forte uso di MJ e diciotto controlli non consumatori di età analoga sono stati sottoposti a risonanza MRI utilizzando uno scanner Siemens 3T. La ricostruzione corticale e la segmentazione volumetrica sono state eseguite con il software FreeSurfer. Le differenze relative allo spessore corticale sono state valutate tramite mappe di differenza statistica con covarianza per età e sesso.

Rispetto ai non consumatori, i consumatori di MJ presentavano una riduzione dello spessore corticale a carico della corteccia frontale mediale caudale destra, insulare bilaterale e frontale superiore bilaterale. I consumatori di marijuana presentavano un aumento di spessore corticale nella regione linguale bilaterale, temporale superiore destra, parietale inferiore destra e paracentrale sinistra. Nei consumatori di MJ sono state rilevate correlazioni negative tra la regione frontale e la regione linguale e i livelli di cannabinoidi nell'urina, e tra l'età di inizio d'uso e il giro frontale superiore destro.

Si tratta di uno dei primi studi di valutazione dello spessore corticale in un gruppo di adolescenti forti consumatori di MJ rispetto a non consumatori. I nostri risultati sono coerenti con precedenti studi che documentavano anomalie nelle regioni prefrontale e insulare. I nostri risultati ipotizzano che l'età di uso regolare possa essere associata ad uno sviluppo alterato della materia grigia corticale prefrontale negli adolescenti. Inoltre una riduzione dello spessore corticale insulare può essere un marker biologico di maggior rischio di dipendenza da sostanze.

### 1. Introduzione

Dai primi anni '90 si è registrata una netta ripresa dell'uso di sostanze negli adolescenti [1, 2]. Benché gli effetti delle sostanze illecite sulla struttura e sulle funzioni cerebrali non siano stati compiutamente descritti, dati recenti ipotizzano conseguenze neurobiologiche



negative dell'uso di sostanze nell'adolescente e nel giovane adulto, comprese alterazioni della materia bianca, irregolarità del funzionamento elettrofisiologico cerebrale e modifiche dei livelli omeostatici dei neurotrasmettitori e dei metaboliti cerebrali [3-11]. Il cervello degli adolescenti può essere particolarmente vulnerabile agli effetti neurofisiologici delle sostanze illecite, in quanto l'adolescenza è un periodo critico per la maturazione cerebrale, compreso il pruning sinaptico della materia grigia [12-15]. L'adolescenza è anche un periodo evolutivo critico durante il quale le funzioni corticali superiori, come il processo decisionale, sono ancora in fase di sviluppo; l'adolescenza è pertanto un periodo di maggior vulnerabilità all'uso di sostanze e al rapido aumento dell'utilizzo di droghe [16-20].

Al momento i dati riguardanti l'impatto dell'uso di marijuana (MJ) sullo sviluppo della materia grigia corticale nell'adolescente sono limitati. Inoltre, studi strutturali di imaging per la valutazione dell'impatto dell'uso di MJ nell'adulto basati sulla morfometria cerebrale hanno prodotto risultati confliggenti. Alcuni studi non sono pervenuti a identificare alterazioni anatomiche significative associate all'uso di MJ [21-24], mentre altri riferiscono atrofia cerebrale [25], ridotta concavità e assottigliamento dei solchi nel lobo frontale destro [26] nei consumatori di MJ. Uno studio su soggetti adulti ha riferito che i soggetti che avevano iniziato a usare MJ prima dei 17 anni presentavano ridotti volumi del cervello in toto, una percentuale inferiore del volume di materia grigia corticale e una maggiore percentuale del volume della materia bianca rispetto ai non consumatori [27], facendo così ipotizzare che l'inizio dell'uso di MJ in età precoce possa essere associato ad alterazioni cerebrali strutturali significative.

Gli studi di risonanza magnetica funzionale (fMRI) negli adulti consumatori di MJ hanno riferito alterazioni nell'attivazione della regione prefrontale e insulare in soggetti a cui è stato chiesto di svolgere compiti cognitivi quali quelli relativi all'attenzione [28-31], alla memoria di lavoro [32-34], al controllo inibitorio [17, 19, 35, 36] e al processo decisionale [16] durante l'uso sia acuto sia cronico di MJ e in astinenza [37]. Per esempio Kanayama ha utilizzato un compito di memoria di lavoro spaziale per esaminare l'attività cerebrale in consumatori cronici di MJ e ha riferito un'aumentata attivazione nelle regioni cerebrali tipicamente utilizzate per compiti di memoria di lavoro spaziale, quali la corteccia prefrontale e il cingolo anteriore, rispetto ai non consumatori [32]. Bolla et al., tramite il compito decisionale Iowa Gambling Task, hanno valutato le differenze nei modelli di attivazione nei consumatori di MJ in astinenza da 25 giorni rispetto ai non consumatori, rilevando alterazioni dose-correlate nelle prestazioni e differenze nell'attività cerebrale tra i gruppi nelle regioni prefrontali quali la corteccia orbitofrontale (OFC) e la corteccia prefrontale dorsolaterale (DLPFC) rispetto ai non consumatori [16]. Inoltre, Hester et al. hanno riferito che i consumatori cronici attivi di MJ mostravano una ridotta capacità di controllo del comportamento, associata a ipoattività della corteccia cingolata anteriore (ACC) e dell'insula destra rispetto ai non consumatori in un compito di inibizione go/no go [19]. Aumentati livelli di ipoattività sia nell'ACC sia nell'insula destra indicavano una correlazione significativa con i tassi di consapevolezza dell'errore nel gruppo MJ [19]. Numerosi studi di imaging funzionale hanno altresì riscontrato un'attivazione sia prefrontale sia insulare durante il craving [38-42]. In uno studio su forti fumatori di sigaretta è stata evidenziata una correlazione positiva tra intensità del craving e metabolismo del glucosio nell'insula anteriore bilaterale, nella DLPFC e nella OFC [38]. In un'indagine riguardante il craving in soggetti dipendenti da cocaina, è stato riscontrato un aumento dell'attivazione nell'insula sinistra e nell'ACC in fase di raffronto tra immagini sull'uso di droghe e immagini neutre [39]. In uno studio su studenti di college ad alto rischio di abuso di alcol, stimoli riguardanti alcol e droghe



producevano maggiore attivazione nell'insula destra rispetto a stimoli neutri [41]. Infine, in uno studio su 38 consumatori abituali di MJ in astinenza da 72 ore, le strutture del sistema di gratificazione, incluse l'insula e l'ACC, hanno dimostrato una maggiore attivazione in risposta a uno stimolo MJ rispetto a uno stimolo neutro [40]. Questi risultati indicano la presenza di alterazioni funzionali nella regione prefrontale e insulare nei soggetti che usano droghe. Le disfunzioni prefrontale e insulare, se associate, possono indicare anomalie nel controllo inibitorio, nel processo decisionale e nell'aumento del craving con conseguente inizio e mantenimento dell'uso di droghe [42-45].

Un'alterazione dello spessore corticale può essere indicativa di sviluppo corticale atipico o di disturbi della normale maturazione corticale. Precedenti studi che hanno applicato metodi per analizzare lo spessore corticale hanno riscontrato anomalie nei disturbi dello sviluppo neurologico, ad esempio sindrome da deficit di attenzione e iperattività (ADHD) [46-48], disturbo dello spettro autistico [49], schizofrenia al primo stadio e, in soggetti a rischio genetico, schizofrenia [50,51]. Inoltre, recenti studi hanno adottato tecniche basate sullo spessore corticale per studiare le alterazioni della materia grigia corticale a seguito di esposizione a sostanze quali metanfetamina, alcol, nicotina e MJ [51-54]. In uno di questi studi l'esposizione alla MJ era ad esempio associata ad un maggior assottigliamento corticale cerebrale nella regione frontale e del paraippocampo nei soggetti con rischio genetico medio-alto di schizofrenia rispetto a quelli a basso rischio genetico [51]. Pertanto il presente studio ha utilizzato tecniche basate sulla ricostruzione della superficie corticale per comparare le misure dello spessore corticale in adolescenti consumatori di MJ rispetto a non consumatori. Sulla base di precedenti studi di imaging strutturale e funzionale su soggetti adulti abbiamo ipotizzato che si sarebbe rilevata una riduzione dello spessore corticale nelle regioni della corteccia prefrontale e insulare. Inoltre, dal momento che esistono sempre maggiori evidenze che l'età d'inizio d'uso della marijuana rappresenta una variabile critica per comprenderne gli effetti sulle alterazioni strutturali e neurocognitive [27], avevamo previsto che l'età di inizio d'uso sarebbe stata associata a una riduzione dello spessore corticale in entrambe le regioni prefrontale e insulare.

## 2. Materiali e metodi

Questo studio è stato approvato dall'Institutional Review Board dell'Università dello Utah. Tutti i soggetti sono stati reclutati localmente tramite annunci pubblicitari. Il criterio di inclusione nell'indagine era un'età compresa tra i 16 e i 19 anni per tutti i soggetti. I criteri di inclusione per i consumatori di MJ comprendevano un'autodichiarazione di forte consumo di MJ con almeno 100 spinelli fumati nell'ultimo anno. I soggetti di controllo non dovevano presentare disturbi di Asse I secondo i criteri diagnostici del DSM-IV sulla base di interviste cliniche e strutturate. I soggetti di controllo non presentavano anamnesi familiari nei parenti di primo grado di disturbo bipolare, ADHD, psicosi o altri disturbi psichiatrici. L'anamnesi familiare è stata ottenuta tramite intervista clinica con i partecipanti e/o i genitori. I criteri di esclusione per tutti i soggetti comprendevano: gravi handicap senso-motori (per es. sordità, cecità, paralisi); QI stimato <70 (basato sulla misurazione della fluenza verbale [55] e del rendimento scolastico) o pregresse difficoltà di apprendimento; precedenti di claustrofobia, autismo, schizofrenia, anoressia nervosa o bulimia, dipendenza/abuso di alcol o altra droga (nei 2 mesi precedenti allo scanning o anamnesi totale  $\geq 12$  mesi), patologia medica o neurologica attiva; precedenti terapie elettro convulsivanti TEC; corpi metallici

o impianti; gravidanza o allattamento in corso. Tutti i soggetti hanno fornito il consenso scritto e i genitori (o tutore legale) hanno fornito il consenso informato scritto per la partecipazione dei figli minorenni. Tutti i partecipanti sono stati sottoposti ad un'intervista clinica e diagnostica semistrutturata da parte di uno psichiatra infantile certificato dal direttivo (MLL) o da parte di uno psicologo clinico specializzato (EM). Gli adolescenti minori di 18 anni hanno compilato la Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia per bambini e adolescenti (K-SADS-PL) [56] con item aggiuntivi di onset e offset dell'umore tratte dalla WASH-UK-SADS (K-SADS-PL-W) [57]. La K-SADS-PL è un'intervista semi strutturata utilizzata per valutare i disturbi psichiatrici nei bambini e negli adolescenti. Poiché questo strumento è costituito dalla K-SADS-PL con item aggiuntivi basati sulla WASH-UK-SADS, ci riferiremo al medesimo come K-SADS-PL-W. La K-SADS-PL-W è stata somministrata ai partecipanti minori di 18 anni. Per i partecipanti maggiori di 18 anni è stata utilizzata l'intervista clinica strutturata per il DSM-IV Patient Version (SCID4/P) [58] con il modulo ADHD della K-SADS-PL-W. Tutte le diagnosi sono state confermate tramite consenso (DYT, MLL, EM). Le misurazioni della psicopatologia in corso sono state ottenute attraverso il Profile of Mood States (POMS) [59], lo State-Trait Anxiety Inventory (STAI) [60], la scala di Hamilton per la depressione (HAM-D) [61] e la scala di Hamilton per l'ansia (HAM-A) [62]. La valutazione del funzionamento globale (GAF) del DSM-IV-TR [63] è stata utilizzata per valutare il funzionamento globale tramite una scala da 1 (minimo) a 10 (massimo). Tutti i partecipanti sono stati sottoposti ad uno screening tossicologico immediatamente prima della risonanza. Successivamente sono stati analizzati campioni di urina per ottenere i livelli di cannabinoidi urinari. Inoltre, tramite interviste e autodichiarazioni, sono state ottenute da tutti i partecipanti informazioni riguardanti l'età di primo utilizzo di marijuana, l'età di uso regolare e la frequenza di utilizzo. L'utilizzo totale di marijuana nel corso della vita è stato calcolato moltiplicando il numero medio di spinelli fumati a settimana per la durata di utilizzo.

#### Imaging a risonanza magnetica (MRI)

L'imaging strutturale è stato eseguito presso lo Utah Center for Advanced Imaging Research (UCAIR) tramite uno scanner Siemens Trio3T. Le acquisizioni di dati strutturali includono una sequenza grappa 3D MPRAGE pesata in T1 acquisita sagittalmente, con TE/TR/TI=3.38ms/2.0s/1.1s, 83 flip, matrice acquisizione 256x256, FOV 256 mm<sup>2</sup>, 160 sezioni, spessore sezioni 1.0 mm. I dati di imaging originali sono stati trasferiti dallo scanner in formato DICOM e resi anonimi.

Alla prima analisi del livello specifico dei soggetti, lo spessore corticale di ogni soggetto è stato stimato nell'ambiente di analisi dell'immagine FreeSurfer [64-66]. Innanzitutto i volumi T1 MPRAGE ad alta risoluzione sono stati convertiti nel formato specifico di FreeSurfer, normalizzati per intensità e ricampionati con voxel isotropici di 1mm x 1 mm x 1mm. Successivamente il cranio è stato rimosso dalle immagini tramite un algoritmo di skull-stripping [67] ed è stato segmentato per tipi di tessuto. Il volume della materia bianca (WM) segmentata è stato utilizzato per derivarne una superficie tassellata a rappresentare il confine tra materia grigia-bianca. La superficie è stata corretta automaticamente per i difetti topologici ed espansa per modellare il confine piale-grigia in modo da produrre una seconda superficie reticolata collegata. La distanza tra il confine della materia grigia-bianca e il reticolo piale è stata utilizzata per stimare lo spessore corticale. Lo spessore corticale del singolo soggetto è stato normalizzato per il template di curvatura standard sferico-spaziale con un numero di procedure deformabili, incluse inflazione della superficie e registrazione sferica che utilizzavano pattern di folding corticale individuale per armonizzare la geometria corticale tra i vari soggetti. La corteccia è stata partizionata tramite una

procedura di segmentazione bayesiana automatica progettata per replicare la suddivisione neuroanatomica definita da Desikan et al. in modo da ottenere le misure dello spessore dei giri e dei solchi corticali [68].

La seconda analisi specifica di gruppo è stata condotta mediante utilizzo di un modello lineare generalizzato (GLM) per ogni vertice, con età e sesso come covariate, in modo da verificare le differenze nello spessore corticale tra adolescenti consumatori di marijuana e non consumatori. Precedentemente misurazioni dello spessore corticale normalizzato sono state sottoposte a smoothing tramite filtro gaussiano (FWHM) di 10 mm, e comparate con i risultati di spessore pari a 5 mm, 15 mm, 20 mm, 25 mm. Le mappe (z-stat) di differenza di gruppo sono state corrette per comparazioni multiple tra i vertici utilizzando test di inferenza non parametrica di simulazione gaussiana [69]. I risultati sono stati ritenuti significativi con una probabilità clusterwise (CWP)  $\leq 0.001$  (10000 simulazioni, soglia iniziale formazione cluster a p-non corretto=0.05), completamente corretti per comparazioni multiple.

Ogni fase di elaborazione è stata verificata attraverso: (a) verifica visiva della segmentazione; (b) verifica visiva dell'allineamento con (i) retroproiezione del solco del template medio nelle regioni di interesse (ROI) in immagini del singolo soggetto e (ii) retroproiezione di una regione di interesse (ROI) con differenze di gruppo significative (più ridotte) nella regione postcentrale rispetto al template in immagini T1 del singolo soggetto; (c) ricerca di valori anomali nelle misurazioni dello spessore corticale regionale del paziente; e (d) visualizzazione sferica della curvatura dopo l'allineamento.

Per confermare i nostri risultati attraverso l'analisi del cervello in toto per cluster, abbiamo effettuato un'analisi delle ROI sulle misure dello spessore corticale estratte dai file di parcellizzazione costruiti in base all'atlante corticale di Destrieux [68]. Questo schema di parcellizzazione (divisione della corteccia in giri e solchi) ha portato a un risultato di 156 misurazioni di spessore corticale in media per entrambi gli emisferi. Nel presente studio era possibile che due campioni presentassero varianze non uguali, pertanto abbiamo utilizzato l'approccio del t-test di Welch a due campioni con il numero di gradi di libertà stimato per approssimazione di Satterthwaite (cfr. Tabella 3 seconda colonna). Abbiamo quindi identificato le ROI con maggiori differenze, misurate in base al p-value (0.05).

Sono state condotte analisi univariate per il volume cerebrale totale segmentato (TBV), inclusi i ventricoli e il cervelletto, con controllo di età e sesso. I valori dello spessore corticale medio per i cluster significativi sono stati ottenuti creando una ROI attorno ad ogni cluster significativo sulla mappa statistica delle differenze di gruppo. Successivamente, ogni ROI è stata mappata nell'immagine analizzata di ciascun partecipante e sono state estratte le misure dello spessore corticale medio. Sono state eseguite correlazioni di Spearman tra lo spessore corticale medio e le variabili cliniche (età, età di uso regolare, totale spinelli fumati nel corso della vita e livello di cannabinoidi nelle urine al momento della risonanza) per ogni cluster che presentava differenze significative tra i gruppi diagnostici nell'analisi del cervello in toto per ciascun cluster.

**Tabella 1 - Caratteristiche demografiche e cliniche degli adolescenti consumatori di MJ e dei non consumatori HC.**

	MJ (N=18)	HC (N=18)	Significatività
Maschio (%)	17 (94,4)	12 (66,6)	
Bianco, non ispanico (%)	18 (100)	12 (66,6)	
	Media (DS*)	Media (DS)	Significatività
Età	17,8 (1,0)	17,3 (0,8)	ns
HAM-Da	2,1 (3,0)**	0,8 (1,4)	ns
HAM-Ab	2,0 (2,7)**	1,3 (1,9)	ns
STAIc	63,7 (21,1)	59,9 (14,8)	ns
POMSd	18,2 (29,8)	15,4 (23,7)	ns
Fluenza verbale	45,8 (9,6)	37,5 (8,7)	0,03
Età uso regolare (anni)	15,7 (0,9)	-	-
Durata consumo (mesi)	18,6 (14,4)	-	-
Livello di MJ urine (ng/mL)	454,6 (351,7)	-	-
Numero di spinelli a settimana	10,4 (8,0)	-	-
Totale spinelli nell'arco della vitae	1.346,4 (1.371,6)	-	-

a) Scala di Hamilton per la depressione

b) Scala di Hamilton per l'ansia

c) State-Trait Anxiety Inventory

d) Profile of mood states

e) Il totale spinelli fumati nel corso dell'arco della vita è stato calcolato moltiplicando la media degli spinelli fumati a settimana per la durata di utilizzo

\* Deviazione standard

\*\* n=17

### 3. Risultati

Abbiamo acquisito dati su diciotto adolescenti (età  $17.8 \pm 1.0$ ; femmine: n=2) forti consumatori di MJ e su diciotto non consumatori di età analoga ( $17.3 \pm 0.8$ ; femmine: n=6). È stata riscontrata una fluenza verbale significativamente superiore ( $F=5.5$ ,  $p=0.03$ ) nel gruppo MJ ( $45.8 \pm 9.6$ ) rispetto ai non consumatori ( $37.5 \pm 8.7$ ) dopo aver effettuato l'analisi di covarianza per età. Tutti i partecipanti frequentavano la scuola superiore o il college, o si erano diplomati di recente e stavano programmando di iscriversi all'Università nei 3 mesi successivi. Tutti i partecipanti riferivano un successo scolastico nella media o superiore alla media. Le caratteristiche demografiche e cliniche dei gruppi sono riportate in Tabella 1. Un soggetto MJ riferiva un pregresso episodio di grave depressione ed era in terapia con citalopram, un altro soggetto MJ riferiva precedenti di forte consumo di alcol da meno di un anno. Anche tre consumatori di MJ (16%) affermavano di aver assunto alcol più di una volta a settimana, ma non soddisfacevano i criteri di dipendenza. Nessun altro soggetto MJ riferiva precedenti psichiatriche, né assumeva sostanze psicotropiche o riferiva disturbi imputabili all'assunzione di altre sostanze. L'età media di uso regolare era 15.7 anni, la frequenza

media di utilizzo di MJ era  $10.4 \pm 8$  volte/settimana e il totale di spinelli nell'arco della vita era  $1.346,4 \pm 1.371,6$  (mediana=1.106, errore standard=323.3, range=158-5.250). Il livello medio di cannabinoidi nell'urina il giorno della risonanza era pari a  $454.6 \pm 351.7$  ng/mL.

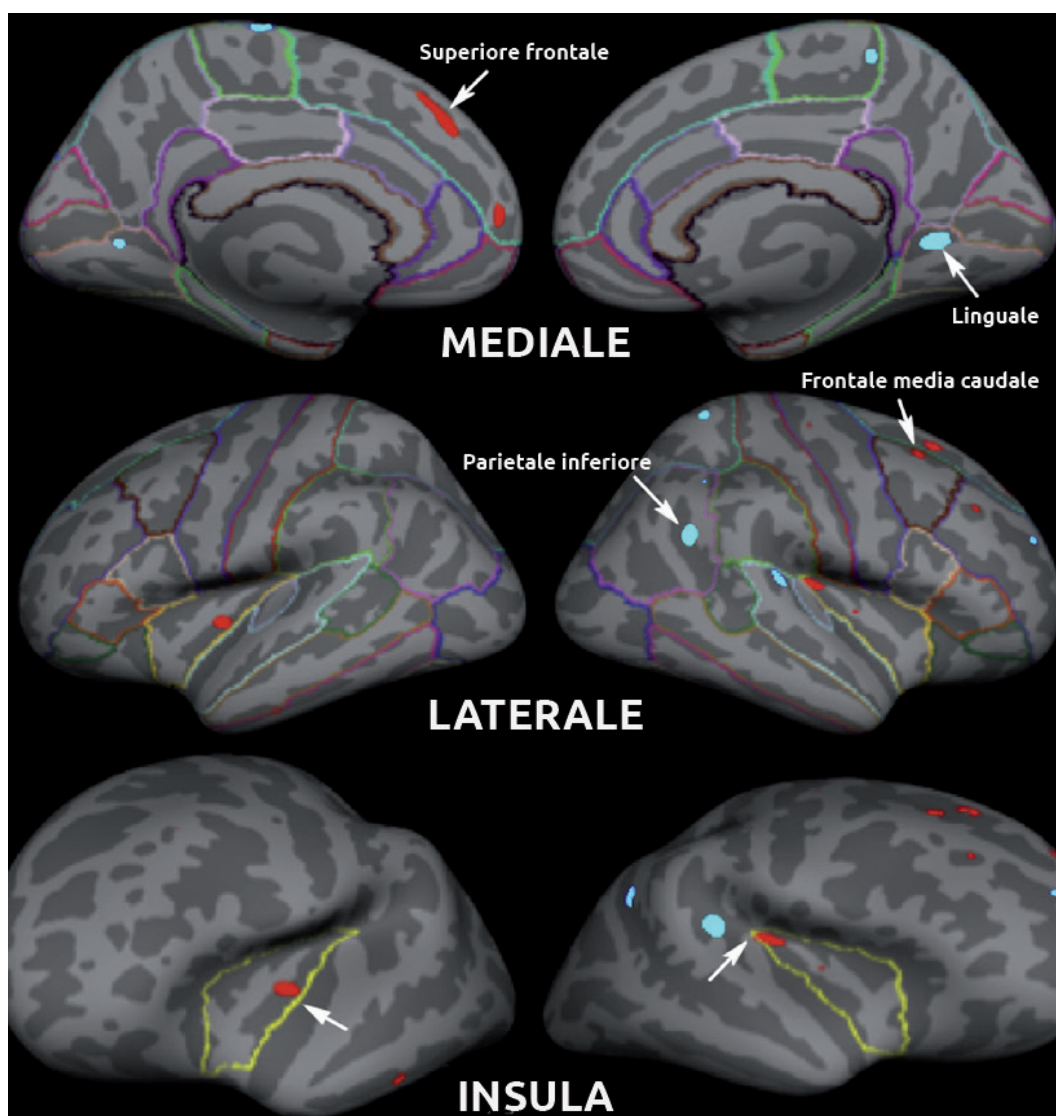
**Tabella 2 - Risultati dell'analisi dello spessore corticale per cluster negli adolescenti consumatori di marijuana MJ e nei controlli HC.**

Regione	Massimo	Dimensione	Coordinate di Talairach			CWP
		(mm)	X	Y	Z	
Emisfero destro						
HC>MJ						
Insula	3,7	68,9	31	- 23	14	≤0,001
Frontale superiore	2,6	65,5	21	18	45	≤0,001
Frontale media caudale	2,8	37,4	29	13	42	≤0,001
MJ>HC						
Linguale	- 3,3	111,0	21	- 58	3	≤0,001
Temporale superiore	- 3,3	87,7	45	- 33	13	≤0,001
Parietale superiore	- 2,3	45,1	26	- 43	59	≤0,001
Parietale inferiore	- 2,8	44,5	45	-49	27	≤0,001
Emisfero sinistro						
HC>MJ						
Frontale superiore	2,6	172,8	- 9	34	34	≤0,001
Insula	2,4	49,6	- 34	- 13	0	≤0,001
MJ>HC						
Paracentrale	- 2,8	77,1	- 6	- 16	67	≤0,001
Linguale	- 2,4	30,5	- 14	- 64	4	≤0,001

Non sono state riscontrate differenze significative nel volume totale segmentato del cervello in toto tra i consumatori di MJ ( $1385.72 \pm 103.6$  cm<sup>3</sup>) e i non consumatori ( $1309.07 \pm 103.4$  cm<sup>3</sup>). All'analisi del cervello in toto per ciascun cluster, i consumatori di MJ presentavano una riduzione dello spessore corticale nella regione frontale media caudale destra, nella corteccia frontale superiore bilaterale e nell'insula bilaterale rispetto ai non consumatori. I consumatori di MJ presentavano uno spessore corticale maggiore nella regione linguale bilaterale, temporale superiore destra, parietale inferiore e superiore destra e paracentrale sinistra rispetto ai non consumatori (cfr. Tabella 2 per i dati riguardanti l'analisi per cluster e Fig.1 per i cluster significativamente differenti tra i gruppi). Allo scopo di verificare i nostri risultati, i valori di spessore sono stati estratti da 156 regioni cerebrali parcellate e sono state condotte analisi statistiche per stabilire quali delle 15 regioni cerebrali evidenziassero le maggiori differenze tra i due gruppi. Abbiamo confermato i nostri risultati riguardanti il cervello in toto per l'insula centrale sinistra ( $p=0.02$ ). Anche lo spessore della scissura calcarina destra ( $p=0.01$ ) e lo spessore del giro temporale superiore laterale sinistro ( $p=0.04$ ) si differenziavano significativamente nei due gruppi (Tabella 3).

Confronti di  
morfometria  
cerebrale

Figura 1 - Analisi dello spessore corticale del cervello in toto per cluster in adolescenti consumatori di marijuana (MJ) e controlli. Il colore rosso indica che lo spessore corticale è maggiore nei controlli rispetto ai consumatori di MJ, il colore azzurro indica che lo spessore corticale è maggiore nei consumatori di MJ rispetto ai controlli.



I valori medi dello spessore corticale per ogni individuo sono stati estratti da ogni cluster che presentava differenze significative tra i gruppi all'analisi del cervello in toto. Le correlazioni di Spearman sono state effettuate tra i correlati clinici e i valori medi dello spessore corticale per il gruppo MJ. Sono state registrate correlazioni negative tra l'età di utilizzo regolare e lo spessore corticale frontale superiore destro ( $r=0.72$ ,  $p=0.001$ ). (Cfr. Fig. 2 per l'illustrazione della correlazione negativa tra regione frontale superiore destra ed età di utilizzo regolare). Anche per i livelli di cannabinoidi nelle urine sono state osservate correlazioni negative nella corteccia frontale mediale caudale destra ( $r=-0.63$ ,  $p=0.01$ ), nel giro linguale destro ( $r=-0.63$ ,  $p=0.01$ ) e nel giro frontale superiore sinistro ( $r=-0.50$ ,  $p=0.04$ ). L'età non era correlata in modo significativo con i valori dello spessore corticale ottenuti dai cluster significativi. Le correlazioni di Spearman sono state effettuate per la fluency verbale e per i valori significativi dello spessore corticale. Non è stata riscontrata alcuna correlazione significativa tra fluency verbale e valori di spessore corticale nel gruppo di consumatori di cannabis.

**Tabella 3 - Le 15 regioni di interesse (ROI) con le differenze di spessore corticale maggiormente significative tra adolescenti consumatori di marijuana e controlli.**

Spessore corticale medio ROI	p-value	df**	statistica t
Emisfero destro			
Scissura calcarina*	0,01	28,71	- 2,89
Solco del giro retto	0,05	32,07	2,02
Solco precentrale superiore	0,09	33,68	- 1,75
Giro lungo dell'insula	0,15	30,95	1,47
Solco occipito temporale laterale	0,17	33,97	1,41
Solco collaterale trasverso anteriore	0,19	33,89	1,33
Giro cingolato	0,20	33,90	1,32
Solco centrale dell'insula	0,22	30,44	1,27
Solco subcentrale	0,23	33,99	1,22
Emisfero sinistro			
Solco centrale dell'insula*	0,02	33,91	2,43
Solco insulare circolare inferiore	0,04	32,92	2,09
Giro temporale superiore laterale	0,10	31,55	1,72
Solco precentrale superiore	0,10	32,93	- 1,68
Solco paracentrale	0,14	33,95	- 1,52
Giro angolare parietale inferiore	0,17	33,99	1,41

\* ROI indicative dell'esclusione dell'ipotesi nulla per significatività 0.05.

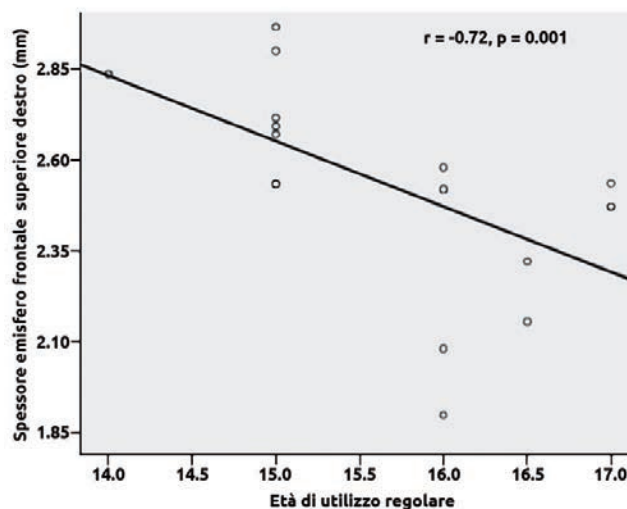
\*\* Gradi di libertà (df) calcolati per approssimazione di Satterthwaite.

## 4. Discussione

Il presente studio è uno dei primi ad aver valutato lo spessore corticale in un gruppo di adolescenti forti consumatori di MJ rispetto a non consumatori. A differenza di questi ultimi, i consumatori di MJ presentavano una riduzione dello spessore corticale nella corteccia frontale mediale caudale destra, frontale superiore bilaterale e nell'insula bilaterale. Inoltre i consumatori di MJ presentavano un aumento dello spessore corticale nelle regioni linguale bilaterale, temporale superiore destra, parietale destra e paracentrale sinistra rispetto ai non consumatori. Una successiva analisi delle ROI ha ulteriormente confermato che lo spessore insulare era significativamente diverso tra i gruppi. Sono state osservate correlazioni negative tra l'età di inizio di utilizzo regolare e il giro frontale superiore destro. Sono state osservate correlazioni negative anche tra corteccia frontale mediale caudale, giro linguale destro e corteccia frontale superiore sinistra e livelli di cannabinoidi nelle urine.



Figura 2 - Diagramma di correlazione negativa tra spessore corticale della regione frontale superiore destra (mm) ed età di uso regolare (anni).



Sebbene non siano state evidenziate differenze significative nei volumi totali di cervello segmentato, i nostri risultati sono coerenti con precedenti studi morfometrici su consumatori adulti di MJ con alterazioni corticali documentate [25-27]. Per esempio, in uno studio di Wilson et al. su soggetti che avevano iniziato a usare marijuana prima dei 17 anni è stata osservata una riduzione dei volumi del cervello in toto, una riduzione della percentuale di materia grigia corticale e un aumento dei volumi percentuali di materia bianca rispetto ai partecipanti che avevano iniziato a usare marijuana dopo i 17 anni [27]. Inoltre, Campbell et al. hanno riferito atrofia cerebrale negli adulti consumatori di MJ misurata con encefalografia ad aria [25]. Mata et al. non hanno rilevato differenze nello spessore corticale dei consumatori di MJ rispetto ai non consumatori, ma hanno tuttavia individuato una riduzione bilaterale della concavità del solco e una riduzione dello spessore del solco nel lobo frontale destro dei consumatori di MJ [26]. Lo stesso studio riferisce inoltre che anche nei controlli sani erano stati osservati una girificazione ridotta e un decremento dello spessore corticale correlato all'età, dato assente nei consumatori di MJ [26]. Gli autori hanno ipotizzato che tali risultati indicassero un'alterazione prematura della girificazione corticale nei consumatori di MJ [26]. L'assenza di differenze nello spessore corticale tra i gruppi dello studio di Mata, rispetto al nostro, può essere correlata alla risoluzione dell'immagine associata alla potenza dello scanner (3T vs. 1T), allo spessore delle sezioni (1.0 mm versus 1.5 mm), a differenze metodologiche (analisi del cervello in toto vs. analisi a livello di lobi), all'età media e al range di età dei partecipanti (età media=25.7±5.0 vs. 17.8±1.0). Ulteriori differenze tra i campioni dei due studi, ad esempio la frequenza d'uso (26.6x/settimana vs. 10.4x/settimana), l'età di inizio di uso regolare (17.3 vs. 15.7) e il tasso di utilizzo di alcol (76.7% vs. 16%), possono avere altresì contribuito a risultati differenti [26].

I dati riguardo l'alterazione prematura nella girificazione corticale dello studio di Mata et al. [26], e i dati del nostro studio riguardo il ridotto spessore corticale nelle regioni cerebrali insulare e frontale e l'aumentato spessore della regione linguale e temporo-parietale, ipotizzano entrambi delle differenze nella traiettoria evolutiva degli adolescenti consumatori di MJ. Si ritiene che la maturazione cerebrale avvenga in direzione postero-anteriore, con un primo sviluppo delle regioni sensorimotorie seguito dalle aree di associazione di livel-

lo superiore, e infine dalle aree di associazione eteromodale della corteccia prefrontale e temporo-laterale [52, 70, 71]. Generalmente la maturazione della materia grigia avviene attraverso l'assottigliamento del mantello corticale e si presume sia correlata al pruning sinaptico [52, 70, 71]. I nostri risultati di riduzione delle regioni frontale e insulare portano a ritenere che la maturazione corticale sia avvenuta normalmente con una successiva perdita di tessuto di materia grigia associata alla neurotossicità della MJ, oppure che gli adolescenti consumatori di MJ presentino una traiettoria evolutiva della materia grigia atipica senza aver mai raggiunto lo spessore corticale di picco rispetto ai non consumatori. Questo sviluppo corticale atipico può rappresentare un fattore di rischio per l'uso di sostanze. Inoltre, l'aumento dei valori dello spessore corticale per le regioni linguale e temporo-parietale può essere associato ad un'alterazione prematura o ad un ritardo dell'assottigliamento corticale nei consumatori di MJ, risultato analogo a quello acquisito da Mata et al. [26]. Nel complesso i nostri risultati indicano che l'uso di MJ ha un impatto sullo sviluppo cerebrale corticale negli adolescenti e che possono essere individuabili determinati fattori di rischio endofenotipico per l'uso di sostanze. Le tecniche analitiche basate sullo spessore corticale sono state applicate con successo ad altri disturbi neuroevolutivi quali ad esempio la sindrome da deficit di attenzione e iperattività (ADHD) [46-48, 72], il disturbo dello spettro autistico [49] e la schizofrenia [50, 51], e possono essere particolarmente sensibili per individuare anomalie o pattern atipici di sviluppo cerebrale.

La riduzione di materia grigia corticale nell'insula osservata nella nostra indagine concorda con precedenti studi di imaging funzionale che hanno rilevato sia un'attività anomala a carico dell'insula negli adolescenti in astinenza e con forte consumo di MJ [73, 74], sia un'attivazione insulare anomala durante il craving per alcol e droga [42, 75, 76]. Per quanto concerne nello specifico il craving da MJ, uno studio ha riferito una maggiore attivazione dell'insula in 38 adulti consumatori abituali di MJ in astinenza da 72 ore se esposti a stimoli correlati alla marijuana [76]. Inoltre, in una recente indagine, i fumatori di sigaretta con lesioni insulari avevano una maggiore probabilità di smettere di fumare e un minore desiderio di fumare rispetto ai soggetti senza lesioni insulari [77]. I maggiori volumi della materia grigia insulare anteriore destra sono stati correlati ad una migliore accuratezza nella percezione soggettiva della propria realtà interiore e ad un'esperienza emotiva negativa [78]. Inoltre Hester et al. hanno riferito che un'attività anomala dell'insula nei consumatori cronici attivi di MJ era associata a deficit del controllo comportamentale e della consapevolezza dell'errore [19]. Pertanto è possibile che una riduzione della materia grigia corticale nell'insula sia associata a una minor capacità di percepire accuratamente la soggettività interna o gli stati emotivi negativi, con conseguente ansia e craving più intenso [78].

La tossicodipendenza è stata concettualizzata anche come incapacità a riconoscere stimoli interni ed esterni correlati alla droga [79]. L'attenuata consapevolezza degli stimoli interni ed esterni è stata posta in relazione con una disfunzione insulare e può erroneamente portare a ritenere di non avere un problema con le droghe/alcol, e di riuscire a esercitare il controllo sul proprio consumo nonostante un evidente squilibrio [79]. Inoltre precedenti indagini hanno collegato la disfunzione insulare a un'alterata capacità decisionale e a una ridotta capacità di controllo del comportamento [19, 42-44]. Nel presente studio non è stata riscontrata una correlazione tra la materia grigia insulare corticale e i dati riguardanti l'età di inizio o l'uso totale di MJ durante la vita, e ciò potrebbe far ritenere che una riduzione della materia grigia insulare rappresenti un'anomalia cerebrale. Questo dato è coerente con lo studio di Ray et al. in cui è stata anche evidenziata un'attività anomala dell'insula come possibile marker biologico di rischio [41]. In questo studio, gli stimoli di alcol e droga producevano una maggiore attivazione cerebrale nell'insula destra rispetto agli

stimoli neutri somministrati a studenti universitari ad alto rischio di abuso di alcol, risultato analogo alle anomalie dell'attivazione dell'insula riscontrati in soggetti con dipendenza da sostanze [41]. Considerato il ruolo dell'insula sia nel craving sia nel processo decisionale, non è chiaro se le anomalie strutturali osservate nella struttura dell'insula nel nostro studio sugli adolescenti possano riflettere una propensione allo sviluppo di craving e/o anomalie nella capacità decisionale.

L'evidenza di una correlazione negativa con l'età di inizio di utilizzo regolare nel giro frontale superiore conferma in maniera sempre più netta che l'età di inizio di utilizzo di MJ è una variabile critica per comprendere gli effetti sui valori strutturali e neurocognitivi. I nostri risultati ipotizzano che un uso precoce di MJ potrebbe tradursi in una traiettoria evolutiva della materia grigia diversa rispetto a un utilizzo più tardivo, come dimostrato dal maggiore spessore corticale. A conforto dei nostri risultati, anche Mata et al. hanno riferito che un uso precoce di MJ può comportare un ritardo della maturazione cerebrale [26]. Precedenti studi hanno riscontrato che i consumatori di MJ che hanno iniziato a usare la sostanza prima dei 16-17 anni presentano maggiori deficit cognitivi ed emotivi rispetto ai consumatori più tardivi. Per esempio, un inizio precoce sembra essere correlato a un deficit permanente della capacità di scansione visiva [80, 81]. Uno studio ha osservato che i soggetti che avevano iniziato a usare MJ prima dei 16 anni presentavano tempi di reazione molto più lenti in un compito di scansione visiva rispetto ai soggetti che avevano iniziato dopo i 16 anni, ipotizzando così che la MJ potrebbe interferire con lo sviluppo della capacità di elaborazione visiva [80]. Becker et al. hanno rilevato che un uso precoce era associato a una maggiore attività corticale nel giro frontale inferiore e superiore, nel giro temporale superiore e nell'insula durante l'esecuzione di un compito di memoria di lavoro verbale [82]. Pope et al. hanno riferito che i soggetti che avevano iniziato a consumare MJ prima dei 17 anni esibivano minori capacità cognitive, specialmente nell'intelligenza verbale [83]. Un altro studio ha mostrato che i soggetti che avevano iniziato il consumo di MJ prima dei 18 anni avevano maggiori probabilità di sviluppare dipendenza da sostanze rispetto a quelli che avevano iniziato a 18 anni o successivamente [84]. Come riferito in precedenza, Wilson et al. [27] hanno rilevato una riduzione dei volumi del cervello in toto e un contenuto anomalo di materia grigia e bianca negli adolescenti che hanno iniziato l'uso prima dei 17 anni rispetto agli adolescenti che hanno iniziato più tardi. I consumatori precoci erano anche fisicamente più piccoli e più bassi, e i soggetti di sesso maschile presentavano un flusso ematico cerebrale particolarmente elevato [27]. In complesso, questi studi dimostrano che un inizio precoce dell'utilizzo di MJ può avere effetti permanenti sullo sviluppo cerebrale. Per quanto riguarda i livelli di cannabinoidi nelle urine, correlazioni negative nella corteccia frontale mediale caudale e nella frontale superiore sinistra suggeriscono che un consumo elevato di cannabis potrebbe compromettere in via preferenziale lo spessore corticale di queste regioni cerebrali determinando una perdita tissutale. Inoltre è stata individuata una correlazione negativa anche per i livelli di cannabinoidi nelle urine e il giro linguale destro. Si tratta di un risultato sorprendente, in quanto i nostri adolescenti consumatori di MJ presentavano valori di spessore corticale più elevati in questa regione rispetto ai controlli sani. È possibile che il maggiore spessore corticale nei giri linguali dei consumatori di MJ possa rappresentare un marker di rischio di utilizzo attuale o di intensità di utilizzo. Il giro linguale è stato correlato all'elaborazione dello stimolo visivo [85, 86], ivi comprese le componenti precoci dell'elaborazione facciale [87, 88], nonché l'orientamento nello spazio [89]. Anche un recente studio ipotizza che il giro linguale svolga un ruolo centrale per l'elaborazione di eventi inediti che avvengono esternamente al focus dell'attenzione spaziale [90]. Interessante è l'osservazione secondo cui l'uso precoce di MJ sembra correlato a un

deficit permanente nella capacità di scansione visiva [80, 81]. Inoltre, secondo alcuni dati, l'utilizzo cronico di MJ altera la risposta alle emozioni facciali mascherate [91]. Questi risultati suggeriscono che la marijuana può interferire con lo sviluppo della capacità di elaborazione visiva [80] e può potenzialmente provocare alterazioni nelle interazioni affettive. Infine, uno studio che ha messo a confronto 15 adolescenti in astinenza da marijuana con 18 adolescenti non consumatori, durante l'esecuzione di un compito di memoria di lavoro spaziale [34], ha riferito una riduzione della risposta di memoria di lavoro spaziale e un aumento della risposta vigile nel gruppo MJ a livello di giro linguale/cuneo inferiore e di porzioni superiori del cuneo, fornendo così un'ulteriore dimostrazione che la funzione del giro linguale può risultare particolarmente alterata nei consumatori di MJ.

Le aree con spessore corticale anomalo in regioni cerebrali prefrontali fondamentali, quali la corteccia frontale dorsolaterale caudale destra (DLPFC) e la corteccia frontale superiore, possono essere correlate a deficit frontali/esecutivi frequentemente osservati nei soggetti consumatori di MJ. Per esempio, ricerche sugli effetti della MJ a livello cognitivo a seguito di un breve periodo di astinenza hanno riferito che il forte consumo è associato a deficit del sistema attentivo/esecutivo [92, 93]. In un'altra indagine sugli effetti residui della MJ, sono stati arruolati forti fumatori cronici in astinenza controllata da 28 giorni per uno studio realizzato con tecniche fMRI BOLD e con una versione modificata del test di Stroop [94]. Gli autori hanno riferito che rispetto ai controlli, i forti fumatori di MJ presentavano una riduzione nell'attivazione del cingolo anteriore e un aumento dell'attivazione della DLPFC durante un compito di interferenza il giorno 1. Il giorno 28 i fumatori continuavano a presentare un'attivazione ridotta a livello di ACC, sebbene l'attivazione della DLPFC avesse raggiunto livelli comparabili rispetto ai controlli. Un altro studio ha utilizzato un compito di memoria di lavoro spaziale comparando 13 adolescenti che avevano fatto uso recente di MJ, 13 adolescenti in astinenza da MJ da 27 giorni e 18 non consumatori [74]. Per quanto concerne gli adolescenti in astinenza, quelli a recente utilizzo di MJ presentavano un aumento dell'attivazione a livello di insula bilaterale, corteccia prefrontale superiore mediale e sinistra, giro frontale superiore bilaterale e giro frontale inferiore e precentrale. Questi dati ipotizzano un aumento del controllo inibitorio e, per gli adolescenti consumatori di MJ, potrebbe rendersi necessario un adattamento della memoria di lavoro [74].

Anche un recente studio sull'attenzione che ha applicato la fMRI ha postulato un neuroadattamento della rete attentiva a seguito di esposizione cronica alla marijuana [30]. Chang et al. hanno somministrato un compito di attenzione visiva a 12 consumatori attivi di MJ, a 12 in astinenza e a 19 controlli. Nonostante i tre gruppi abbiano ottenuto risultati simili, i consumatori attivi e quelli in astinenza hanno mostrato una minore attivazione nelle regioni prefrontale destra, parietale mediale, dorsale e mediale cerebellare, e una maggiore attivazione nelle regioni cerebrale frontale, parietale e occipitale, durante i compiti di attenzione visiva. La nostra rilevazione di un aumentato spessore corticale nelle regioni linguale bilaterale, temporale superiore destra, parietale destra e paracentrale sinistra negli adolescenti consumatori di MJ rispetto ai non consumatori, corrobora l'idea del neuroadattamento o di possibili cambiamenti compensatori nella materia grigia corticale in associazione all'uso di MJ [17, 32, 95]. Per esempio, Kanayama ha utilizzato un compito di memoria di lavoro spaziale per esaminare l'attività cerebrale in consumatori cronici di MJ e ha osservato un aumento dell'attivazione delle regioni cerebrali tipicamente usate per compiti di memoria di lavoro spaziale e di altre regioni non tipicamente utilizzate per memoria di lavoro spaziale (come ad esempio le regioni dei gangli basali) [32]. In un altro studio, Jager et al. hanno analizzato gli effetti dell'uso di MJ sulla memoria di lavoro in soggetti adolescenti e hanno osservato che i consumatori di MJ presentavano iperattività

nelle regioni prefrontali quando confrontati con un compito inedito, suggerendo ancora una volta la presenza di compensazione funzionale [95]. Infine, Gruber et al. hanno rilevato che, rispetto ai non consumatori, i fumatori di MJ evidenziavano pattern di risposta BOLD ed errori di risposta durante l'interferenza di Stroop, nonostante prestazioni simili sul compito [17]. Alcuni studi hanno quindi dimostrato la presenza di alterazioni sia neuropsicologiche sia neurofisiologiche a seguito di utilizzo di MJ, talora con effetti persistenti anche dopo la disintossicazione.

I nostri attuali dati vanno interpretati con cautela in ragione della ridotta dimensione del campione, delle differenze di sesso e di etnia, della natura trasversale dello studio e dell'inclusione di giovani che stavano facendo uso di MJ al momento dell'indagine, con pattern di uso presumibilmente diversi. Inoltre abbiamo utilizzato la fluenza verbale come stima del QI anziché riferire i punteggi QI completi. Precedenti studi hanno osservato correlazioni da ridotte a moderate tra la fluenza verbale e le stime dell'intelligenza [55]. È interessante notare che i nostri soggetti MJ presentavano punteggi di fluenza verbale più elevati, il che potrebbe aver influenzato i nostri risultati. Tuttavia, se i valori della fluenza verbale avessero davvero influenzato i nostri risultati, sarebbe stato ragionevole attendersi valori di spessore corticale superiori, in particolare nelle regioni prefrontale e temporale nei consumatori di MJ, evento che non si è verificato [96, 97]. Inoltre non è stata rilevata alcuna correlazione significativa per nessuna regione cerebrale e per la fluenza verbale nel gruppo cannabis, dimostrando così che, nel presente studio, le differenze di QI non stavano influenzando i nostri risultati. I punti di forza della presente indagine comprendono il range limitato di età degli adolescenti e la rigorosa valutazione clinica dei soggetti sperimentali, come dimostra l'inclusione di adolescenti senza disturbi da uso comorbido di sostanze in corso e, a eccezione di un soggetto, senza comorbidità psichiatrica o storia di trattamento farmacologico psicotropico.

## 5. Conclusioni

In sintesi, questo è uno dei primi studi a valutare lo spessore corticale in un gruppo di adolescenti forti consumatori di MJ rispetto a soggetti non consumatori. I nostri risultati sullo spessore corticale anomalo nelle regioni prefrontale e insulare nei consumatori di MJ sono in linea con precedenti studi di neuroimaging, che hanno documentato anomalie in queste importanti regioni cerebrali nei casi di uso di sostanze. Sebbene una struttura anomala non implichi un funzionamento anomalo, i nostri risultati suggeriscono che anomalie nella materia grigia corticale prefrontale e insulare possono influenzare la capacità decisionale e il bisogno di assumere MJ nonostante le relative conseguenze negative. L'età di inizio dell'uso di MJ continua a rappresentare un fattore importante quando si valuta l'impatto della sostanza sui substrati cerebrali, e saranno necessari ulteriori studi per stabilire gli effetti a lungo e a breve termine del consumo di MJ sullo sviluppo cerebrale. Indagini di questo tipo dovrebbero includere studi longitudinali e studi sui soggetti a rischio durante il periodo critico dell'adolescenza.

Tradotto e riprodotto ad opera della redazione dall'originale versione in inglese pubblicata in Behav Brain Res. 2011 Jun 20;220(1):164-72, con il permesso dell'Editore. Titolo originale: Altered prefrontal and insular cortical thickness in adolescent marijuana users.

## Bibliografia

- Bachman JG, Johnson LD, O'Malley PM. Explaining recent increases in students' marijuana use: impacts of perceived risks and disapproval, 1976 through 1996. *Am J Public Health*. 1998;88:887–92.
- Weinberg NZ, Rahdert E, Collier JD, Glantz MD. Adolescent substance abuse: a review of the past 10 years. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1998;37:252–61.
- Ennett ST, Flewelling RL, Lindrooth RC, Norton EC. School and neighborhood characteristics associated with school rates of alcohol, cigarette, and marijuana use. *J Health Soc Behav*. 1997;38:55–71.
- Ozaita A, Escriba PV, Ventayol P, Murga C, Mayor F, Jr, Garcia-Sevilla JA. Regulation of G protein-coupled receptor kinase 2 in brains of opiate-treated rats and human opiate addicts. *J Neurochem*. 1998;70:1249–57.
- Garcia-Sevilla JA, Ventayol P, Busquets X, La Harpe R, Walzer C, Guimon J. Marked decrease of immunolabeled 68 kDa neurofilament (NF-L) proteins in brains of opiate addicts. *Neuroreport*. 1997;8:1561–5.
- Yamanouchi N, Okada S, Kodama K, Hirai S, Sekine H, Murakami A, et al. White matter changes caused by chronic solvent abuse. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1995;16:1643–9.
- Solowij N, Grenyer BF, Chesher G, Lewis J. Biopsychosocial changes associated with cessation of cannabis use: a single case study of acute and chronic cognitive effects, withdrawal and treatment. *Life Sci*. 1995;56:2127–34.
- Dolmatova LS, Ivanets TA. Change in the level of prostaglandins E and glutathione-S-transferase in leukocytes and plasma of hashish addicts. *Vopr Med Khim*. 1995;41:57–60.
- Squeglia LM, Jacobus J, Tapert SF. The influence of substance use on adolescent brain development. *Clinical EEG And Neuroscience: Official Journal Of The EEG And Clinical Neuroscience Society (ENCS)* 2009;40:31–8.
- SA G, Yurgelun-Todd D. Neuropsychological Correlates of Substance Abuse. In: MJ K, editor. *Brain Imaging in Substance Abuse: Research, Clinical and Forensic Applications*. New York: Elsevier Science; 1999. pp. 199–230.
- Bava S, Frank LR, McQueeney T, Schweinsburg BC, Schweinsburg AD, Tapert SF. Altered white matter microstructure in adolescent substance users. *Psychiatry Res*. 2009;173:228–37.
- Chugani HT. A critical period of brain development: studies of cerebral glucose utilization with PET. *Prev Med*. 1998;27:184–8.
- Giancola PR, Reagin CM, van Weenen RV, Zeichner A. Alcohol-induced stimulation and sedation: relation to physical aggression. *J Gen Psychol*. 1998;125:297–304.
- Moss HB, Talagala SL, Kirisci L. Phosphorus-31 magnetic resonance brain spectroscopy of children at risk for a substance use disorder: preliminary results. *Psychiatry Res*. 1997;76:101–12.
- Yurgelun-Todd DA, Killgore WD, Young AD. Sex differences in cerebral tissue volume and cognitive performance during adolescence. *Psychol Rep*. 2002;91:743–57.
- Bolla KI, Eldreth DA, Matochik JA, Cadet JL. Neural substrates of faulty decision-making in abstinent marijuana users. *Neuroimage*. 2005;26:480–92.
- Gruber SA, Yurgelun-Todd DA. Neuroimaging of marijuana smokers during inhibitory processing: a pilot investigation. *Brain Res Cogn Brain Res*. 2005;23:107–18.
- Goldstein RZ, Volkow ND. Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry*. 2002;159:1642–52.
- Hester R, Nestor L, Garavan H. Impaired error awareness and anterior cingulate cortex hypoactivity in chronic cannabis users. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34:2450–8.
- Schweinsburg AD, Brown AB, Tapert SF. The Influence of Marijuana Use on Neurocognitive Functioning in Adolescents. *Current Drug Abuse Reviews*. 2008;1:99–111.
- Block RI, O'Leary DS, Ehrhardt JC, Augustinack JC, Ghoneim MM, Arndt S, et al. Effects of frequent marijuana use on brain tissue volume and composition. *Neuroreport*. 2000;11:491–6.
- Delisi LE, Bertisch HC, Szulc KU, Majcher M, Brown K, Bappal A, et al. A preliminary DTI study showing no brain structural change associated with adolescent cannabis use. *Harm Reduct J*. 2006;3:17.
- Jager G, Van Hell HH, De Win MM, Kahn RS, Van Den Brink W, Van Ree JM, et al. Effects of frequent cannabis use on hippocampal activity during an associative memory task. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2007;17:289–97.
- Tzilos GK, Cintron CB, Wood JB, Simpson NS, Young AD, Pope HG, Jr, et al. Lack of hippocampal volume change in long-term heavy cannabis users. *Am J Addict*. 2005;14:64–72.
- Campbell AM, Evans M, Thomson JL, Williams MJ. Cerebral atrophy in young cannabis smokers. *Lancet*. 1971;2:1219–24.
- Mata I, Perez-Iglesias R, Roiz-Santanez R, Tordesillas-Gutierrez D, Pazos A, Gutierrez A, et al. Gyrification brain abnormalities associated with adolescence and early-adulthood cannabis use. *Brain Res*. 2010;1317:297–304.
- Wilson W, Mathew R, Turkington T, Hawk T, Coleman RE, Provenza J. Brain morphological changes and early marijuana use: a magnetic resonance and positron emission tomography study. *J Addict Dis*. 2000;19:1–22.
- O'Leary DS, Block RI, Koeppe JA, Flaum M, Schultz SK, Andreasen NC, et al. Effects of smoking marijuana on brain perfusion and cognition. *Neuropsychopharmacology*. 2002;26:802–16.
- O'Leary DS, Block RI, Koeppe JA, Schultz SK, Magnotta VA, Ponto LB, et al. Effects of smoking marijuana on focal attention and brain blood flow. *Hum Psychopharmacol*. 2007;22:135–48.
- Chang L, Yakupov R, Cloak C, Ernst T. Marijuana use is associated with a reorganized visual-attention network and cerebellar hypoactivation. *Brain*. 2006;129:1096–112.
- Jacobsen LK, Mencl WE, Westerveld M, Pugh KR. Impact of cannabis use on brain function in adolescents. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1021:384–90.
- Kanayama G, Rogowska J, Pope HG, Gruber SA, Yurgelun-Todd DA. Spatial working memory in heavy cannabis users: a functional magnetic resonance imaging study. *Psychopharmacology (Berl)* 2004;176:239–47.
- Jacobsen LK, Pugh KR, Constable RT, Westerveld M, Mencl WE. Functional correlates of verbal memory deficits emerging during nicotine withdrawal in abstinent adolescent cannabis users. *Biol Psychiatry*. 2007;61:31–40.





34. Schweinsburg AD, Nagel BJ, Schweinsburg BC, Park A, Theilmann RJ, Tapert SF. Abstinent adolescent marijuana users show altered fMRI response during spatial working memory. *Psychiatry Res.* 2008;163:40–51.
35. Eldreth DA, Matochik JA, Cadet JL, Bolla KI. Abnormal brain activity in prefrontal brain regions in abstinent marijuana users. *Neuroimage.* 2004;23:914–20.
36. Borgwardt SJ, Allen P, Bhattacharyya S, Fusar-Poli P, Crippa JA, Seal ML, et al. Neural Basis of [Delta]-9-Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol: Effects During Response Inhibition. *Biological Psychiatry.* 2008;64:966–73.
37. Martin-Santos R, Fagundo AB, Crippa JA, Atakan Z, Bhattacharyya S, Allen P, et al. Neuroimaging in cannabis use: a systematic review of the literature. *Psychol Med.* 2010;40:383–98.
38. Brody AL, Mandelkern MA, London ED, Childress AR, Lee GS, Bota RG, et al. Brain metabolic changes during cigarette craving. *Arch Gen Psychiatry.* 2002;59:1162–72.
39. Kilts CD, Schweitzer JB, Quinn CK, Gross RE, Faber TL, Muhammad F, et al. Neural activity related to drug craving in cocaine addiction. *Arch Gen Psychiatry.* 2001;58:334–41.
40. Filbey FM, Schacht JP, Myers US, Chavez RS, Hutchison KE. Marijuana craving in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:13016–21.
41. Ray S, Hanson C, Hanson SJ, Bates ME. fMRI BOLD response in high-risk college students (part 1): during exposure to alcohol, marijuana, polydrug and emotional picture cues. *Alcohol Alcohol.* 2010;45:437–43.
42. Naqvi NH, Bechara A. The hidden island of addiction: the insula. *Trends Neurosci.* 2009;32:56–67.
43. Paulus MP. Decision-making dysfunctions in psychiatry—altered homeostatic processing? *Science.* 2007;318:602–6.
44. Paulus MP, Stein MB. An insular view of anxiety. *Biol Psychiatry.* 2006;60:383–7.
45. Churchwell JC, Yurgelun-Todd DA. Neuroimaging, adolescence and risky behavior. In: Bardo M, Fishbein D, Milich R, editors. *Inhibitory control and drug abuse prevention: From research to translation.* In Press.
46. Narr KL, Woods RP, Lin J, Kim J, Phillips OR, Del'homme M, et al. Widespread Cortical Thinning Is a Robust Anatomical Marker for Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2009
47. Almeida LG, Ricardo-Garcell J, Prado H, Barajas L, Fernandez-Bouzas A, Avila D, et al. Reduced right frontal cortical thickness in children, adolescents and adults with ADHD and its correlation to clinical variables: A cross-sectional study. *J Psychiatr Res.* 2010
48. Batty MJ, Liddle EB, Pitiot A, Toro R, Groom MJ, Scerif G, et al. Cortical gray matter in attention-deficit/hyperactivity disorder: a structural magnetic resonance imaging study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2010;49:229–38.
49. Wallace GL, Dankner N, Kenworthy L, Giedd JN, Martin A. Age-related temporal and parietal cortical thinning in autism spectrum disorders. *Brain.* 2010
50. Schultz CC, Koch K, Wagner G, Roebel M, Schachtzabel C, Gaser C, et al. Reduced cortical thickness in first episode schizophrenia. *Schizophr Res.* 2010;116:204–9.
51. Habets P, Marcelis M, Gronenschild E, Drukker M, Os JV. Reduced Cortical Thickness as an Outcome of Differential Sensitivity to Environmental Risks in Schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2010
52. Sowell ER, Mattson SN, Kan E, Thompson PM, Riley EP, Toga AW. Abnormal cortical thickness and brain-behavior correlation patterns in individuals with heavy prenatal alcohol exposure. *Cereb Cortex.* 2008;18:136–44.
53. Lawyer G, Bjerkkan PS, Hammarberg A, Jayaram-Lindstrom N, Franck J, Agartz I. Amphetamine dependence and co-morbid alcohol abuse: associations to brain cortical thickness. *BMC Pharmacol.* 2010;10:5.
54. Kuhn S, Schubert F, Gallinat J. Reduced Thickness of Medial Orbitofrontal Cortex in Smokers. *Biol Psychiatry.* 2010.
55. Strauss E, Sherman EMS, Spreen O. *A compendium of neuropsychological tests : administration, norms, and commentary.* 3. Oxford ; New York: Oxford University Press; 2006.
56. Kaufman J, Birmaher B, Brent D, Rao U, Flynn C, Moreci P, et al. Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children—Present and Lifetime Version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 1997;36:980–8.
57. Geller B, Zimmerman B, Williams M, Bolhofner K, Craney JL, DelBello MP, et al. Reliability of the Washington University in St. Louis Kiddie Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia (WASH-U-KSADS) mania and rapid cycling sections. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2001;40:450–5.
58. First M, Spitzer R, Gibbon M, Williams J. *Structured Clinical Interview for the DSM-IV Axis I Disorders.* 1996.
59. McNair DM, Lorr M, Droppleman LF. *Revised manual for the Profile of Mood States.* San Diego, CA: Educational and Industrial Testing Services; 1992.
60. Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE. *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory.* Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press; 1970.
61. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1960;23:56–62.
62. Hamilton A. *British Journal of Psychiatry.* 1969. Diagnosis and rating of anxiety; pp. 76–9. Special Publication.
63. APA. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR.* 4. Washington, D.C: Author; 2000. Global Assessment of Functioning; p. 32.
64. Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage.* 1999;9:179–94.
65. Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage.* 1999;9:195–207.
66. Fischl B, Sereno MI, Tootell RB, Dale AM. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. *Hum Brain Mapp.* 1999;8:272–84.
67. Segonne F, Dale AM, Busa E, Glessner M, Salat D, Hahn HK, et al. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage.* 2004;22:1060–75.
68. Desikan RS, Segonne F, Fischl B, Quinn BT, Dickerson BC, Blacker D, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage.* 2006;31:968–80.
69. Nichols TE, Holmes AP. Nonparametric permutation tests for functional neuroimaging: a primer with examples. *Hum Brain Mapp.* 2002;15:1–25.
70. Gogtay N, Giedd JN, Lusk L, Hayashi KM, Greenstein D, Vaituzis AC, et al. Dynamic mapping of human cortical



development during childhood through early adulthood. *Proc Natl Acad Sci U S A*.2004;101:8174–9.

71. Shaw P, Kabani NJ, Lerch JP, Eckstrand K, Lenroot R, Gogtay N, et al. Neurodevelopmental trajectories of the human cerebral cortex. *J Neurosci*. 2008;28:3586–94.
72. Shaw P, Gilliam M, Liverpool M, Weddle C, Malek M, Sharp W, et al. Cortical Development in Typically Developing Children With Symptoms of Hyperactivity and Impulsivity: Support for a Dimensional View of Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Am J Psychiatry* 2010.
73. Tapert SF, Schweinsburg AD, Drummond SP, Paulus MP, Brown SA, Yang TT, et al. Functional MRI of inhibitory processing in abstinent adolescent marijuana users. *Psychopharmacology (Berl)*2007;194:173–83.
74. Schweinsburg AD, Schweinsburg BC, Medina KL, McQueeney T, Brown S. The influence of recency of use on fMRI response during spatial working memory in adolescent marijuana users. *Journal of Psychoactive Drugs*. 2010;42.
75. Simpson G, Tate R. Suicidality after traumatic brain injury: demographic, injury and clinical correlates. *Psychol Med*. 2002;32:687–97.
76. Terrio H, Brenner LA, Ivins BJ, Cho JM, Helmick K, Schwab K, et al. Traumatic brain injury screening: preliminary findings in a US Army Brigade Combat Team. *J Head Trauma Rehabil*.2009;24:14–23.
77. Naqvi NH, Rudrauf D, Damasio H, Bechara A. Damage to the insula disrupts addiction to cigarette smoking. *Science*. 2007;315:531–4.
78. Critchley HD, Wiens S, Rotshtein P, Ohman A, Dolan RJ. Neural systems supporting interoceptive awareness. *Nat Neurosci*. 2004;7:189–95.
79. Goldstein RZ, Craig AD, Bechara A, Garavan H, Childress AR, Paulus MP, et al. The neurocircuitry of impaired insight in drug addiction. *Trends Cogn Sci*. 2009;13:372–80.
80. Ehrenreich H, Rinn T, Kunert HJ, Moeller MR, Poser W, Schilling L, et al. Specific attentional dysfunction in adults following early start of cannabis use. *Psychopharmacology (Berl)* 1999;142:295–301.
81. Huestegge L, Radach R, Kunert HJ, Heller D. Visual search in long-term cannabis users with early age of onset. *Prog Brain Res*. 2002;140:377–94.
82. Becker B, Wagner D, Gouzoulis-Mayfrank E, Spuentrup E, Daumann J. The impact of early-onset cannabis use on functional brain correlates of working memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010;34:837–45.
83. Pope HG, Jr, Gruber AJ, Hudson JI, Cohane G, Huestis MA, Yurgelun-Todd D. Early-onset cannabis use and cognitive deficits: what is the nature of the association? *Drug Alcohol Depend*.2003;69:303–10.
84. von Sydow K, Lieb R, Pfister H, Höfler M, Sonntag H, Wittchen H-U. The natural course of cannabis use, abuse and dependence over four years: a longitudinal community study of adolescents and young adults. *Drug and Alcohol Dependence*. 2001;64:347–61.
85. Macaluso E, Frith CD, Driver J. Modulation of human visual cortex by crossmodal spatial attention. *Science*. 2000;289:1206–8.
86. Bogousslavsky J, Miklossy J, Deruaz JP, Assal G, Regli F. Lingual and fusiform gyri in visual processing: a clinico-pathologic study of superior altitudinal hemianopia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1987;50:607–14.
87. Mobbs D, Garrett AS, Menon V, Rose FE, Bellugi U, Reiss AL. Anomalous brain activation during face and gaze processing in Williams syndrome. *Neurology*. 2004;62:2070–6.
88. Luks TL, Simpson GV. Preparatory deployment of attention to motion activates higher-order motion-processing brain regions. *Neuroimage*. 2004;22:1515–22.
89. Committeri G, Galati G, Paradis AL, Pizzamiglio L, Berthoz A, LeBihan D. Reference frames for spatial cognition: different brain areas are involved in viewer-, object-, and landmark-centered judgments about object location. *J Cogn Neurosci*. 2004;16:1517–35.
90. Stoppel CM, Boehler CN, Strumpf H, Heinze HJ, Hopf JM, Duzel E, et al. Neural correlates of exemplar novelty processing under different spatial attention conditions. *Hum Brain Mapp*.2009;30:3759–71.
91. Gruber SA, Rogowska J, Yurgelun-Todd DA. Altered affective response in marijuana smokers: an fMRI study. *Drug Alcohol Depend*. 2009;105:139–53.
92. Fletcher JM, Page JB, Francis DJ, Copeland K, Naus MJ, Davis CM, et al. Cognitive correlates of long-term cannabis use in Costa Rican men. *Arch Gen Psychiatry*. 1996;53:1051–7.
93. Pope HG, Jr, Yurgelun-Todd D. The residual cognitive effects of heavy marijuana use in college students. *JAMA*. 1996;275:521–7.
94. Bogorodzki P, Rogowska J, Yurgelun-Todd DA. Structural group classification technique based on regional fMRI BOLD responses. *IEEE Trans Med Imaging*. 2005;24:389–98.
95. Jager G, Block RI, Luijten M, Ramsey NF. Cannabis use and memory brain function in adolescent boys: a cross-sectional multicenter functional magnetic resonance imaging study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2010;49:561–72. 72, e1–3.
96. Lange N, Froimowitz MP, Bigler ED, Lainhart JE. Associations between IQ, total and regional brain volumes, and demography in a large normative sample of healthy children and adolescents. *Dev Neuropsychol*. 2010;35:296–317.
97. Frangou S, Chitins X, Williams SC. Mapping IQ and gray matter density in healthy young people. *Neuroimage*. 2004;23:800–5.



## 2.1.5 Alterazioni cerebrali correlate al consumo di cannabis negli adulti

Giada Zoccatelli<sup>1</sup>, Franco Alessandrini<sup>1</sup>, Giovanni Serpelloni<sup>2</sup>

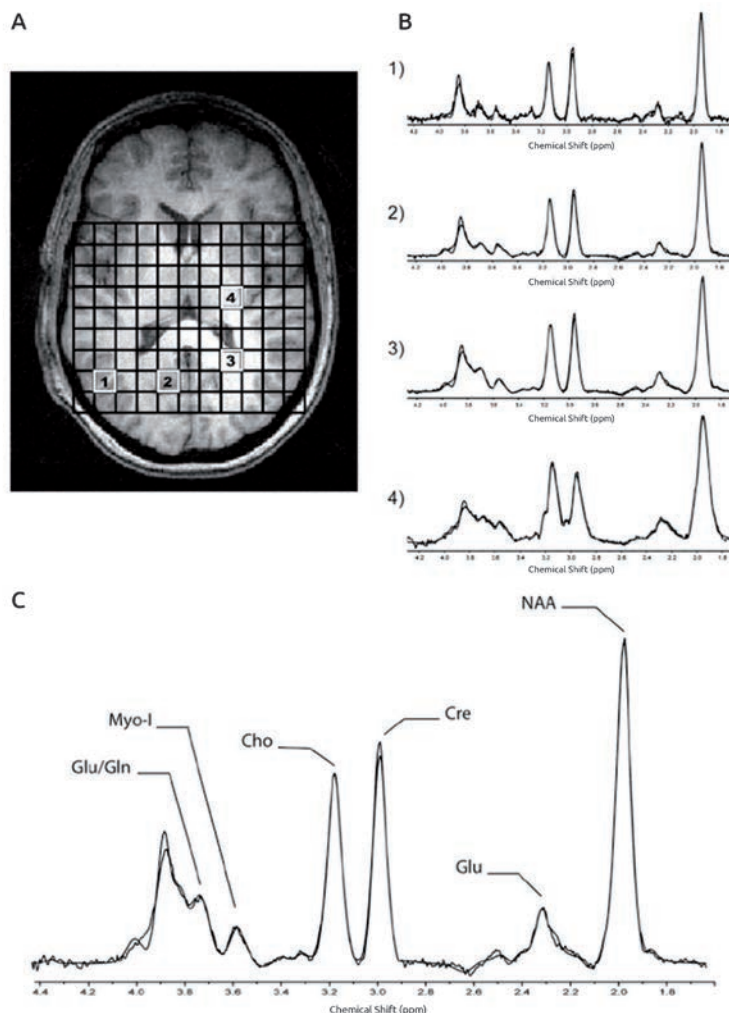
<sup>1</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

<sup>2</sup> Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri

Numerosi studi di neuroimmagine hanno dimostrato come l'assunzione di marijuana sia associata ad alterazioni della capacità cognitiva ed affettiva. La sostanza agisce a livello del metabolismo cerebrale con cambiamenti sia funzionali che strutturali del tessuto nervoso. Un recente studio americano (Silveri M., 2011) ha voluto investigare l'effetto della cannabis sui principali metaboliti cerebrali applicando la tecnica di Spettroscopia protonica con Risonanza Magnetica (H1-MRS) per confrontare i livelli metabolici in 15 giovani con diagnosi di dipendenza da cannabis (età media =  $21.2 \pm 3.4$ ) e 11 giovani controlli sani non consumatori (età media =  $25 \pm 4.8$ ). Le immagini di spettroscopia sono state acquisite con una RM a campo magnetico ultra-alto (4.0 Tesla) utilizzando particolari sequenze bidimensionali (2D J-resolved) che hanno permesso di quantificare nell'intera superficie i metaboliti a livello dei gangli basali e nel talamo, nel lobo temporo-parietale e occipitale della sostanza grigia e bianca cerebrale. Questo metodo di indagine ha permesso di ottenere spettri di alta qualità ed analisi di regressione per esaminare la concentrazione dei metaboliti relativi alla zona di campionamento (Figura 1). Dai risultati è emerso un alterato rapporto di concentrazione di mio-inositolo (mI) su creatina (Cr) nel gruppo di ragazzi consumatori di cannabis mentre nel gruppo di controllo il rapporto mI/Cr risulta aumentato nella sostanza bianca rispetto alla grigia. Le analisi di correlazione tra dati di MRS e i dati comportamentali hanno mostrato delle relazioni significative tra concentrazione di mI/Cr nella sostanza bianca, impulsività auto-riferita e disturbi dell'umore. Questi risultati preliminari suggeriscono che il mio-inositolo e la distribuzione di questo metabolita a livello gliale è alterata dall'uso di cannabis e, in particolare nei giovani maschi, è associata a sintomi comportamentali e affettivi spesso auto-riferiti dai consumatori.

Alterazioni  
metaboliche in  
consumatori di  
cannabis: evidenze  
dalla Spettroscopia  
protonica con  
Risonanza  
Magnetica

Figura 1 - A-C. A) Rappresentazione di una sezione assiale del cervello mediante sequenza MRI pesata in T1 e sovrapposta griglia di spettroscopia per l'analisi dei metaboliti cerebrali. B) Grafici corrispondenti agli spettri misurati nella materia grigia parieto-occipitale (B-1, B-2, B-3) e nella materia grigia dello striato (B-4). C) Rappresentazione spettroscopica dei principali metaboliti, mediante software di analisi LCModel. Abbreviazioni: Glu, Glutammato; Gln, Glutamina; Myo-I, mio-inositolo; Cho, Colina; Cre, Creatina; NAA, N-acetil-aspartato. Fonte: Silveri M. et al., 2011.

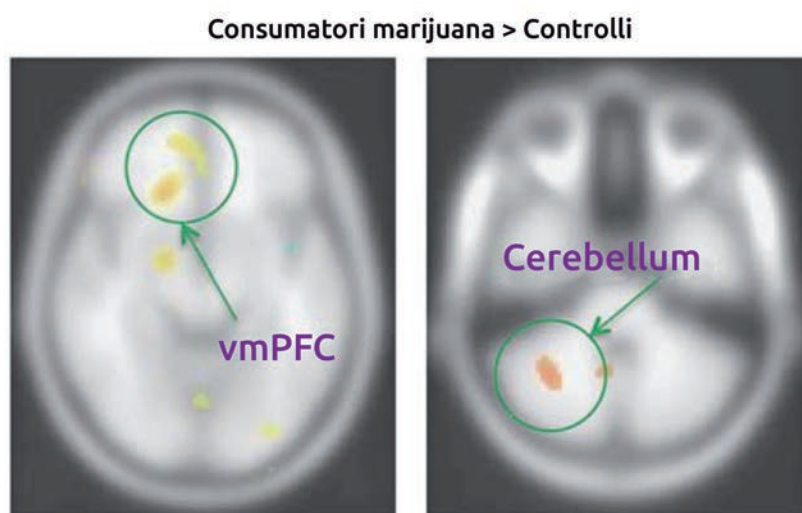


Gli effetti della marijuana sul cervello: uno studio con fMRI misura l'attività neurale durante un compito di decisione monetaria

La marijuana agisce legandosi a specifici recettori cannabinoidi che si trovano in numerose regioni del cervello, compresi quelli coinvolti nel meccanismo cerebrale di ricompensa e nel processo decisionale. Tuttavia, non è ancora chiaro l'effetto a lungo termine della cannabis sul meccanismo di ricompensa cerebrale, un processo alla base delle capacità decisionali dell'uomo. Nel presente studio, utilizzando una metodica PET [15O], gli studiosi hanno misurato l'attività cerebrale di consumatori cronici di marijuana, astinenti dalla sostanza da circa 24 ore prima della scansione PET, confrontati poi con un gruppo di controllo di non consumatori (Vaidya et al., 2011). Tutti i partecipanti hanno eseguito un compito di decisione monetaria, lo Iowa Gambling Task (IGT), solitamente utilizzato perché in grado di attivare la corteccia prefrontale ventromediale (vmPFC), una regione del cervello fortemente coinvolta nei processi decisionali. Durante l'esame PET, i partecipanti hanno eseguito una versione standard e una variante del compito IGT, oltre che un compito di controllo. Il gruppo di soggetti dipendenti dalla marijuana non ha mostrato prestazioni comportamen-

tali diverse da quelle del gruppo di controllo nella versione standard del compito IGT, ma significativamente peggiori rispetto ai controlli nella variante del test. Da un punto di vista metabolico, entrambi i gruppi hanno mostrato un aumento del flusso ematico cerebrale regionale (rCBF) nella vmPFC in entrambe le versioni dell'IGT (Figura 2), rispetto al compito di controllo. Nei due gruppi di confronto, i soggetti dipendenti dalla marijuana hanno mostrato un rCBF significativamente maggiore rispetto ai controlli, nella vmPFC durante il compito IGT nella versione standard, e una maggiore attività cerebellare in entrambe le versioni dell'IGT. Inoltre, la durata d'uso della sostanza, ma non l'età di primo uso, è associata ad una maggiore attività neuronale nella vmPFC. Lo studio dimostra come i soggetti con dipendenza cronica dalla marijuana quando eseguono un compito di ricompensa come il test IGT, mostrano una maggiore attivazione dei circuiti neurali coinvolti nel processo decisionale, di elaborazione della ricompensa (vmPFC) e di apprendimento probabilistico (cervelletto). Questo significa che per prendere delle decisioni e/o fare delle scelte vengono richieste maggiori risorse cerebrali con un maggiore sforzo cognitivo.

**Figura 2 - Aree di diversa attivazione neuronale in consumatori cronici di marijuana e soggetti di controllo, durante l'esecuzione di un compito di decisione monetaria. I soggetti che consumano marijuana mostrano una maggiore attivazione della corteccia prefrontale ventromediale (vmPFC) e nell'emisfero cerebellare destro (freccie in verde) rispetto ai soggetti non consumatori. Fonte: Vaidya et al., 2011.**



Santos M.R. e collaboratori (Santos M.R. et al., 2010) hanno condotto una revisione sistematica della letteratura per valutare gli effetti specifici della cannabis sulla struttura e sul funzionamento cerebrale. La loro ricerca si è focalizzata sugli studi che hanno valutato i cambiamenti cognitivi associati all'uso acuto e cronico della sostanza, pubblicati fino al gennaio 2009. Lo studio è stato condotto utilizzando servizi d'indicizzazione come Medline, EMBASE, LILACS e PsycLIT attraverso parole chiave come: cannabis, marijuana, delta-9-tetraidrocannabinolo, THC, cannabidiolo, CBD, neuroimaging, brain imaging, tomografia computerizzata o TAC, risonanza magnetica o MRI, tomografia a emissione di singolo fotone o SPECT, risonanza magnetica funzionale o fMRI, tomografia ad emissione di positroni o PET, risonanza magnetica del tensore di diffusione o DTI-MRI, risonanza magnetica spettroscopica o MRS. Sono stati considerati 66 studi, di cui 41 hanno soddisfatto i criteri di inclusione. Di questi, 33 studi hanno utilizzato tecniche di imaging funzionale (SPECT / PET

Una recente  
revisione della  
letteratura  
evidenzia gli effetti  
della cannabis  
sulla funzione e  
struttura cerebrale

/ fMRI) e 8 di imaging strutturale (RM volumetrica / DTI). L'elevato grado di eterogeneità tra gli studi ha precluso l'utilizzo di una meta-analisi. I risultati degli studi funzionali generalmente indicano che a riposo il flusso di sangue, globalmente e nella corteccia prefrontale, sono più bassi nei consumatori di cannabis rispetto ai controlli. I risultati degli studi di attivazione con un compito cognitivo non sono coerenti a causa dell'eterogeneità dei metodi utilizzati. Studi di somministrazione acuta di THC o marijuana, mostrano un aumento dell'attività neurale a riposo e dell'attivazione della corteccia cingolata e frontale anteriore durante compiti cognitivi. Gli studi di neuroimmagine funzionale suggeriscono una modulazione del metabolismo globale e prefrontale sia durante lo stato di riposo che dopo la somministrazione di THC o di sigarette di marijuana. Esiste inoltre una minima evidenza degli effetti della cannabis anche sulla struttura del cervello, quindi la sostanza va ad agire non solo sulla funzionalità delle cellule nervose ma anche sulla struttura e microstruttura del tessuto cerebrale. L'analisi dei risultati finora raccolti sugli effetti neurotossici della marijuana evidenziano quindi la presenza di alterazioni funzionali (modulazione dell'attività dei neuroni e variazioni del flusso sanguigno) come conseguenza della compromissione dei circuiti neurali, ma anche anomalie strutturali della sostanza grigia e bianca (Santos R.M. et al., 2010, Schubart C. D. et al., 2006).

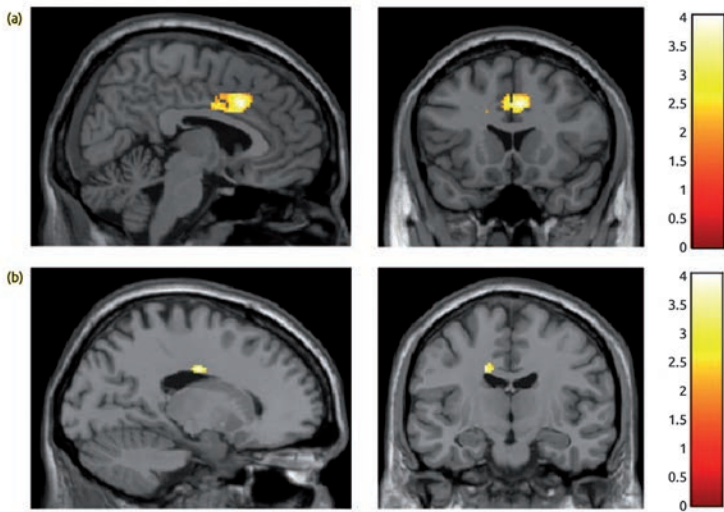
I fumatori di marijuana mostrano un'alterata risposta agli stimoli affettivi

Le indagini sugli effetti delle alterazioni cognitive indotte dalla marijuana sono state valutate mediante compiti che richiedono al soggetto una capacità di controllo esecutivo, la capacità d'inibizione e il processo decisionale. I cannabinoidi endogeni CB-1 regolano numerose risposte emotive, tra cui l'ansia, il controllo dell'umore e l'aggressività. Nonostante il coinvolgimento del sistema emotivo, poco si sa sulle risposte dei consumatori di cannabis agli stimoli affettivi. La corteccia cingolata anteriore e l'amigdala giocano un ruolo chiave nell'inibizione di comportamenti impulsivi e nella regolazione affettiva, e gli studi con PET e fMRI hanno dimostrato cambiamenti nelle suddette regioni in fumatori di marijuana. Le alterazioni di umore e di percezione spesso osservate nei fumatori di marijuana potrebbero derivare da un alterato sistema di risposta neurale, così come è stato rilevato in uno studio con fMRI (Gruber S.A., 2009) in 15 fumatori cronici di marijuana (MJ) rispetto a 15 soggetti non fumatori (NC), durante la visione di espressioni emotivamente diverse (volti di persone felici o impaurite) mediante tecnica di mascheramento. I volti presentavano una maschera in modo da non rendere consciamente evidente lo stato espressivo. Sebbene le analisi delle misure cliniche e demografiche non evidenzino differenze significative tra il gruppo di fumatori e il gruppo di controllo, i fumatori di marijuana hanno mostrato una diminuita attivazione neuronale sia nella corteccia cingolata anteriore; che a livello dell'amigdala, durante la visione di stimoli affettivi rispetto ai controlli. Questi ultimi al contrario, hanno mostrato un aumento relativo di attivazione nelle stesse regioni. I risultati indicano che i fumatori cronici di marijuana presentano un'alterata attivazione dei sistemi cerebrali frontali e delle strutture limbiche durante la visione di volti emotivamente espressivi. Le aree cerebrali frontali e limbiche sono caratterizzate da un'alta densità di recettori cannabinodi CB-1. Questi dati suggeriscono differenze di elaborazione affettiva nei fumatori cronici di marijuana rispetto ai non fumatori, anche quando gli stimoli sono presentati sotto il livello di elaborazione cosciente, e pongono l'accento sulla probabilità che i fumatori di marijuana elaborino le informazioni emotive in modo diverso da quello dei non fumatori. Tale fenomeno può portare a conseguenze negative per la capacità di elaborazione dell'informazione emozionale nei soggetti consumatori di cannabis.

Tabella 1 - Regioni cerebrali identificate durante la visione di espressioni piacevoli nella condizione NC>MJ e MJ>NC. Fonte: Gruber et al., 2009.

	Aree cerebrali	Coordinate di Talairach			k	t	z
		x	y	z			
NC > MJ Cingolato	Lobo frontale destro, giro cingolato, giro frontale medio, Area di Brodmann 32	4	26	36	30	2.12	2.02
Amigdala	Lobo limbico sinistro, amigdala, uncus, area di Brodmann 34	-18	-2	-20	58	2.51	2.36
	Lobo limbico destro, uncus	26	2	-20	24	2.64	2.47
MJ > NC Cingolato	Lobo limbico destro, giro cingolato, lobo frontale, sub-girale	20	-10	42	43	3.62	3.42
	Lobo limbico destro, giro cingolato, Area di Brodmann 31, lobo frontale, sub-girale, lobo parietale, precuneo	20	-40	30	44	3.46	3.12

Figura 3 - Immagini di RM dell'encefalo nel piano sagittale e coronale. L'area in giallo corrisponde all'attivazione della corteccia cingolata durante la visione di stimoli piacevoli (facce sorridenti) in a) soggetti sani e b) consumatori di marijuana. Si noti la diminuita attivazione della corteccia cingolata in questi ultimi. Fonte: Gruber S.A. et al., 2009.



E' stata usata la risonanza magnetica funzionale (fMRI) per misurare l'attività cerebrale durante l'anticipazione della ricompensa in un compito ricompensa monetaria. I partecipanti allo studio sono stati suddivisi in 2 gruppi; 14 consumatori di cannabis (13 maschi), 14 fumatori (11 maschi) e 13 soggetti di controllo (11 maschi) sono stati confrontati in uno studio a lungo termine con controlli sani (Van Hell H. et al., 2010). Una settimana prima della scansione RM, ai partecipanti è stato chiesto di non assumere alcol e cannabis. Il fumo di sigaretta è stato concesso, ad esclusione delle 48 ore antecedenti l'esame RM. Sono stati raccolti campioni del sangue e delle urine per escludere il consumo di cannabis, metadone, oppiacei, cocaina, amfetamine, benzodiazepine, barbiturici e alcol, pena l'esclu-

L'uso cronico di cannabis provoca una risposta alterata nel cervello a stimoli gratificanti



sione dallo studio. Tutti i partecipanti hanno eseguito un compito di guadagno monetario (Monetary Incentive Delay task o MID) durante la scansione con fMRI. Il compito prevede di rispondere a uno stimolo (target) preceduto da uno stimolo di anticipazione (cue). A ciascuna risposta corrisponde uno stimolo di feedback che indica un guadagno o una perdita (Figura 4). L'analisi del segnale BOLD dopo esame fMRI mostra nei consumatori di cannabis una ridotta attività cerebrale durante l'anticipazione della ricompensa, nel nucleo accumbens, rispetto ai controlli non fumatori ma non rispetto ai controlli fumatori di nicotina. I consumatori di cannabis hanno inoltre mostrato una ridotta attività cerebrale durante l'anticipazione alla ricompensa nel nucleo caudato, sia rispetto ai non fumatori sia rispetto ai controlli fumatori. Questi dati suggeriscono come la nicotina possa essere responsabile di alterazioni nell'attività neurale, in particolare di una ridotta attività cerebrale, nel nucleo accumbens in previsione di una ricompensa, mentre le alterazioni riscontrate nel nucleo caudato sono associate con il consumo di cannabis. I nostri risultati dimostrano che l'uso cronico di cannabis e nicotina può provocare una risposta alterata nel cervello a stimoli gratificanti. Gli autori suggeriscono la necessità di compiere studi longitudinali prima del consumo di cannabis, in modo da poter escludere l'influenza di altre variabili (ad esempio, le caratteristiche preesistenti del soggetto) e scoprire se le differenze nel sistema di ricompensa dei soggetti tossicodipendenti siano una causa o una conseguenza dell'uso di sostanze e se siano o meno coinvolti altri fattori. I consumatori di cannabis mostrano delle alterazioni nel sistema cerebrale della ricompensa, del controllo motorio e cognitivo del comportamento che comprendono il nucleo caudato, il putamen, il talamo, il giro frontale superiore e inferiore, il giro paraippocampale (Figura 5). Questa ricerca rappresenta il primo studio che mostra qual è l'effetto dell'uso cronico di cannabis sul sistema di ricompensa dell'uomo, con importanti ripercussioni per malattie come la dipendenza, la depressione e la schizofrenia.

Figura 4 - Rappresentazione schematica del compito MID Fonte: Van Hell H. et al., 2010.

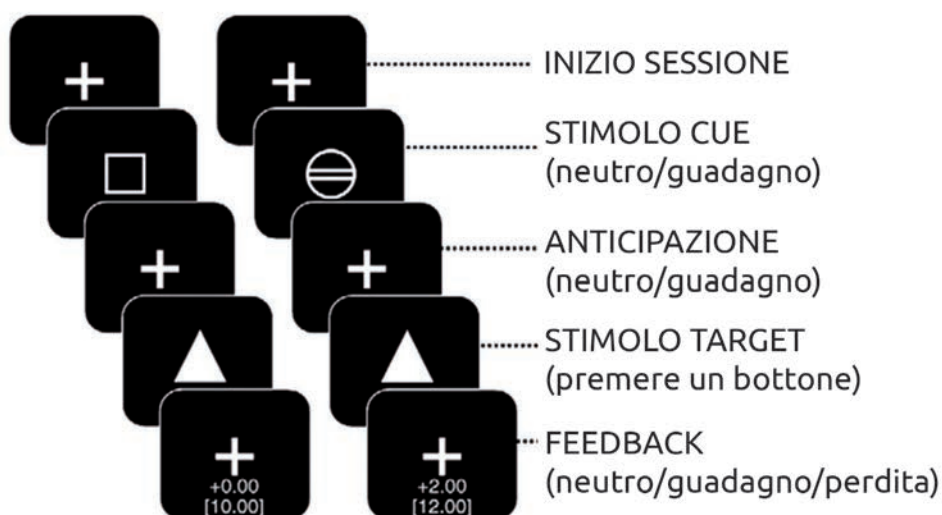
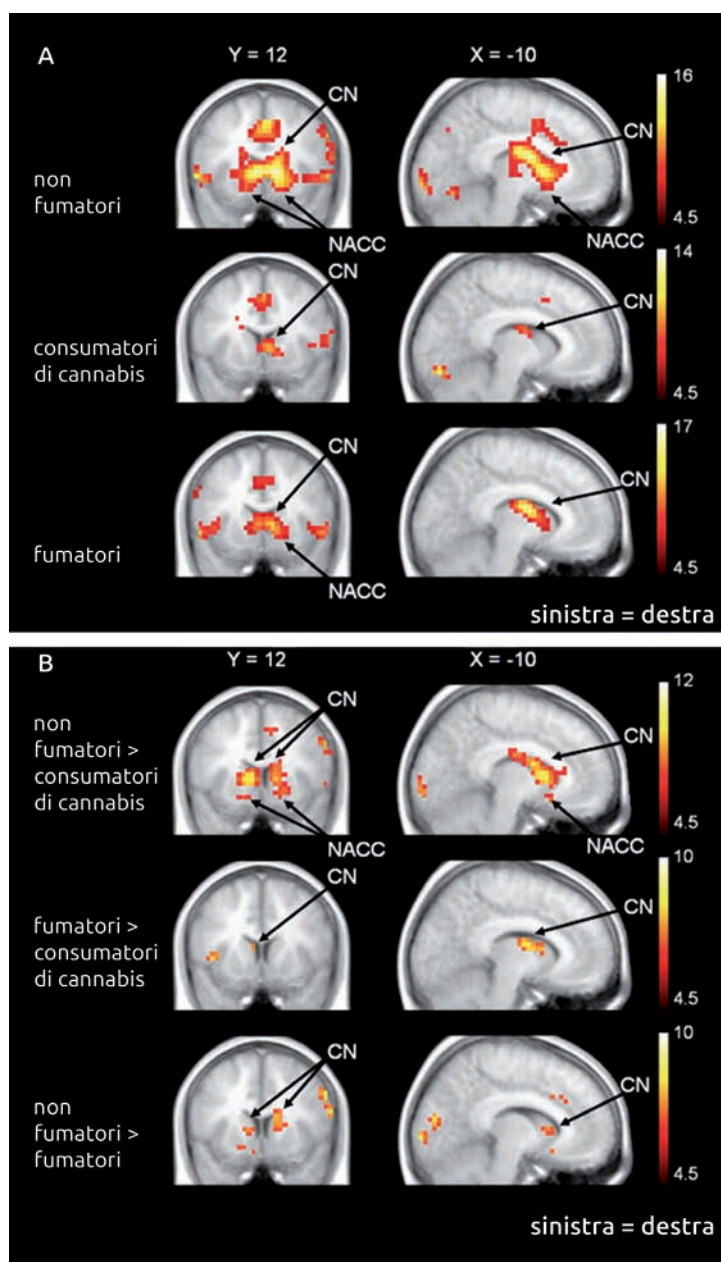


Figura 5 - Mappa di attivazione di gruppo durante il compito di gratificazione (soglia statistica  $p < 0.05$  corretta per confronti multipli). A) Non consumatori, consumatori di cannabis e fumatori di nicotina. B) Non consumatori versus consumatori di cannabis, fumatori versus consumatori di cannabis, e non consumatori versus fumatori. CN= nucleo caudato nucleus, NACC=nucleo accumbens. Fonte: Van Hell et al., 2009.

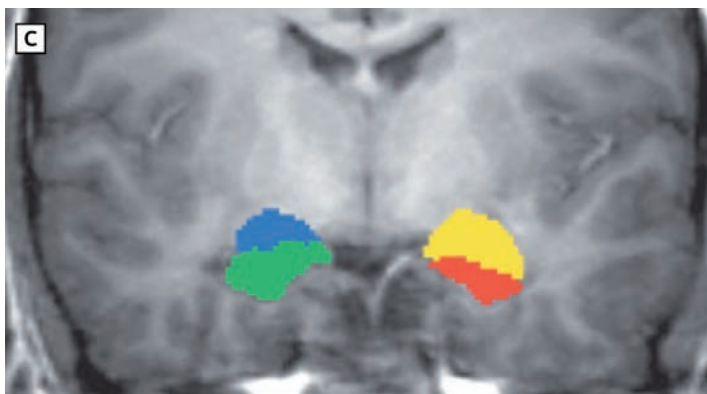


Gli studi longitudinali o sugli effetti a lungo termine dell'uso di cannabis non sono molti. Yucel e collaboratori (2008) hanno voluto verificare se l'uso prolungato e frequente di cannabis fosse associato ad anomalie anatomiche in due particolari regioni del cervello ricche di recettori cannabinoidi, l'ippocampo e l'amigdala (Figura 6). Il disegno "cross-sectional" dello studio ha permesso, utilizzando una risonanza magnetica ad alto campo (3.0 Tesla), di fare un'analisi dettagliata della struttura anatomica di queste due regioni sottocorticali. I partecipanti, 15 soggetti maschi (età media = 39,8 anni) forti consumatori di cannabis (più di 5 assunzioni al giorno) da lungo tempo (almeno 10 anni di utilizzo, età media di uso regolare della sostanza = 19,7 anni) sono stati sottoposti a RM presso l'unità ospedaliera di

L'assunzione cronica e prolungata di cannabis è associata ad anomalie di due importanti zone del cervello: l'amigdala e l'ippocampo

ricerca. Il gruppo di soggetti non doveva avere storia di poliassunzione da altre sostanze o malattie neurologiche / disturbo mentale e sono stati confrontati con 16 soggetti di controllo di pari età (età media 36,4 anni). I dati di RM sono stati utilizzati per ottenere misure volumetriche dell'ippocampo e dell'amigdala combinate con le misure tossicologiche del consumo di cannabis. Sono stati misurati anche la presenza di eventuali sintomi psicotici sottosoglia e la capacità di apprendimento. I consumatori abituali di cannabis mostrano una riduzione bilaterale del volume ippocampale e dell'amigdala (valore statistico  $p < 0,001$ ), con una relativa e significativa ( $p < 0,02$ ) maggiore riduzione dell'ippocampo (12% vs 7,1%). Le analisi di correlazione mostrano come il volume dell'ippocampo sinistro sia inversamente associato con l'esposizione cumulativa alla cannabis durante i precedenti dieci anni ( $P = 0,01$ ) e la presenza di sintomi psicotici positivi sottosoglia ( $P < 0,001$ ). La presenza di sintomi psicotici positivi sono inoltre associati all'esposizione cumulativa alla sostanza ( $p = 0,048$ ). Nonostante i consumatori di cannabis mostrino una performance peggiore dei controlli nell'esecuzione di compiti di apprendimento verbale ( $p < 0,001$ ), non c'è correlazione tra punteggio al test e il volume regionale del cervello in entrambi i gruppi. Questi risultati forniscono nuove prove sulle anomalie cerebrali collegate al consumo a lungo termine di cannabis in strutture come l'ippocampo e l'amigdala e confermano risultati simili ottenuti nella sperimentazione animale. Questi risultati dimostrano che l'uso quotidiano e pesante di cannabis, per lunghi periodi di tempo, può esercitare effetti negativi sul tessuto cerebrale e creare problemi alla salute mentale dell'individuo.

Figura 6 - L'amigdala e l'ippocampo sono state tracciate secondo il piano coronale dell'encefalo. Le misure volumetriche interessano l'amigdala destra (in blu) e l'amigdala sinistra (in giallo), l'ippocampo destro (in verde) e sinistro (in rosso). Fonte: Yucel M. et al., 2008.



Alterazioni funzionali anche permanenti in individui che fanno uso di cannabis, specie tra gli adolescenti

La cannabis rimane la droga illegale più diffusa negli Stati Uniti. Per questo motivo Chang e collaboratori (2007) hanno fornito una revisione della letteratura disponibile su studi di neuroimaging del cervello in consumatori di cannabis. Da questa revisione emerge che nella maggior parte degli studi che hanno esaminato gli effetti acuti del THC (principio attivo della cannabis), è stata utilizzata la tecnica PET. Gli studi PET hanno dimostrato che somministrazioni di THC hanno come effetto cerebrale una maggiore attivazione delle regioni frontali, paralimbiche e del cervelletto. L'aumentata attivazione corrisponde ad un aumento del metabolismo cerebrale ampiamente correlato con gli effetti del farmaco sul piano comportamentale. Nonostante alcuni studi riportino risultati ambigui circa gli effetti neurotossici del consumo cronico di cannabis, esistono evidenze scientifiche dei cambiamenti strutturali sul cervello, sull'ossigenazione del sangue (con tecnica fMRI i consumatori

cronici mostrano alterazioni del segnale BOLD) con effetti ascrivibili a fenomeni di neuroadattamento, in regioni cerebrali coinvolte nell'elaborazione di funzioni cognitive superiori. Non è ancora certo se e come questi cambiamenti micro e macro strutturali siano permanenti e/o reversibili con l'astinenza dalla sostanza. La preoccupante prevalenza d'uso di cannabis tra gli individui in età adolescenziale, rende necessaria una campagna di ricerca e prevenzione in grado di dimostrare gli effetti negativi della sostanza su un cervello ancora in via di sviluppo. Una strategica campagna di prevenzione sul consumo di droga dovrebbe quindi considerare progetti di studio longitudinali, che possono portare alla dimostrazione scientifica di alterazioni funzionali cerebrali anche permanenti in individui che fanno uso di cannabis, specialmente se il consumo della sostanza inizia durante l'adolescenza.

Si sta diffondendo un forte interesse scientifico sulla permanenza dei deficit di attenzione e di memoria descritti in soggetti forti consumatori di marijuana. Alcuni ricercatori si sono chiesti se tali effetti potessero essere reversibili dopo un'astinenza prolungata dalla sostanza. In particolare, non è chiaro se la reversibilità dei deficit cognitivi possa essere considerata un indice di mancata alterazione della droga sul funzionamento dei circuiti cerebrali oppure se, nonostante tali alterazioni, il cervello sia in grado di adattarsi ai cambiamenti indotti dalla sostanza. In uno di questi studi è stata misurata la variazione del segnale BOLD (stato di ossigenazione del sangue) mediante l'utilizzo di una Risonanza Magnetica funzionale (fMRI) in 24 consumatori cronici di marijuana (12 astinenti e 12 consumatori attivi) confrontati per età, sesso ed educazione e 19 soggetti di controllo. I partecipanti dovevano eseguire durante la scansione RM una serie di compiti di visuo-attentivi suddivisi per livelli di difficoltà. L'esame prevedeva inoltre la somministrazione di test neuropsicologici per la valutazione delle funzioni cognitive. I due sottogruppi di soggetti consumatori di cannabis (astinenti e consumatori attivi) non mostravano differenze nel modo di utilizzo della sostanza (frequenza, durata e età di primo utilizzo, consumo medio totale > 2000 assunzioni) o di esposizione totale stimata di  $\Delta$ -9-tetraidrocannabinolo (THC) (media  $168 \pm 45$  vs  $244 \pm 135$  grammi). Nonostante le simili prestazioni ai test cognitivi e al compito visuo-attentivo rispetto ai soggetti di controllo, i consumatori di marijuana sia astinenti che attivi hanno mostrato una diminuita attivazione della corteccia prefrontale destra, della corteccia parietale dorsale e media e del cervelletto mediale, ma una maggiore attivazione in diverse regioni frontali, parietali e occipitali durante l'esecuzione del compito visuo-attentivo (Figura 7; soglia statistica pari a  $P \leq 0,001$ ). Tuttavia, il segnale BOLD rilevato nella corteccia frontale destra e cerebellare mediale si normalizzava quando correlato alla durata dell'astinenza nel sottogruppo di consumatori. I consumatori attivi di marijuana, con test delle urine positivo per il THC, hanno invece mostrato una maggiore e più ampia attivazione delle regioni cerebrali frontali e del cervelletto mediale rispetto agli astinenti, suggerendo un maggiore utilizzo di circuiti neurali di riserva (effetto neuro adattativo). Tra le variabili considerate dallo studio, una precoce età di primo utilizzo della sostanza e una maggiore esposizione cumulativa al THC, si sono dimostrate correlate a segnali funzionali (BOLD) ridotti nella corteccia prefrontale mediale destra e nel cervelletto. Proprio questo pattern alterato di attivazione funzionale, in particolare delle aree coinvolte nel processo attentivo, e l'ipoattivazione del cervelletto suggerisce processi neuro adattativi o addirittura alterati processi di sviluppo cerebrale nei consumatori cronici di marijuana (Figura 8). Questi cambiamenti potrebbero essere legati a fenomeni di alterazione indotti dalla marijuana stessa a livello del volume/flusso ematico cerebrale o dei recettori cannabinoidi (CB1). La maggior attivazione neurale registrata nei consumatori attivi, rispetto ai soggetti

Neuroadattamento  
in chi fa uso  
di marijuana:  
riorganizzazione  
del circuito  
visuo-attentivo  
e ipoattività del  
cervelletto

astinenti, dimostra la presenza di uno stato neuro adattativo cerebrale durante il consumo attivo di marijuana. Le conclusioni della ricerca suggeriscono come le modifiche funzionali indotte dalla sostanza possano essere reversibili dopo un periodo prolungato di astinenza dal consumo della sostanza.

Figura 7 - Mappe funzionali di confronto statistico parametrico delle variazioni del segnale BOLD in soggetti astinenti dalla marijuana (THC-), in consumatori attivi (THC+) e in non consumatori. Le aree in arancione mostrano il circuito neurale attentivo e l'effetto del carico attentivo. Abbreviazioni: DLPFC: corteccia prefrontale dorsolaterale; IFG: giro frontale inferiore; MFG: giro frontale medio; SFG: giro frontale superiore; PPC: corteccia parietale posteriore; DMPL: lobulo parietale dorsomediale; MT/V5: area di riconoscimento del movimento. Fonte: Chang L. et al., 2006.

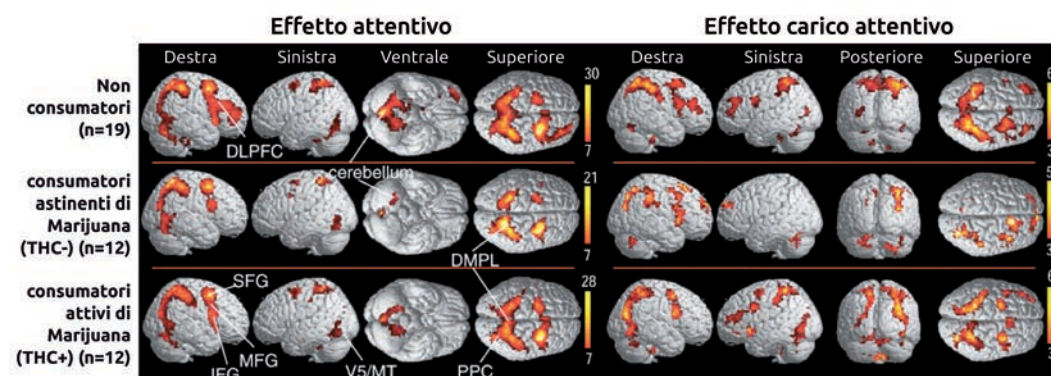
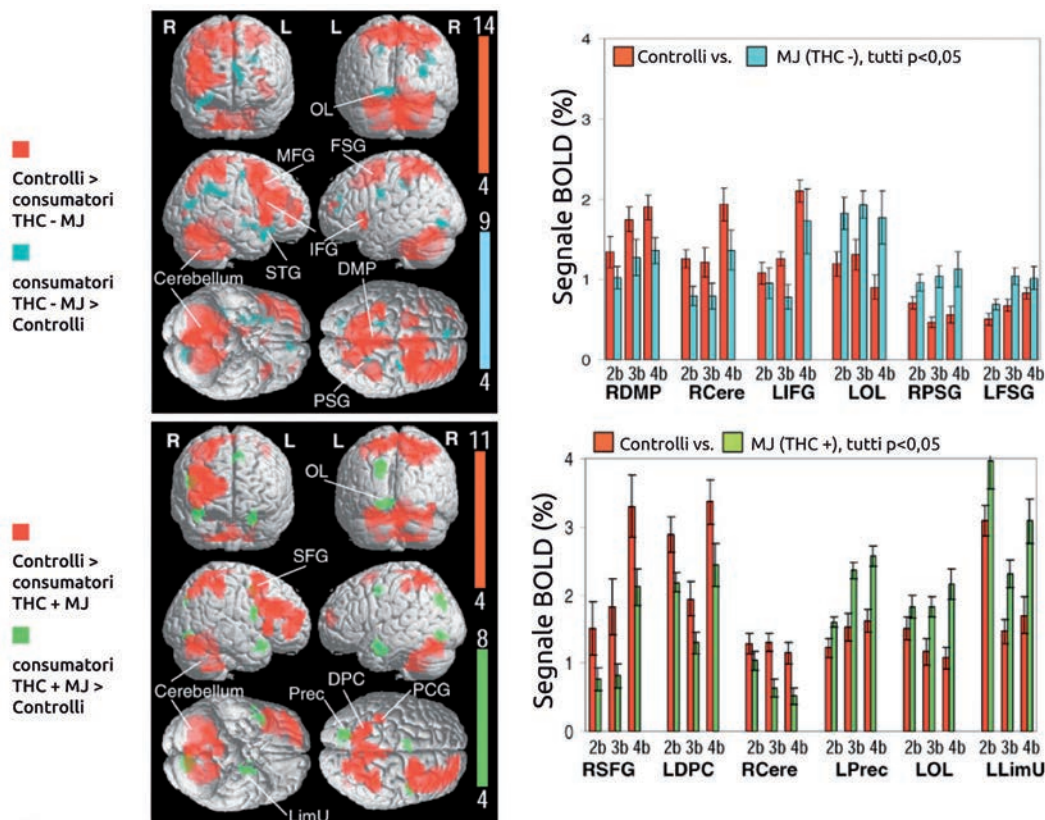




Figura 8 - A sinistra: ricostruzione tridimensionale delle mappe di attivazione funzionale del circuito attentivo nel confronto tra gruppi (P-corretto < 0.005, dimensione dei cluster: 25 voxels; livello del valore T > 4.72; P-non corretto < 0.0001 all'interno dei cluster significativi). Entrambi i gruppi che hanno utilizzato marijuana mostrano una riduzione funzionale del normale circuito attentivo, specialmente nelle regioni parieto-dorsali, nella corteccia prefrontale dorsolaterale e inferiore destra e nel cervelletto medialmente (in rosso). Inoltre, i consumatori di marijuana (sia attivi, sia astinenti) rispetto ai non consumatori, mostrano l'attivazione di piccole aree al di fuori della comune rete attentiva (aree in blu per gli astinenti e aree in verde per i consumatori attivi). A destra: i grafici a barre mostrano le misure delle regioni d'interesse (ROI) come variazione di segnale BOLD (in percentuale) dove esiste una differenza significativa di gruppo (P < 0.05) per l'effetto attentivo. In ciascun grafico, i primi 3 gruppi di barre mostrano le regioni dove i consumatori di marijuana (MJ) (barre blu o verdi) mostrano una minor attivazione rispetto ai controlli (barre rosse), mentre gli ultimi 3 gruppi di barre mostrano dove i soggetti MJ mostrano una maggiore attivazione dei controlli. Abbreviazioni: R = destra; L = sinistra; MFG: giro frontale medio; IFG: giro frontale inferiore; Cere: cervelletto (declive posteriore); PCG: giro post-centrale; SFG: giro frontale superiore; OL: giro occipitale linguale; PSG: subgiro parietale; DMP: giro parietale dorso mediale; Prec: precuneo; DPC: corteccia parietale dorsale; LimU: uncus limbico; FSG: subgiro frontale; STG: giro temporale superiore. Fonte: Chang L. et al., 2006.

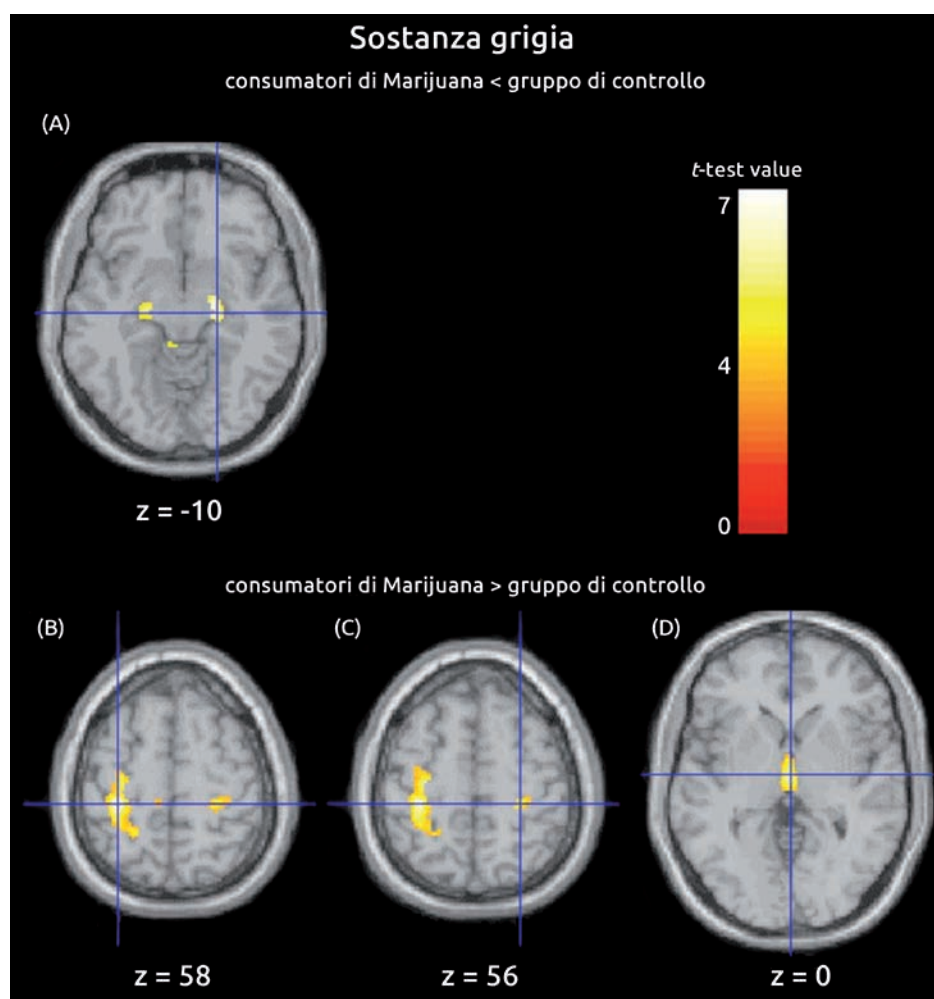


Diversi studi di neuroimaging si sono occupati dell'analisi morfologica della struttura cerebrale al fine di rilevare eventuali alterazioni anatomiche nei consumatori della sostanza. Una tecnica di RM che permette la misurazione della struttura cerebrale è nota come Voxel-Based Morphometry (VBM) ed è stata spesso utilizzata per confrontare pattern cerebrali differenti. In uno studio americano (Matochik J.A. et al., 2005) utilizzando tale metodica è stata riscontrata un'alterata composizione del tessuto cerebrale in consumatori cronici di

Alterazioni del tessuto cerebrale in soggetti che fanno uso di cannabis: uno studio morfometrico

marijuana. Il gruppo di consumatori era costituito da 11 soggetti, la cui volumetria cerebrale è stata confrontata con un gruppo di 6 soggetti non consumatori. I partecipanti allo studio erano tutti maschi. Dopo la scansione RM sono state ottenute mappe morfometriche della struttura cerebrale di ciascun soggetto e applicati confronti statistici tra i due gruppi, al fine di determinare eventuali differenze nella distribuzione e densità di sostanza grigia e bianca nel tessuto cerebrale. Le analisi hanno mostrato che rispetto ai non consumatori, i consumatori di marijuana hanno una minor densità di sostanza grigia (in un cluster di voxel) nel giro paraippocampale destro (significatività statistica pari a  $p < 0,0001$ ), e una maggiore densità in prossimità del giro precentrale e del talamo destro bilateralmente ( $P < 0,04$ ). I consumatori di marijuana hanno mostrato inoltre una ridotta densità di materia bianca nel lobo parietale sinistro ( $p = 0,03$ ), e una maggiore densità della struttura paraippocampale e del giro fusiforme sinistro rispetto ai non consumatori ( $P < 0,002$ ). La maggior quantità di marijuana consumata (in anni) è risultata inoltre la variabile maggiormente correlata con una maggiore densità di sostanza bianca nel giro precentrale sinistro ( $P = 0,045$ ). I risultati dello studio rappresentano prove aggiuntive delle differenze strutturali presenti nel cervello di consumatori cronici di marijuana, e individua le regioni coinvolte nelle alterazioni suggerendo la necessità di ulteriori indagini mirate ad individuare gli effetti della marijuana nel cervello.

Figura 9 - Mappe di attivazione funzionale secondo il piano trasversale. Clusters (A): giro paraippocampale, (B) e (C): giro precentrale, (D): talamo. Le immagini seguono l'orientamento neurologico (il lato sinistro corrisponde al lato destro). Soglia statistica stimata con  $P < 0.001$ . La barra a destra su scala colorimetrica indica il valore di t-test. Fonte: Matochick J.A. et al., 2005.

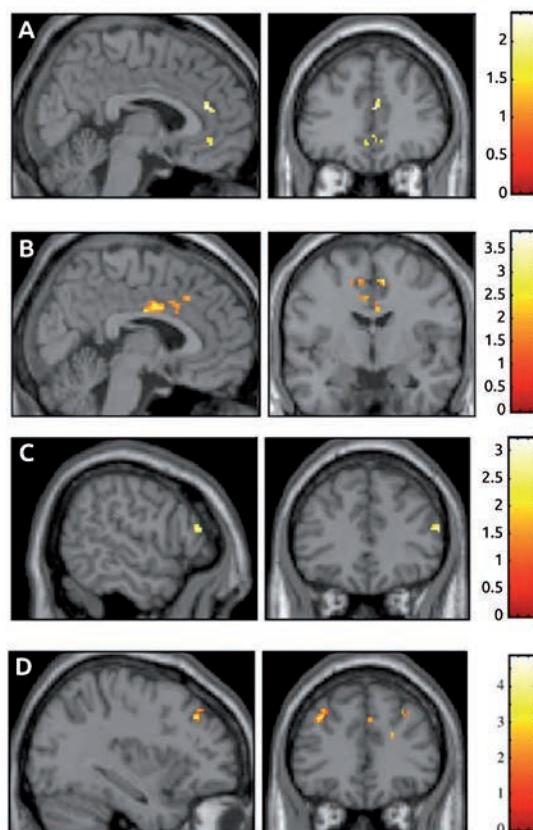




In uno studio pilota di Gruber S.A. et al., (2005), è stata investigata la capacità di elaborazione dei processi inibitori in fumatori di marijuana mediante utilizzo delle neuroimmagini. Le indagini neuropsicologiche sui tossicodipendenti hanno finora riportato deficit delle attività neurali mediate, in particolare, dal sistema esecutivo frontale, incluse le funzioni associate con l'inibizione del comportamento e il processo decisionale. Le funzioni cognitive di ordine superiore e le componenti esecutive coinvolte nella capacità di elaborazione decisionale (decision making) includono l'attenzione selettiva e la memorizzazione a breve termine delle informazioni, l'inibizione della risposta a informazioni irrilevanti, la capacità di risposta alle informazioni pertinenti, l'auto-monitoraggio delle prestazioni, e l'adattamento del comportamento in base al cambiamento delle contingenze interne ed esterne, al fine di raggiungere l'obiettivo preposto. Grazie agli studi neuropsicologici è noto il ruolo dei sistemi cerebrali frontali nell'elaborazione della capacità decisionale. Evidenze scientifiche hanno dimostrato disfunzioni del sistema esecutivo e cambiamenti strutturali del cervello in soggetti che fanno uso di droghe, è possibile quindi ipotizzare deficit decisionali in tali individui. Nello studio pilota di Gruber sono state somministrate due tecniche di RM, la fMRI e l'imaging del tensore di diffusione (DTI) in fumatori cronici di cannabis e soggetti di controllo. Durante la scansione i soggetti hanno eseguito una variante del compito di Stroop, un test solitamente utilizzato per misurare la capacità inibitoria ad una risposta irrilevante. I fumatori di marijuana hanno mostrato una ridotta attivazione del giro cingolato in punti focali della regione anteriore e una iperattivazione della corteccia cingolata mediale rispetto ai controlli, nonostante entrambi i gruppi siano stati in grado di eseguire normalmente il compito richiesto. Il gruppo di controllo ha inoltre dimostrato durante la condizione di interferenza dello stimolo, un aumento dell'attività cerebrale all'interno della corteccia prefrontale dorsolaterale destra (DLPFC), mentre i fumatori di marijuana hanno dimostrato una più diffusa e bilaterale attivazione della DLPFC (Figura 10). Allo stesso modo, anche se entrambi i gruppi hanno svolto bene il compito, i fumatori di marijuana hanno commesso più errori rispetto ai controlli durante la condizione di interferenza (richiesta di inibizione della risposta), che si sono dimostrati associati all'attivazione di differenti regioni cerebrali rispetto ai soggetti di controllo. Dai risultati dello studio possiamo dedurre che i fumatori di marijuana dimostrano un diverso pattern di risposta funzionale cerebrale e commettono più errori durante la condizione di interferenza nel compito di Stroop rispetto ai controlli, nonostante simili prestazioni al test. Inoltre, le analisi con DTI non fanno rilevare alterazioni della coerenza direzionale dei tratti di fibra (anisotropia frazionaria, FA) nelle regioni frontali, in particolare nel ginocchio e splenio del corpo calloso e nella corteccia cingolata anteriore (ACC), ma un notevole incremento della diffusività media (MD) nei fumatori di marijuana rispetto ai controlli. Nel complesso, i risultati di questo studio indicano differenze significative nell'ampiezza e nell'intensità del segnale BOLD specialmente nelle regioni frontali (cingolo anteriore e DLPFC) durante l'esecuzione del test di Stroop durante la condizione di interferenza, nei fumatori cronici di marijuana rispetto ai controlli. Inoltre, nonostante il gruppo di fumatori cronici fosse in grado di svolgere abbastanza bene il test, essi utilizzano diversi circuiti neuronali rispetto ai soggetti di controllo per svolgere lo stesso compito. I risultati di questo studio sono coerenti con l'ipotesi che i tossicodipendenti presentano una alterata funzionalità dei circuiti normali frontali durante l'esecuzione di compiti che coinvolgono la capacità di inibizione e monitoraggio delle prestazioni, funzioni in grado di influenzare la capacità di prendere decisioni.

Cannabis: alterata funzionalità dei circuiti normali frontali durante l'esecuzione di compiti che coinvolgono la capacità di inibizione e monitoraggio delle prestazioni

Figura 10 - Attivazione della ACC durante l'esecuzione del compito di Stroop (random effects t test,  $P < .05$ ) nel confronto tra soggetti di controllo e fumatori di marijuana (A) controlli versus fumatori di marijuana e (B) fumatori di marijuana versus controlli. Durante il compito di Stroop i controlli dimostrano una maggiore attività della parte anteriore della corteccia cingolata, mentre i fumatori mostrano un maggior reclutamento della parte mediale della corteccia cingolata. Le immagini seguono l'orientamento neurologico (lato destro = lato destro). La barra su scala colorimetrica a lato di ciascuna immagine raffigura il valore soprasoglia della statistica utilizzata nell'analisi del segnale (SPM{t}). Attivazione della DLPFC durante l'esecuzione del compito di Stroop (random effects t test,  $P < .05$ ) nel confronto tra soggetti di controllo e fumatori di marijuana (A) controlli versus fumatori di marijuana e (B) fumatori di marijuana versus controlli. Durante il compito di Stroop i controlli dimostrano un'attivazione maggiormente lateralizzata verso l'emisfero destro, mentre i fumatori di marijuana mostrano un'attivazione più diffusa e bilaterale. Fonte: Gruber S.A. et al., 2005.



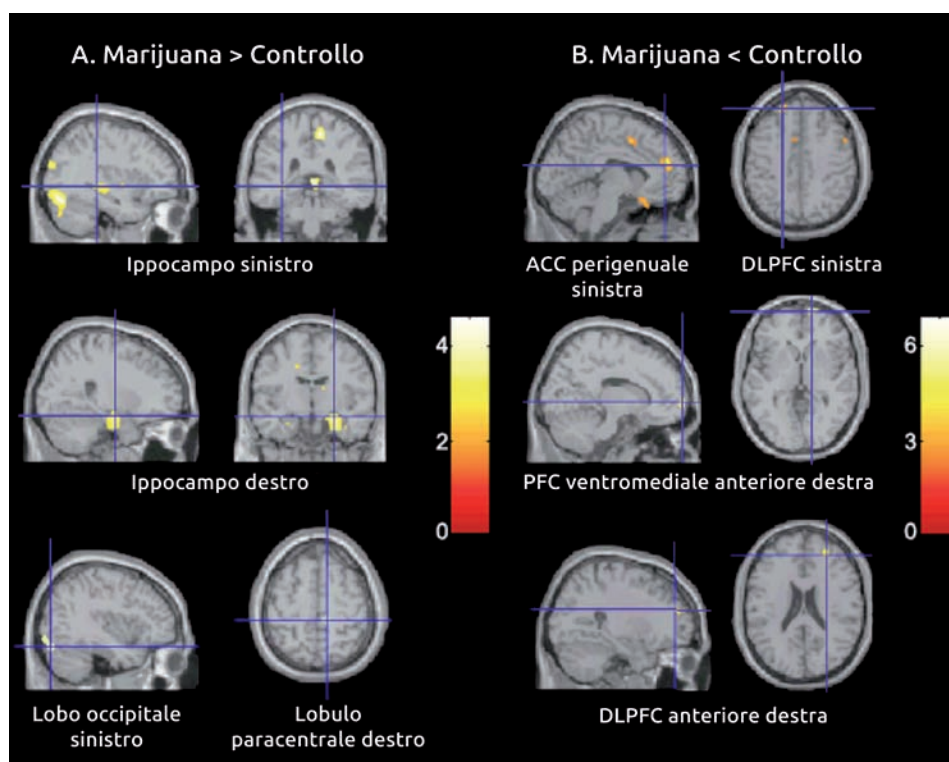
Alterazioni delle  
funzioni esecutive  
in consumatori  
astinenti di  
marijuana

In uno studio con PET (O15) è stata misurata l'attività cerebrale metabolica durante l'esecuzione di un compito cognitivo in alcuni individui fumatori cronici di marijuana in astinenza dall'assunzione della sostanza. Obiettivo della ricerca è stato verificare la presenza di eventuali alterazioni cerebrali persistenti in grado di portare a deficit del funzionamento cognitivo. Per tale motivo, i ricercatori hanno utilizzato una versione modificata del compito di Stroop, in 11 consumatori cronici di marijuana e 11 soggetti di controllo non consumatori (Eldreth D. A. et al., 2004). Il gruppo di consumatori era stato scelto tra quelli che utilizzavano marijuana da almeno due anni, consumando la sostanza circa quattro volte alla settimana e bevendo meno di 13 drink alcolici alla settimana. Dall'esame delle urine si è accertato, in tali soggetti, l'astinenza dalla marijuana da circa 25 giorni. Nonostante l'astinenza, i consumatori presentano specifiche alterazioni delle funzioni cognitive esecutive (ECF) così come rilevato a livello metabolico. Nonostante la mancata differenza di prestazione al compito di Stroop tra i due gruppi, i consumatori di marijuana mostravano a livello cerebrale una ipoattività della corteccia cingolata anteriore (ACC) sinistra e della corteccia prefrontale laterale sinistra (DLPFC) e un'iperattività funzionale dell'ippocampo bilaterale.

mente, rispetto al gruppo di confronto. È possibile che l'anomalia funzionale riscontrata a livello della ACC perigenuale sinistra e della DLPFC nei consumatori di marijuana si possa attribuire all'attività compensatoria di altre aree come l'ippocampo, il lobulo paracentrale destro (BA 6) e il lobo occipitale sinistro. Il lobulo paracentrale destro, più attivo nei consumatori di marijuana, è solitamente coinvolto nelle generali operazioni di memoria di lavoro, mentre la corteccia prefrontale dorso laterale, maggiormente attiva nel gruppo di controllo, è conosciuta per essere coinvolta nel monitoraggio delle operazioni mentali (Cabeza et al., 2002). L'ippocampo, anch'esso attivato maggiormente nei consumatori di marijuana, mostra un incremento di rCBF rispetto al gruppo di controllo indicando un simile meccanismo compensatorio di funzionalità cerebrale.

I risultati dello studio suggeriscono che i consumatori di marijuana presentano persistenti alterazioni metaboliche nelle regioni del cervello coinvolte nel circuito delle ECF. Gli autori spiegano che questi risultati indicando il possibile ruolo di un'alternativa rete neurale che, nei consumatori di marijuana, rappresenta un meccanismo di compensazione necessario allo svolgimento di un compito cognitivo come lo Stroop. Le differenze di attività cerebrale tra due gruppi di studio possono fornire un'indicazione all'evoluzione di comportamenti disadattivi, che hanno come comune denominatore deficit delle funzioni esecutive, come riscontrato in persone con dipendenza da sostanze stupefacenti e disturbi neuropsichiatrici.

**Figura 11 - Mappe delle differenze di gruppo nell'attivazione cerebrale durante esecuzione del compito di Stroop (versione modificata), in fumatori di cannabis (MJ) e gruppo di controllo.** Le immagini sono orientate secondo la convenzione neurologica (lato destro = lato destro). (A) Soggetti MJ mostrano una maggiore attivazione rispetto ai controlli, dell'ippocampo sinistro (coordinate del picco di segnale  $x=34, y=32, z=2$ ) e destro (coordinate del picco di segnale  $x=26, y=10, z=15$ ), del lobo occipitale sinistro [BA18,19] (coordinate del picco di segnale  $x=38, y=80, z=13$ ) e del lobulo paracentrale destro [BA6] (coordinate del picco di segnale  $x=12, y=28, z=55$ ) durante l'esecuzione del compito di Stroop (B) Soggetti MJ mostrano una minor attivazione, rispetto al gruppo di controllo, della ACC perigenuale sinistra [BA32] (coordinate del picco di segnale  $x=6, y=45, z=16$ ), della DLPFC sinistra [BA8, 9] (coordinate del picco di segnale  $x=20, y=46, z=38$ ), la PFC ventromediale anteriore destra [BA10] (coordinate del picco di segnale  $x=14, y=66, z=3$ ) e della DLPFC anteriore destra [BA10] (coordinate del picco di segnale  $x=28, y=46, z=18$ ) durante l'esecuzione del compito di Stroop. Fonte: Eldreth D.A. et al., 2004.

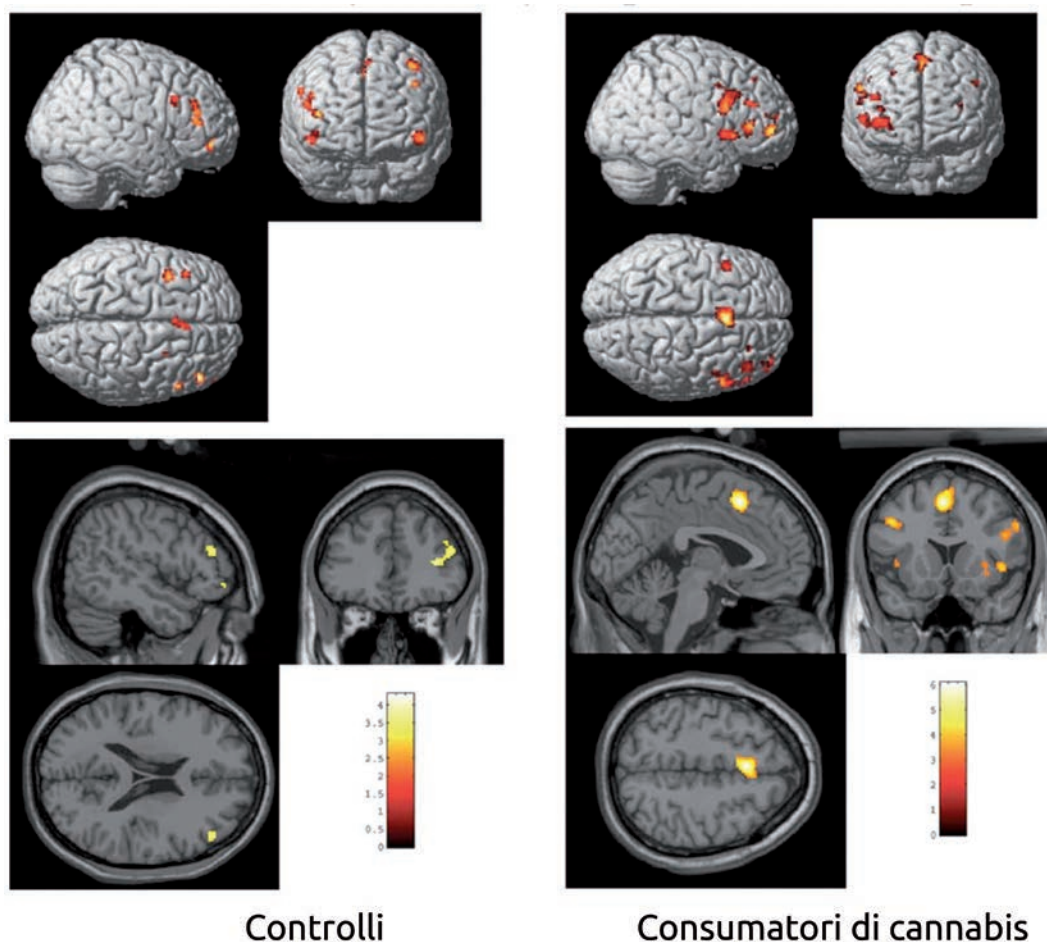




La memoria di lavoro spaziale risulta compromessa nei fumatori di cannabis: il cervello fa più fatica a ricordare e richiede maggiore energia

Alcuni ricercatori (Kanayama et al., 2004) hanno voluto investigare una particolare capacità mentale, la memoria di lavoro, mediante fMRI in soggetti che fanno uso cronico di cannabis, per misurare e localizzare le possibili alterazioni nel circuito neurale necessario alla memorizzazione. Molti studi hanno documentato deficit neuropsicologici nella memoria di lavoro tra gli ultimi consumatori cronici di cannabis. Gli autori hanno utilizzato un compito di memoria spaziale e hanno somministrato il test a 12 consumatori cronici di cannabis sottoponendoli alla scansione di fMRI in due momenti di tempo diversi, rispettivamente 6 e 36 ore dopo l'ultimo uso. Contemporaneamente, sono stati sottoposti allo stesso protocollo 10 soggetti di controllo. L'attivazione cerebrale regionale è stata analizzata e confrontata tra i due gruppi mediante analisi statistica SPM. L'analisi mostra, nei consumatori di cannabis, una maggiore attivazione delle regioni cerebrali tipicamente utilizzate per le attività spaziali dalla memoria di lavoro (come la corteccia prefrontale e il cingolo anteriore), oltre ad altre regioni in genere non coinvolte durante compiti di memoria spaziale (come ad esempio le regioni sotto-corticali dei gangli della base). Questi risultati sono stati riconfermati anche quando è stata inserita nell'analisi statistica dei confronti come covariata l'età dei soggetti. L'attivazione funzionale del cervello ha mostrato poca o nessuna correlazione con gli anni di istruzione dei soggetti, il quoziente intellettivo verbale, le assunzioni occasionali di cannabis, o i livelli urinari della sostanza al momento della scansione. Anche in questa ricerca come in precedenti studi, i consumatori di cannabis mostrano una maggiore e più diffusa attività cerebrale rispetto ai controlli durante l'esecuzione di compiti di memoria di lavoro spaziale. Questi risultati suggeriscono che il consumo recente di cannabis può portare a lievi deficit neurofisiologici che inducono ad un lavoro cerebrale di "compensazione", evidente da un punto di vista funzionale con il reclutamento di aree additive che vengono coinvolte in circuiti cerebrali che solitamente non intervengono per il processamento di quel tipo di informazione, ma che risultano necessari alla riuscita del compito richiesto nei soggetti con anomalie cerebrali dato dall'assunzione della sostanza.

Figura 12 - Aree di massima attivazione cerebrale durante il compito di memoria spaziale (condizione di "short-delay response" versus "percezione del compito") in soggetti di controllo (a sinistra) e forti consumatori di cannabis (a destra). Questi ultimi presentano una più estesa e prominente attivazione cerebrale rispetto ai soggetti di controllo, ben visibile sia mediante sovrapposizione delle mappe funzionali sulle ricostruzioni tridimensionali del cervello (in alto) sia sulle immagini di RM lungo il piano assiale, coronale e sagittale (in basso). Le barre colorimetriche ai lati delle immagini indicano il maggior reclutamento funzionale nei fumatori di cannabis, con diversi livelli di attivazione tra i gruppi; il colore giallo corrisponde ad un valore T di circa 3.5 per i soggetti di controllo, mentre il valore di T è di 5.0 per i fumatori di cannabis. Fonte: Kanayama G. et al., 2004.



Gli effetti sul cervello del consumo frequente di marijuana sono stati studiati mediante tecnica PET. Nello studio di Block R.I. (2002), l'utilizzo della PET ha permesso di visualizzare i cambiamenti di flusso ematico cerebrale (CBF) in consumatori abituali di cannabis, confrontando il loro metabolismo sanguigno con quello di alcuni soggetti di controllo non consumatori della sostanza. I ricercatori hanno analizzato in particolare il flusso ematico cerebrale regionale (rCBF) nelle zone cerebrali coinvolte nella capacità di memorizzare dopo ventisei o più ore di astensione dall'assunzione. Le immagini PET dei consumatori di marijuana in astinenza hanno mostrato, rispetto ai soggetti di controllo, una riduzione del flusso sanguigno nella corteccia prefrontale, e un aumento dello stesso nel cervelletto, con un'alterata localizzazione della distribuzione del flusso sanguigno a livello dell'ipocampo. Inoltre, i soggetti consumatori di marijuana sottoposti ad un compito a prove multiple per l'apprendimento di una lista di parole, hanno richiesto 2,7 presentazioni in più di parole durante l'apprendimento iniziale e 3,1 presentazioni in più durante le presen-



tazioni successive di ri-apprendimento, rispetto ai soggetti di controllo. Queste difficoltà nella memorizzazione sono state supportate dalle immagini PET che hanno dimostrato una differenza dell'attività metabolica cerebrale nei consumatori di marijuana rispetto ai controlli, specialmente nelle aree coinvolte nella codifica della memoria episodica. Nelle prove di ri-apprendimento, rispetto ai soggetti di controllo, i consumatori di marijuana sembrano contare maggiormente sulla capacità della memoria a breve termine ricordando il 23% in più di parole alla fine di un elenco, ma il 19% di parole in meno se situate a metà della lista. Questi risultati indicano un'alterazione delle funzioni cerebrali, in particolare del sistema di memorizzazione, nei consumatori abituali di marijuana che si mantiene anche dopo un mese circa di astinenza dalla sostanza.

Figura 13 - Immagini di RM secondo il piano assiale (prima fila) e sagittale (seconda fila) dei cambiamenti del rCBF mediante analisi randomizzata. I pannelli A-B illustrano la diminuzione del rCBF nella corteccia prefrontale dorsolaterale in fumatori di marijuana (rispetto ai soggetti di controllo) misurata durante l'esecuzione di un compito di recupero dell'informazione mestica (ricordo di una lista di parole). Il pannello C mostra un incremento del rCBF a livello del cervelletto nei fumatori di marijuana durante il compito. In ciascun pannello è indicata mediante una croce l'area di diversa attivazione tra i gruppi (BA 10/11/46, BA 46, e il nucleo dentato; rispettivamente i punti 1, 9, e 13,). Le diverse colorazioni delle aree corrispondono a diversi valori del test t per la validità statistica (vedere a lato la barra colorimetrica). Le immagini seguono l'orientamento radiologico (destra = sinistra). Abbreviazioni: DL = dorsolaterale, M = mediale, e V = ventrale): 3 = cervelletto (verme anteriore); 4 = giro temporale superiore (BA 22); 6 = area di Wernicke (BA 40); 8 = giro temporale superiore (BA 22); 10 = DL corteccia prefrontale (BA 8); 11 = area di Wernicke (BA 40); 12 = DL/V corteccia prefrontale (BA 10/11/46); 14 = cervelletto (verme posteriore); 15 = globo pallido/putamen; 2 = claustrum/putamen; 5 = cingolato posteriore /precuneo (BA 31); 7 =corteccia motoria (BA 4). Fonte: Block R. I. et al., 2002.

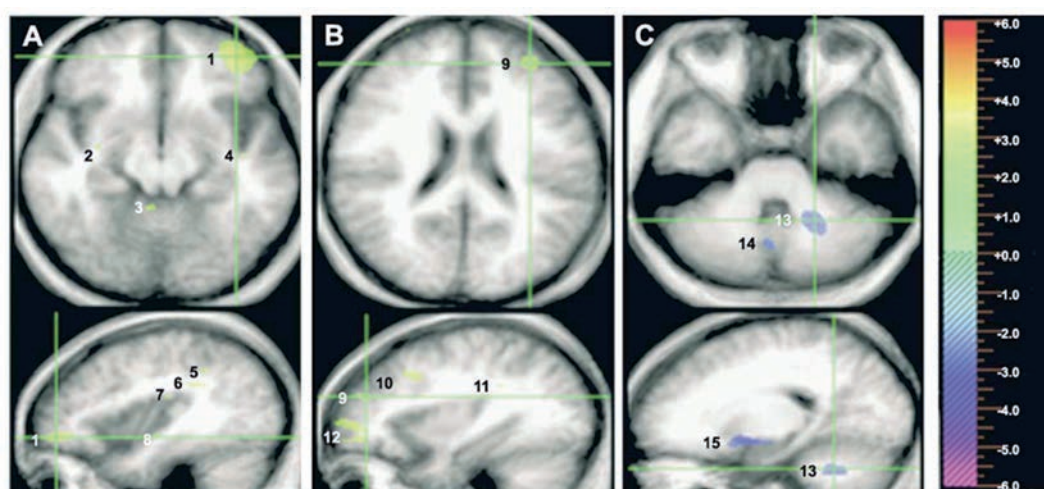
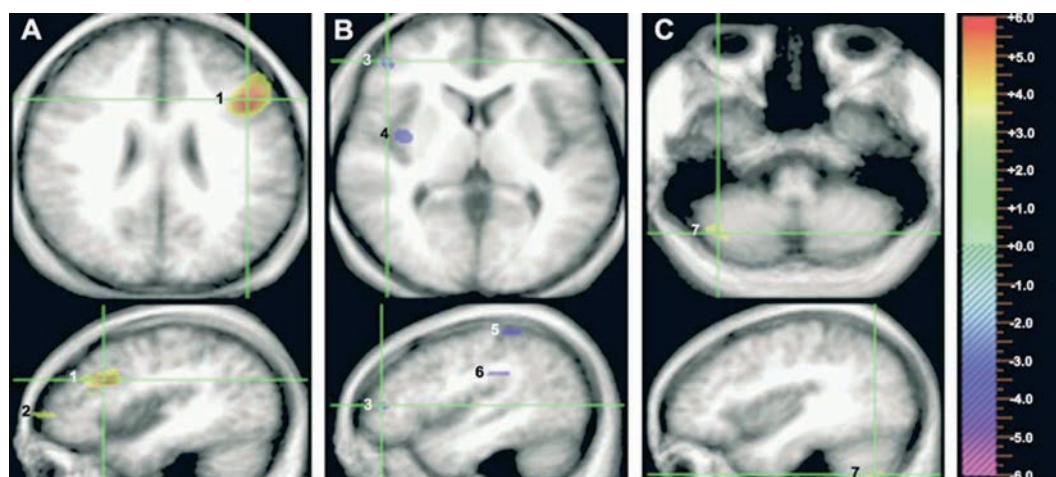




Figura 14 - I cambiamenti di rCBF osservati mediante analisi di Worsley, rispettivamente per consumatori di marijuana e soggetti di controllo. Nella scala colorimetrica di destra i valori positivi di  $t$  rappresentano l'aumento del rCBF il compito di memoria, rispetto al compito di controllo. Le differenze illustrate nelle figure e indicate dal punto di intersezione sono localizzate nella corteccia prefrontale dorso laterale (pannello A-B) e nel cervelletto (pannello C). Il pannello A mostra l'aumento di rCBF durante il ricordo di una nuova lista di parole (rispetto al compito di controllo) nei soggetti di controllo nell'area BA 9 di sinistra e nell'area di Broca (BA 44) (punto 1). Il pannello B mostra la diminuzione di rCBF durante il ricordo di una vecchia lista di parole nei consumatori di marijuana nell'area BA 46 (punto 3). Il pannello C mostra la diminuzione di rCBF durante il ricordo di parole nei consumatori di marijuana nel cervelletto inferiore e posteriore destro (punto 7). Le differenze di attivazione, in aggiunta a quelle indicate dalla linea di intersezione, sono usando l'abbreviazione DL= dorsolaterale: 2 = DL prefrontale (BA 10); 4 = insula; 5 = area di Wernicke (BA 40); 6 = area di Wernicke (BA 40). Tutte le aree sono state considerate attive se  $> 50$  voxels. Fonte: Block R. I. et al., 2002.



## Bibliografia

- Block, R.I., O'Leary, D.S., Hichwa, R.D., Augustinack, J.C., Boles Ponto, L.L., Ghoneim, M.M., Arndt, S., Ehrhardt, J.C., Hurtig, R.R., Watkins, G.L., Hall, J.A., Nathan, P.E., Andreasen, N.C., 2000. Cerebellar hypoactivity in frequent marijuana users. *NeuroReport* 11, 149–753.
- Block, R.I., O'Leary, D.S., Hichwa, R.D., Augustinack, J.C., Boles Ponto, L.L., Ghoneim, M.M., Arndt, S., Hurtig, R.R., Watkins, G.L., Hall, J.A., Nathan, P.E., Andreasen, N.C., 2002. Effects of frequent marijuana use on memory-related regional cerebral blood flow. *Pharmacol., Biochem., Behav.* 72, 237–250.
- Bolla KI, Brown K, Eldreth D, Tate K, Cadet JL (2002) Doserelated neurocognitive effects of marijuana use. *Neurology* 59:1337–1343.
- Cabeza, R., Dolcos, F., Graham, R., Nyberg, L., 2002. Similarities and differences in the neural correlates of episodic memory retrieval and working memory. *NeuroImage* 16, 317–330.
- Chang L., Yakupov R., Cloak C., Ernst T. Marijuana use is associated with a reorganized visual-attention network and cerebellar hypoactivation *Brain* (2006), 129, 1096–1112.
- Eldreth DA, Matochik JA., Cadet JL., Bolla KI. Abnormal brain activity in prefrontal brain regions in abstinent marijuana users *NeuroImage* 23 (2004) 914–920.
- Friston KJ, Holmes AP, Worsley KJ, Poline JP, Frith CD, Frackowiak RSJ (1995b) Statistical parametric maps in functional imaging: a general linear approach. *Hum Brain Mapp* 2:189–210.
- Gruber, S.A., Yurgelun-Todd, D.A., 2005. Neuroimaging of marijuana smokers during inhibitory processing: a pilot investigation. *Brain Res. Cogn. Brain Res.* 23, 107–118.
- Kanayama G, Rogowska J, Pope HG., Gruber SA., Yurgelun-Todd DA.. Spatial working memory in heavy cannabis users: a functional magnetic resonance imaging study. *Psychopharmacology* (2004) 176: 239–247
- Liguori, A., Gatto, C.P., Robinson, J.H., 1998. Effects of marijuana on equilibrium, psychomotor performance, and simulated driving. *Behav. Pharmacol.* 9, 599–609.
- Loeber, R.T., Yurgelun-Todd, D., 1999. Human neuroimaging of acute and chronic marijuana use: implications for frontocerebellar dysfunction.
- Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* 14, 291–304.
- Marisa M. Silveri, John Eric Jensen, Isabelle M. Rosso, Jennifer T. Sneider, Deborah A. Yurgelun-Todd. Preliminary evidence for white matter metabolite differences in marijuana dependent young men using 2D j-resolved magnetic resonance spectroscopy imaging at 4 tesla. *Psychiatry Research: Neuroimaging* 191 (2011) 201–211.
- Mathew, R.J., Wilson, W.H., Coleman, R.E., Turkington, T.G., DeGrado, T.R., 1997. Marijuana intoxication and brain activation in marijuana smokers. *Life Sci.* 60, 2075–2089.
- Matochik, J.A., Eldreth, D.A., Cadet, J.-L., Bolla, K.I., in press. Altered brain tissue composition in heavy mari-

- juana users. *Alcohol and Drug Dependence*.
16. Munk MH, Linden DE, Muckli L, Lanfermann H, Zanella FE, Singer W, Goebel R (2002) Distributed cortical systems in visual short-term memory revealed by event-related functional magnetic resonance imaging. *Cereb Cortex* 12:866–876.
  17. O'Leary DS, Block RI, Flaum M, Schultz SK, Boles Ponto LL, Watkins GL, Hurtig RR, Andreasen NC, Hichwa RD (2000) Acute marijuana effects on rCBF and cognition: a PET study. *Neuroreport* 11:3835–3841.
  18. O'Leary DS, Block RI, Turner BM, Koeppel J, Magnotta VA, Ponto LB, Watkins GL, Hichwa RD, Andreasen NC (2003) Marijuana alters the human cerebellar clock. *Neuroreport* 14:1145–1151.
  19. Pope, H.G., Gruber, A.J., Hudson, J.I., Huestis, M., Yurgelun-Todd, D., 2001. Neuropsychological performance in long-term cannabis users. *Arch. Gen. Psychiatry* 58, 909–915.
  20. Pope, C., Mechoulam, R., Parsons, L., 2010. Endocannabinoid signaling in neurotoxicity and neuroprotection. *Neurotoxicology* 31, 562–571.
  21. Ramaekers, J.G., Kauert, G., van Ruitenbeek, P., Theunissen, E.L., Schneider, E., Moeller, M.R., 2006. High-potency marijuana impairs executive function and inhibitory motor control. *Neuropsychopharmacology* 31, 2296–2303.
  22. Santos MR, Fagundo AB, Crippa JA, Atakan Z, Bhattacharyya S, Allen P, Fusar-Poli P, Borgwardt S, Seal M, Busatto GF, McGuire P. Neuroimaging in cannabis use: a systematic review of the literature. *Psychol Med*. 2010 Mar;40(3):383-98.
  23. Schweinsburg, B.C., Taylor, M.J., Videen, J.S., Alhassoon, O.M., Patterson, T.L., Grant, I., 2000. Elevated myoinositol in gray matter of recently detoxified but not long-term abstinent alcoholics: a preliminary MR spectroscopy study. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research* 24, 699–705.
  24. Schubart C. D., van Gastel, W. ABreetvelt. E. J., Beetz S. L., Ophoff R. A, Sommer I. E. C., Kahn R. S, . Boks M. P. M. Cannabis use at a young age is associated with psychotic experiences *Psychological Medicine / Volume 41 / Issue 06 / , pp 1301–1310*.
  25. Solowij N, Stephens RS, Roffman RA, Babor T, Kadden R, Miller M et al (2002). Cognitive functioning of long-term heavy cannabis users seeking treatment. *JAMA* 287: 1123–1131.
  26. Tapert SF, Schweinsburg AD, Drummond SP, Paulus MP, Brown SA, Yang TT et al (2007). Functional MRI of inhibitory processing in abstinent adolescent marijuana users. *Psychopharmacology* 194: 173–183.
  27. Tapert SF, Brown GG, Kindermann SS, Cheung EH, Frank LR, Brown SA (2001) fMRI measurement of brain dysfunction in alcohol-dependent young women. *Alcohol Clin Exp Res* 25:236–245.
  28. Uftring SJ, Wachtel SR, Chu D, McCandless C, Levin DN, de Wit H (2001) An fMRI study of the effect of amphetamine on brain activity. *Neuropsychopharmacology* 25:925–935.
  29. Vadhan NP, Hart CL, Haney M, van Gorp WG, Foltin RW (2009). Decision-making in long-term cocaine users: Effects of a cash monetary contingency on Gambling task performance. *Drug Alcohol Depend* 102: 95–101.
  30. Vaidya Jatin G, Block Robert I, O'Leary Daniel S, Ponto Laura B, Ghoneim Mohamed M, Bechara Antoine Effects of Chronic Marijuana Use on Brain Activity During Monetary Decision-Making *Neuropsychopharmacology* (2012) 37, 618–629.
  31. van Hell Hendrika H., Vink Matthijs, Ossewaarde Lindsey, Jager Gerry, Kahn René S., Ramsey Nick F. Chronic effects of cannabis use on the human reward system: An fMRI study *European Neuropsychopharmacology* (2010) 20, 153–163.
  32. Volkow N, Gillespie H, Mullani N, Tancredi L, Grant C, Valentine A, et al. Brain glucose metabolism in chronic marijuana users at baseline and during marijuana intoxication. *Psychiatry Res* 1996; 67: 29–38.
  33. Wagner AD, Maril A, Bjork RA, Schacter DL (2001) Prefrontal contributions to executive control: fMRI evidence for functional distinctions within lateral prefrontal cortex. *Neuroimage* 14: 233-237
  34. Wesley MJ, Hanlon CA, Porrino LJ (2011). Poor decision-making y chronic marijuana users is associated with decreased functional responsiveness to negative consequences. *Psychiatry Res* 191: 51–59.
  35. Whitlow CT, Liguori A, Livengood LB, Hart SL, Mussat-Whitlow BJ, Lamborn CM et al (2004). Long-term heavy marijuana users make costly decisions on a gambling task. *Drug Alcohol Depend* 76: 107–111.
  36. Yurgelun-Todd DA, Simpson NS, Gruber SA, Renshaw PF, Pope HG Jr (2001) Cerebral blood volume changes after a 28-day washout period in chronic marijuana smokers: a DSC-MRI study. *College on problems of drug dependence. Annual meeting, Scottsdale, Arizona. Drug Alcohol Depend* 63[Suppl1]:S1751337–1347
  37. Yucel, M., Solowij, N., Respondek, C., Whittle, S., Fornito, A., Pantelis, C., Lubman, D.I., 2008. Regional brain abnormalities associated with long-term heavy cannabis use. *Archives of General Psychiatry* 65, 694–701.

## Sezione 2

### COCAINA





## 2.2.1 Esposizione prenatale alla cocaina in adolescenza: documentate con il neuroimaging le alterazioni cerebrali

Franco Alessandrini<sup>1</sup>, Giada Zoccatelli<sup>1</sup>, Giovanni Serpelloni<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

<sup>2</sup> Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri

Assumere una sostanza stupefacente stimolante durante la gravidanza porta ad una serie importante di alterazioni all'organismo. In particolare, l'aumento dei livelli di noradrenalina genera una conseguente vasocostrizione dei vasi del sistema nervoso centrale nella madre e nel feto, con ipertensione sanguigna e tachicardia. La cocaina, infatti, in particolare quando assunta sottoforma di crack, attraversa facilmente la placenta (Schiller C. et al., 2005). La cocaina è metabolizzata più lentamente dall'organismo durante la gravidanza e i bassi livelli di colinesterasi, l'enzima implicato nel metabolismo della cocaina, fanno sì che vi sia una maggiore esposizione del feto alla sostanza. Il frequente policonsumo di droga e alcol aumenta inoltre la biodisponibilità della cocaina nei siti di legame recettoriale. Tra gli effetti del consumo di cocaina nella gestante, si possono elencare i fenomeni d'ipertensione, aritmia, ischemia cardiaca e infarto, emorragie uterine o epatiche, distacco della placenta e morte. Tra gli effetti della cocaina sul feto vengono inclusi una ridotta ossigenazione sanguigna e mancanza di sostanze nutritive con rallentamento della crescita intrauterina, basso peso alla nascita, microcefalia, anomalie scheletriche, cardiache, visive, uditive o genitourinarie. Il consumo di cocaina durante la gestazione induce quindi un effetto neurotossico sul nascituro con presenza di anomalie neurocomportamentali infantili, che includono alterazioni delle abilità motorie e della postura, carenze nutrizionali, sbalzi d'umore (scarsa consolabilità). Diversi studi hanno dimostrato che l'esposizione prenatale alla cocaina può avere conseguenze negative a lungo termine sul sistema cognitivo e attentivo del feto.

L'esposizione prenatale alla cocaina può avere conseguenze negative a lungo termine sul sistema cognitivo e attentivo del feto

L'esposizione prenatale alla cocaina (PCE) porta con sé una moltitudine di conseguenze negative sullo sviluppo del feto. È stato visto che in condizioni di PCE il nascituro, sia nell'animale che nell'uomo, può sviluppare anomalie dello stato di vigilanza ("arousal"). Non è ancora del tutto chiaro come avvengano queste alterazioni e su quale base neurobiologica. Una ricerca americana (Li Z., 2009) ha riportato i risultati ottenuti da uno studio osservazionale con Risonanza Magnetica funzionale (fMRI) in un ampio campione di giovani soggetti con documentata PCE. I partecipanti allo studio dovevano eseguire durante la scansione fMRI un compito di memoria di lavoro per la valutazione della sfera emozionale, costituito da stimoli emotivamente irrilevanti (distrattori). Il compito è stato scelto per misurare nei soggetti con PCE l'interazione tra stato di vigilanza emotivo e memoria. I partecipanti erano tutti adolescenti (età media 14 anni), suddivisi in 2 gruppi (33 soggetti con storia di PCE e 23 soggetti di controllo).

L'analisi dei dati comportamentali al compito non ha mostrato differenze significative tra i 2 gruppi. Tuttavia, i pattern di risposta neuronale erano diversi durante l'analisi dell'interazione associativa tra memoria ed arousal emozionale.

L'esposizione prenatale alla cocaina altera importanti funzioni del SNC, lo stato di attivazione emozionale e la memoria di lavoro

Nello specifico, quando veniva chiesto un maggiore sforzo mnemonico si attenuava l'attivazione dell'amigdala durante la visione di stimoli emotivi nei controlli, ma non negli adolescenti con PCE. In altre parole, l'attivazione della corteccia prefrontale collegata alla richiesta mnemonica era ridotta in presenza di stimoli distrattori emotivamente carichi nei soggetti sani, mentre aumentava nei soggetti PCE (Figura 1). I risultati della ricerca suggeriscono differenze nell'interazione di gruppo collegate ad alterazioni del substrato neurobiologico per il controllo dell'arousal emozionale in soggetti con PCE. I dati di neuroimmagine ottenuti da questa ricerca sono in linea con quelli ottenuti in precedenti studi fisiologici e comportamentali (Garavan H. et al., 2000; Di Pietro J.A. et al., 1995), in grado inoltre di supportare in modo più approfondito evidenze scientifiche circa il significativo effetto teratogenico a lungo termine dell'esposizione prenatale alla cocaina, sul sistema di regolazione dello stato di vigilanza.

Figura 1 - In alto: immagini dell'encefalo secondo il piano assiale (spessore delle fette: 2 mm), in blu rappresentata l'amigdala di entrambi gli emisferi. In basso: confronto del grado di attivazione (coefficiente di regressione) tra condizione e gruppi. Il valore "NEU0" corrisponde alla baseline (zero). Nel grafico le barre rappresentano l'errore standard della media. Fonte: Li Z. et al, 2009.

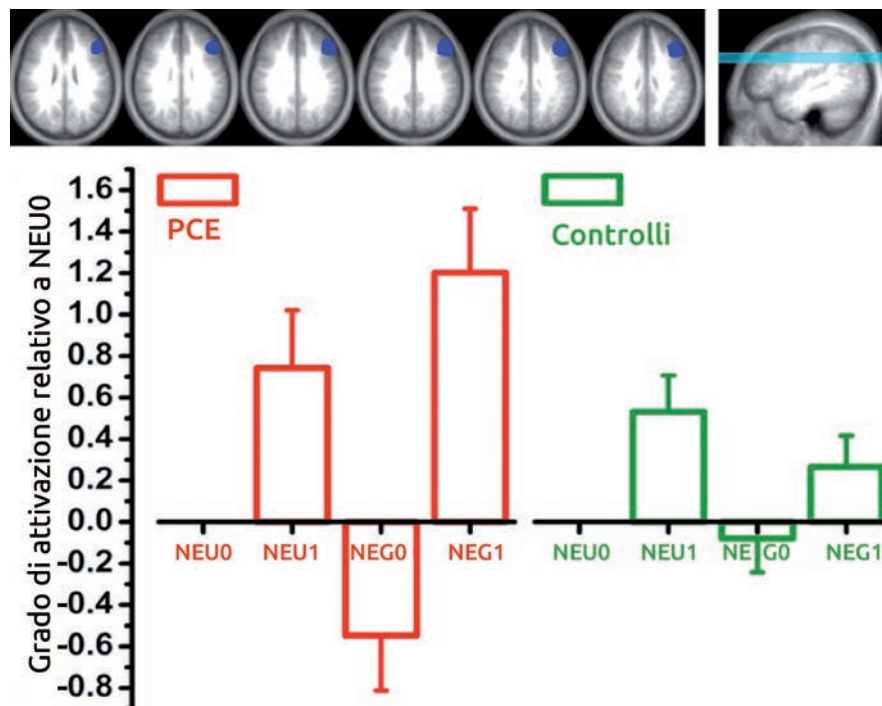
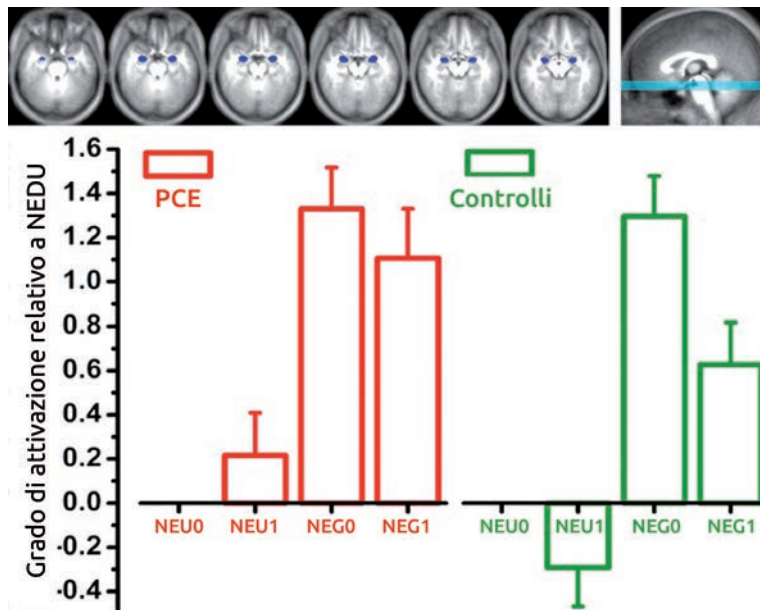




Figura 2 - In alto: immagini dell'encefalo secondo il piano assiale, in blu rappresentata la corteccia prefrontale dorso laterale sinistra. In basso: confronto del grado di attivazione (coefficiente di regressione) tra condizione e gruppi. Fonte: Li Z. et al, 2009.



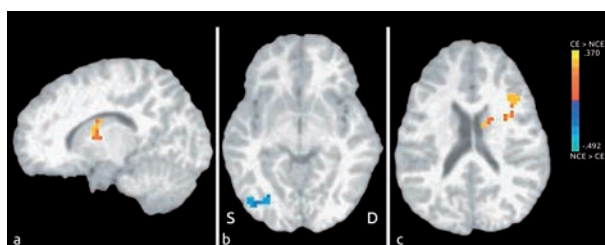
Uno studio olandese (Sheinkopf S.J. et al., 2009) ha indagato i potenziali effetti a lungo termine dell'esposizione prenatale alla cocaina sul funzionamento cerebrale utilizzando la Risonanza Magnetica funzionale. I ricercatori hanno sottoposto 12 giovani ragazzi (età media 9 anni) con esposizione prenatale alla droga all'indagine funzionale, confrontandoli con 12 ragazzi di pari età senza esposizione alla sostanza. Sono state raccolte informazioni demografiche e socio-economiche di tutti i partecipanti, è stato calcolato il quoziente intellettivo e sono stati valutati i potenziali fattori di rischio perinatale. Le analisi dei dati non hanno mostrato differenze significative tra i 2 gruppi di studio. Tuttavia, le analisi delle immagini ottenute durante la scansione fMRI, acquisite mentre i soggetti eseguivano un compito di inibizione della risposta, mostrano un diverso pattern di attivazione cerebrale tra i gruppi. In particolare, i ragazzi con esposizione prenatale alla cocaina presentano una più estesa attivazione cerebrale della corteccia frontale inferiore destra e del nucleo caudato durante la condizione d'inibizione della risposta. I soggetti di controllo al contrario mostrano una maggiore attivazione delle regioni temporali e occipitali. I ragazzi esposti alla cocaina sembrano reclutare maggiormente i circuiti cerebrali fronto-striatali durante l'inibizione della risposta rispetto ai soggetti non esposti. Una interpretazione di questi risultati è che l'esposizione prenatale alla droga può influenzare le regioni cerebrali che sono coinvolte nel controllo cognitivo e nella regolazione dei processi attentivi. Questi risultati sono consistenti con la teoria che l'esposizione prenatale alla cocaina possa interferire con lo sviluppo del sistema monoaminergico e delle funzioni esecutive (Volpe JJ. Et al., 1992; Mayes LC. Et al., 2002). Precedenti ricerche hanno dimostrato un aumento di creatina nella corteccia frontale in soggetti esposti alla cocaina durante la gravidanza (Smith LM. et al, 2001), un aumento della diffusione delle regioni frontali misurate mediante tecnica DTI (Warner TD. et al, 2006), un aumento del flusso sanguigno cerebrale frontale (Rao H. et al, 2007) e un aumento dell'attività funzionale nella corteccia prefrontale sinistra durante un compito di memoria di lavoro (Hurt H. et al., 2008).

E' possibile spiegare queste differenze funzionali riscontrate in soggetti con esposizione

Studio dell'inibizione della risposta comportamentale mediante fMRI in ragazzi con esposizione intrauterina alla cocaina

prenatale alla cocaina, come fenomeni di un meccanismo di compensazione cognitivo ingaggiato per la corretta esecuzione delle funzioni esecutive richieste durante un compito. Vi sono tuttavia altre possibili spiegazioni per le alterazioni funzionali riscontrate tra due gruppi, come ad esempio una più automatica e quindi veloce elaborazione delle informazioni visive nei soggetti non esposti alla cocaina. Le differenze funzionali tra i due gruppi potrebbero quindi riflettere un differente reclutamento delle regioni cerebrali piuttosto che una specifica disfunzione di per sé. Alternativamente i gruppi potrebbero differire nel livello di attribuzione della salienza data agli stimoli o nel monitoraggio delle loro risposte. Le neuroimmagini possono identificare piccole ma fondamentali differenze nel processamento cognitivo tra individui, anche in assenza di differenze nella performance comportamentale (Rubia et al., 2007). I risultati dello studio sono consistenti con quelli riscontrati in adulti che fanno uso di cocaina. Sono stati infatti documentati gli effetti a lungo termine della cocaina sulle funzioni cognitive e sulle capacità di funzionamento cerebrale nelle regioni frontali, sede delle funzioni esecutive superiori, anche dopo lunghi periodi di astinenza (Di Scafani et al., 2002; Bolla et al., 1999). I risultati della ricerca quindi, sebbene preliminari, suggeriscono come l'esposizione prenatale alla cocaina possa alterare in maniera permanente lo sviluppo del sistema cerebrale in particolare nelle funzioni di controllo attentivo e di selezione della risposta.

**Figura 3 - Analisi statistica tra gruppi ("Between-group effects"):** in blu e arancione le aree di attivazione che mostrano una differenza significativa tra gruppi nel segnale di fMRI durante il compito "go/nogo". a) Attivazione del nucleo caudato destro nella condizione soggetti esposti alla cocaina (CE) versus soggetti non esposti (NCE). B) Attivazione del lobo occipitale sinistro: NCE < CE. C) Attivazione del giro frontale destro: CE > NCE. Fonte: Sheinkopf S.J., 2009.



I bambini con esposizione prenatale alla cocaina hanno un ridotto sviluppo delle fibre frontali di proiezione

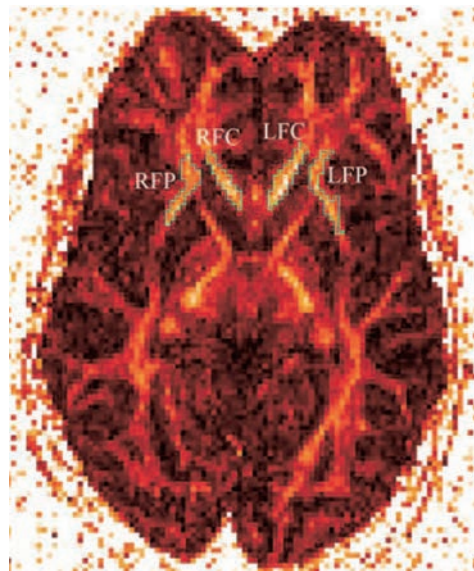
Gli studi sugli animali hanno dimostrato dopo esposizione prenatale alla cocaina dei cambiamenti nella microstruttura dell'encefalo, in particolare della sostanza bianca, associati a modifiche comportamentali. Nella sua ricerca, con uno studio longitudinale su bambino con esposizione prenatale alla cocaina (EPC), il dottor Warner e collaboratori (2006) hanno voluto misurare l'integrità delle fibre di sostanza bianca cerebrale dell'uomo mediante l'utilizzo della tecnica di Risonanza Magnetica, nota come Diffusion Tensor Imaging (DTI). Gli autori hanno studiato in particolare la microstruttura della corteccia frontale in bambini con EPC mediante una RM ad alto campo magnetico (3.0 Tesla). Il campione di studio era composto da 28 bambini con EPC e 25 soggetti di controllo di pari età (età media 10,6 anni). Come indici di integrità delle fibre sono stati calcolati i valori di diffusività media (MD) e di anisotropia frazionaria (FA) nelle regioni di proiezione fronto-callosali. Sono stati somministrati due test neuropsicologici atti a misurare le abilità delle funzioni esecutive noti come Trail Making test e Stroop color-word test. I risultati della ricerca hanno dimostrato che i bambini con esposizione prenatale alla cocaina presentano valori maggiori di MD nelle fibre di proiezione fronto callosali sinistre e frontali destre. Inoltre, i loro tempi di risposta sono risultati rallentati durante la condizione di spostamento visuo-motorio richiesta

dal compito di inibizione verbale (Stroop-color word test). Le analisi hanno mostrato che il valore di MD nelle fibre callosali frontali sinistre correlava con l'esposizione prenatale ad alcol, cocaina e marijuana. In particolare, l'abilità visuo-spaziale al test di Stroop è risultata correlata all'esposizione prenatale di cocaina e all'interazione con cocaina e tabacco nelle regioni frontali.

L'esposizione prenatale alla cocaina quindi, sola o in combinazione con altre sostanze, è associata ad una peggiore capacità delle funzioni esecutive dovuta a cambiamenti cerebrali microstrutturali per un rallentamento dello sviluppo delle fibre frontali di proiezione.

Resta da chiarire il potenziale contributo dei fattori comportamentali postnatali, come l'ambiente di crescita, le condizioni socio-economiche e le cure parentali, sullo sviluppo cerebrale e comportamentale.

**Figura 4 - Mappa di diffusione mediante tecnica DTI secondo il piano assiale. Abbreviazioni: RFP indica le fibre di proiezione frontali destre; RFC, fibre fronto callosali destre; LFC, fibre fronto callosali sinistre; LFP, fibre di proiezione frontali sinistre. Fonte: Warner et al., 2006.**

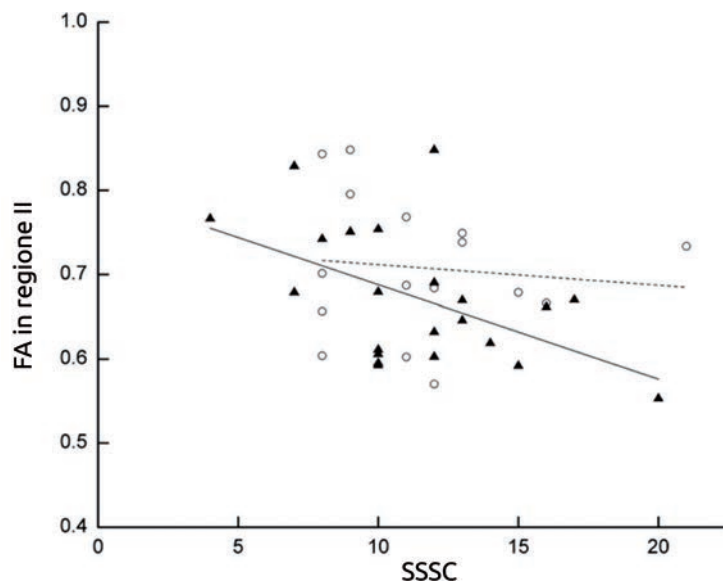


È stato recentemente pubblicato uno studio sull'impatto dell'esposizione prenatale alla cocaina e tabacco mediante il tensore di diffusione (DTI), su adolescenti a rischio. I ricercatori (Liu J. et al., 2011) hanno correlato l'integrità microstrutturale delle fibre di sostanza bianca cerebrale con i punteggi ottenuti dai ragazzi al test denominato "Seeking Scale for Children (SSSC)" che valuta la capacità di inibizione comportamentale ("sensation seeking"). Il disegno dello studio include adolescenti con esposizione prenatale alla cocaina (15 soggetti con esposizione al tabacco) e 20 soggetti di controllo senza esposizione prenatale alla cocaina (8 soggetti con esposizione al tabacco). Sono state identificate 5 sotto regioni del corpo calloso, principale struttura cerebrale con fibre di proiezione per il collegamento interemisferico, ed analizzate tramite tecnica DTI. Nonostante l'analisi microstrutturale non abbia rilevato differenze significative dell'indice di anisotropia frazionaria (FA) tra i gruppi di soggetti con e senza esposizione prenatale alla cocaina nelle sotto regioni del corpo calloso, esiste un trend ( $p < 0.06$ ) verso valori più elevati di FA nella corteccia motoria e premotoria supplementare dei ragazzi esposti alla cocaina. L'esposizione prenatale al tabacco è risultata invece associata a valori inferiori di FA nelle aree di proiezione verso la corteccia

Studio dell'inibizione della risposta comportamentale mediante fMRI in ragazzi con esposizione intrauterina alla cocaina

motoria e pre-motoria supplementare ( $p < 0.03$ ). La diminuzione di FA era collegata ad una maggiore ricerca di sensazioni negli adolescenti che erano stati esposti al tabacco prima della nascita. I risultati ottenuti dalla ricerca suggeriscono quindi che l'esposizione prenatale a droga e tabacco può danneggiare l'integrità della sostanza bianca cerebrale, la quale è direttamente collegata a tratti di personalità come la ricerca di nuove sensazioni, tratto tipico degli adolescenti. I ragazzi con storia di esposizione alle droghe prima della nascita possono manifestare alterazioni della maturità cerebrale a causa di un effetto tossico delle sostanze stupefacenti durante la gestazione.

Figura 5 - Grafico di associazione tra l'indice di anisotropia frazionaria (FA) nell'area della corteccia motoria e il punteggio ottenuto al test SSSC. I soggetti esposti prima della nascita al fumo di tabacco sono rappresentati mediante dei triangoli neri, mentre i soggetti non esposti al tabacco sono rappresentati da cerchi. L'associazione tra comportamento ed attivazione cerebrale nei soggetti con esposizione prenatale al tabacco è rappresentata da una linea continua mentre l'associazione nei soggetti che non sono stati esposti al tabacco è mostrata da una linea tratteggiata. La correlazione inversa tra FA e punteggio al test SSSC è risultata significativa solo negli adolescenti con esposizione prenatale al tabacco ( $r = 0.51$ ,  $P = 0.02$ ), e non significativa negli adolescenti non esposti al tabacco ( $r = 0.11$ ,  $P = 0.69$ ). Fonte: Liu J. et al., 2011.

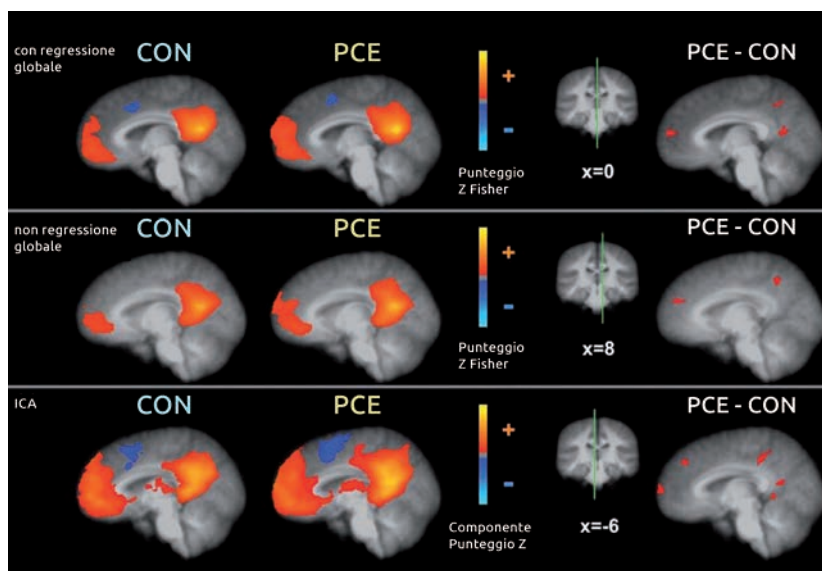


L'esposizione alla cocaina aumenta lo stato di allerta del cervello in condizioni di riposo

È possibile registrare le intrinseche funzioni cerebrali strettamente associate con la regolazione dello stato di allerta (arousal) e di sviluppo cognitivo mediante analisi dell'attività neurale di base (dall'inglese "default mode activity") con l'utilizzo di una particolare sequenza di risonanza magnetica. Mediante la tecnica di Risonanza Magnetica funzionale "resting-state" (rs-fMRI) è infatti possibile registrare l'attività cerebrale che identifica una serie di aree (default mode network, DMN) comunemente attive durante lo stato di veglia in condizioni di riposo. È stato ipotizzato che l'esposizione prenatale alla cocaina (PCE) sia associata ad alterazioni ed inefficienze di molte funzioni cognitive, in particolare dell'attenzione. Tuttavia, le basi biologiche di questi effetti teratogenici non sono ancora ben conosciuti. Alcuni ricercatori ritengono che alterazioni nel circuito neurale identificato dalla DMN possano ritrovarsi in persone con PCE e sottendere a disfunzioni cognitive. Questa ricerca (Li Z. et al., 2011) ha previsto l'utilizzo della sequenza rs-fMRI per investigare i possibili cambiamenti nella connettività funzionale cerebrale della DMN, in adolescenti con storia di esposizione prenatale alla cocaina. Nello studio, i ragazzi con esposizione prena-

tale alla cocaina hanno dimostrato una maggior e più estesa attivazione (aumento della connettività funzionale) nelle aree della DMN rispetto al gruppo di controllo. Durante la scansione con RM, i soggetti sono stati inoltre sottoposti ad un compito di memoria di lavoro con distrattori emozionali. Il gruppo con PCE ha esibito una minor deattivazione nel circuito della DMN e il loro segnale neurale aumentava proporzionalmente all'attivazione emozionale. Questi dati dimostrano quali effetti neurali aggiuntivi possono essere collegati all'esposizione prenatale di cocaina, come essi influiscono sul funzionamento cognitivo e comportamentale aumentando lo stato d'allerta cerebrale e alterando i meccanismi di bilanciamento eccitatori ed inibitori coinvolti nell'allocazione delle risorse cognitive.

**Figura 6 - Confronto tra gruppi dell'attività di resting-state DMN basato su diversi approcci di analisi statistica dei dati. In alto: analisi di cross-correlazione (CCA) senza regressione globale; in basso: analisi delle componenti indipendenti (ICA). I risultati sono mostrati in una sezione sagittale del cervello vicino alla fessura mediana (linea verde). Le mappe funzionali mostrano le aree di correlazione positiva (rosso/giallo) e negativa (blu/azzurro), o il contributo delle componenti, mediante un livello di soglia statistica pari a  $P < 0.01/\text{voxel}$  e cluster di 648 mm<sup>3</sup> (analisi di confronto multiplo corretto con  $P < 0.05$ ). Le mappe della differenza tra gruppi hanno considerato un livello di soglia statistica pari a  $P < 0.01/\text{voxel}$  e cluster di 243 mm<sup>3</sup> (analisi di confronto multiplo corretto con  $P < 0.05$ ). CON, controllo; PCE, esposizione prenatale alla cocaina. Fonte: Li Z. et al., 2011.**



L'utilizzo delle diverse metodiche avanzate di risonanza magnetica permette uno studio multi-integrato della funzionalità cerebrale. Lo studio di Liu (Liu J., 2011) ha per questo motivo utilizzato sequenze di MRI strutturale, la tecnica del tensore di diffusione (DTI) e misure comportamentali, per investigare i potenziali effetti a lungo termine della cocaina sulla struttura cerebrale e sull'impulsività caratteriale in ragazzi con esposizione prenatale alla sostanza. La ricerca ha considerato un gruppo di adolescenti con un range di età dai 12 ai 15 anni, reclutati in base ad uno studio longitudinale per monitorare gli effetti dell'esposizione prenatale alla cocaina. Lo stato di esposizione alla sostanza dei neonati è stato determinato alla nascita, in base alle dichiarazioni rilasciate dalle madri e ad un'analisi tossicologica. Il campione di studio era composto da 40 ragazzi (20 esposti alla cocaina e 20 di controllo) nati dopo 33 settimane di gestazione senza esposizione prenatale alla marijuana o ad oppiacei. I due gruppi sono stati confrontati anche per variabili come l'eventuale esposizione all'alcol prima della nascita, lo stato socio-economico della famiglia d'origine,

Nei ragazzi con esposizione prenatale alla cocaina si verifica un mancato sfolgimento delle sinapsi, con conseguente aumento volumetrico dei nuclei cerebrali

il quoziente intellettivo, la circonferenza cranica e l'età gestazionale. Tra i 20 soggetti con esposizione alla cocaina, molti erano anche stati esposti al tabacco. L'analisi MRI dei dati strutturali non ha mostrato differenze significative tra il gruppo di soggetti le cui madri avevano fatto uso di cocaina durante la gravidanza e il gruppo di controllo, nel volume delle strutture sottocorticali, nell'intero volume cerebrale o nello spessore corticale dei lobi. Simili risultati sono stati ottenuti anche nelle analisi di correlazione considerando il volume intracranico e l'esposizione prenatale al tabacco. Nonostante la differenza non sia significativa, è stato riscontrato un aumento della dimensione del nucleo putamen ( $p=0.06$ ) e del talamo ( $p=0.07$ ), due regioni sottocorticali, nei soggetti con esposizione prenatale alla cocaina. Le analisi di correlazione tra i dati di MRI e le misure di impulsività hanno mostrato un maggior volume del nucleo caudato associato ad un aumento degli errori commessi al test comportamentale ("Conners' Continuous Performance Test"), un aumento volumetrico del talamo e della sostanza bianca nelle aree deputate al controllo della ricerca di sensazioni, nel gruppo di soggetti esposti alla cocaina prima della nascita. Tali risultati potrebbero suggerire l'esistenza di una tendenza verso l'aumento volumetrico di alcune strutture cerebrali in bambini con esposizione prenatale alla cocaina dovuto ad un ritardo o a un insufficiente sfoltimento delle sinapsi ("pruning sinaptico"), che porta ad una compensazione funzionale (aumento volumetrico delle strutture) per un effetto neurotossico della sostanza sulle cellule nervose in via di sviluppo. È possibile ipotizzare una deviazione della via di sviluppo cerebrale, che coinvolge in particolare il sistema dopaminergico in adolescenti esposti alla cocaina durante la gravidanza.

Gli adolescenti con esposizione prenatale alla cocaina mostrano una alterata perfusione sanguigna cerebrale

Numerosi studi sugli animali hanno chiaramente dimostrato gli effetti dell'esposizione alla cocaina nel feto, specialmente nelle aree della corteccia cerebrale ricche di dopamina. Nonostante i notevoli passi avanti della ricerca in questo ambito di studi, poco è ancora conosciuto circa gli effetti della cocaina sul feto dell'uomo. Sono necessari studi longitudinali in grado di dimostrare le alterazioni indotte dalla cocaina sullo sviluppo neuro-cognitivo durante la gravidanza. Alcuni ricercatori americani del Dipartimento di Radiologia e Neurologia della Pennsylvania (USA) hanno utilizzato una tecnica non invasiva di risonanza magnetica nota come continuous arterial spin-labeling (cASL) per studiare la perfusione sanguigna cerebrale in adolescenti esposti alla cocaina prima della nascita. Il gruppo di studio (24 soggetti) è stato confrontato con 25 soggetti di pari età non esposti alla sostanza. Tutti i partecipanti sono stati sottoposti a scansione di MRI e sono state ottenute immagini della struttura cerebrale e del flusso sanguigno. Sono state individuate alcune regioni di interesse e confrontate tra due gruppi. I risultati dello studio hanno mostrato che dal confronto tra adolescenti esposti a cocaina e non esposti, esistono significative differenze di perfusione sanguigna cerebrale. I ragazzi esposti alla sostanza durante la gravidanza mostrano una globale riduzione di flusso sanguigno nelle regioni posteriori e inferiori dell'encefalo, tra cui la corteccia occipitale e il talamo.

Negli stessi soggetti è stato identificato un aumento del flusso sanguigno cerebrale nelle aree anteriori e superiori, che comprendono la corteccia prefrontale, la corteccia cingolata, l'insula, l'amigdala, e la corteccia parietale superiore. Concludendo, è possibile ipotizzare che l'esposizione alla cocaina induca nel feto una generale riduzione del flusso sanguigno cerebrale, e che tale riduzione persista durante l'adolescenza. Il relativo aumento di flusso sanguigno nelle regioni cerebrali antero-superiori nei soggetti con esposizione prenatale alla cocaina può essere spiegato come un meccanismo compensatorio della globale riduzione del flusso cerebrale che avviene durante l'ontogenesi neurale.

La tecnica cASL può quindi essere considerata un valido strumento per investigare gli ef-



fetti a lungo termine dell'esposizione alle droghe già prima della nascita.

Figura 7 - Immagini di flusso sanguigno cerebrale (CBF) nei soggetti con esposizione prenatale alla cocaina (COC) e nei soggetti di controllo (CON). A) CBF medio nel gruppo COC. B) CBF medio nel gruppo CON. C) differenza quantitativa di CBF tra i due gruppi (COC-CON; con il colore blu viene indicato l'aumento di CBF medio del gruppo CON, mentre con il colore rosso l'aumento di CBF nei soggetti COC). Da segnalare l'evidente diminuzione di CBF nelle regioni occipitale e talamiche nei soggetti con esposizione prenatale alla cocaina rispetto al gruppo di controllo. Fonte: Rao H. et al., 2007.

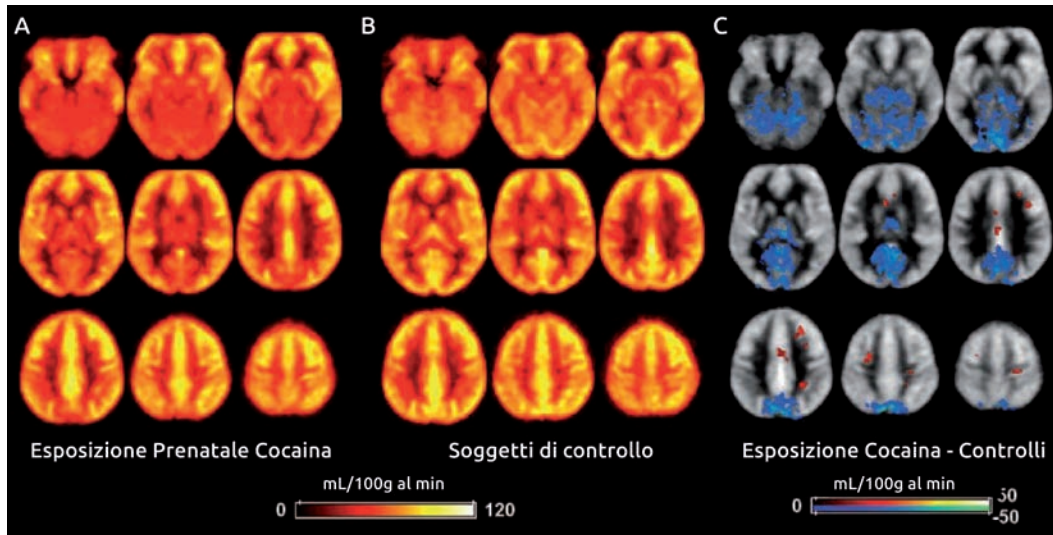
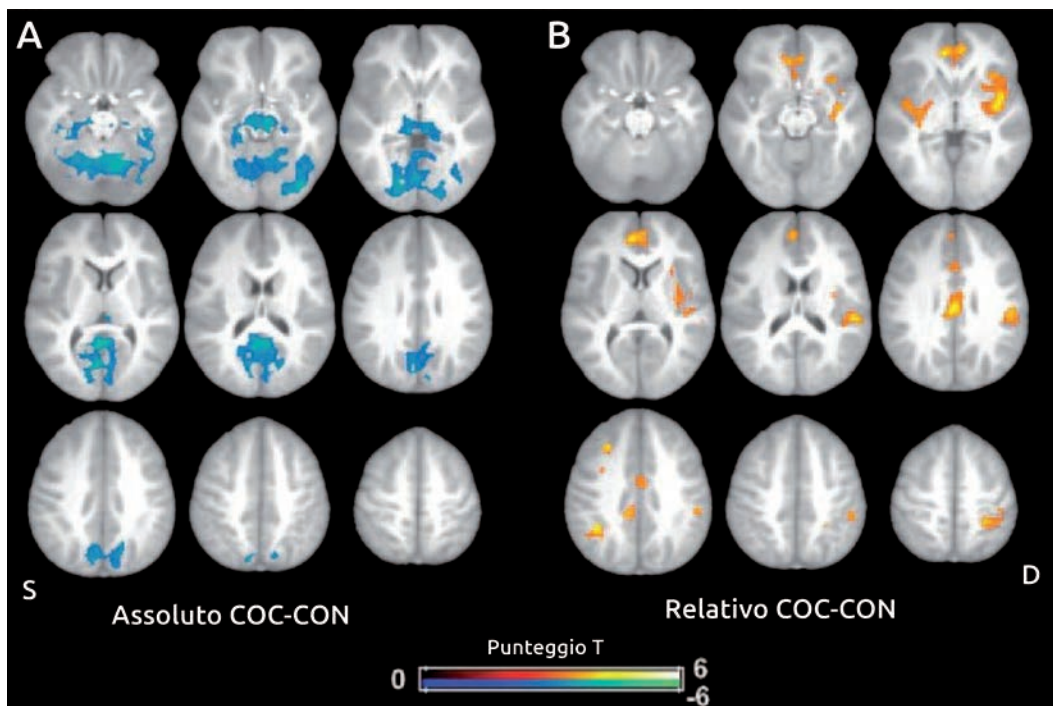


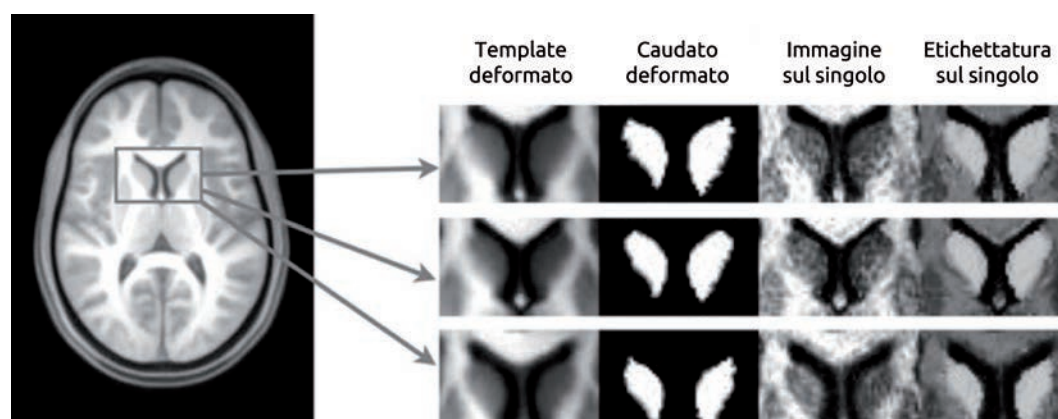
Figura 8 - Mappe di attivazione di gruppo (COC versus CON) dopo analisi del segnale BOLD (voxel-wise general linear modeling). L'analisi si è basata su una statistica FDR-corrected e valore di P pari a 0.05 con cluster di 100 voxels. A) Differenze assolute di CBF. B) Differenze relative di CBF. Da segnalare l'evidente diminuzione del valore assoluto di CBF nelle regioni occipitali e talamiche nelle regioni frontali, nel cingolato, nell'insula e nelle regioni parietali nel gruppo di COC rispetto al gruppo di controllo. Fonte: Rao H. et al., 2007.



Alterazioni morfo-  
strutturali del  
nucleo caudato  
come causa  
della distruzione  
dopaminergica  
indotta dalla  
cocaina

In un altro studio americano (Avants, 2007) si è voluto investigare l'effetto dell'esposizione prenatale alla cocaina e ad altre sostanze stupefacenti sul cervello di adolescenti a rischio, focalizzandosi su un nucleo particolare del talamo, il nucleo caudato. I ricercatori hanno utilizzato una risonanza magnetica ad alta risoluzione per quantificare morfologicamente la struttura del nucleo caudato in soggetti esposti alla cocaina e in soggetti sani di controllo. L'esposizione alla cocaina sembra compromettere lo sviluppo ontogenetico delle cellule nervose attraverso una distruzione del sistema dopaminergico, per un effetto secondario dato dall'insufficienza respiratoria causata dalla droga al feto, o da una alterata reattività cerebrovascolare. L'esposizione alla cocaina durante la gestazione potrebbe anche portare a lesioni neonatali nel nucleo caudato (Figura 9). Tuttavia effetti latenti o a lungo termine sull'esposizione intrauterina alla cocaina sono stati solo raramente documentati. La letteratura scientifica suggerisce che l'esposizione alla sostanza possa essere mascherata da altre variabili durante l'adolescenza (Lester BM et al., 1998; Levitt P. et al., 1998). Lo studio di Avants (2007) si è focalizzato su un confronto tra gruppi di soggetti con un' elevata esposizione alla cocaina (madri con 117 giorni di uso di cocaina durante la gravidanza; 82% positive all'uso della sostanza alla nascita del figlio). I ricercatori hanno quantificato la morfologia del nucleo caudato destro e sinistro tramite software di segmentazione avanzati dell'immagine MRI, riportando una significativa riduzione del nucleo nei soggetti con esposizione alla droga ( $P < 0.0025$ ). Questi risultati rappresentano una prova dell'alterazione dopaminergica indotta dalla sostanza sul feto, che coinvolge direttamente il nucleo sotto corticale. Il nucleo caudato destro ( $P < 0.025$ ) e sinistro ( $P < 0.035$ ), analizzati in modo indipendente, mostrano lo stesso significativo trend di riduzione volumetrica.

Figura 9 - A sinistra rappresentazione bidimensionale di un'immagine RM secondo il piano trasversale, tratta da un atlante anatomico standardizzato. Nel riquadro e nelle immagini a destra viene mostrato il nucleo caudato di entrambi i lati emisferici. L'analisi volumetrica di ciascun soggetto è stata possibile mediante allineamento e co-registrazione delle singole immagini di RM pesate in T1 secondo l'atlante anatomico. Fonte: Avants et al., 2007.



## Bibliografia

1. B.B. Avants, H. Hurt, Giannetta J.M., Epstein C.L., Shera D.M., Rao H., Wang J., Gee J. Effects of Heavy In Utero Cocaine Exposure on Adolescent Caudate Morphology *Pediatric Neurology*. Volume 37, Issue 4, October 2007, Pages 275-279
2. Bolla KI, Rothman R, Cadet JL: Dose-related neurobehavioral effects of chronic cocaine use. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1999; 11: 361-369.
3. Chasnoff IJ. Cocaine and pregnancy: clinical and methodologic issues. *Clin Perinatol* 1991;18(1):113-123.
4. Dipietro J.A., Suess P.E., Wheeler J.S., Smouse P.H., Newlin D.B., Reactivity and regulation in cocaine-exposed neonates, *Infant Behav. Dev.* 18 (1995) 407-414.
5. Di Sclafani V, Tolou-Shams M, Price LJ, Fein G: Neuropsychological performance of individuals dependent on crack-cocaine, or crack-cocaine and alcohol, at 6 weeks and 6 months of abstinence. *Drug Alcohol Depend* 2002; 66: 161-171.
6. Garavan H., Morgan R.E., Mactutus C.F., Levitsky D.A., Booze R.M., Prenatal cocaine exposure impairs selective attention: evidence from serial reversal and extradimensional shift tasks, *Behav. Neurosci.* 114 (2000) 725-738.
7. Hurt H, Giannetta JM, Korczykowski M, Hoang A, Tang KZ, Betancourt L, Brodsky NL, Shera DM, Farah MJ, Detre JA: Functional magnetic resonance imaging and working memory in adolescents with gestational cocaine exposure. *J Pediatr* 2008; 152: 371-377.
8. Liu J. Brain structural and behavioral characterization of long-term effects of prenatal cocaine exposure in adolescents. *ProQuest*, September 9, 2011
9. Liu J., Cohen R.A., Gongvatana A., Sheinkopf S.J., Lester B.M., Impact of Prenatal Exposure to Cocaine and Tobacco on Diffusion Tensor Imaging and Sensation Seeking in Adolescents *The Journal of Pediatrics* Volume 159, Issue 5, November 2011, Pages 771-775
10. Lester BM, LaGasse LL, Seifer R: Prenatal cocaine exposure and child outcome: the meaning of subtle effects. *Science* 1998; 282: 633-634.
11. Levitt P: Prenatal effects of drugs of abuse on brain development. *Drug Alcohol Depend* 1998; 51: 109-125. Mayes LC: A behavioral teratogenic model of the impact of prenatal cocaine exposure on arousal regulatory systems. *Neurotoxicol Teratol* 2002; 24: 385-395.
12. Mayes L, Snyder PJ, Langlois E, Hunter N. Visuospatial working memory in school-aged children exposed in utero to cocaine. *Child Neuropsychol* 2007;13:205-218.
13. Mayes LC. A behavioral teratogenic model of the impact of prenatal cocaine exposure on arousal regulatory systems. *Neurotoxicol Teratol* 2002;24:385-395.
14. Nair BS, Watson RR. Cocaine and the pregnant woman. *J Reprod Med* 1991;36(12):862-867
15. Oro AS, Dixon SD. Perinatal cocaine and methamphetamine exposure: maternal and neonatal correlates. *J Pediatr* 1987;111(4):571-578
16. Phelps L, Cottone JW. Long-term developmental outcomes of prenatal cocaine exposure. *J Psychoeduc Assess* 1999;17:343-353.
17. Rao H, Wang J, Giannetta J, Korczykowski M, Shera D, Avants BB, Gee J, Detre JA, Hurt H: Altered resting cerebral blood flow in adolescents with in utero cocaine exposure revealed by perfusion functional MRI. *Pediatrics* 2007; 120:e1245-e1254.
18. Richardson CA, Goldschmidt L, Larkby C. Effects of prenatal cocaine exposure on growth: a longitudinal analysis. *Pediatrics* 2007;120:1017-1027.
19. Rivkin MJ, Davis PE, Lemaster JL, Cabral HJ, Warfield SK, Mulkern RV, Robson CD, Rose-Jacobs R, Frank DA. Volumetric MRI study of brain in children with intrauterine exposure to cocaine, alcohol, tobacco, and marijuana. *2008 Pediatrics* 2008:741-750.
20. Romano TG, Harvey JA. Prenatal cocaine exposure: long-term deficits in learning and motor performance. *Ann N Y Acad Sci* 1998;846:89-108.
21. Rubia K, Smith AB, Taylor E, Brammer M: Linear age-correlated functional development of right inferior fronto-striato-cerebellar networks during response inhibition and anterior cingulate during error-related processes. *Hum Brain Mapp* 2007; 28: 1163 - 1177.
22. Schiller C, Jackson Allen P. Follow-up of infants prenatally exposed to cocaine. *Pediatr Nurs* 2005;31(5):427-43
23. Schuetze P, Eiden RD. The association between maternal cocaine use during pregnancy and physiological regulation in 4- to 8-week-old infants: an examination of possible mediators and moderators. *J Pediatr Psychol* 2006;31:15-26.
24. Schuetze P, Eiden RD, Coles CD. Prenatal cocaine and other substance exposure: effects on infant autonomic regulation at 7 months of age. *Dev Psychobiol* 2007;49:276-289.
25. Sheinkopf S.J., Lester B.M., Sanes J.N., Eliassen J.C., Hutchison E. R, Seifer R., LaGasse L.L., Durston S. B.J. Casey Functional MRI and Response Inhibition in Children Exposed to Cocaine in utero *Dev Neurosci* 2009;31:159-166
26. Singer LT, Minnes S, Short E, Arendt R, Farkas K, Lewis B, Klein N, Russ S, Min MO, Kirchner HL. Cognitive outcomes of preschool children with prenatal cocaine exposure. *JAMA* 2004;291:2448-2456.
27. Smith LM, Chang L, Yonekura ML, Gilbride K, Kuo J, Poland RE, Walot I, Ernst T. Brain proton magnetic resonance spectroscopy and imaging in children exposed to cocaine in utero. *Pediatrics* 2001;107:227-231
28. Smith LM, Chang L, Yonekura ML, Gilbride K, Kuo J, Poland RE, Walot I, Ernst T. Brain proton magnetic resonance spectroscopy and imaging in children exposed to cocaine in utero. *Pediatrics* 2001; 107: 227-231.
29. Srisuphan W, Bracken MB. Caffeine consumption during pregnancy and association with late spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154(1):14-20.
30. Volpe JJ: Effect of cocaine use on the fetus. *New Engl J Med* 1992; 327: 399-407.
31. Warner TD, Behnke M, Eyley FD, Padgett K, Leonard C, Hou W, Garvan CW, Schmalfuss IM, Blackband SJ: Diffusion tensor imaging of frontal white matter and executive functioning in cocaine-exposed children. *Pediatrics* 2006; 118: 2014-2024.



## 2.2.2 Consumo di cocaina negli adulti: le evidenze scientifiche dalle neuroimmagini

Franco Alessandrini<sup>1</sup>, Giada Zoccatelli<sup>1</sup>, Giovanni Serpelloni<sup>2</sup>

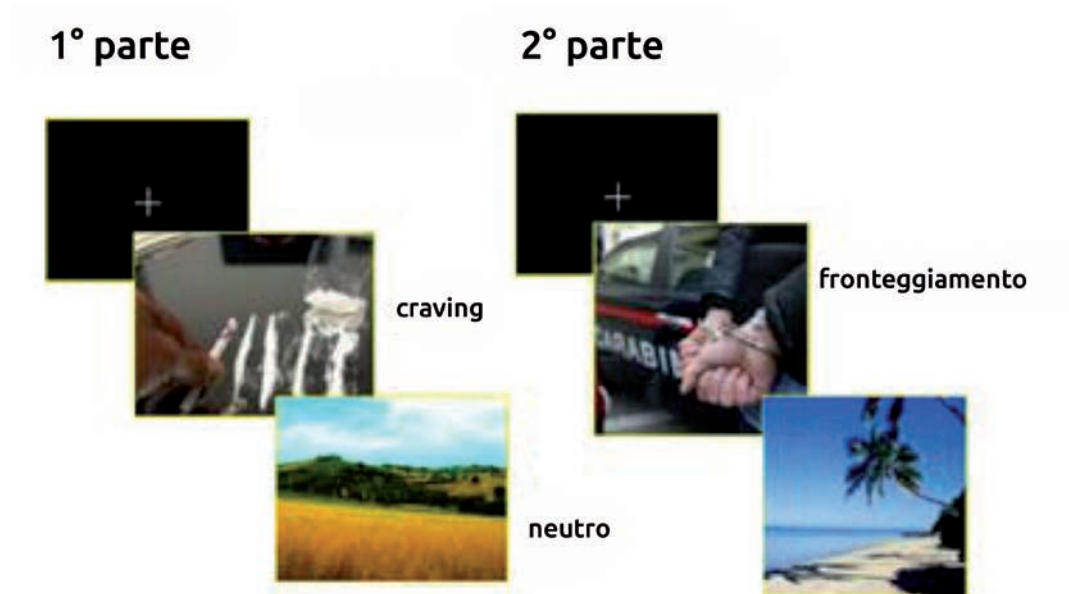
<sup>1</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

<sup>2</sup> Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri

Il gruppo di lavoro "Addiction Neuroscience Group"<sup>1</sup> (2009), nella realizzazione di un progetto comune d'identificazione neurale delle aree cerebrali coinvolte nel meccanismo delle tossicodipendenza ha studiato con la fMRI le aree cerebrali del craving e del controllo degli impulsi assuntivi (resisting) in soggetti cocainomani. Scopo dello studio è stato l'identificazione dei substrati neuropsicologici sia del craving da cocaina, sia della capacità di saper resistere al craving (resisting o fronteggiamento). Il campione di studio ha incluso 10 pazienti tossicodipendenti (cocainomani) suddivisi in due gruppi, successivamente confrontabili tra loro: pazienti in grado di attuare un fronteggiamento del craving (pazienti "responder") e pazienti non in grado di attuare un fronteggiamento del craving (pazienti "low responder"). Localizzare le aree cognitive coinvolte nella capacità di sopprimere o inibire il desiderio di assunzione di droga significa trovare nuove strategie terapeutiche per la tossicodipendenza da cocaina, oltre che rendere visibili i danni che il cervello subisce. Il piacere provato durante l'assunzione di droga è strettamente collegato all'ambiente in cui è avvenuta l'assunzione e questo fa in modo che il craving da cocaina possa essere attivato da stimoli esterni che ne rievocano il ricordo. Sperimentalmente si possono usare degli stimoli collegati all'uso di cocaina (es. immagini o filmati legati all'uso e consumo della sostanza) e stimoli di controllo (es. immagini di natura non correlati alla cocaina). Nello specifico, sono stati presentati ai soggetti tre video diversi per contenuto: filmati in cui sono presenti scene di consumo di cocaina, filmati paesaggistici (video di controllo) e filmati personalizzati che permettono il fronteggiamento del craving (Figura 1). I video sono stati proiettati all'interno del magnete RM e contemporaneamente è stata registrata l'attività nervosa cerebrale. Gli stimoli sono stati proiettati attraverso un sistema RM compatibile (monitor a cristalli liquidi e occhiali montati sopra la bobina per l'encefalo) mentre il paziente rimane sdraiato all'interno del magnete (Scanner Magnetom Allegra, Siemens, 3.0 Tesla).

Mappatura  
funzionale del  
craving e resisting  
da cocaina: uno  
studio con fMRI ad  
alto campo

Figura - 1 Visualizzazione 3D dell'attivazione corticale in un paziente "low responder" durante la visione di video sull'uso di cocaina e successivo fronteggiamento del craving. Durante il craving si attivano i nuclei sottocorticali e la corteccia frontale destra (immagine a sinistra). Durante il fronteggiamento si attiva la corteccia cingolata anteriore e orbitofrontale bilaterale (immagine a destra).

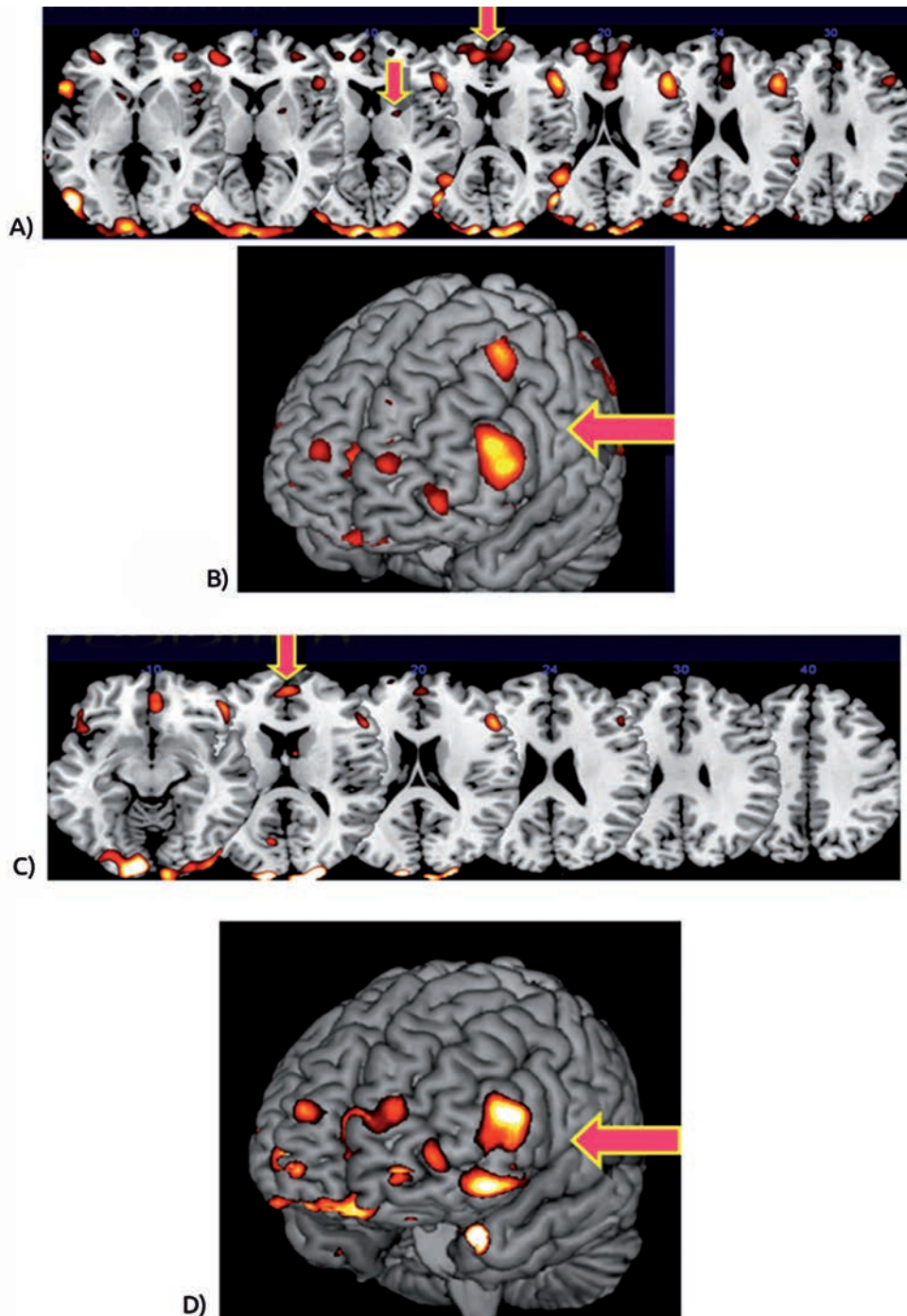


Il consumo cronico di cocaina modifica lo stato di attivazione neurale: studi fMRI della connettività funzionale

Durante la condizione di "craving", dove il soggetto "low responder" sperimenta un forte desiderio di assunzione della sostanza, si sono fortemente attivate la corteccia occipitale bilaterale, i nuclei sub-talamici (sistema limbico) e la corteccia frontale destra (Figura 2a). La forte salienza dello stimolo ha attivato l'area occipitale, mentre i nuclei sottocorticali (ippocampo, nucleo striato e talamo) e la corteccia frontale destra riflettono il coinvolgimento del sistema di ricompensa attivato dal craving. Durante il fronteggiamento del craving (Figura 2b) il paziente attiva la corteccia cingolata anteriore e la corteccia orbito-frontale bilaterale, aree conosciute per essere coinvolte nel controllo comportamentale d'inibizione degli impulsi. Il paziente "responder" nella medesima condizione di craving, attiva precocemente la corteccia prefrontale dorso laterale sinistra (Figura 2c). Durante il fronteggiamento (Figura 2d) il paziente mostra un'ulteriore e più estesa attivazione della corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra e della corteccia orbito frontale bilaterale. La precoce attivazione delle aree corticali deputate al controllo degli impulsi nel paziente "responder" sembra essere alla base della capacità del soggetto di resistere maggiormente al craving e al rischio di ricadute, rispetto al paziente "low responder". In termini cognitivi, quindi, la più forte strategia difensiva dai comportamenti assuntivi sembra attivare precocemente le aree del controller corticale, già durante il craving.



Figura 2 - a) Visualizzazione bi e tri-dimensionale dell'attivazione corticale in un paziente "responder" durante la visione di video sull'uso di cocaina e successivo fronteggiamento del craving (b). Durante il craving si attivano i nuclei sottocorticali (indicati dalle frecce) e la corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra (b). Durante il fronteggiamento si attiva la corteccia cingolata anteriore e orbitofrontale bilaterale (figura 2c e 2d). Fonte: G. Zoccatelli, F. Alessandrini, F. Bricolo, G. Serpelloni, 2010.

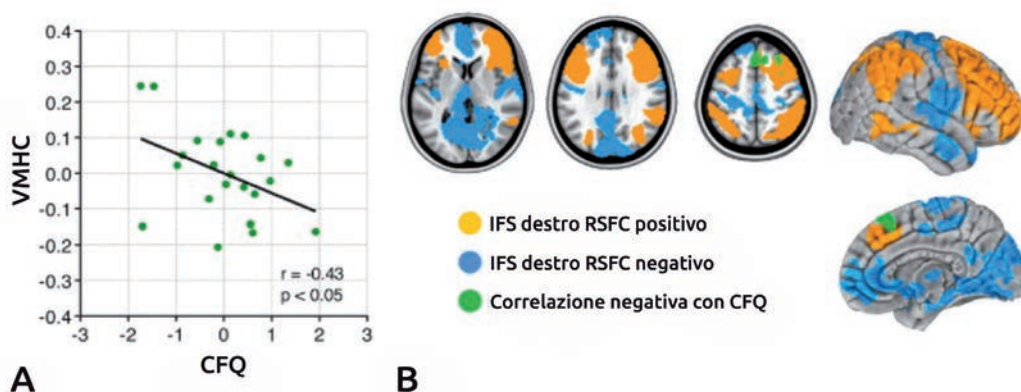


I modelli sulla dipendenza da cocaina sottolineano il ruolo dei circuiti frontali alterati che supportano i processi di controllo cognitivo. Nonostante questo, le alterazioni funzionali dovute alla dipendenza da cocaina che coinvolgono diverse regioni cerebrali, particolarmente le zone di connessione degli emisferi cerebrali, sono raramente esaminate in modo diretto. Una particolare tecnica di analisi della connettività cerebrale a riposo con RM chiamata resting-state functional magnetic resonance imaging (rsfMRI) può rilevare le fluttua-

Difficoltà  
del controllo  
sensorimotorio in  
consumatori cronici  
di cocaina

zioni spontanee di attività neurale e quantificare direttamente, come variazioni nel segnale BOLD, le interazioni funzionali fra gli emisferi. Gli autori dello studio (Kelly C. et al., 2011) hanno esaminato la connettività funzionale interemisferica a riposo (RSFC) in 25 soggetti adulti (età  $35.0 \pm 8.8$ ) con diagnosi di dipendenza da cocaina (secondo la classificazione del DSM-IV) negli ultimi 12 mesi ma astinenti da più di 2 mesi, facendo uso di un nuovo e validato approccio d'analisi, chiamato dall'inglese voxel-mirrored homotopic connectivity o VMHC (Figura 3). Il campione di studio è stato confrontato ad un gruppo di controllo non dipendente paragonabile per età ( $35.1 \pm 7.5$ ), sesso, educazione e status sociale. Nei soggetti cocainomani è stata riscontrata una ridotta RSFC interemisferica prefrontale rispetto ai controlli. In particolare, i cocainomani mostravano una riduzione di RSFC nella rete neurale dorsale attentiva, un circuito funzionale che comprende le aree laterali bilaterali, l'area premotoria mediale e le aree parietali posteriori. La ridotta attivazione della RSFC in queste aree correlava inoltre con le difficoltà auto-riportate dagli stessi soggetti cocainomani nella capacità attentiva. I risultati dello studio forniscono significative evidenze dell'associazione tra esposizione cronica alla cocaina e alterazioni su larga scala dei circuiti cognitivi che supportano i processi di controllo cognitivo. In questi pazienti l'analisi dell'integrità della sostanza bianca non ha mostrato differenze tra gruppo di pazienti e gruppo di controllo. Le alterazioni neuronali della funzionalità cerebrale associate al consumo cronico di cocaina possono quindi essere presenti anche in assenza di evidenti anomalie della microstruttura della sostanza bianca.

Figura 3 - (A) Grafico di correlazione tra voxel-mirrored homotopic connectivity (VMHC) nella RSFC e valori al test di abilità cognitiva the Cognitive Failures Questionnaire (CFQ;  $r = -.43$ ,  $n = 23$ ,  $p < .05$ ). I soggetti cocainomani con una più ampia RSFC prefrontale riportano maggiori difficoltà attenzionali. (B) L'analisi voxelwise del segnale funzionale mostra in arancione una correlazione positiva tra RSFC nel solco frontale inferiore (IFS) e auto-riportati deficit attentivi; in blu invece una correlazione negativa. In verde è mostrata la correlazione negativa tra RSFC nell'area premotoria laterale superiore mediale e risultati al CFQ. I soggetti cocainomani con un'ampia attivazione della RSFC in queste due aree riportano più di frequente deficit attentivi.



La cocaina altera le abilità motorie, con grave impaccio per l'esecuzione dei movimenti quotidiani

Nei soggetti consumatori cronici di cocaina sono frequentemente presenti disturbi del movimento. Per questo motivo, il team di ricerca del Dipartimento di Fisiologia e Farmacologia della Wake Forest University School of Medicine di Winston-Salem (USA) ha studiato con fMRI in modo sistematico le abilità sensori-motorie di consumatori cronici di cocaina e i relativi cambiamenti di attività neurale nelle aree cerebrali particolarmente coinvolte per l'esecuzione e la pianificazione del movimento. Tutti i partecipanti hanno eseguito un

esame fMRI, 14 cocainomani e 14 soggetti di controllo non consumatori di cocaina, confrontabili per età al gruppo di studio. Entrambi i gruppi hanno eseguito un compito di abilità e coordinazione motoria della mano dominante (dall'inglese "finger-tapping task"), nello specifico tutte le dita (pollice, indice, medio, anulare e mignolo) devono toccare in modo sequenziale dei tasti (Figura 4) fino alla fase di stop, in cui si chiede al soggetto di restare immobile (paradigma a blocchi). È stata misurata la variazione in percentuale del segnale di fMRI in sette aree deputate al controllo del movimento, in entrambi gli emisferi. I consumatori cronici di cocaina impiegano più tempo a eseguire il movimento con le dita (tempi di reazione più lenti) e compiono maggiori errori rispetto ai controlli (Hanlon C.A. et al., 2010). Mentre il gruppo di controllo mostra un normale pattern di attivazione motoria per la mano destra, ossia attiva aree motorie nell'emisfero sinistro, i soggetti cocainomani mostrano un pattern di attività meno lateralizzato. I cocainomani sembrano modificare l'attività neurale per il controllo motorio con un'attivazione ipsilaterale (destra) delle aree corticali motorie e premotorie, della corteccia cingolata anteriore e del putamen (Figura 5). Questi dati dimostrano che la tossicodipendenza da cocaina può avere conseguenze cognitive, evidenti specialmente a livello delle abilità motorie che risultano alterate in questi individui. Le difficoltà motorie rilevate nei soggetti cocainomani (alta frequenza di errori e tempi di esecuzione rallentati) durante il finger-tapping task, dimostrano che il consumo cronico di cocaina è associato ad alterazioni funzionali della rete neurale deputata al controllo dei movimenti, con grave impaccio per la corretta esecuzione delle attività motorie quotidiane.

**Figura 4 - Finger-tapping task.** L'esercizio permette di simulare in modo controllato il movimento delle dita della mano destra. Tutti i partecipanti hanno eseguito il compito due volte. Fonte: C.A. Hanlon et al., 2010.

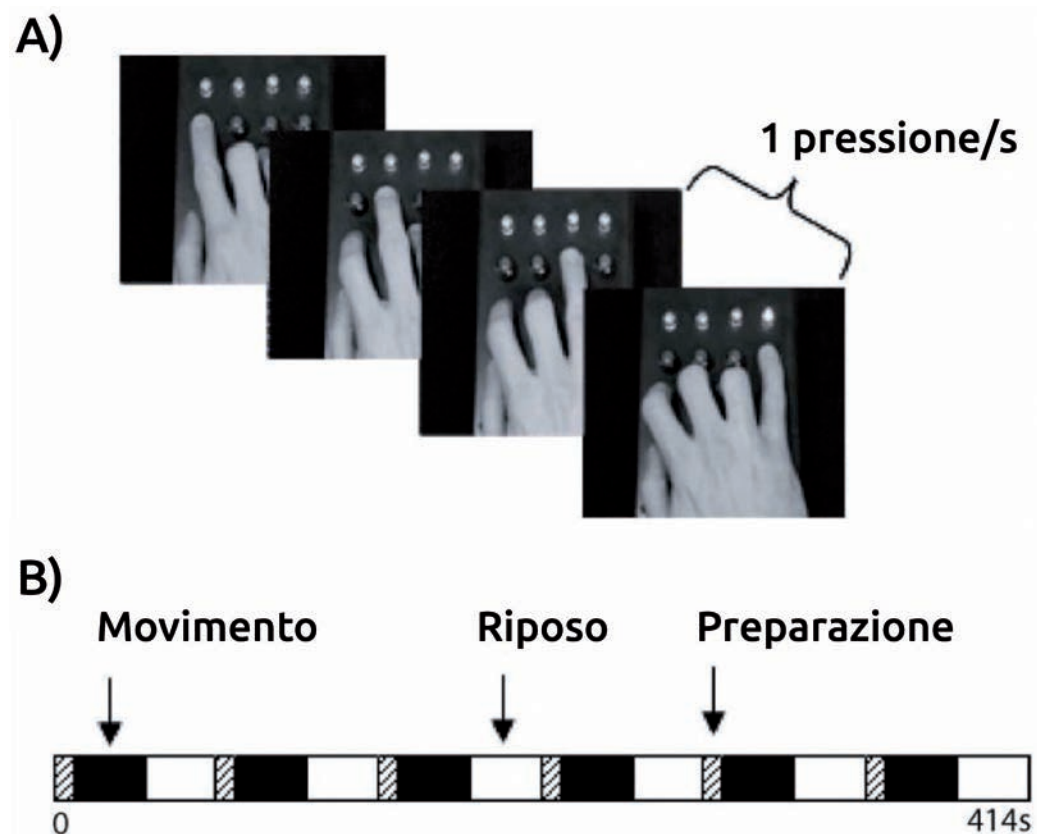
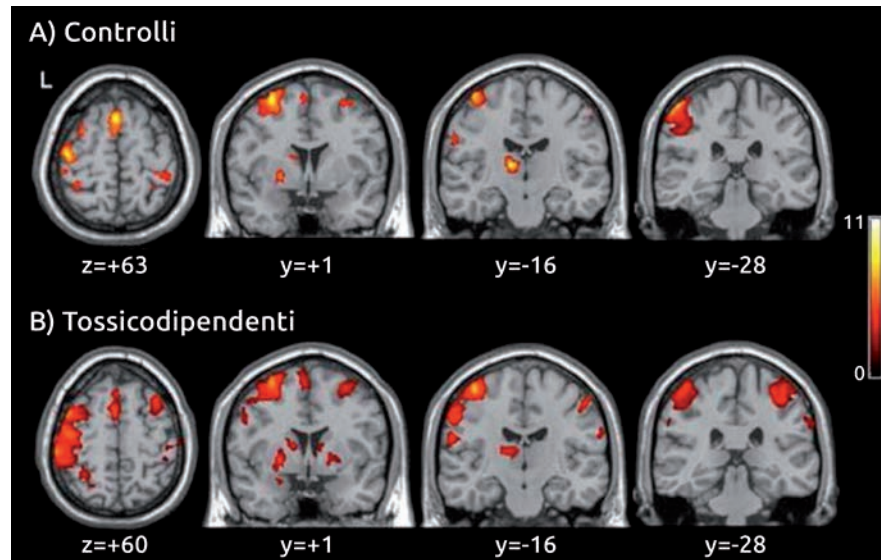


Figura 5 - Mappa di distribuzione dell'attività neurale durante l'esecuzione del "finger-tapping task". (A) Mappe di attivazione cerebrale nel gruppo di controllo e (B) nei soggetti cocainomani. L'analisi del segnale di fMRI è stata fatta per ciascun soggetto per individuare le aree selettive per il movimento, sottraendo alla fase di compito quella di riposo. Le mappe colorimetriche corrispondono ad una mappa dei voxels significativamente attivi durante il compito (dimensione minima del cluster 25 voxels con una soglia statistica pari a  $p < 0.005$  uncorrected). Fonte: Hanlon C.A. et al., 2010.



Alterazioni del sistema emozionale cerebrale e cocaina: uno studio con fMRI

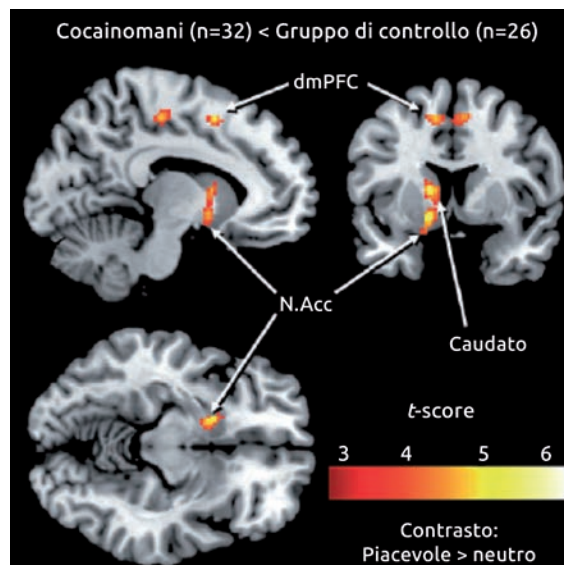
La ricerca scientifica ha trovato che le persone con un disturbo d'abuso di sostanze non presentano solo disturbi cognitivi e motori ma la ricerca scientifica ha trovato in questi individui anche alterazioni emozionali, che giocano tra l'altro un ruolo importante nello sviluppo, mantenimento e ricaduta della dipendenza stessa. Pochi studi si sono finora concentrati sull'aspetto emozionale dei soggetti tossicodipendenti. Precedenti ricerche hanno dimostrato un'alterata esperienza emozionale e risposta autosomica a stimoli emotivi nei tossicodipendenti utilizzando un sistema particolare di stimoli chiamato International Affective Picture System (IAPS) (Lang P.J. et al., 2008). Con IAPS s'intende un insieme standardizzato d'immagini e fotografie a colori in grado di evocare diversi pattern emotivi attraverso un ampio corollario di categorie semantiche. Lo studio spagnolo dell'Istituto sobre Drogas y Conductas Adictivas (IDYCA), Universidad CEU Cardenal Herrera a Valencia (Spagna) ha utilizzato la fMRI per investigare la presenza di alterazioni nella responsività neurale di soggetti cocainomani utilizzando lo IAPS con immagini piacevoli, spiacevoli e neutre. Sono stati reclutati 32 soggetti dipendenti da cocaina e 26 soggetti di controllo. Tutti i partecipanti dovevano osservare le immagini emotive tratte dallo IAPS usate come sfondo mentre eseguivano un compito di discriminazione di lettere. Come già riscontrato in precedenti studi, le immagini emotive, viste in sottofondo, attivano una rete neurale per l'elaborazione emozionale che include aree come l'amigdala, la corteccia prefrontale media, la corteccia orbito frontale e la corteccia occipitale in entrambi i gruppi. Tuttavia, rispetto al gruppo di controllo, i soggetti cocainomani mostrano una significativa ridotta attivazione del nucleo striato dorsale e ventrale (incluso il nucleo accumbens), del talamo, della corteccia parietale e della corteccia prefrontale dorso-mediale (dmPFC) durante l'elaborazione di stimoli piacevoli. Dal confronto del segnale fMRI tra immagini piacevoli e immagini spiacevoli emerge una differenza tra i gruppi, in particolare l'attivazione della dmPFC e dello striato durante la visione degli stimoli piacevoli, sembra essere collegato all'arousal dello stimolo piuttosto che alla valenza dello stesso. Questi risultati dimostrano

Ridotta attivazione neurale del nucleo striato dorso ventrale, del talamo, della corteccia parietale e prefrontale dorso mediale nei cocainomani



le basi neurali della ridotta abilità dei soggetti cocainomani a sperimentare piacere dagli stimoli naturali quotidiani e riportano l'attenzione sull'alterata elaborazione emotiva a livello cerebrale di questi soggetti, possibile causa del mantenimento della dipendenza e della ricaduta durante i trattamenti.

**Figura 6 - Le mappe in arancione mostrano il ridotto segnale di attività BOLD a livello del nucleo accumbens (N.Acc), nucleo caudato (Caudate) e della dmPFC bilaterale nel gruppo di soggetti cocainomani confrontati con il gruppo di controllo. L'analisi statistica t-student riguarda il contrasto tra immagini piacevoli versus immagini neutre ( $p < 0.005$  uncorrected).**



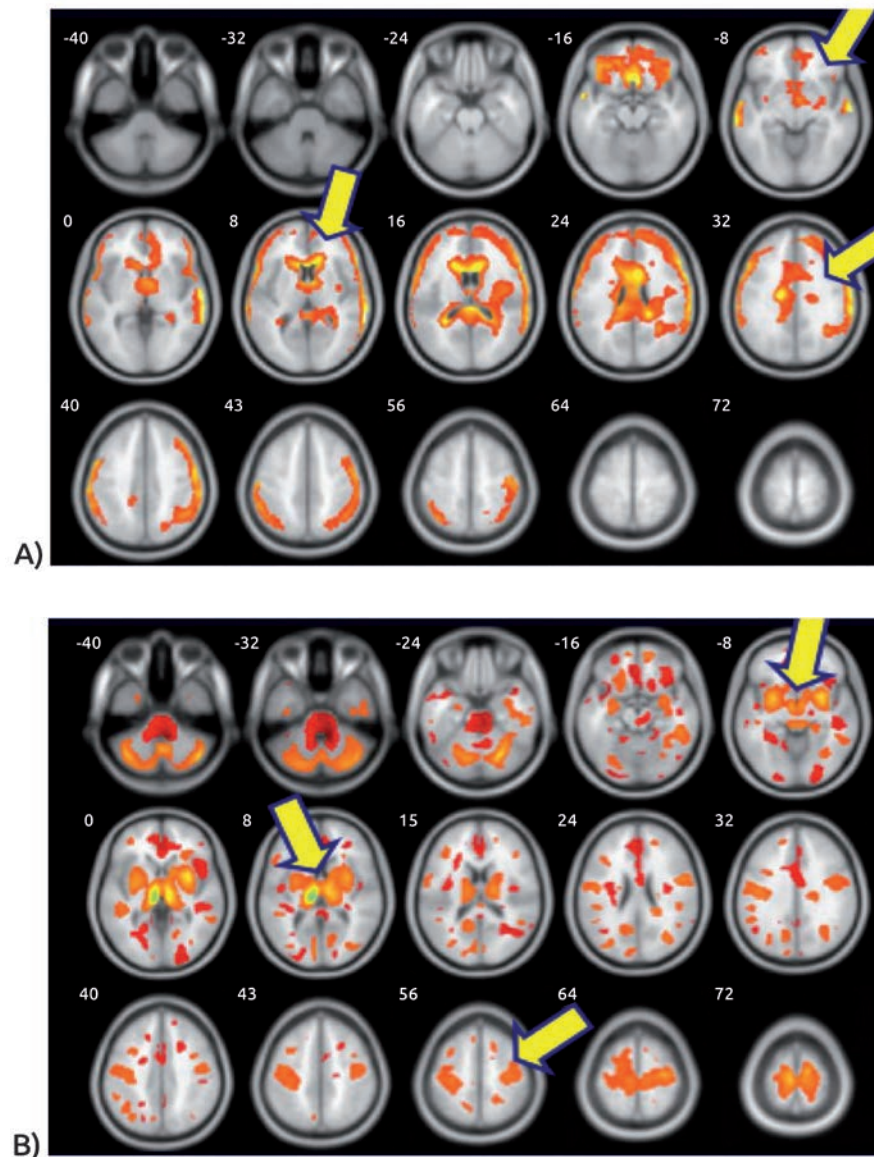
Il Verona Neuroscience Group (2009) in collaborazione con il Dipartimento Politiche Antidroga della Presidenza del Consiglio dei Ministri di Roma e l'Università di Berna (Svizzera), all'interno del progetto BrainSearch e grazie all'utilizzo di tecniche avanzate di Risonanza Magnetica ad alto campo (3.0 Tesla) ha ottenuto recenti ed interessanti risultati da uno studio con continuous Arterial Spin Labeling (cASL), una metodica di RM che permette lo studio non invasivo delle dinamiche di flusso sanguigno cerebrale. A questo scopo sono stati reclutati 10 soggetti cocainomani (età media 32 anni) e analizzati con cASL durante una condizione di riposo (rCBF). Il gruppo sperimentale era costituito da consumatori abituali di cocaina (uso life time pari a circa 2 anni) ma tutti astinenti dalla sostanza da 30 a 90 giorni. L'attività metabolica a riposo dei soggetti è stata confrontata con un gruppo di controllo paragonabile per sesso ed età di non consumatori. Nei cocainomani astinenti, le immagini cASL (Figura 7, A) mostrano la permanenza di un alterato flusso sanguigno cerebrale a livello della corteccia prefrontale e sottocorticale (nuclei della base) anche durante l'astinenza. In particolare, si è evidenziata un'iperperfusionione di queste aree cerebrali. L'eziologia dell'aumentata perfusione potrebbe riflettere l'aumentata richiesta metabolica necessaria a riparare le alterazioni alla sostanza bianca prefrontale (Lim C.C.T. et al., 2007). Il volume intracranico totale (TIV) è stato calcolato sugli stessi soggetti tramite tecnica VBM (voxel-based morphometry) per l'analisi della densità della sostanza grigia cerebrale. I cocainomani astinenti tendono ad avere una riduzione della densità di sostanza grigia in parecchie regioni, soprattutto nel talamo posteriore (Figura 7, B). Gli stessi soggetti mostrano inoltre una maggiore densità corticale nella parte mediale della corteccia prefrontale, la stessa area che nell'analisi con cASL mostra un'iperperfusionione sanguigna. Le alterazioni cerebrali riscontrate nei soggetti astinenti potrebbero rappresentare un effetto neurotrofico, un

Alterazioni della perfusione sanguigna cerebrale nei cocainomani astinenti

Le alterazioni cerebrali riscontrate nei cocainomani astinenti, potrebbero rappresentare un effetto neurotrofico della sostanza

effetto dell'astinenza stessa. In uno studio di Lynn (1995) è stata riscontrata un' analoga alterata alta densità neuronale, in particolare nelle aree prefrontali, in soggetti schizofrenici e bipolari.

Figura 7 - A) Aree di iperperfusione cerebrale nella corteccia frontale e prefrontale, e nelle aree sottocorticali (freccie gialle) di soggetti cocainomani. B) Zone di ridotta densità neuronale (in arancione) e di aumentata densità neuronale (in rosso) mediante tecnica VBM negli stessi soggetti. Le zone di aumentata densità neuronale corrispondono alle aree frontali di aumentato flusso sanguigno. Fonte: Zoccatelli G., Alessandrini F., Federspiel A., Serpelloni G., 2011.



Effetti della cocaina sulla struttura cerebrale: analisi dello spessore corticale e dell'integrità micro strutturale

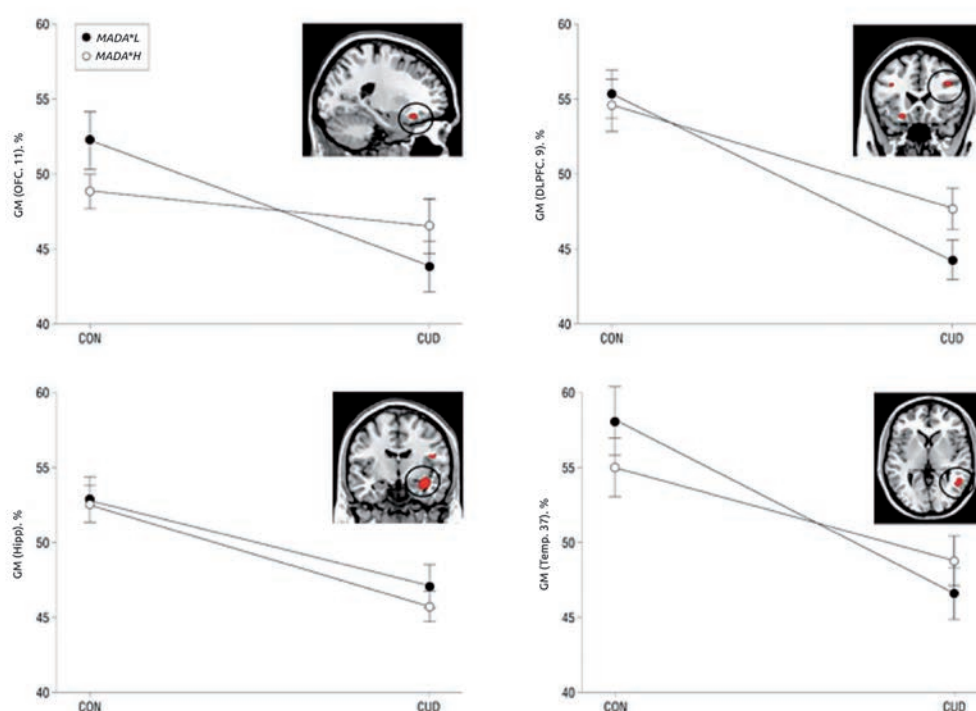
Lo studio delle alterazioni morfologiche richiede solitamente l'utilizzo di una sequenza RM volumetrica (pesata in T1) che permetta di ricostruire in modo tridimensionale la superficie cerebrale. Tra le tecniche più importanti utilizzate per l'analisi strutturale si ricorda la morfometria basata sui voxel (dall'inglese "voxel-based morphometry" o VBM) che esamina le differenze focali nell'anatomia del cervello per singolo voxel, usando l'approccio della mappatura statistica parametrica, e la più recente tecnica dello spessore corticale ("cortical thickness" o CT) che permette una precisa valutazione quantitativa morfo-volumetrica del



cervello calcolando lo spessore della corteccia espresso in millimetri. Lo studio dello spessore corticale unitamente alle indagini strutturali tramite ricostruzione delle fibre di sostanza bianca (Diffusion Tensor Imaging, DTI), dello studio dei metaboliti cerebrali (Spettroscopia, MRS) e delle variazioni di flusso sanguigno cerebrale (Arterial Spin Labeling, ASL), permette di arrivare ad una precoce definizione dei marker neurali che caratterizzano un cervello che assume o ha assunto droghe. Partendo da questi presupposti, i ricercatori americani del Clinical Research Center presso il Brookhaven National Laboratory hanno studiato i meccanismi cerebrali della gratificazione e di inibizione in persone dipendenti dalla cocaina. Gli studiosi hanno considerato la variazione nello spessore corticale della materia grigia (GMV) come funzione dell'abuso di cocaina nel corso della vita e l'hanno rapportata alla presenza di un particolare enzima, la monoamina ossidasi di tipo A (MAOA), in 42 cocainomani e in 40 soggetti di controllo non tossicodipendenti. L'analisi statistica sull'effetto dell'abuso di cocaina sulla GMV si è basata sul confronto tra i 2 gruppi (tossicodipendenti versus controlli), sull'interazione tra la diagnosi di tossicodipendenza e il genotipo (cocaina versus MAOA) e l'abuso di diverse droghe (cocaina, alcol e sigarette) (Alia-Klein N. et al., 2011). I risultati dimostrano che i cocainomani presentano una riduzione della GMV nell'ippocampo (H), nella corteccia orbitofrontale (OFC), prefrontale dorsolaterale (DLPFC) e temporale (TC) rispetto ai controlli (Figura 8). La riduzione della GMV nella OFC è associata al consumo di cocaina e alla ridotta presenza dell'allele MAOA, mentre la riduzione di GMV in H e DLPFC oltre che dal genotipo dipende dall'abuso di alcol. La predisposizione genetica e l'abuso di alcol possono quindi esacerbare l'effetto distruttivo della cocaina sul cervello, con danni in particolare alle aree deputate al controllo delle funzioni esecutive e dell'apprendimento.

I cocainomani presentano una riduzione della sostanza grigia nell'ippocampo, nella corteccia orbito frontale, nella prefrontale dorsolaterale e temporale

Figura 8 - Grafico che mostra la riduzione di GMV come funzione della dipendenza da cocaina (CUD: soggetti con dipendenza da cocaina, CON: controlli non dipendenti). Ciascuna regione cerebrale (DLPFC, Ippocampo, OFC, giro temporale) viene rappresentata da un grafico come funzione dell'abuso di cocaina nel corso della vita e presenza di un particolare enzima, la monoamina ossidase di tipo A (tranne che per la OFC). Sull'asse y del grafico viene indicata la percentuale di GMV per ciascuna regione cerebrale. Fonte: Alia-Klein N. et al., 2011.



Gli studi di neuroimmagine che si sono focalizzati sull'analisi dei cambiamenti strutturali cerebrali nei cocainomani hanno mostrato dati alcune volte discordanti. Ad esempio, Jacobsen et al. (2001) hanno riscontrato un aumento del volume corticale nel nucleo striato di soggetti cocainomani, mentre Narayana et al., (2010) in uno studio con Risonanza Magnetica e tecnica TBM (dall'inglese "Tensor-Based Morphometry") non hanno trovato significative tra campioni di cocainomani e soggetti di controllo. Gli stessi autori dichiarano tuttavia l'esistenza di differenze metodologiche e di altri fattori demografici che possono spiegare i diversi risultati ottenuti tra gli studi. Lim et al. (2008) dimostrano la presenza di differenze volumetriche tendenti ad una riduzione di volume, in soggetti cocainomani, in specifiche regioni cerebrali, ossia nella corteccia e sostanza bianca frontale inferiore e frontale superiore.

Diversi studi di neuro immagine hanno mostrato le alterazioni che avvengono in diverse regioni del cervello

È tuttavia chiaro ed esistono numerose evidenze precliniche che dimostrano come la dipendenza dalla cocaina sia associata a cambiamenti neuroadattativi nel sistema cerebrale fronto-striatale. Studi di neuroimmagine sull'uomo hanno mostrato le alterazioni che avvengono in diverse regioni del cervello dopo assunzione cronica di cocaina (Hanlon C.A. et al., 2010; Kelly C. et al., 2011). Tuttavia, non è ancora del tutto chiaro come questi cambiamenti siano collegati ai fenotipi clinici della dipendenza dalla sostanza, caratterizzata da comportamento impulsivo e compulsività nella ricerca di nuova droga. Alcuni ricercatori londinesi dell'Università di Cambridge (Ersche KD et al., 2011) hanno confrontato i dati comportamentali e le immagini strutturali di RM di un ampio campione di cocainomani (n=60) e di soggetti di controllo (n=60).

Gli autori hanno investigato la relazione tra variazione del volume della sostanza grigia, durata d'uso della sostanza e misure d'impulsività e compulsività nel gruppo di cocainomani. Questi soggetti mostrano una marcata riduzione del volume di sostanza grigia associata al consumo di cocaina nella corteccia orbitofrontale, nel cingolato anteriore, nella corteccia temporoparietale e cerebellare. Gli stessi mostrano un aumentato volume corticale a livello dei gangli della base (Figura 9). Maggiori anni di dipendenza dalla cocaina sono correlati con una maggiore riduzione del volume di sostanza grigia nella corteccia orbitofrontale, nel cingolato anteriore e nell'insula. Scarse capacità di controllo attentivo risultano associate ad una riduzione del volume della corteccia insulare e un aumento del volume del nucleo caudato. Una forte compulsività al consumo di droga è associata ad un ridotto volume della corteccia orbito frontale (Figura 10). Le persone dipendenti dalla cocaina presentano quindi anomalie strutturali del sistema corticostriatale e la variabilità nell'estensione dei cambiamenti anatomici nella corteccia orbitofrontale, insulare e striatale risultano collegate a differenze individuali nella durata della dipendenza, ai deficit attentivi e alla compulsione per il consumo di droga.

Figura 9 - Mappe della differenza di spessore volumetrico della sostanza grigia in soggetti cocainomani rispetto ad un gruppo di controllo. Le aree in blu corrispondono alle zone di ridotto spessore corticale nei cocainomani mentre le aree in arancione corrispondono ad un anomalo aumento del volume di sostanza grigia negli stessi soggetti. I numeri accanto alle immagini identificano le sezioni in base alla posizione (in millimetri) relativa al piano intercommisurale dello spazio stereotassico standardizzato (L = sinistra, R = destra). Le mappe di spessore corticale sono state sovrapposte ad una sequenza di riferimento (template standardizzato) pesata in T1 secondo le coordinate MNI152. Test di significatività statistica pari a  $p \sim 0.002$ . Fonte: Ersche K.D. et al., 2011.

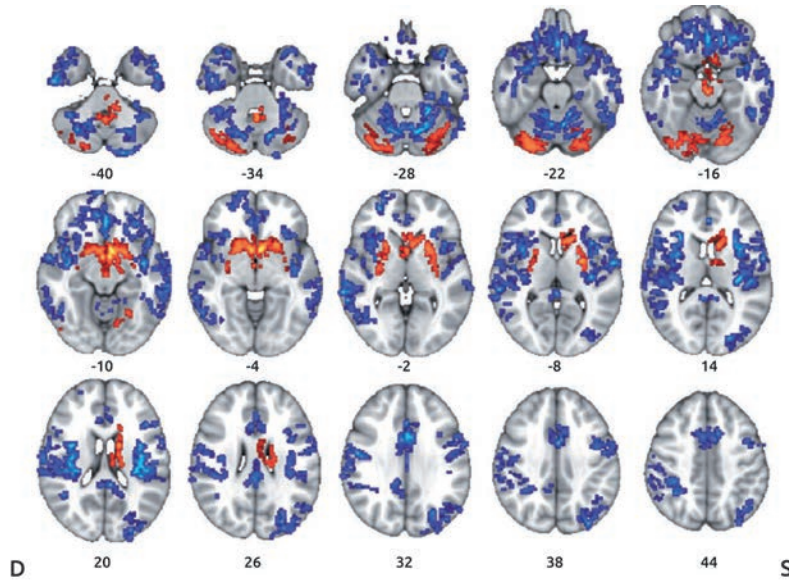
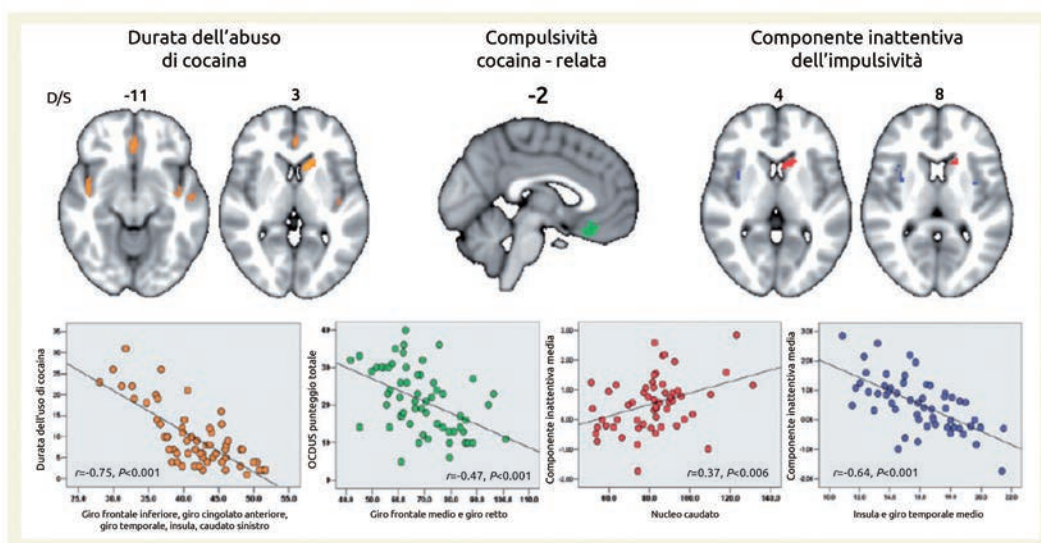


Figura 10 - Immagini a sinistra: maggiori anni di dipendenza dalla cocaina sono correlati con una maggiore riduzione del volume di sostanza grigia nella corteccia orbitofrontale, nel cingolato anteriore e nell'insula (aree in arancione). Immagine centrale: scarse capacità di controllo attentivo risultano associate ad una riduzione del volume della corteccia insulare e un aumento del volume del nucleo caudato (aree in verde). Immagini a destra: una forte compulsività al consumo di droga è associata ad un ridotto volume della corteccia orbito frontale (aree in rosso e blu). In basso, vengono rappresentati i grafici di correlazione positiva e/o negativa tra anni di dipendenza dalla cocaina e il volume corticale nelle diverse aree cerebrali. Le mappe di spessore corticale sono state sovrapposte ad una sequenza di riferimento (template standardizzato) pesata in T1 secondo le coordinate MNI152. Test di significatività statistica pari a  $p \sim 0.002$ . Fonte: Ersche KD et al., 2011.



Le alterazioni microstrutturali della sostanza bianca sembrano essere la causa dei problemi decisionali riscontrati nelle persone che consumano cocaina. Il processo cognitivo decisionale rappresenta quella facoltà mentale superiore che permette all'individuo di attuare scelte adeguate all'ambiente circostante, ossia prendere decisioni logiche e adattive alla situazione (Walton M.E. et al., 2009). Nei soggetti che consumano abitualmente cocaina, le neuroimmagini hanno dimostrato una compromissione della capacità di giudizio. Il consumo di cocaina porterebbe infatti la persona a compiere scelte azzardate, rischiose, immediatamente e altamente gratificanti nonostante lo svantaggio che ne potrebbe derivare. Scott Lane e collaboratori (Lane S.D. et al., 2010) del Dipartimento di Psichiatria e Scienze comportamentali dell'Università di Houston (Texas, USA) hanno esaminato la relazione tra abilità decisionali e integrità della sostanza bianca cerebrale in 15 cocainomani e 18 soggetti di controllo. I soggetti hanno eseguito il test Iowa Gambling Task (IGT) e sono stati sottoposti a RM mediante tecnica DTI (Diffusion Tensor Imaging). L'analisi dell'integrità microstrutturale globale dell'encefalo ha riportato una riduzione dell'anisotropia frazionaria (FA) e un aumento medio del secondo e terzo vettore di diffusività radiale dei fasci di sostanza bianca nelle regioni frontali e parietali nel gruppo di cocainomani (Figura 11 e 12). Queste alterazioni della microstruttura cerebrale correlano con la scarsa prestazione degli stessi soggetti al test IGT, soprattutto negli ultimi 40 trials del compito. La compromissione della capacità decisionale misurata con il test cognitivo nei soggetti cocainomani correla quindi con le alterazioni della sostanza bianca a livello soprattutto dei fasci frontali e parietali, regioni deputate al controllo delle azioni e all'elaborazione del pensiero logico.

Figura 11 - In verde i clusters parietali e in blu i clusters frontali di ridotta FA nei soggetti cocainomani rispetto al gruppo di controllo. Le mappe dei risultati sono state coregistrate e visualizzate su un template (in sezione sagittale) standardizzato secondo le coordinate MNI152. Fonte: Lane S. D. et al., 2010.

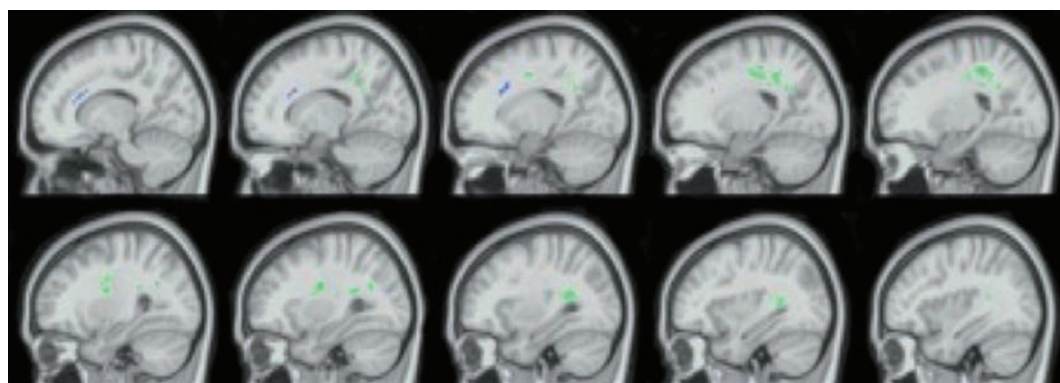
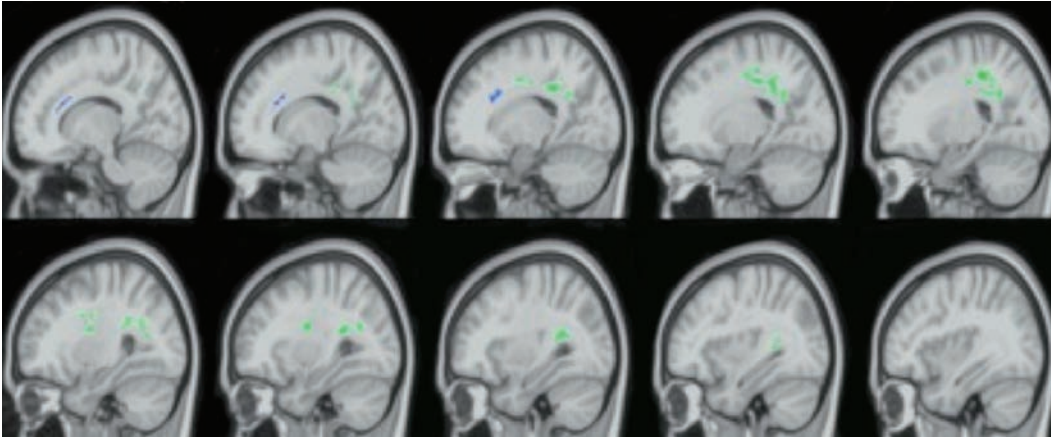


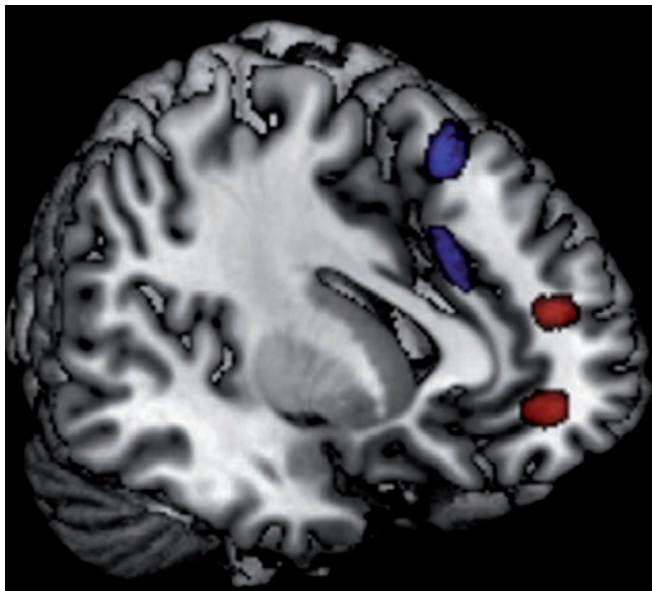


Figura 12 - In verde i clusters parietali e in blu i clusters frontali di aumentata diffusività radiale nei soggetti cocainomani rispetto al gruppo di controllo. Le mappe dei risultati sono state coregistrate e visualizzate su un template (in sezione sagittale) standardizzato secondo le coordinate MNI152.



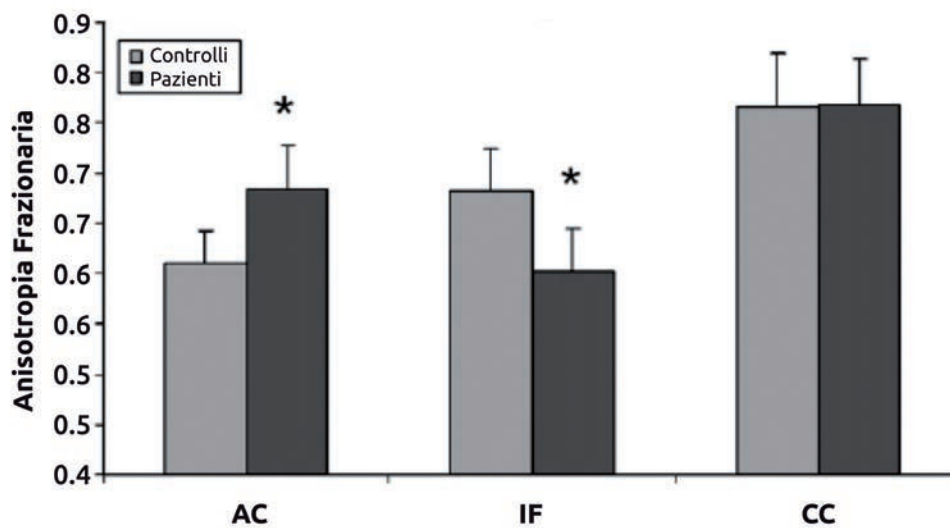
Romero e collaboratori (Romero MJ et al. 2009) dell'Università spagnola di Valencia hanno riportato analoghi risultati di ridotta FA in alcune regioni particolari della sostanza bianca cerebrale ossia la zona frontale inferiore, il piano della commissura anterio-posteriore e la corteccia cingolata anteriore. Nello studio, i ricercatori hanno sottoposto a RM 32 soggetti cocainomani e 33 soggetti di controllo confrontando, tramite tecnica VBM (voxel-based morphometry) e DTI (diffusion tensor imaging), l'integrità strutturale e microstrutturale tra i due gruppi. I partecipanti hanno inoltre eseguito test psicometrici e comportamentali di valutazione dell'impulsività e della capacità motivazionale (il Readiness to Change Questionnaire - RCQ e la Barratt's Impulsiveness Scale - BIS v.11). L'analisi strutturale ha evidenziato una riduzione del volume nella sostanza bianca frontale inferiore e frontale media nei soggetti cocainomani. Gli stessi soggetti mostrano inoltre un aumentato volume della corteccia cingolata anteriore e precentrale (Figura 13).

Figura 13 - Visualizzazione tridimensionale del tessuto nervoso encefalico. In rosso le aree di ridotto volume (analisi VBM) nella regione frontale inferiore e frontale media nei cocainomani. In blu le aree di aumentato volume nella corteccia cingolata anteriore e precentrale, negli stessi soggetti. Fonte: Romero MJ et al., 2009.



Le analisi microstrutturali evidenziano una differenza significativa tra i soggetti cocainomani e i controlli nei valori di FA delle regioni frontali inferiori e della corteccia cingolata anteriore (figura 14). Questi risultati ipotizzano un effetto nocivo della cocaina che porta ad alterazioni della connettività orbitofrontale con ripercussioni sul mancato controllo dell'impulsività nei consumatori della sostanza, oltre che ad alterazioni della corteccia cingolata anteriore con conseguenza sull'abilità delle scelte motivazionali.

Figura 14 - Confronto dei valori medi di FA nelle regioni d'interesse (ROI) considerate per lo studio della variazione microstrutturale tra i due gruppi, rispettivamente la corteccia cingolata anteriore (AC), frontale inferiore (IF), e il corpo calloso (CC). Con l'asterisco sono segnalate le aree con differenza significativa di FA tra soggetti cocainomani (barre di colore scuro) e soggetti di controllo (barre di colore chiaro). Fonte: Romero MJ et al., 2009.



#### Alterazione del metaboliti cerebrali nei consumatori cronici di cocaina

Il consumo cronico di cocaina provoca a livello cerebrale una riduzione del metabolismo e dell'attività funzionale neuronale in particolare nella corteccia cingolata anteriore (ACC). Le alterazioni più costanti tra le varie classi di sostanze sono la riduzione dell'N-Acetil-aspartato (NAA) e l'aumento del mio-inositolo (mI). L'NAA viene considerato un indice del buon funzionamento dei neuroni; la sua scomparsa è infatti legata alla morte neuronale. Il mI, invece, è una molecola semplice che agisce come regolatore del volume cellulare. Dagli studi emergono inoltre grandi variazioni anche nei livelli di colina (Cho), un indice dello stato di degradazione delle membrane, di creatina (Cr), un indice del metabolismo energetico cerebrale e di vari aminoacidi (Licata S.C. e Renshaw P., 2010). Questi studi forniscono la prova che la cocaina può avere un profondo effetto sulla salute dei neuroni, sul metabolismo energetico, sui processi infiammatori, sul turnover della membrana cellulare, e sulla neurotrasmissione. Questi cambiamenti biochimici possono essere alla base della neuropatologia nel tessuto cerebrale che dà origine ai deficit cognitivi e comportamentali associati alla tossicodipendenza. Conoscendo la concentrazione intracellulare di questi metaboliti si valuta la funzionalità di diverse vie metaboliche quali: il sistema glutamminergico e GABAergico, il metabolismo energetico, la osmoregolazione del sistema nervoso centrale, oltre alla cellularità neuronale e gliale. Due studi (Ke, 2004; Hetherington, 2000) hanno trovato un basso livello GABAergico nella corteccia prefrontale e occipitale di soggetti cocainomani. La riduzione di GABA era vicina al 30% nella corteccia prefrontale e del 23% nella corteccia occipitale, rispetto al gruppo di controllo. L'alterazione metabolica nella corteccia



prefrontale spiega i deficit del controllo inibitorio, delle funzioni esecutive e della presa di decisioni riscontrate in chi usa cocaina. Al Neuroimaging Research Branch del National Institute on Drug Abuse (NIDA) di Baltimora, un gruppo di ricercatori (Yang S et al., 2009) ha misurato con Spettroscopia ad idrogeno ( $^1\text{H}$ - MRS) la concentrazione di glutammato (Glu), il principale neurotrasmettitore eccitatorio del sistema nervoso centrale, nella ACC di individui con dipendenza da cocaina. Lo studio ha l'obiettivo di determinare se l'ipoattività metabolica della ACC in questi individui sia associata ad un'alterata concentrazione di Glu, un metabolita già conosciuto per il suo ruolo nella dipendenza da sostanze. I partecipanti sono stati suddivisi in due gruppi, 14 consumatori cronici di cocaina e 14 soggetti di controllo, e sottoposti ad una  $^1\text{H}$ - MRS ad alto campo magnetico (3.0 Tesla). I ricercatori hanno utilizzato una nuova metodica di quantificazione del segnale MRS con sequenza PRESS (Point RESolved SpectroScopy) mediante rifocalizzazione degli spin protonici per la localizzazione del Glu. Oltre al Glu è stata misurata la concentrazione di N-acetil aspartato (NAA), creatina totale (tCr), delle componenti contenenti colina (tCho) e del mio-inositolo (Ins). In particolare, il rapporto nella concentrazione di Glu/tCr è risultato ridotto nei coccainomani cronici rispetto ai controlli e correlato con gli anni d'uso della cocaina. Inoltre il rapporto Glu/tCr correla positivamente con il rapporto NAA/tCr. Quest'ultimo diminuisce significativamente con l'età ma non differisce tra i due gruppi. Questi risultati dimostrano una disregolazione metabolica/neurotrasmettitoriale del Glu associata al consumo cronico di cocaina e supporta l'ipotesi di una possibile strategia di intervento riabilitativo dalla dipendenza focalizzata sulla normalizzazione della trasmissione e funzionamento del Glu a livello della corteccia cingolata anteriore.

Figura 15 - Grafico spettrale con sequenza PRESS acquisita con tecnica a singolo voxel (quadrato bianco a sinistra) sulla parte rostrale della corteccia cingolata anteriore (rACC) in un soggetto volontario sano (NAA = N-acetil aspartato, tCr = creatina totale, tCho = componenti contenenti colina, Glu = glutammato, and Ins = mio-inositolo). In ascissa, la localizzazione dei diversi metaboliti in ppm (parti per milione). Fonte: Yang S. et al., 2009.

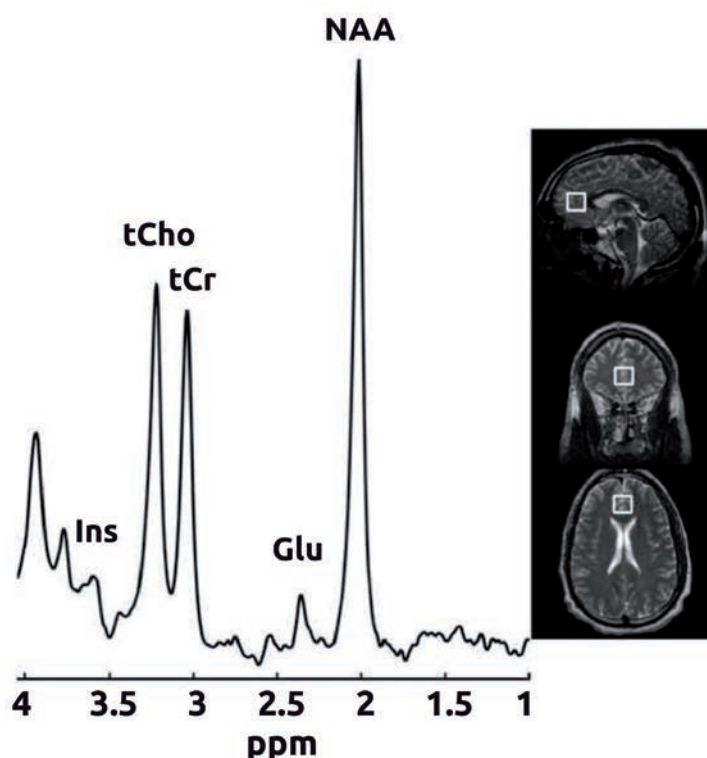
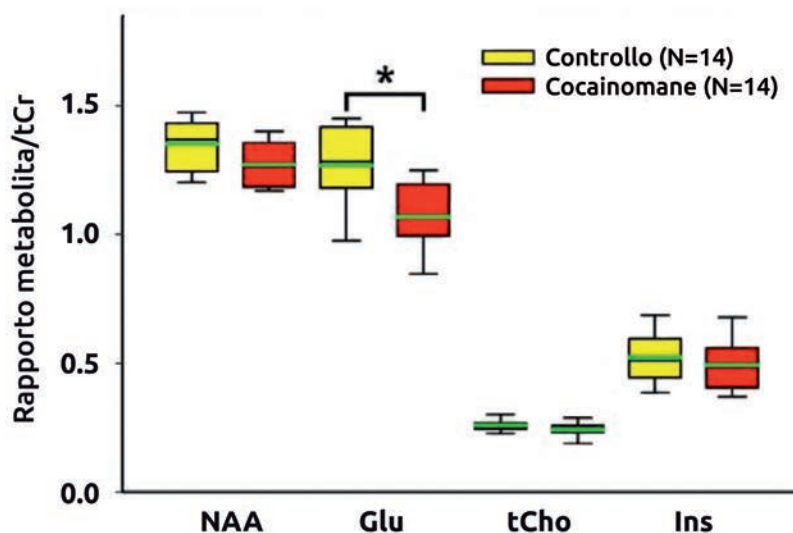


Figura 16 - Presenza dei metaboliti, in rapporto alla tCr, nella rACC di soggetti cocainomani cronici (in rosso) e volontari sani (in giallo). Glu/tCr risulta significativamente ridotto (15.88%) ( $F_{1,25}=10.2$ ;  $p < 0.005$ ) nel gruppo di cocainomani (grafico con asterisco) rispetto ai controlli. La sottile linea verde delimita il valore medio del rapporto tra metaboliti mentre la linea media rappresenta il valore mediano. Le barre indicano rispettivamente il 5° e 95° percentile. Fonte: Yang S. et al., 2009.



## Conclusioni

Numerosi studi di neuroimmagine hanno dimostrato, utilizzando varie metodiche d'indagine, gli effetti neurotossici della cocaina sul cervello. Tali effetti si manifestano a livello della corteccia cerebrale con una riduzione del numero e quindi del volume neuronale, in aree del cervello fondamentali per alcune delle abilità cognitive superiori più importanti, come la capacità decisionale, l'attenzione e il sistema di ricompensa cerebrale.

I risultati ottenuti dai diversi studi possono essere considerati attendibili e affidabili poiché hanno previsto l'utilizzo di tecniche avanzate di RM, l'uso di statistiche standardizzate con adeguati livelli di significatività e non ultimo ampi campioni di studio ben stratificati e appaiati per età, sesso e altre variabili di interesse con i gruppi di controllo.

Le tecniche di RM considerate vanno dall'analisi dello spessore corticale mediante tecnica VBM, allo studio della funzionalità neuronale con compiti specifici (fMRI) per l'attivazione di altrettanto specifiche funzioni mentali, o della rete neurale a riposo (resting-state fMRI) per l'analisi dei circuiti cerebrali basali, fino allo studio del metabolismo e dell'integrità micro strutturale delle fibre cerebrali. Un'analisi della struttura e della funzionalità cerebrale in soggetti che consumano abitualmente cocaina ha portato alla scoperta delle alterazioni che la sostanza provoca in vari circuiti del cervello con conseguenza spesso volte drammatiche e permanenti sulle funzioni cognitive superiori che governano la personalità stessa dell'individuo e che favoriscono e mantengono la dipendenza dalla droga oltre che le ricadute in fase di disintossicazione.

La combinazione di tecniche diverse di neuroimmagine (fMRI, rsfMRI, MRS, DTI) permette quindi di ottenere preziose informazioni sugli aspetti neurofisiologici della dipendenza da cocaina e della relazione tra questa dipendenza e i cambiamenti cognitivi che ne derivano.

## Bibliografia

1. Aguilar de Arcos F, Verdejo-García A, Ceverino A, Montañez-Pareja M, López-Juárez E, Sánchez-Barrera M, López-Jiménez A, Pérez-García M; Dysregulation of emotional response in current and abstinent heroin users: negative heightening and positive blunting *Psychopharmacology (Berl)*. 2008 Jun;198(2):159-66. Epub 2008 Mar 11.
2. Aguilar de Arcos F, Verdejo-García A, Peralta-Ramírez MI, Sánchez-Barrera M, Pérez-García M. Experience of emotions in substance abusers exposed to images containing neutral, positive, and negative affective stimuli. *Drug Alcohol Depend*. 2005 May 9;78(2):159-67.
3. Aharon I, Etcoff N, Ariely D, Chabris CF, O'Connor E, Breiter HC. Beautiful faces have variable reward value: fMRI and behavioral evidence. *Neuron*. 2001 Nov 8;32(3):537-51.
4. Asensio S, Romero MJ, Palau C, Sanchez A, Senabre I, Morales JL, Carcelen R, Romero FJ. Altered neural response of the appetitive emotional system in cocaine addiction: an fMRI Study *Addict Biol*. 2010 Oct;15(4):504-16.
5. Barrós-Loscertales A, Garavan H, Bustamante JC, Ventura-Campos N, Llopis JJ, Belloch V, Parcet MA, Avila C. Reduced striatal volume in cocaine-dependent patients *Neuroimage*. 2011 Jun 1;56(3):1021-6.
6. Bechara A. Decision making, impulse control and loss of willpower to resist drugs: A neurocognitive perspective. *Nature Neuroscience*. 2005;8:1458.
7. Goldstein RZ, Tomasi D, Rajaram S, Cottone LA, Zhang L, Maloney T, Telang F, Alia-Klein N, and Volkow ND. (2007). Role of the anterior cingulate and medial orbitofrontal cortex in processing drug cues in cocaine addiction. *Neuroscience*, 144, 1153-1159.
8. Goldstein R.Z., Alia-Klein N., Tomasi D., Honorio Carrillo J., Maloney T., Woicik P.A., Wang R., Telang F., and Volkow N.D. Anterior cingulate cortex hypoactivations to an emotionally salient task in cocaine addiction. *PNAS*, Published online before print May 28, 2009.
9. Goldstein R.Z., Alia-Klein N., Tomasi D., Zhang L., Cottone L.A., Maloney T., Telang F., Caparelli E.C., Chang L., Ernst T., Samaras D., Squires N.K. and Volkow N.D. Is decreased prefrontal cortical sensitivity to monetary reward is associated with impaired motivation and self-control in cocaine addiction. *American Journal of Psychiatry*, 164(1):43-51 (2007).
10. Hanlon CA, Wesley MJ, Roth AJ, Miller MD, Porrino LJ. Loss of laterality in chronic cocaine users: an fMRI investigation of sensorimotor control *Psychiatry Res*. 2010 Jan 30;181(1):15-23.
11. Lang, P.J., Bradley, M.M., & Cuthbert, B.N. (2008). International affective picture system (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual. Technical Report A-8. University of Florida, Gainesville, FL.
12. Lim C.C.T., Petersen E.T., Ng I., Hwang P.Y.K., Hui F., X. Golay. MR Regional Perfusion Imaging: Visualizing Functional Collateral Circulation. *AJNR*, 2007 March 28: 447-448
13. Yang S, Salmeron BJ, Ross TJ, Xi ZX, Stein EA, Yang Y. Lower glutamate levels in rostral anterior cingulate of chronic cocaine users *MRS Psychiatry Res*. 2009 Dec 30;174(3):171-6.
14. Karen D. Ersche, Anna Barnes, P. Simon Jones, Sharon Morein-Zamir Trevor W. Robbins, Edward T. Bullmore. Abnormal structure of frontostriatal brain system is associated with aspects of impulsivity and compulsivity in cocaine dependence, *Brain*, June 2011.
15. Kelly C, Zuo XN, Gotimer K, Cox CL, Lynch L, Brock D, Imperati D, Garavan H, Rotrosen J, Castellanos FX, Milham MP. Reduced interhemispheric resting state functional connectivity in cocaine addiction High field fMRI in chronic cocaine users *Biol Psychiatry*. 2011 Apr 1;69(7):684-92.
16. Lane SD, Steinberg JL, Ma L, Hasan KM, Kramer LA, Zuniga EA, Narayana PA, Moeller FG. Diffusion tensor imaging and decision making in cocaine dependence *PLoS One*. 2010 Jul 16;5(7).
17. Licata SC, Renshaw PF. Neurochemistry of drug action: insights from proton magnetic resonance spectroscopic imaging and their relevance to addiction. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Feb;1187:148-71.
18. Moeller, F. G., Hasan, K. M., Steinberg, J. L., Kramer, L. A., Dougherty, D. M., Santos, R. M., Valdes, I., Swann, A. C., Barratt, E. S., and Narayana. Reduced anterior corpus callosum white matter integrity is related to increased impulsivity and reduced discriminability in cocaine-dependent subjects: diffusion tensor imaging. *Neuropsychopharmacology*, 2005, 30, 610-617.
19. Moeller, F.G., Hasan, K.M., Steinberg, J.L., Kramer, L.A., Valdes, I., Lai, L.Y., Swann, A.C., Naryana, P.A. Diffusion Tensor Imaging Eigenvalues: Preliminary Evidence for Altered Myelin in Cocaine Dependence. *Psychiatry Research Neuroimaging* 154(3):253-8, 2007. 80.
20. Narayana PA, Datta S, Tao G, Steinberg JL, Moeller FG. Effect of cocaine on structural changes in brain: MRI volumetry using tensor-based morphometry. *Drug Alcohol Depend*. 2010 Oct 1;111(3):191-9.
21. Parvaz MA, Alia-Klein N, Woicik PA, Volkow ND, Goldstein RZ. Neuroimaging for drug addiction and related behaviors. *Rev Neurosci*. 2011;22(6):609-24. Epub 2011 Nov 25.
22. Pascual-Leone A, Dhuna A, Anderson DC. Cerebral atrophy in habitual cocaine abusers: a planimetric CT study. *Neurology*. 1991 Jan;41(1):34-8.
23. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ. The addicted human brain viewed in the light of imaging studies: brain circuits and treatment strategies. *Neuropharmacology*. 2004;47 Suppl 1:3-13.
24. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Swanson JM. Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. *Mol Psychiatry*. 2004 Jun;9(6):557-69.
25. Romero MJ, Asensio S, Palau C, Sanchez A, Romero FJ. Cocaine addiction: diffusion tensor imaging study of the inferior frontal and anterior cingulate white matter. *Psychiatry Res*. 2010 Jan 30;181(1):57-63.
26. Walton ME, Groves J, Jennings KA, Croxson PL, Sharp T, Rushworth MFS, Bannerman DM (2009). Comparing the role of the anterior cingulate cortex and 6-hydroxydopamine nucleus accumbens lesions on operant effort-based decision making. *European J Neurosci*. 29(8): 1678-91.
27. Zoccatelli G., Alessandrini F., Bricolo F, Serpelloni G.. Craving and resisting brain areas in cocaine abstinent users. An fMRI high field study. 2011 in press.
28. Zoccatelli G., Alessandrini F., Federspiel A., Serpelloni G.. Pulsed Arterial Spin Labeling (pASL) and VBM in chronic cocaine users. A study with high-field MRI. 2011 in press.



## 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 pre-clinici 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). Registrazioni 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.

Soggetti

I dati della risonanza magnetica funzionale sono stati raccolti con uno scanner Siemens 3T Allegra MR (Siemens, Erlangen, 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

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
<b>Seed MCL</b>	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
<b>Seed sensomotori</b>	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.

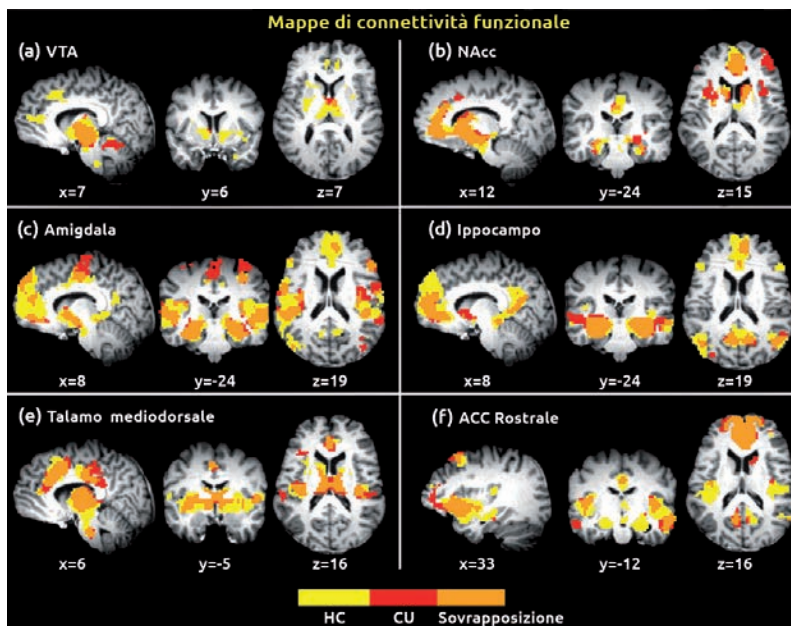
Effetti dell'utilizzo  
recente

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  $\$200\pm129$  (range  $\$38$ - $\$560$ ) a settimana,  $13.8\pm6.3$  (range 1-25) anni di uso e  $4.3\pm2.0$  (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.

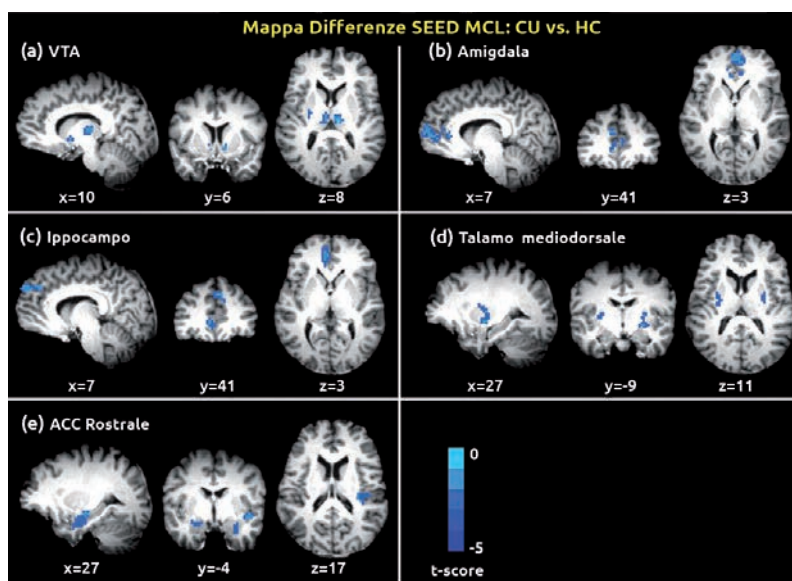
**Tabella 3 - Regioni che mostrano differenze significative tra consumatori di cocaina CU e soggetti di controllo HC.**

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	85
		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					
			Nessuna differenza					



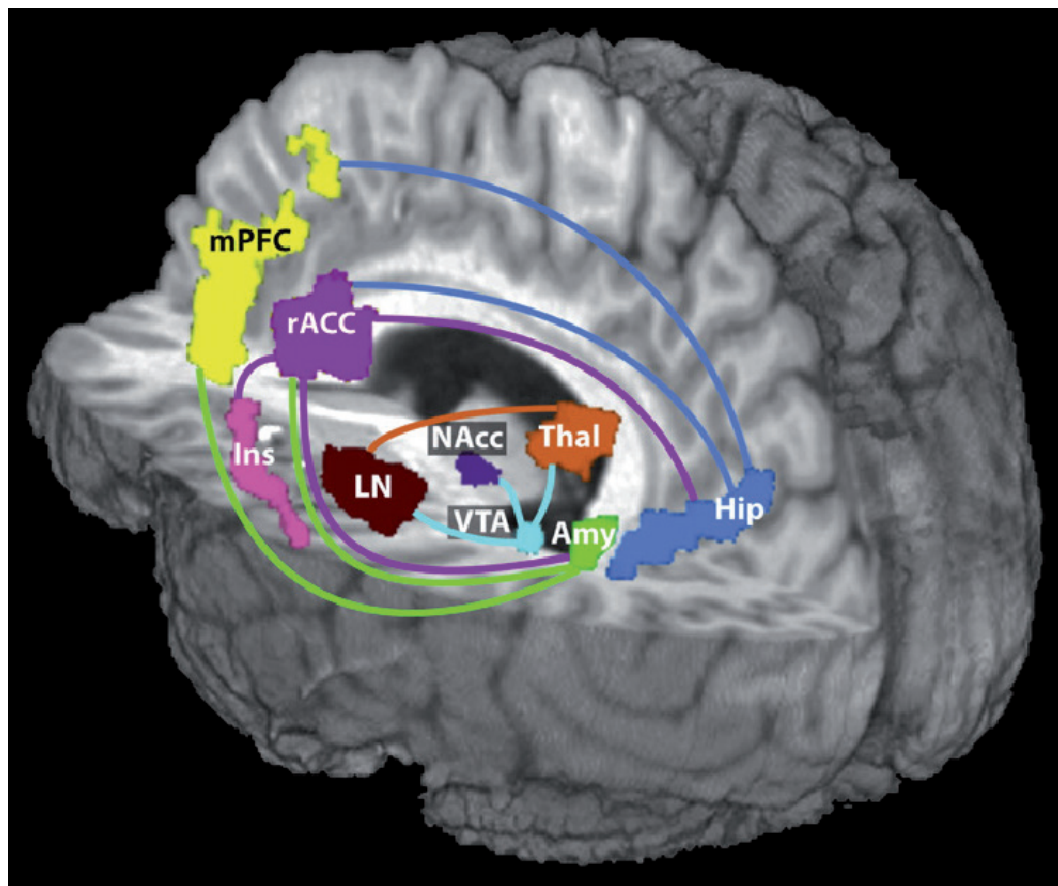
Rispetto ai partecipanti HC, i soggetti CU mostrano notevoli riduzioni della forza della rsFC in cinque delle sei regioni seed MCL, mentre non sono state osservate differenze con il seed NAcc (vedi Figura 2). I seed di amigdala e ippocampo presentano una riduzione della sincronia con singole porzioni 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.

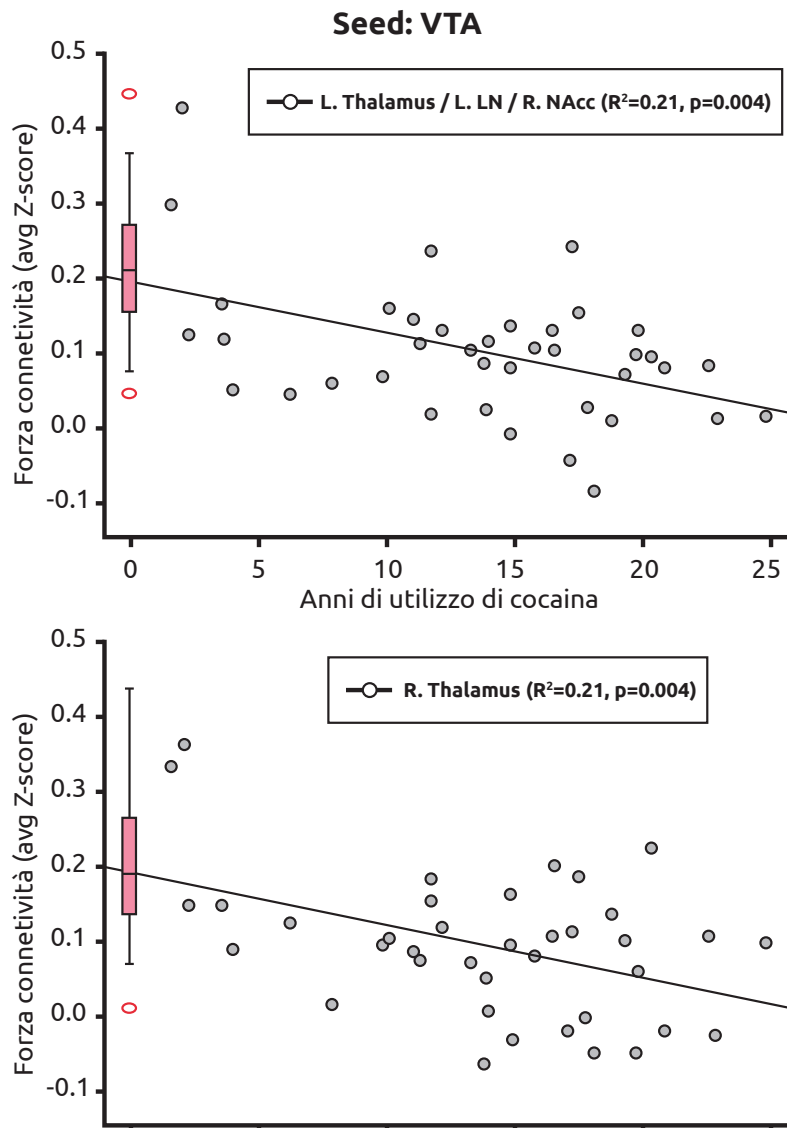
Figura 3 - Rappresentazione schematica delle regioni con riduzione della connettività funzionale (indicata dalle linee colorate) nei consumatori di cocaina rispetto ai controlli sani. Le linee corrispondono al colore delle regioni seed cui era associata la riduzione di connettività. L'amigdala e la rACC, 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 lentiforme/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 costruito 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 modulatoria, 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, Liao 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-naïve 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.

## Sezione 3

### EROINA







## 2.3.1 Studi di neuroimaging sugli effetti dell'esposizione agli oppiacei in età prenatale, adolescenziale e adulta

Elisa Bellamoli<sup>1</sup>, Franco Alessandrini<sup>2</sup>, Giada Zoccatelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona

<sup>2</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

### 1. Neuroimaging dell'esposizione prenatale ad oppiacei ed altre sostanze

Le droghe possono influenzare alcuni importanti processi dello sviluppo del Sistema Nervoso Centrale (SNC), come la mitosi, la migrazione e la sopravvivenza delle cellule (Walhovd KB et al., 2010). Nella formazione del SNC umano, prima si generano i neuroni, seguiti dagli astrociti e poi dagli oligodendrociti. Questi ultimi formano la mielina, lo strato isolante intorno agli assoni, che consente la trasmissione rapida e sincronizzata dei segnali nervosi. La mielinizzazione del cervello comincia relativamente tardi, nel secondo trimestre di gestazione: si sviluppa rapidamente durante l'infanzia, e continua a ritmi più lenti nell'età adulta (de Graaf-Peters VB & Hadders-Algra M, 2006). Tuttavia, le basi del processo di mielinizzazione vengono gettate durante la vita intrauterina. Pertanto, è importante esaminare i fattori potenzialmente rilevanti in questa fase dello sviluppo (Walhovd KB et al., 2010).

I bambini nati da donne che abusavano di droghe in gravidanza presentano un rischio maggiore di manifestare problemi neuropsicologici (Suess PE et al., 1997; Moe V & Slinning K, 2002; Moe V, 2002; Slinning K, 2004). Scarso, però, è il numero degli studi che hanno indagato con tecniche di neuroimmagine le alterazioni provocate al feto dall'assunzione materna di droghe. Le ricerche disponibili sull'argomento riportano inoltre un numero esiguo di soggetti, che per lo più sono figli di madri policonsumatrici. Vengono di seguito descritti i principali studi individuati.

Esposizione  
prenatale alle  
droghe e sviluppo  
del SNC

#### 1.1 Studi di neuroimaging strutturale sull'esposizione a eroina e altre droghe in utero

Sono state documentate differenze volumetriche neuroanatomiche tra bambini esposti alle droghe durante la vita intrauterina e bambini non esposti a sostanze in utero (Walhovd KB et al., 2007). Walhovd e collaboratori (2007) hanno studiato le caratteristiche morfometriche cerebrali di bambini con esposizione prenatale a più sostanze (n=14) confrontandole con quelle di bambini che non erano stati esposti a droghe (n=14). La maggior parte dei bambini esposti alle sostanze (n=10) erano nati da madri che usavano prevalentemente eroina e che ne hanno fatto uso durante l'intera gravidanza.

I due gruppi sono stati confrontati in 16 misure del cervello: materia grigia corticale, sostanza bianca cerebrale, ippocampo, amigdala, talamo, area dell'accumbens, caudato, putamen, pallido, tronco encefalico, corteccia cerebellare, materia bianca cerebellare, ventricoli laterali, ventricoli laterali inferiori, terzo e quarto ventricolo. Inoltre, è stata effettuata una misurazione continua dello spessore dell'intero mantello corticale.

Minor volume  
intracranico e  
cerebrale nei  
bambini esposti alla  
droga in utero

Le caratteristiche volumetriche sono state correlate con alcune variabili comportamentali, valutate 2 anni prima della RM, misurate con la Wechsler Intelligence Scale for Children-Revised e la Child Behavior Checklist.

Rispetto ai controlli, i bambini esposti alla droga avevano un minor volume intracranico e cerebrale, con corteccia cerebrale, amigdala, area dell'accumbens, putamen, pallido, tronco encefalico, corteccia cerebellare, materia bianca cerebellare, e ventricoli laterali inferiori più piccoli, e corteccia del cingolato anteriore di destra e corteccia orbitofrontale laterale più sottile.

Solo i volumi del cingolato anteriore destro, la corteccia orbitofrontale laterale destra e l'area dell'accumbens hanno mostrato un'associazione con le variabili comportamentali.

Questo è il primo studio sulle caratteristiche volumetriche cerebrali che include persone esposte all'eroina in utero. Poiché la dipendenza da eroina rappresenta un grave problema per molte società e può avere diverse conseguenze sullo sviluppo del cervello del feto, sono state analizzate le caratteristiche cerebrali sia dell'intero campione di bambini esposti a varie sostanze, sia del sottocampione di bambini con nota esposizione agli oppiacei. Il pallido e il putamen sono apparsi ridotti specialmente nel sottogruppo esposto agli oppiacei. Nella figura 1 sono illustrati gli effetti della diversa combinazione di regressori sullo spessore corticale dell'emisfero destro. Poiché ci sono diversi possibili fattori confondenti che correlano con la principale variabile d'interesse (l'esposizione prenatale agli oppiacei), l'approccio del modello lineare generale è stato ripetuto sistematicamente con diverse variabili regresse. Come si può vedere, gli effetti sono più forti quando vengono inclusi solo i bambini esposti agli oppiacei rispetto a quando sono inclusi tutti i bambini esposti a droghe, anche se la dimensione del campione è più piccola. Inoltre, si può vedere che gli effetti in alcune parti del cingolo anteriore e della corteccia orbitofrontale laterale superano il controllo per diversi possibili fattori confondenti.

Il campione studiato è raro, numericamente ridotto, e non è quindi possibile trarre conclusioni con certezza. Sono state osservate differenze morfometriche tra i gruppi. Tuttavia, le associazioni con le precedenti valutazioni comportamentali sono state generalmente deboli. Alcune delle differenze volumetriche, in particolare un minor volume nella parte destra della corteccia orbitofrontale laterale, potrebbero essere moderatamente coinvolte nelle difficoltà cognitive e comportamentali più frequentemente sperimentate dai bambini esposti alle droghe.

Figura 1 - Esempio di segmentazione automatica dei volumi cerebrali di due maschi sani di 10 anni. In basso: soggetto di controllo. In alto: soggetto esposto in utero ad oppiacei. La dimensione del voxel è di 1 mm cubo. Fonte: Walhovd KB et al., 2007.

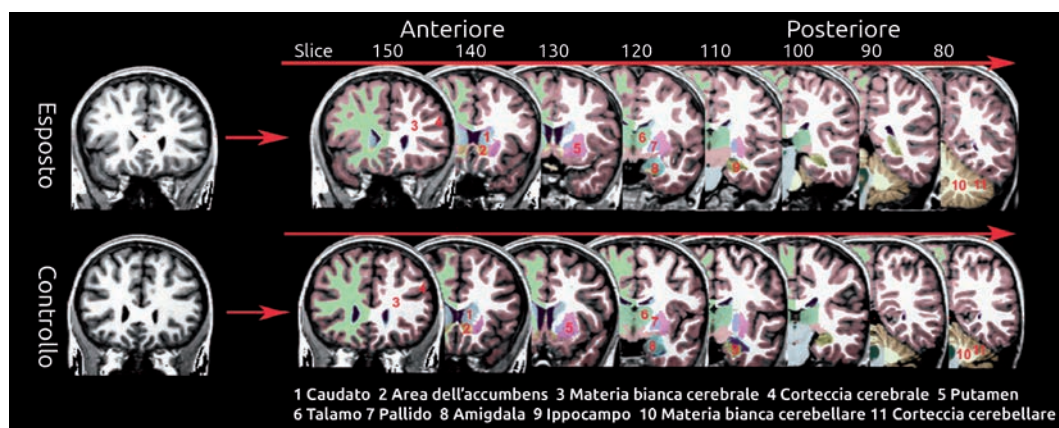


Figura 2 - Risultati di un modello lineare generale raffigurante l'effetto dell'esposizione del gruppo sul mantello corticale quando gli effetti di genere, età al momento della scansione e età gestazionale alla nascita sono stati regressi. I risultati sono mostrati per differenze di gruppo tra i controlli e A) tutti i bambini esposti a droghe, e B) i bambini esposti solo ad oppiacei. Fonte: Walhovd KB et al., 2007.

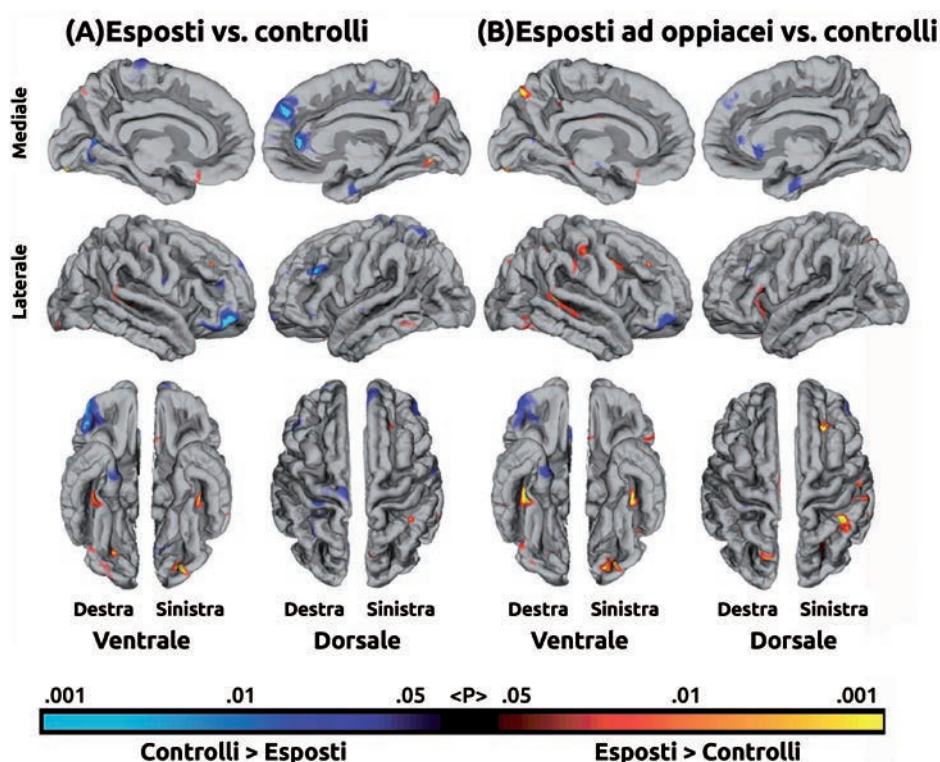


Figura 3 - Le immagini illustrano gli effetti della diversa combinazione di regressori sullo spessore corticale dell'emisfero destro. Gli effetti sono proiettati su un cervello gonfiato (a sinistra: vista laterale, a destra: vista mediale). Fonte: Walhovd KB et al., 2007.

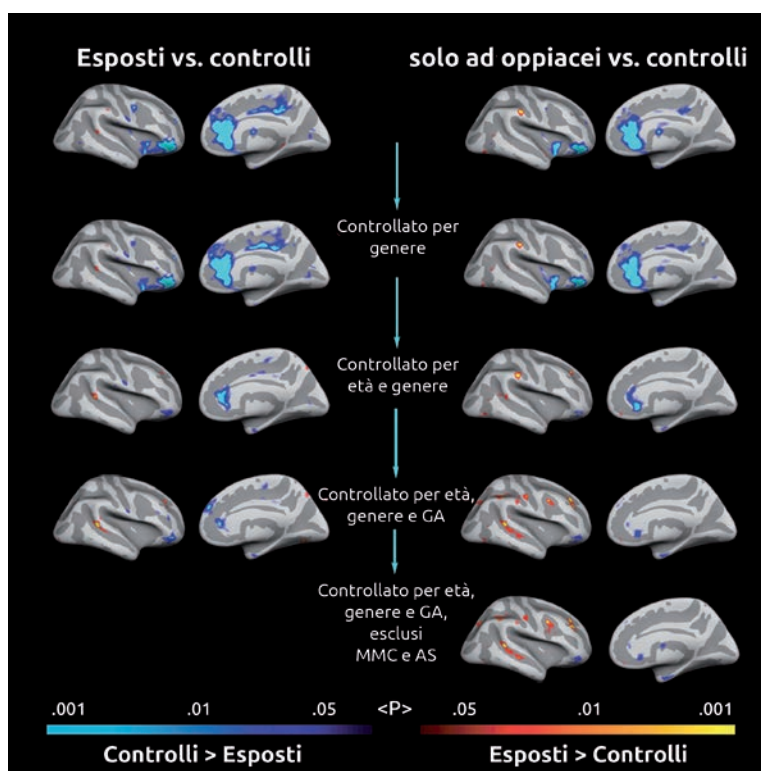
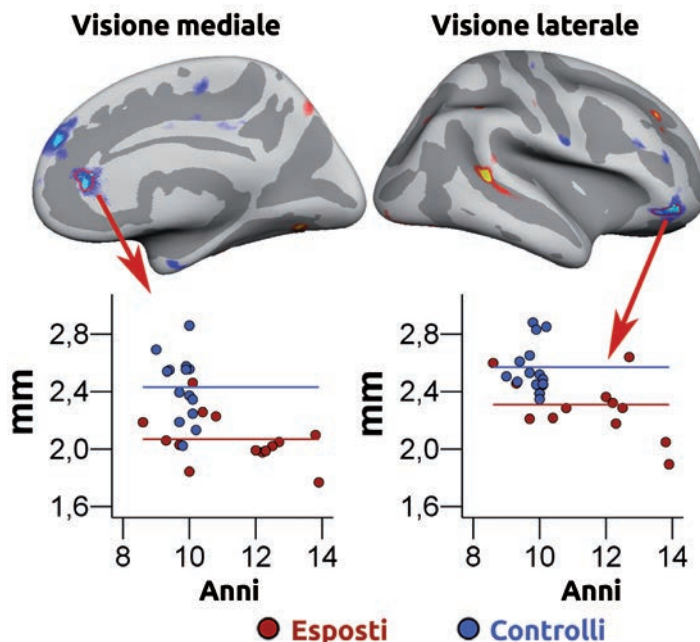


Figura 4 - I grafici mostrano lo spessore medio della corteccia cerebrale in due specifiche aree frontali del cervello: una parte della corteccia cingolata anteriore e una parte della corteccia orbitofrontale laterale dell'emisfero destro. Le aree sono disegnate manualmente su un cervello gonfiato che permette di vedere dentro ai solchi della superficie cerebrale. Le linee rappresentano lo spessore medio nelle due aree per ciascuno dei due gruppi (bambini esposti alle droghe e soggetti di controllo). Fonte: Walhovd KB et al., 2007.



I bambini esposti alle droghe durante la vita prenatale mostrano un'inferiore Anisotropia Frazionaria in aree di sostanza bianca

Nel 2010, Walhovd e colleghi hanno pubblicato uno studio che ha indagato le caratteristiche della sostanza bianca con la tecnica del Diffusion Tensor Imaging (DTI), nei bambini con esposizione prenatale ad oppiacei ed altre droghe e in soggetti di controllo. Il campione includeva 14 bambini adottati esposti alle droghe durante la vita intrauterina (5 femmine e 9 maschi, tra gli 8 e i 13 anni) e 14 bambini di controllo (7 femmine e 7 maschi, tra i 9 e i 10 anni).

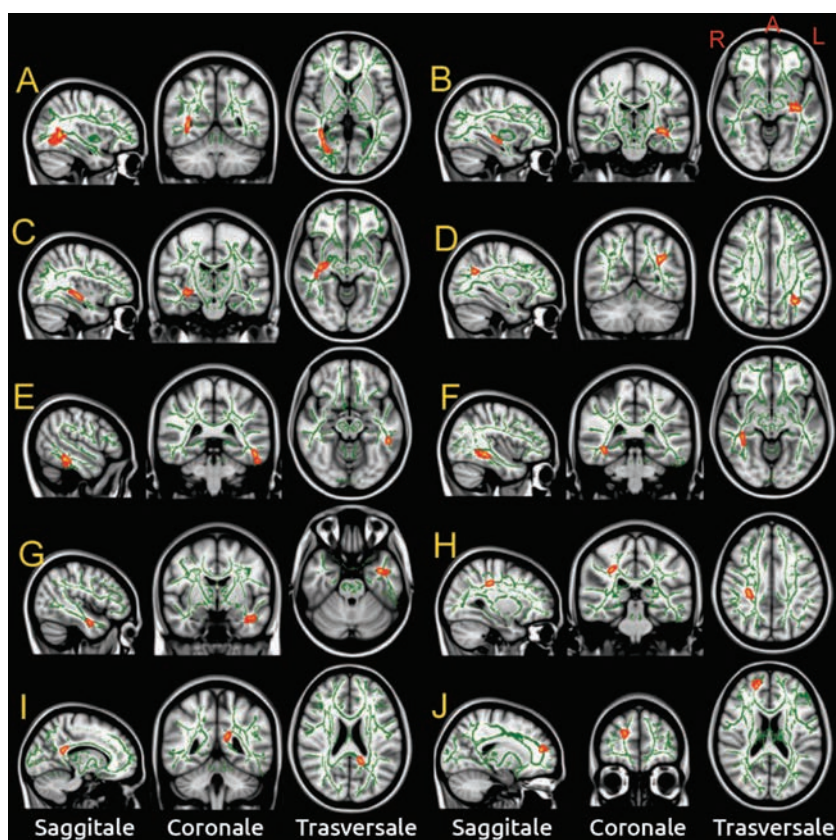
I ricercatori hanno valutato se ci fossero differenze tra i gruppi nell'anisotropia frazionaria (FA) e nelle sue componenti Diffusione Assiale (DA) e Diffusione Radiale (DR), e se queste potessero essere correlate al funzionamento cognitivo.

Sono stati identificati dieci cluster di differenze significative tra i gruppi nella FA, per lo più nelle parti centrale, posteriore e inferiore del cervello, che mostrano minore FA nei bambini esposti alle droghe. FA e DR correlavano moderatamente con il funzionamento cognitivo: FA e DA correlavano positivamente, mentre FA e DR negativamente.

I ricercatori hanno trovato che i bambini esposti alle droghe durante la vita prenatale mostrano un'inferiore Anisotropia Frazionaria in aree limitate di sostanza bianca, soprattutto in aree centrali, inferiori e posteriori, dove la mielinizzazione avviene precocemente nello sviluppo. La mielina in queste aree può essere particolarmente vulnerabile all'esposizione prenatale alle droghe (Walhovd KB et al., 2010).



Figura 5 - Sono mostrati in rosso-giallo voxels (=100) con significative ( $P=0,05$ ) differenze di gruppo nella FA come appaiono nello scheletro della materia bianca evidenziate in verde. Per tutti i cluster, la FA era più bassa nei bambini esposti alle droghe nel periodo prenatale. Fonte: Walhovd KB et al., 2010.



L'esposizione alla cocaina in utero risulta in anomalie comportamentali e del neurosviluppo che persistono fino all'età adulta (Arnold R et al., 2008). Le immagini convenzionali di RM hanno generalmente fallito nel rilevare le lesioni strutturali attese per spiegare questi esiti clinici.

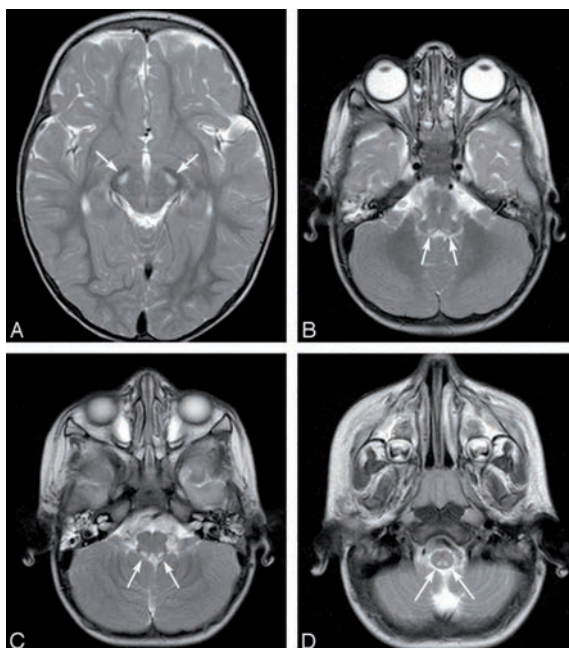
Arnold e colleghi (2008) hanno pubblicato il caso di un bambino esposto a eroina, cocaina e altre droghe durante la vita prenatale. Il bambino all'età di 15 mesi presentava ritardo nello sviluppo.

Gli autori hanno riscontrato cambiamenti focali nell'intensità del segnale delle immagini di RM di alcune aree cerebrali del bambino: la substantia nigra, il locus ceruleus e altri nuclei e tratti di nervi.

Nello specifico la RM del cervello del bambino, eseguita senza mezzo di contrasto, ha rivelato elevata intensità del segnale in T2 nella pars compacta della substantia nigra (Figura 6A). Aree focali di simile anomala intensità del segnale sono state osservate nel ponte dorsale, nel midollo dorsale e nel midollo spinale cervicale superiore. Queste anomalie comprendevano il nucleo motore del nervo vago (Figura 6B), il tratto e il nucleo solitario (Figura 6C), il nucleo vestibolare mediale (Figura 6D), le corna posteriori e le porzioni centrali del midollo spinale cervicale superiore. Chiazze di anomala intensità del segnale in T2 sono state osservate anche nel talamo. E' stata riscontrata un'intensità del segnale in T2 lievemente maggiore nella regione del locus ceruleus. Le immagini pesate in diffusione, invece, sono risultate normali.

Case-report di un bambino esposto in utero a droghe, tra cui oppiacei

Figura 6 - Una sequenza assiale pesata in T2 mostra l'iperintensità ben circoscritta (frecce) all'interno della pars compacta della substantia nigra (A). Immagini pesate in T2 del nucleo motore dorsale del vago (B), del nucleo solitario (C) e del nucleo vestibolare mediale (D) mostrano simile iperintensità simmetrica focale ben circoscritta. Fonte: Arnold R et al., 2008.



## 2. Consumo di eroina in adolescenti

Esiguo è il numero degli studi che hanno indagato i rapporti tra la dipendenza da oppiacei e i cambiamenti nella struttura del cervello dei consumatori di eroina, soprattutto per quanto riguarda il consumo in adolescenza.

### 2.1 Studi di neuroimaging strutturale sull'esposizione all'eroina in adolescenza

Nella corteccia prefrontale, temporale e cingolata la DGM è significativamente minore negli eroinomani

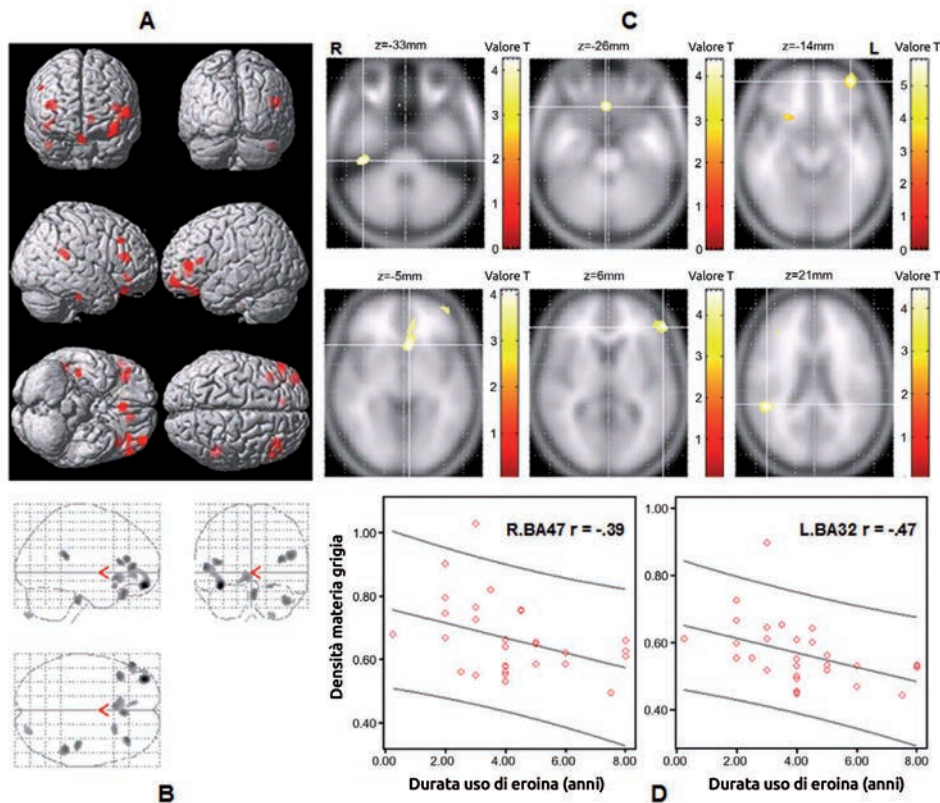
Yuan e collaboratori (2009) hanno utilizzato la morfometria basata sul voxel (VBM) per esaminare i cambiamenti strutturali del cervello in un campione relativamente ampio di giovani con dipendenza da eroina. In questo studio sono stati sottoposti a RM 30 ragazzi con dipendenza da eroina (da circa 4 anni in media) che erano astinenti da circa 5 mesi e non erano in terapia sostitutiva con metadone, e 34 soggetti sani di controllo. E' stata poi misurata la densità della materia grigia (DGM) dei soggetti ed è emerso che nella corteccia prefrontale, temporale e cingolata la DGM risultava significativamente minore negli eroinomani rispetto al gruppo sano. In particolare, le regioni che mostravano importante diminuzione della DGM erano nelle aree prefrontali, tra cui BA45, 46, 9, 11, 25. La diminuzione della DGM è stata osservata anche nella corteccia insulare (BA13), cingolata anteriore (BA32), e temporale (BA20). Sono stati ottenuti risultati simili anche quando l'età, il genere e la scolarità non sono stati inclusi come covariate.

Nei soggetti tossicodipendenti, la durata del consumo di eroina correlava negativamente con la DGM della maggior parte delle aree cerebrali, eccetto il cervelletto e la corteccia insulare. Questi risultati forniscono una prova convincente dell'anomalia strutturale nei



giovani dipendenti da eroina, e suggeriscono inoltre che la durata del consumo di eroina sia un fattore critico che porta a danni cerebrali importanti.

Figura 7 - Confronto tra la densità di materia grigia nei soggetti con dipendenza da eroina e quella dei controlli. Vi è minore densità di materia grigia nella corteccia prefrontale bilaterale e nella corteccia temporale degli eroinomani, mostrate a cervello intero (A). La densità della materia grigia è minore nella corteccia prefrontale, temporale e insulare degli eroinomani, rappresentata nella resa prospettica dell'intero cervello (B). La densità della materia grigia è minore nella corteccia prefrontale, temporale, e insulare degli eroinomani, raffigurata sul piano assiale (C). La correlazione tra la densità della materia grigia e la durata del consumo di droga in BA32 (a sinistra,  $r = .47$ ,  $p < 0,05$ ) e BA47 (a destra,  $r = .39$ ,  $p < 0,05$ ) (D). Fonte: Yuan Y et al., 2009.



Chang e colleghi (2011) hanno recentemente riportato il caso di un ragazzo di 26 anni che aveva fatto uso di eroina inalata e che presentava compromissione motoria, del linguaggio e delle funzioni cognitive, ridotta forza muscolare, riflessi tendinei profondi iperattivi, vibrazione e sensibilità alla punta di spillo.

Le immagini di RM pesate in T2 rivelano un'iperintensità simmetrica nei tratti della materia bianca, coerente con degenerazione spongiforme e demielinizzazione (Figura 8).

Il coinvolgimento di questi tratti di sostanza bianca e della parte posteriore della capsula interna, con il risparmio della corteccia e dei gangli della base, è un reperto caratteristico della leucoencefalopatia indotta dall'eroina (detta anche "chasing the dragon syndrome"), che contribuisce a distinguerla dalle altre cause di leucoencefalopatia. La Spettroscopia di Risonanza Magnetica (MRS- $H^1$ ) ha rivelato una diminuzione del rapporto N-acetilaspargato/creatinina (NAA/Cr) e un picco doppio di lattato, indicanti una disfunzione mitocondriale e neurotossicità.

Gli autori sostengono che la RM possa rivelare con precisione la distribuzione delle anomalie della sostanza bianca nei pazienti con leucoencefalopatia eroina-indotta, e la MRS- $H^1$ , anche se non essenziale per la diagnosi, può aiutare a chiarire ulteriormente la condizione.

Leucoencefalopatia  
indotta dall'uso di  
eroina

### 3. Studi di neuroimaging su adulti consumatori di eroina

La dipendenza da eroina è associata ad un basso legame del recettore D2/3 e a bassa dopamina presinaptica

Studi di neuroimmagine con la PET hanno mostrato che la dipendenza da sostanze stupefacenti è associata con una diminuzione del legame del recettore D2/3 della dopamina ed una riduzione del rilascio presinaptico di dopamina nello striato. Alcuni studi hanno mostrato anche che queste diminuzioni sono associate alla gravità della dipendenza.

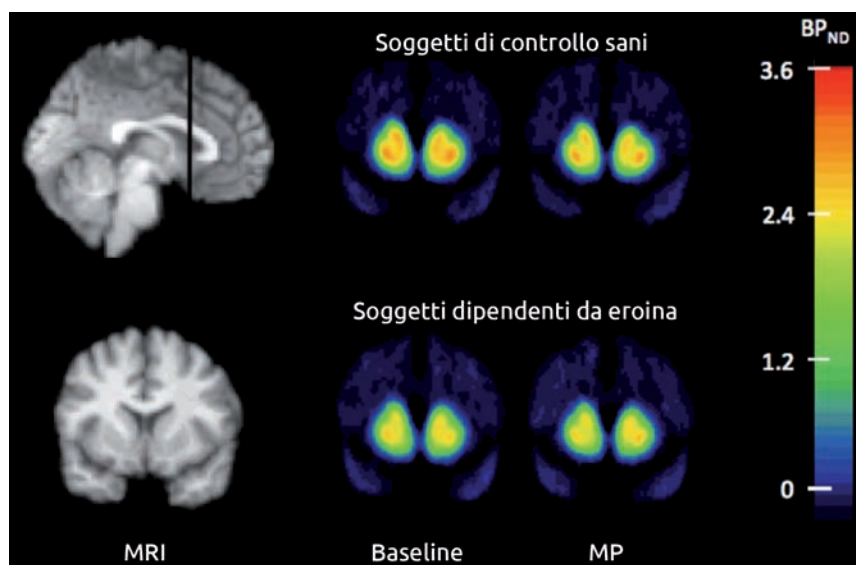
Un recente studio (Martinez D et al., 2011) ha valutato questi parametri di trasmissione della dopamina nello striato in soggetti con dipendenza da eroina e la loro associazione con il comportamento di ricerca della droga.

Persone con dipendenza da eroina e soggetti sani di controllo sono stati sottoposti alla PET con [<sup>11</sup>C]raclopride prima e dopo la somministrazione di uno stimolante (metilfenidato) per misurare il legame del recettore D2/3 ed il rilascio presinaptico di dopamina. Dopo le due scansioni, i soggetti dipendenti sono stati sottoposti a delle sessioni di auto-somministrazione di eroina.

Sia il legame del recettore D2/3 che il rilascio presinaptico di dopamina sono risultati ridotti negli eroinomani rispetto ai controlli sani. Nessuna di queste misure della trasmissione di dopamina ha predetto la scelta di auto-somministrazione dell'eroina.

Questi dati mostrano che la dipendenza da eroina, come la dipendenza da altre droghe, è associata ad un basso legame del recettore D2/3 e a bassa dopamina presinaptica.

Figura 9 - Mappe della media di tutti i soggetti del potenziale di legame (BPND) della [<sup>11</sup>C] raclopride, coregistrata a un modello comune. La colonna sinistra rappresenta le immagini RM di un soggetto che mostra il livello delle fette coronali della PET (in basso). La linea nera nella vista sagittale (in alto) mostra il livello delle sezioni coronali. La colonna centrale e quella di destra mostrano i soggetti sani di controllo (in alto) e i soggetti con dipendenza da eroina (in basso) al basale (al centro) e dopo il metilfenidato (MP) (a destra). Fonte: Martinez D et al., 2011.



L'uso cronico di oppiacei provoca vari e diffusi effetti sulla connettività e sul funzionamento neuronale

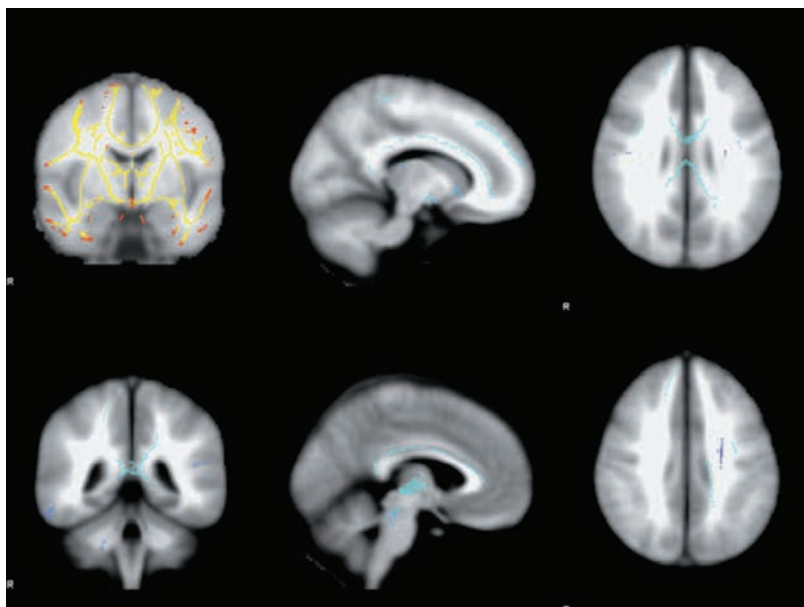
La dipendenza da eroina è stata associata con la compromissione della connettività neuronale e col deficit cognitivi. Una ragione che potrebbe spiegare questi dati è che vi sono alterazioni nella connettività della materia bianca causate dall'uso cronico di oppiacei. Tuttavia, pochi studi hanno esaminato quantitativamente la carenza di sostanza bianca nella dipendenza da oppiacei.

Bora e colleghi (2010) hanno studiato la microstruttura della materia bianca nelle persone

con dipendenza da oppiacei utilizzando la DTI. I ricercatori hanno valutato l'Anisotropia Frazionaria (FA) in 24 soggetti eroinomani e 29 soggetti sani di controllo. Il primo gruppo ha mostrato una riduzione della FA in molte vie neurali che comprendono il corpo calloso, la radiazione talamica e il fascicolo longitudinale inferiore. Questa riduzione della FA era il risultato principalmente di una maggiore diffusività radiale, indicativa di una patologia della mielina.

Una durata più lunga della dipendenza da oppiacei è stata anche associata con diffusività assonale, maggiormente consistente nel fascicolo longitudinale superiore e nella materia bianca frontale destra, che suggerisce un danno assonale nei consumatori di eroina da lungo tempo. Insieme, queste scoperte indicano che l'uso cronico di oppiacei ha vari e diffusi effetti sulla connettività e sul funzionamento neuronale.

**Figura 10 - Scheletro (giallo-rosso, in alto a sinistra) e gruppi con riduzione di FA (blu) negli eroinomani rispetto ai soggetti di controllo. Fonte: Bora E et al., 2010.**



Offiah e Hall (2008) hanno descritto le caratteristiche delle immagini di RM nella leucoencefalopatia indotta dall'eroina, in particolare, le caratteristiche delle immagini pesate in diffusione (DWI) e della Spettroscopia di Risonanza Magnetica (MRS).

Sei pazienti con una diagnosi clinica o istopatologica di leucoencefalopatia indotta dall'eroina ("Chasing the dragon syndrome") sono stati esaminati con la RM, inclusa la DWI e la MRS.

La materia bianca del cervelletto è stata coinvolta in tutti i sei casi, mostrando simile distribuzione simmetrica, con risparmio dei nuclei dentati.

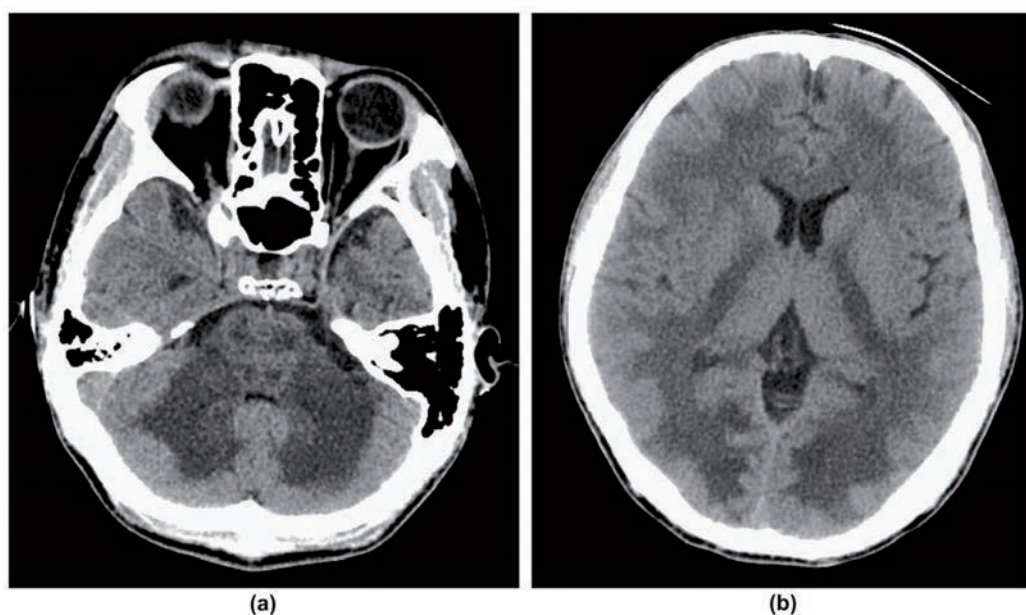
Nelle immagini di cinque dei sei pazienti era evidente il cambiamento del segnale nel tronco dell'encefalo. Il coinvolgimento del parenchima cerebrale sopratentoriale, così come il coinvolgimento del tronco dell'encefalo, correlava anatomicamente con la distribuzione del tratto corticospinale.

Nessuna delle aree con anomalia del segnale è stata individuata con la DWI. Dei pazienti sottoposti a MRS, le aree con danno parenchimale hanno mostrato una diminuzione dell'N-acetilaspargato, ridotta colina ed elevato lattato.

La leucoencefalopatia indotta dall'eroina risulta in tipiche e altamente specifiche anomalie del segnale nella RM

La leucoencefalopatia indotta dall'eroina risulta in tipiche e altamente specifiche anomalie del segnale nella RM, che possono essere d'aiuto per la diagnosi. I risultati della DWI e della MRS possono essere spiegati attraverso note descrizioni neuropatologiche di questa condizione.

Figura 11 a, b - Immagini di Tomografia Computerizzata cerebrale che mostrano simmetrica bassa attenuazione del segnale che incide sulla sostanza bianca degli emisferi cerebellari e dei peduncoli medi cerebellari; simmetrica bassa attenuazione del cambiamento è evidente anche nel tegmento del ponte posteriormente e anteriormente nelle basi del ponte. La sostanza bianca temporo-occipitale e la parte posteriore capsulare della materia bianca risultano gravemente colpite nella regione sopratentoriale. Fonte: Offiah C & Hall E, 2008.



## 4. Conclusioni

In letteratura sono presenti relativamente pochi studi di neuroimmagine sui cambiamenti strutturali che avvengono nel cervello delle persone con dipendenza da eroina. I primi studi di neuroimmagine strutturale si erano focalizzati su diversi effetti patologici causati dall'uso di eroina, compresi cambiamenti ischemici microvascolari, ictus ischemici, leucoencefalopatia e atrofia (Borne J et al., 2005; Chang WL et al., 2009; Molloy S et al., 2006). Gli studi con Tomografia Computerizzata e RM su soggetti con dipendenza da oppiacei non hanno mostrato risultati coerenti: alcune ricerche hanno mostrato una diminuzione del rapporto ventricolo/cervello, perdita del volume frontale e aumentata intensità della materia bianca nelle aree frontali, mentre altri studi non hanno riportato alterazioni nei soggetti con dipendenza da oppiacei. I risultati di questi studi non sono coerenti per diverse possibili ragioni: un limite di questi studi è che non è stata considerata l'influenza della durata dell'astinenza. Questi studi di solito coinvolgevano soggetti tossicodipendenti in trattamento che, al momento della scansione di RM, erano astinenti dall'eroina da tempi diversi (da alcune settimane ad alcuni mesi). Questo è importante perché alcune ricerche hanno mostrato che gli effetti di alcune droghe sul substrato neurale sono reversibili, come è stato visto per gli alcolisti (Cardenas VA et al., 2007; Pfefferbaum A et al., 1998). Quindi, al fine di descrivere pienamente le anomalie cerebrali indotte dall'uso cronico di eroina, è



necessario studiare i tossicodipendenti subito dopo la cessazione dell'uso di droga, prima che si possa verificare un eventuale recupero cerebrale. Alcuni studi hanno riportato che le anomalie indotte dall'eroina nella perfusione cerebrale e nella leucoencefalopatia potrebbero essere reversibili (Barnett MH et al., 2001; Chang WL et al., 2009; Molloy S et al., 2006; Rose JS et al., 1996). Mentre, Wang e colleghi (2011) hanno mostrato che le anomalie indotte dall'eroina nella microstruttura possono essere solo in parte reversibili. Comunque, sono necessari ulteriori studi, a diversi tempi di astinenza, per valutare le effettive alterazioni indotte dagli oppiacei e gli eventuali margini di recupero dopo l'astinenza.

## Bibliografia

1. Arnold R, Johnson C, McNulty B, Gaisie G. Substantia nigra MR imaging signal changes and cardiomyopathy following prenatal exposure to cocaine and heroin. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2008 Apr; 29 (4) :828-9
2. de Graaf-Peters VB, Hadders-Algra M. Ontogeny of the human central nervous system: what is happening when? *Early Hum Dev* 2006;82:257-66
3. Moe V, Slinning K. Prenatal drug exposure and the conceptualization of longterm effects. *Scand J Psychol* 2002;43:41-47
4. Moe V. Foster-placed and adopted children exposed in utero to opiates and other substances: prediction and outcome at four and a half years. *J Dev Behav Pediatr* 2002;23:330-39
5. Slinning K. Foster placed children prenatally exposed to poly-substances: attention-related problems at ages 2 and 4 1/2. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2004;13:19-27
6. Suess PE, Newlin DB, Porges SW. Motivation, sustained attention, and autonomic regulation in school-age boys exposed in utero to opiates and alcohol. *Exp Clin Psychopharmacol* 1997;5:375-87
7. Walhovd KB, Moe V, Slinning K, et al. Volumetric cerebral characteristics of children exposed to opiates and other substances in utero. *Neuroimage* 2007;36:1331-44
8. Walhovd KB, Westlye LT, Moe V, Slinning K, Due-Tønnessen P, Bjørnerud A, van der Kouwe A, Dale AM, Fjell AM. White matter characteristics and cognition in prenatally opiate- and polysubstance-exposed children: a diffusion tensor imaging study. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2010 May;31(5):894-900.
9. Yuan Y, Zhu Z, Shi J, Zou Z, Yuan F, Liu Y, Lee TM, Weng X. Gray matter density negatively correlates with duration of heroin use in young lifetime heroin-dependent individuals. *Brain Cogn.* 2009 Dec; 71(3):223-8.
10. Martinez D, Saccone PA, Liu F, Slifstein M, Orłowska D, Grassetti A, Cook S, Broft A, Van Heertum R, Comer SD. Deficits in dopamine D(2) receptors and presynaptic dopamine in heroin dependence: commonalities and differences with other types of addiction. *Biol Psychiatry.* 2012 Feb 1;71(3):192-8.
11. Chang WC, Lo CP, Kao HW, Chen CY. MRI features of spongiform leucoencephalopathy following heroin inhalation. *Neurology.* 2006 Aug 8;67(3):504
12. Bora E, Yücel M, Fornito A, Pantelis C, Harrison BJ, Cocchi L, Pell G, Lubman DI. White matter microstructure in opiate addiction. *Addict Biol.* 2012 Jan;17(1):141-8.
13. Offiah C, Hall E. Heroin-induced leucoencephalopathy: characterization using MRI, diffusion-weighted imaging, and MR spectroscopy. *Clin Radiol.* 2008 Feb;63(2):146-52.
14. Jiang GH, Qiu YW, Zhang XL, Han LJ, Lv XF, Li LM, Lin CL, Zhuo FZ, Hu SY, Tian JZ. Amplitude low-frequency oscillation abnormalities in the heroin users: a resting state fMRI study. *Neuroimage.* 2011 Jul 1;57(1):149-54.
15. Xie C, Li SJ, Shao Y, Fu L, Goveas J, Ye E, Li W, Cohen AD, Chen G, Zhang Z, Yang Z. Identification of hyperactive intrinsic amygdala network connectivity associated with impulsivity in abstinent heroin addicts. *Behav Brain Res.* 2011 Jan 20;216(2):639-46.
16. Kass-Hout T, Kass-Hout O, Darkhabani MZ, Mokin M, Mehta B, Radovic V. "Chasing the dragon"--heroin-associated spongiform leucoencephalopathy. *J Med Toxicol.* 2011 Sep;7(3):240-2.
17. Liu H, Hao Y, Kaneko Y, Ouyang X, Zhang Y, Xu L, Xue Z, Liu Z. Frontal and cingulate gray matter volume reduction in heroin dependence: optimized voxel-based morphometry. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2009 Aug;63(4):563-8.
18. Bega DS, McDaniel LM, Jhaveri MD, Lee VH. Diffusion weighted imaging in heroin-associated spongiform leucoencephalopathy. *Neurocrit Care.* 2009;10(3):352-4.
19. Li Q, Wang Y, Zhang Y, Li W, Yang W, Zhu J, Wu N, Chang H, Zheng Y, Qin W, Zhao L, Yuan K, Liu J, Wang W, Tian J. Craving correlates with mesolimbic responses to heroin-related cues in short-term abstinence from heroin: An event-related fMRI study. *Brain Res.* 2012 Jun 30.
20. Wang X, Li B, Zhou X, Liao Y, Tang J, Liu T, Hu D, Hao W. Changes in brain gray matter in abstinent heroin addicts. *Drug Alcohol Depend.* 2012 Jun 18.
21. Qiu YW, Han LJ, Lv XF, Jiang GH, Tian JZ, Zhuo FZ, Su HH, Lin CL, Zhang XL. Regional homogeneity changes in heroin-dependent individuals: resting-state functional MR imaging study. *Radiology.* 2011 Nov;261(2):551-9.
22. Zhang Y, Tian J, Yuan K, Liu P, Zhuo L, Qin W, Zhao L, Liu J, von Deneen KM, Klahr NJ, Gold MS, Liu Y. Distinct resting-state brain activities in heroin-dependent individuals. *Brain Res.* 2011 Jul 21;1402:46-53.
23. Barnett, M.H., Miller, L.A., Reddel, S.W., Davies, L., 2001. Reversible delayed leucoencephalopathy following intravenous heroin overdose. *J. Clin. Neurosci.* 8, 165-167.
24. Borne, J., Riascos, R., Cuellar, H., Vargas, D., Rojas, R., 2005. Neuroimaging in drug and substance abuse. Part II. Opioids and solvents. *Top. Magn. Reson. Imaging* 16, 239-245.
25. Cardenas, V.A., Studholme, C., Gazdzinski, S., Durazzo, T.C., Meyerhoff, D.J., 2007. Deformation-based



- morphometry of brain changes in alcohol dependence and abstinence. *Neuroimage* 34, 879–887.
27. Chang, W.L., Chang, Y.K., Hsu, S.Y., Lin, G.J., Chen, S.C., 2009. Reversible delayed leukoencephalopathy after heroin intoxication with hypoxia: a case report. *Acta Neurol. Taiwan* 18, 198–202.
  28. Molloy, S., Soh, C., Williams, T.L., 2006. Reversible delayed posthypoxic leukoencephalopathy. *Am. J. Neuro-radiol.* 27, 1763–1765.
  29. Pfefferbaum, A., Sullivan, E.V., Rosenbloom, M.J., Mathalon, D.H., Lim, K.O., 1998. A controlled study of cortical gray matter and ventricular changes in alcoholic men over a 5-year interval. *Arch. Gen. Psychiatry* 55, 905–912.
  30. Rose, J.S., Branchey, M., Buydens-Branch, L., Stapleton, J.M., Chasten, K., Werrell, A., Maayan, M.L., 1996. Cerebral perfusion in early and late opiate withdrawal: a technetium-99m-HMPAO SPECT study. *Psychiatry Res.* 67, 39–47.



## Sezione 4

---

### METANFETAMINE





## 2.4.1 Consumo di metanfetamina e suoi derivati in gravidanza: le evidenze scientifiche dalle neuroimmagini

Giuseppe Cuoghi<sup>1</sup>, Franco Alessandrini<sup>2</sup>, Giada Zoccatelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona

<sup>2</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

### 1. Introduzione

L'uso e la dipendenza da metanfetamine (MA) ha raggiunto negli ultimi anni diffusione mondiale ed è stato stimato che il numero dei suoi utilizzatori sia maggiore di quelli di cocaina e oppiacei messi insieme (UNODC, 2011). A differenza delle altre droghe, più donne che uomini entrano in contatto con le metanfetamine, diventandone utilizzatrici abituali. Desta preoccupazione l'impatto che l'uso di MA può avere sui nascituri, dal momento che, nel 2011, il 6,7% delle donne che ha richiesto un trattamento per la dipendenza da metanfetamine negli Stati Uniti, era incinta (Treatment Episode Data Set - TEDS 2011).

La ricerca sull'esposizione prenatale alle metanfetamine può utilmente attingere da quella precedentemente svolta sulla cocaina, perché entrambi (cocaina e MA) sono agenti simpaticomimetici. Tuttavia gli effetti neurotossici della MA possono essere anche maggiori a ragione della sua emivita più lunga e dei suoi molteplici meccanismi d'azione (Fowler JS et al., 2008).

In modo del tutto simile alla cocaina, la MA blocca la ricattura (reuptake) della dopamina e delle altre catecolamine (Heller A et al., 2001), lasciandole più a lungo nella fessura sinaptica. Le metanfetamine però aumentano anche il rilascio della dopamina stessa e della norepinefrina (Rothman RB et al., 2001). Come la cocaina, anche la MA ha effetti vasocostrittori, e questo si evidenzia in un minore flusso sanguigno utero-placentale, e nella possibile ipossia fetale (Mayes LC et al., 2002; Stek AM et al., 1993).

Meccanismi  
d'azione

### 2. Rischi per il feto

La ricerca sugli effetti dell'esposizione prenatale alle MA sta lentamente emergendo attraverso alcuni studi prospettici longitudinali. I primi risultati mostrano dimensioni minori del neonato alla nascita (Chang et al., 2009) ed una crescita ridotta durante i primi 3 anni (Cloak C. et al., 2009). Inoltre, è stata osservata una compromissione delle abilità motorie generali e fini, ridotta capacità di prensione (grasping) fino ai 3 anni di età, minore attivazione psicofisiologica (arousal), più segni di stress nel periodo postnatale (Smith L.M. et al., 2001).

Alcuni studi indicano che l'uso di metanfetamina durante la gravidanza può causare complicazioni perinatali, aumentando le probabilità di parti prematuri, oppure alterando i modelli di comportamento neonatale, ad esempio manifestando riflessi insoliti ed estrema irritabilità. L'uso di metanfetamina durante la gravidanza può essere collegato anche a deformità congenite.

Comportamento e  
cognizione

In uno studio di Gouin e colleghi (Gouin K et al., 2011) il 33% dei neonati esposti in utero alla metanfetamina e alla cocaina, ha mostrato un peso minore alla nascita e la circonferenza della loro testa è risultata essere sotto il 10° percentile. Circa il 4% dei neonati di madri che hanno usato metanfetamina durante la gravidanza necessita di aiuto medico dopo il parto a causa di una sintomatologia di tipo astinenziale.

Sono stati riportati casi isolati di difetti cardiaci, labbro leporino e atresia biliare nei bambini con esposizione prenatale alle metanfetamine, ma tutti questi risultati sono difficili da interpretare a causa dei molteplici fattori confondenti. Dalle osservazioni ottenute risulta infatti che circa l'80% delle donne che utilizzano metanfetamine in gravidanza abusano anche di nicotina e alcol, altri due importanti agenti teratogeni.

Un recente studio ha dimostrato che i bambini esposti in utero alla metanfetamina ottengono punteggi più bassi in compiti di integrazione visuo-motoria, di attenzione, di memoria verbale e memoria visuo-spaziale rispetto ai controlli (Chang L. et al., 2004). Da studi preclinici si evince che anche a basse dosi, l'esposizione prenatale alla metanfetamina può alterare l'apprendimento e la memoria in età adulta (Williams M.T. et al., 2004).

### 3. Studi di Neuroimmagine

Le alterazioni nei volumi cerebrali associate all'esposizione prenatale alla MA risultano maggiori di quelle causate dall'esposizione prenatale all'alcol

Anche se il numero di ricerche che valutano l'impatto del consumo di metanfetamina sul feto durante la gravidanza è attualmente limitato, già da tempo studi preclinici su animali hanno evidenziato i suoi effetti neurotossici e un rimodellamento della morfologia sinaptica cerebrale in risposta all'esposizione prenatale (Weissman A.D., 1995).

Uno studio di Sowell E.R. e colleghi (2010) ha potuto mostrare che le strutture striatali e limbiche negli umani (aree molto esposte agli effetti neurotossici della MA), potrebbero essere maggiormente vulnerabili all'esposizione prenatale alle metanfetamine rispetto all'esposizione prenatale all'alcol. Gli autori hanno esaminato gli effetti dell'esposizione in gravidanza alle MA sul volume di alcune strutture cerebrali, utilizzando l'Imaging di Risonanza Magnetica in un gruppo di 61 bambini dai 5 ai 15 anni. 21 di questi soggetti erano stati esposti in gravidanza solo a MA, mentre del restante gruppo una parte aveva subito esposizione solo all'alcol, una parte a entrambi gli agenti teratogeni (la situazione più comune) ed una parte era composta da soggetti sani.

Rispetto ai bambini sani gli autori hanno notato una riduzione del volume di alcune regioni cerebrali in tutti i soggetti esposti in utero a ognuna delle due sostanze. In particolare le regioni striatali e talamiche bilateralmente, la corteccia prefrontale destra e quella occipitoparietale sinistra sono risultate essere le zone più interessate. Le riduzioni di volume nello striato erano più accentuate nel gruppo di bambini esposti in gravidanza alla MA rispetto a quelli esposti all'alcol, ed è stata trovata una correlazione negativa tra i punteggi ad un test d'intelligenza ed il volume del caudato, che potrebbe riflettere compromissione cognitiva causata da queste alterazioni. Le strutture limbiche, inclusa la corteccia del cingolo anteriore e posteriore, il giro frontale inferiore e la parte ventrale e laterale dei lobi temporali, presentavano un volume più grande in entrambi i gruppi esposti, rispetto ai controlli. Mediamente le alterazioni maggiori sono state riscontrate nel gruppo di bambini le cui madri avevano utilizzato in gravidanza sia la MA che l'alcol.

Figura 1 - Mappe statistiche che mostrano le differenze di volume locale tra il gruppo di controllo (CON), il gruppo con esposizione prenatale all'alcol (ALC) e quello con esposizione prenatale alle metanfetamine (MAA). Nei grafici sull'asse x sono rappresentati i tre gruppi (CON, ALC e MAA), sull'asse y è rappresentata la percentuale (dal 20 al 60 %) di crescita e di perdita tissutale nei punti anatomici d'interesse rispetto al template medio ricavato da 102 soggetti. I voxel colorati sono quelli in cui le differenze sono risultate statisticamente significative. Le posizioni anatomiche associate ad ogni grafico sono le seguenti: A, lobulo parietale superiore; B, C, corteccia calcarina; D, F, talamo; E, giro del cingolo medio; G, H, caudato; I, giro frontale posteriore inferiore; J, K, corteccia temporale fusiforme, L, sinistra; R, destra. Fonte: Sowell ER et al., 2010.

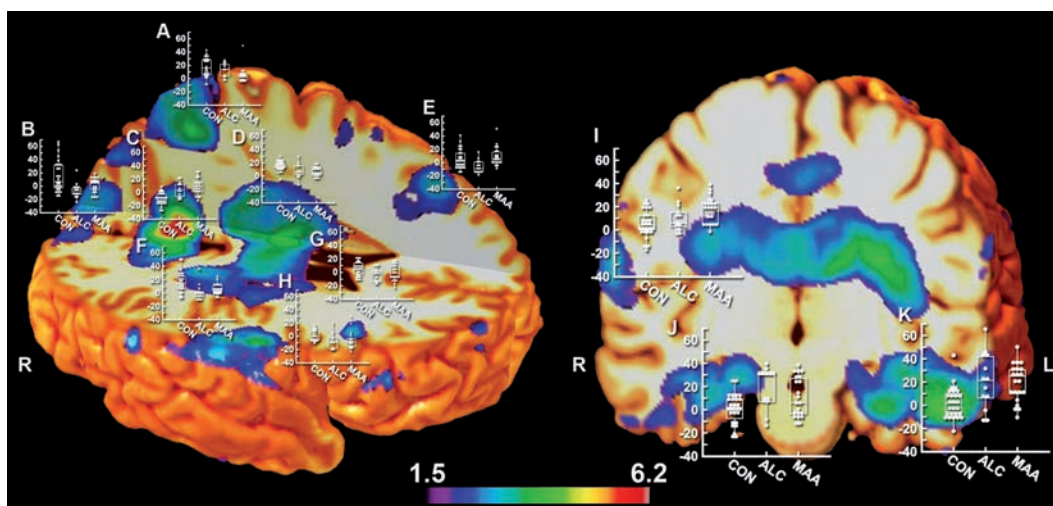
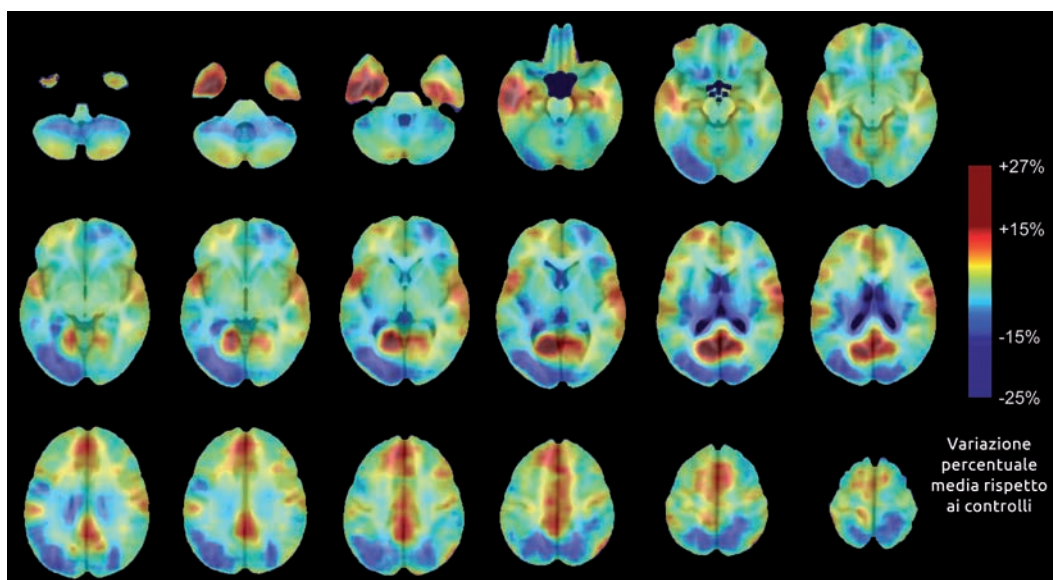


Figura 2 - Variazione percentuale media tra il gruppo esposto alla metanfetamina e il gruppo di controllo. Le mappe sono codificate a colori secondo la barra colorata sulla destra, in cui l'aumento di volume rispetto ai controlli è mostrato in rosso, la perdita di volume è mostrata in blu. Fonte: Sowell ER et al., 2010.



In uno studio pilota del 2004 Chang e colleghi (Chang L. et al., 2004) hanno voluto indagare i possibili effetti neurotossici dell'esposizione prenatale alla metanfetamina sulla maturazione del cervello e sullo sviluppo cognitivo. I ricercatori hanno misurato il volume cerebrale globale e regionale in 13 bambini esposti in gravidanza alla MA ed in un gruppo di

Volumi minori  
del Putamen e  
del Globo Pallido  
nei bambini con  
esposizione  
prenatale

15 soggetti di controllo sani di pari età con Risonanza Magnetica volumetrica. A tutti i bambini partecipanti sono stati inoltre effettuati test per valutare le capacità neurocognitive. Dal punto di vista comportamentale i bambini le cui madri avevano usato MA in gravidanza hanno ottenuto risultati peggiori nelle prove d'integrazione visuo-motoria, di attenzione, di memoria verbale e di memoria spaziale a lungo termine. I risultati della volumetria hanno evidenziato putamen e globo pallido più piccoli bilateralmente, oltre a volumi minori anche negli ippocampi e nel caudato bilaterale. In particolare la riduzione di volume in queste strutture cerebrali correlava con le basse performance nei compiti di attenzione sostenuta e di memoria verbale.

Figura 3 - Immagini assiali di Risonanza Magnetica che mostrano fette rappresentative delle regioni d'interesse esaminate (ROIs): caudato (giallo), putamen (rosa), globo pallido (verde), talamo (blu), ippocampo (magenta), mesencefalo (porpora), cervelletto (pesca). Fonte: Chang L. et al., 2004.

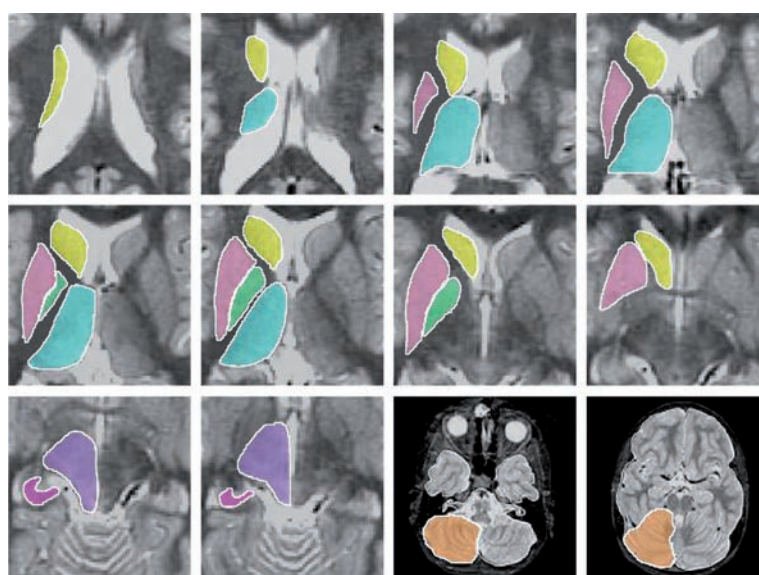
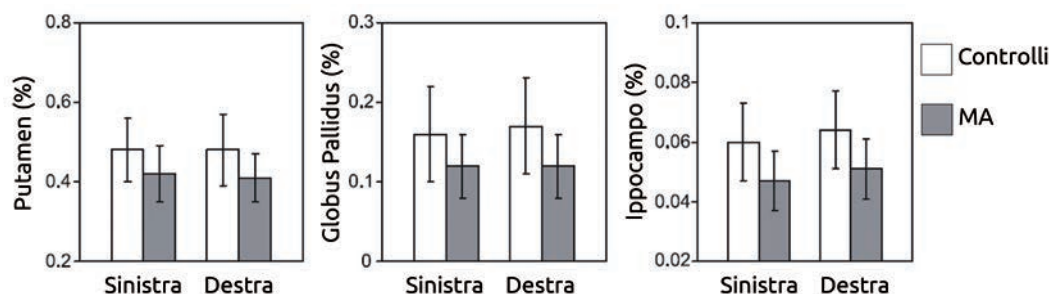


Figura 4 - Grafici a barre che mostrano i volumi cerebrali relativi (% relativa all'intero cervello) per il putamen sinistro e destro, il globo pallido e l'ippocampo di bambini non esposti (controlli, barre bianche) ed esposti alla metanfetamina (MA, barre nere). Fonte: Chang L. et al., 2004.

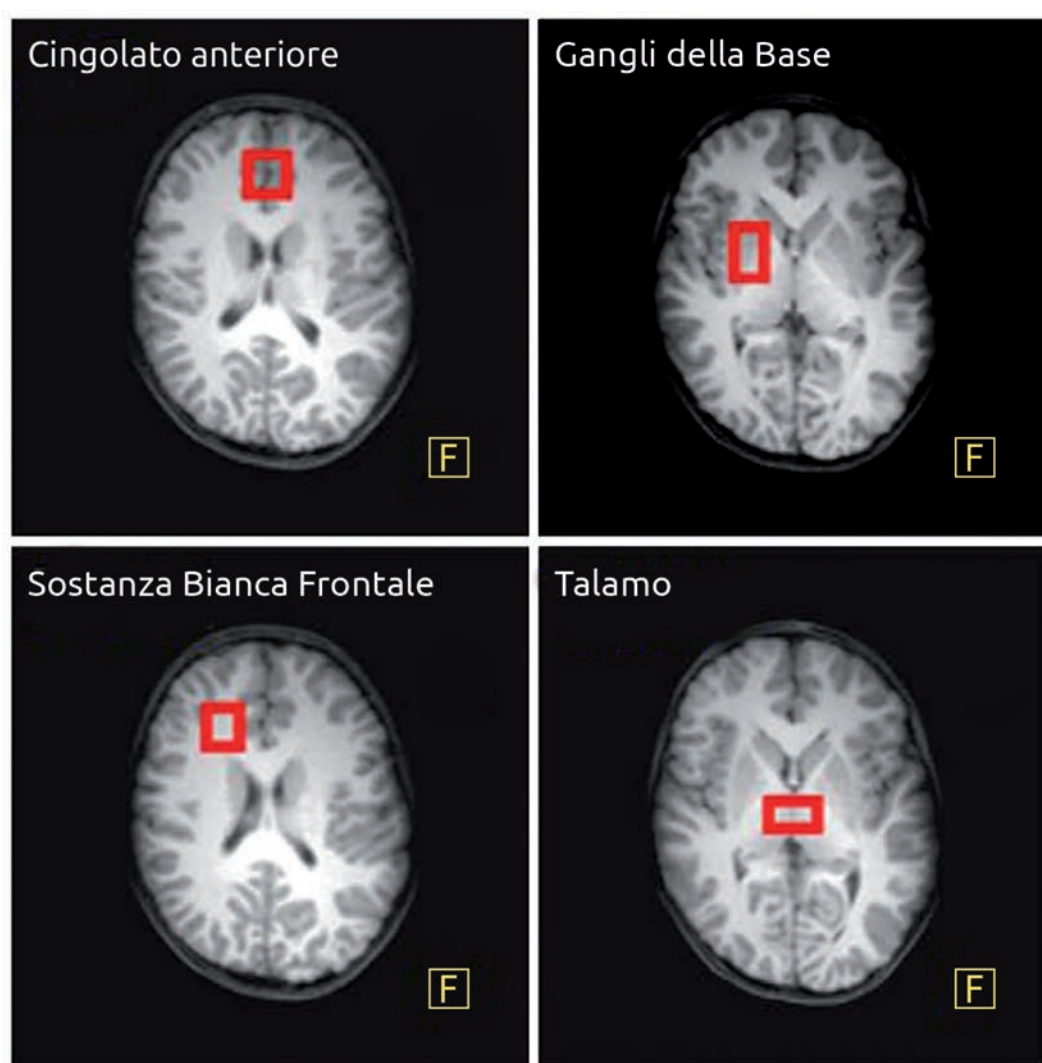


In uno studio più recente (2009), il gruppo di Chang ha sottoposto a spettroscopia di Risonanza Magnetica (MRS) 101 bambini di età compresa tra i 3 e i 4 anni, le cui madri avevano utilizzato MA durante la gravidanza. Di questo gruppo, 49 soggetti hanno effettuato anche test neuropsicologici e sono stati confrontati con 49 controlli sani di pari età, caratteristiche fisiche, cognitive e status socio-economico. Nei bambini con esposizione prenatale gli



autori hanno misurato livelli totali più alti di Creatina (tCr), di composti N-acetilici (NA), e di glutammato+glutamina (GLX) nella sostanza bianca frontale. I livelli di mioinositolo (MI) nel talamo erano invece più bassi nei bambini esposti rispetto ai controlli e, questo valore, correlava con le loro peggiori prestazioni nei compiti neurocognitivi d'integrazione visuo-motoria. I maggiori indici di tCr, NA, GLX nei bambini esposti alla MA in utero suggeriscono una maggiore densità neurale o compattezza cellulare nella sostanza bianca, mentre i più bassi livelli di MI indicano una minore densità gliale nel talamo di questi bambini. Secondo gli autori, questi dati suggeriscono uno sviluppo neuronale e gliale accelerato in alcune regioni, che devierebbe dai normali percorsi maturativi.

Figura 5 - Immagini assiali di Risonanza Magnetica che mostrano i 4 voxel in cui sono state effettuate le misurazioni: Cingolato Anteriore, Sostanza Bianca Frontale, Gangli della Base. Fonte: Chang L. et al., 2009.



Case-report di un bambino esposto in utero a droghe, tra cui oppiacei

Figura 6 - Uno spettro rappresentativo di spettroscopia di Risonanza Magnetica Spettroscopica (MRS) dalla sostanza bianca frontale, che mostra picchi ben definiti per ognuno dei metaboliti cerebrali che sono stati misurati (NA=N-acetilaspato; GLX=glutammato+glutamina; Glu=glutammato; tCr=Creatina totale; CHO=composti contenenti colina; Mi=mioinositolo). Fonte: Chang L. et al., 2009.

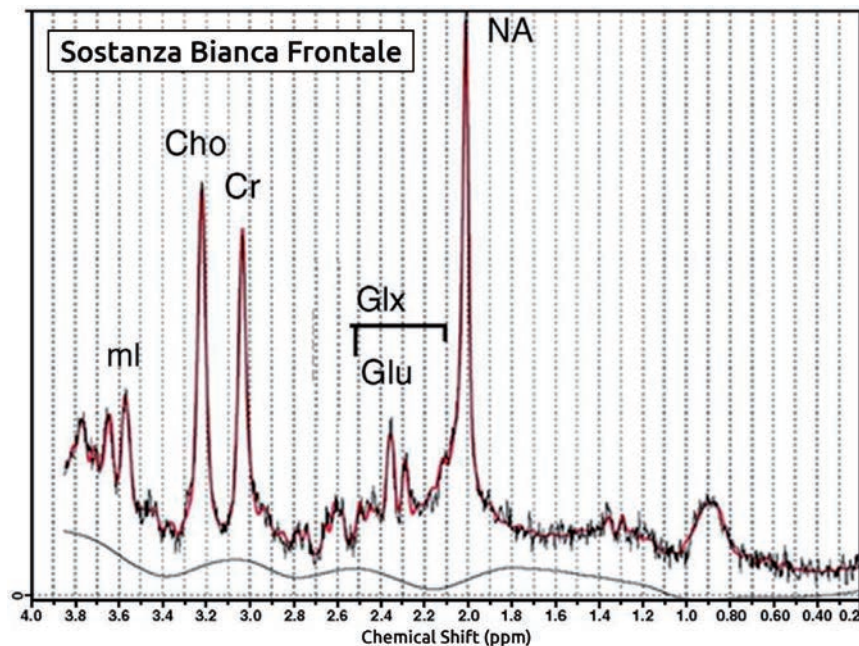
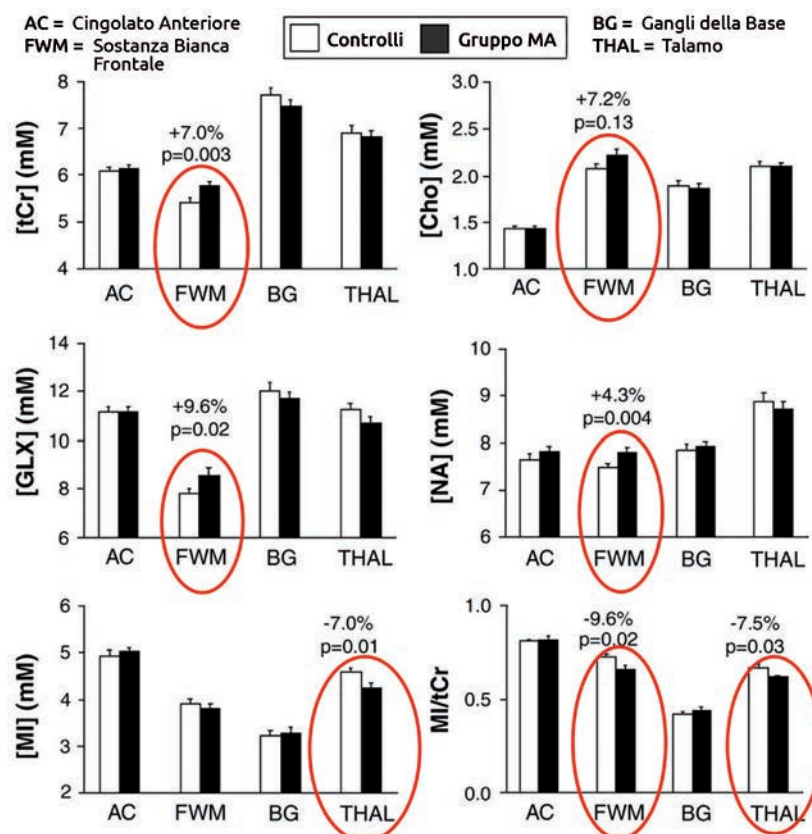


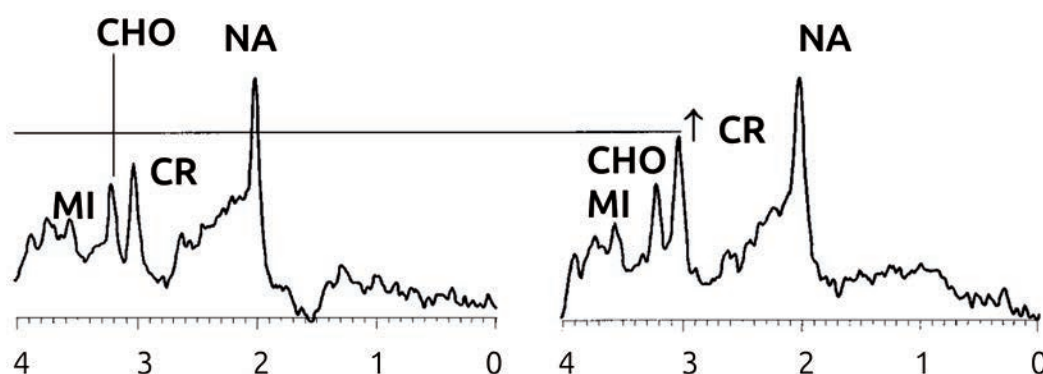
Figura 7 - Grafico a barre che mostra le concentrazioni dei metaboliti in quattro regioni cerebrali (vedi anche Figura 5). Nei bambini esposti in gravidanza alla MA (barre nere) sono stati trovati livelli significativamente più alti di Creatina totale (tCr), N-acetilaspato (NA), glutammato+glutamina (GLX) nella sostanza bianca frontale e concentrazioni minori di mioinositolo (MI) nel talamo, rispetto ai controlli sani (barre bianche). Fonte: Chang L. et al., 2009.



In uno studio del 2001 (Smith LM et al., 2001) Smith e colleghi avevano utilizzato la stessa tecnica di  $^1\text{H}$ -MRS su 12 bambini con esposizione prenatale alla MA (età  $8,1 \pm 0,8$  anni) e su 14 controlli sani di pari età. Gli autori hanno misurato i metaboliti cerebrali nella sostanza bianca frontale e nello striato, ricavando sostanzialmente un risultato analogo allo studio di Chang del 2009 per quel che riguarda la maggior quantità di creatina totale (tCR) nel corpo striato. Secondo gli autori questi risultati suggeriscono un'anomalia nel metabolismo cerebrale dei bambini che erano stati esposti alla MA in gravidanza.

Metabolismo cerebrale alterato nei bambini esposti a MA in gravidanza

**Figura 8 - Spettro rappresentativo di Risonanza Magnetica Spettroscopica (MRS) dalla regione dei gangli della base a destra di un soggetto esposto in gravidanza alla metanfetamina (destra) e di un soggetto non esposto (sinistra). Il soggetto esposto mostra un incremento nella quantità di creatina (CR) rispetto al soggetto di controllo. Fonte: Smith LM et al., 2001.**



Cloak e colleghi (2009) hanno effettuato uno studio di Imaging con Tensore di Diffusione (DTI) per indagare i possibili cambiamenti microstrutturali associati all'esposizione prenatale alla metanfetamina. Gli autori hanno determinato l'indice di Anisotropia Frazionaria (FA) ed il Coefficiente Apparente di Diffusione (ADC) nel ginocchio e nello splenio del corpo calloso bilateralmente, nei fasci di sostanza bianca frontale e parietale, nei gangli della base (caudato, putamen e globo pallido) e nel talamo di un campione di 29 bambini di 3-4 anni esposti alla MA in utero. Il gruppo di controllo era composto da 37 bambini non esposti alla MA in gravidanza di pari età. Questo campione ha mostrato un coefficiente apparente di diffusione più basso rispetto ai controlli sani, nella sostanza bianca frontale (destra: -2,1%; sinistra: -2,0%) e parietale (destra: -3,9%; sinistra: -3,3%), e un indice di FA maggiore nella sostanza bianca frontale sinistra (+4,9%). Questi dati possono riflettere, secondo gli autori, una struttura assonale più compatta o una più alta densità di dendriti o spine dendritiche ma, in tutti i casi, suggeriscono un'alterazione nella maturazione della sostanza bianca dei bambini esposti alla metanfetamina rispetto ai normali percorsi di sviluppo cerebrale.

Indici più alti di Anisotropia Frazionaria (FA) nei bambini esposti a MA durante la gravidanza riflettono uno sviluppo anomalo della sostanza bianca

Figura 9 - Mappe di Anisotropia Frazionaria delle sette regioni cerebrali d'interesse. Talamo (E), globo pallido (F), putamen (G), caudato (H), regioni di sostanza bianca frontale (C) e parietale (D) sono illustrate bilateralmente, mentre del corpo calloso sono indicati lo splenio (A) ed il ginocchio (B). Fonte: Cloak CC et al., 2009.

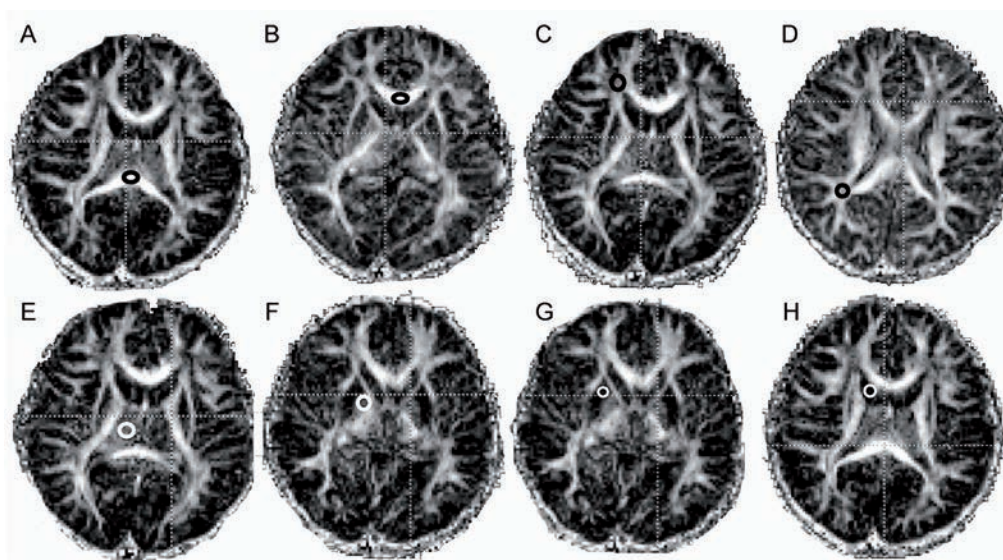
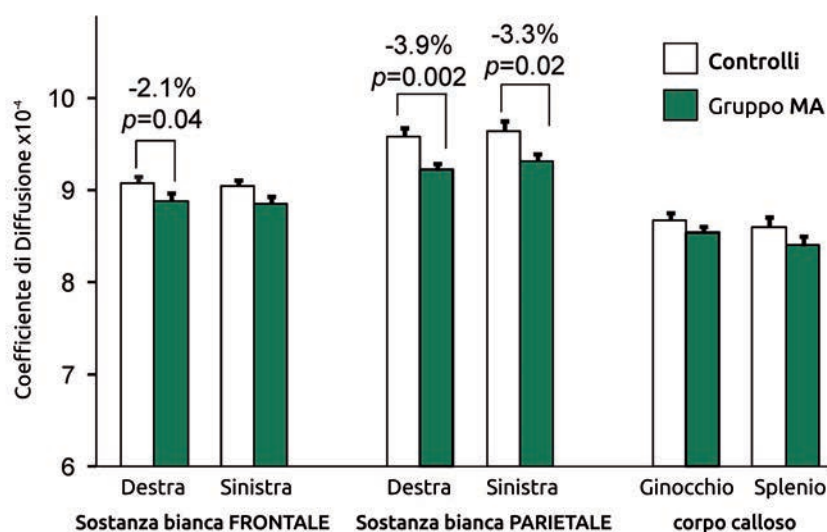


Figura 10 - Minore diffusione delle molecole d'acqua nella sostanza bianca nei bambini con esposizione prenatale alla MA. Fonte: Cloak CC et al., 2009.



## 4. Conclusioni

Gli effetti che derivano dall'esposizione prenatale alla metanfetamina e ai suoi derivati sulla salute del bambino sono ancora poco conosciuti. Tuttavia, stanno iniziando a delinearsi risultati significativi, grazie anche all'ausilio delle neuroimmagini, che mostrano i danni prodotti sul Sistema Nervoso Centrale del feto, sul suo sviluppo cognitivo e sulla sua regolazione comportamentale ed emotiva. Le ricerche che utilizzano tecniche di neuroimaging mostrano deficit strutturali nel cervello di bambini esposti alla MA in gravidanza, in



particolar modo ridotti volumi cerebrali che correlano con punteggi più bassi, rispetto ai controlli, in compiti neurocognitivi. Risultano evidenti anche alterazioni significative nelle concentrazioni dei principali metaboliti cerebrali che rappresentano, secondo gli autori, la prova di una marcata deviazione dal processo maturativo normale.

## Bibliografia

1. Billing L., Eriksson M., Jonsson B., The influence of environmental factors on behavioural problems in 8-year-old children exposed to amphetamine during fetal life. *Child Abuse Negl* (1994) 18 : pp 3-9.
2. Chang L. et al.; Altered neurometabolites and motor integration in children exposed to methamphetamine in utero *NeuroImage* 48 (2009) 391–397
3. Chang L. et al.; Smaller subcortical volumes and cognitive deficits in children with prenatal methamphetamine exposure. *Psychiatry Research: Neuroimaging* 132 (2004) 95–106
4. Chang L., Smith L.M., Lopresti C., Smaller subcortical volumes and cognitive deficits in children with prenatal methamphetamine exposure. *Psychiatry Res* (2004) 132 : pp 95-106.
5. Cloak C. et al.; 2009. Lower diffusion in white matter of children with prenatal methamphetamine exposure
6. Eriksson M., Billing L., Stenroth G., Health and development of 8-year-old children whose mothers abused amphetamine during pregnancy. *Acta Paediatr Scand* (1989) 78 : pp 944-949.
7. Fowler JS, Volkow ND, Logan J, et al. Fast uptake and long-lasting binding of ethamphetamine in the human brain: comparison with cocaine. *Neuroimage*. 2008;43(4):756–763
8. Heller A, Bubula N, Freeney A, Won L. Elevation of fetal dopamine following exposure to methamphetamine in utero. *Brain Res Dev Brain Res*. 2001;130(1):139–142
9. Mayes LC. A behavioral teratogenic model of the impact of prenatal cocaine exposure on arousal regulatory systems. *Neurotoxicol Teratol*. 2002;24(3):385–395
10. Rothman RB, Baumann MH, Dersch CM, et al. Amphetamine-type central nervous system stimulants release norepinephrine more potently than they release dopamine and serotonin. *Synapse*. 2001;39(1):32–41
11. Smith L.M., et al. 2001 Brain proton magnetic resonance spectroscopy in children exposed to methamphetamine in utero. *NEUROLOGY* 2001;57:255–260
12. Smith LM, LaGasse LL, Derauf C, et al. Motor and cognitive outcomes through three years of age in children exposed to prenatal methamphetamine. *Neurotoxicol Teratol*. 2011;33(1):176–184
13. Sowell et al. Differentiating Prenatal Exposure to Methamphetamine and Alcohol versus Alcohol and Not Methamphetamine using Tensor-Based Brain Morphometry and Discriminant Analysis; *J. Neurosci.*, March 17, 2010 30(11):3876–3885
14. Stek AM, Fisher BK, Baker RS, Lang U, Tseng CY, Clark KE. Maternal and fetal cardiovascular responses to methamphetamine in the pregnant sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;169(4):888–897
15. Substance Abuse and Mental Health Services Administration. Treatment Episode Data Set (TEDS). 1999 - 2009. National Admissions to Substance Abuse Treatment Services, DASIS Series: S-56, HHS Publication No. (SMA) 11-4646. Rockville, MD: Substance Abuse and Mental Health Services Administration; 2011
16. United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report, Analysis. Vol. 1. Vienna, Austria: United Nations Publication; 2011
17. Weissman A.D., Caldecott-Hazard S., Developmental neurotoxicity to methamphetamines. *Clin Exp Pharmacol Physiol* (1995) 22 : pp 372-374.
18. Williams M.T., Moran M.S., Vorhees C.V., Behavioral and growth effects induced by low dose methamphetamine administration during the neonatal period in rats. *Int J Dev Neurosci* (2004) 22 : pp 273-283.
19. Zabaneh R, Smith LM, LaGasse LL, et al. The effects of prenatal methamphetamine exposure on childhood growth patterns from birth to three years of age [published ahead of print on August 4, 2011]. *Am J Perinatol*. doi:10.1055/s-0031-1285094.





## 2.4.2 Evidenze delle alterazioni cerebrali in consumatori adolescenti di metanfetamina e suoi derivati

Giuseppe Cuoghi<sup>1</sup>, Franco Alessandrini<sup>2</sup>, Giada Zoccatelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona

<sup>2</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

### 1. Introduzione

La metanfetamina (MA) ed i suoi derivati (Ecstasy) sono tra le droghe che hanno avuto più rapida diffusione a livello mondiale negli ultimi anni, dal momento che costano relativamente poco e possono essere prodotte in casa con materiali legali e facilmente reperibili. Gli effetti di queste sostanze sulla prestanza fisica e sull'attenzione, così come la loro capacità di sopprimere l'appetito, provocando un calo ponderale, risultano particolarmente attraenti per gli adolescenti e per i giovani adulti (Iritani B. et al. 2007). Secondo l'ultimo rapporto UNODC (2011), stimolanti come anfetamine, metanfetamine ed ecstasy (3,4-methylenedioxymethamphetamine, MDMA), sono le seconde sostanze stupefacenti più usate nel mondo dopo la cannabis. I dati relativi ai sequestri e la scoperta di laboratori clandestini mostrano un settore in rapida crescita mentre per eroina, cocaina e cannabis gli stessi indicatori sono sostanzialmente stabili. La produzione e l'uso di queste sostanze è una questione globale; in Europa molti Stati hanno segnalato l'aumento dell'uso e della produzione di metanfetamine, in Africa occidentale sono stati scoperti numerosi laboratori clandestini, nel Sud-Est asiatico il numero di laboratori chiusi è salito da 288 nel 2008 a 458 nel 2009 ed il numero di pillole di metanfetamina sequestrate nella stessa area è balzato dai 32 milioni nel 2008 a 133 milioni nel 2010. Negli Stati Uniti il 6,2% degli studenti delle scuole superiori ne dichiara un uso più o meno frequente (Reneman L. et al., 2001; 2006). In Italia, il consumo di metanfetamine, comunque inferiore ai consumi di cocaina e cannabis, evidenzia un aumento crescente dal 2005 al 2010 ed il maggior consumo si registra tra gli studenti diciannovenni (Relazione annuale al Parlamento 2011). Gli adolescenti che utilizzano metanfetamine ed ecstasy corrono il rischio di andare incontro soprattutto a sintomi di psicosi (McKetin R. et al., 2006; King G. et al., 2010) e mostrano prestazioni deficitarie nei test per le funzioni esecutive. Tuttavia, si sa ancora relativamente poco sugli effetti della metanfetamina sul cervello in via di sviluppo di ragazzi e adolescenti, anche se dai dati disponibili emergono marcate alterazioni sia strutturali che funzionali. Di seguito se ne riportano i principali studi.

### 2. Alterazioni cerebrali derivanti dal consumo di metanfetamine

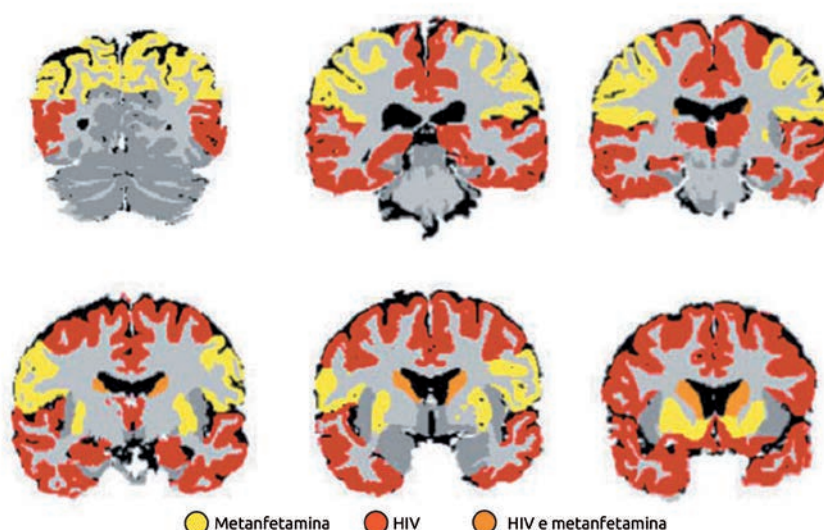
Jernigan e colleghi hanno individuato alterazioni cerebrali nei soggetti dipendenti da MA simili a quelle riscontrate nei pazienti affetti da HIV. I ricercatori hanno effettuato uno studio di risonanza magnetica morfometrica su un gruppo di 21 giovani utilizzatori di MA di età compresa tra i 20 ed i 30 anni. Il primo dei tre gruppi era costituito da 30 soggetti sani,

Alterazioni  
nel cervello  
di adolescenti  
dipendenti da  
MA simili a quelle  
riscontrate nei  
soggetti con HIV

il secondo gruppo da 30 soggetti positivi all'HIV ed il terzo da 22 soggetti sieropositivi e dipendenti da metanfetamine. Tutti i gruppi erano confrontabili per età, genere ed educazione (Jernigan T. et al., 2005).

La dipendenza da metanfetamina era associata con volumi maggiori dei gangli della base e della corteccia parietale e, in particolare, gli autori hanno potuto riscontrare che questi soggetti possedevano un nucleus accumbens di dimensioni simili a quello di bambini sani di non più di 10-15 anni. Dal momento che questi pazienti avevano iniziato ad usare regolarmente MA durante la prima adolescenza, essa potrebbe aver alterato i normali processi evolutivi causando demielinizzazione e perdita di volume nelle strutture striatali (Sowell E et al., 2002).

Figura 1 - Variazioni di volume cerebrale associate all'uso di MA, all'HIV e ad entrambe le condizioni. Fonte: Jernigan T et al., 2005.



Studi longitudinali su adolescenti confermano minore spessore corticale associato all'uso di MA

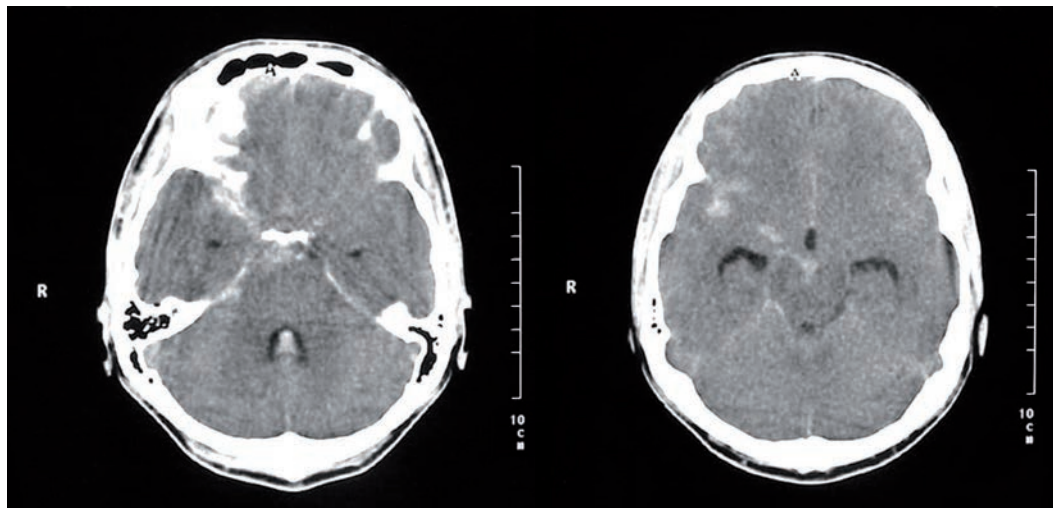
Secondo Renshaw e colleghi l'esposizione alla MA in adolescenza potrebbe compromettere i normali processi maturativi ed il pruning soprattutto nelle zone della corteccia prefrontale, in relazione ai tempi di esposizione alla sostanza. Una conferma di questa neurotossicità indotta dalle metanfetamine sul cervello in via di sviluppo proviene dai dati preliminari di uno studio longitudinale effettuato con risonanza magnetica su un gruppo di giovani adolescenti (13-18 anni) che utilizzano MA (Renshaw P et al., 2008). I primi risultati suggeriscono infatti che gli adolescenti che utilizzano MA presentano uno spessore della sostanza grigia prefrontale ridotto rispetto ai controlli sani e che questo deficit è inversamente correlato con l'età di inizio.

Associazione tra ingestione di ecstasy e ictus emorragico

L'associazione tra l'ingestione di anfetamine ed emorragia intracranica è stata riconosciuta già da tempo: risale infatti al 1945 il primo caso riportato in letteratura. In un recente studio su caso singolo Auer J. e colleghi (2002) riferiscono il caso di un ragazzo di 18 anni con una storia di uso di ecstasy, un'anfetamina di derivazione sintetica. Dopo poche ore dall'assunzione della sostanza, il paziente ha manifestato un forte mal di testa nella zona occipitale con comparsa di convulsioni. L'esame di Tomografia Assiale Computerizzata (TAC) ha rivelato emorragia subaracnoidea destra (ESA) con penetrazione del sangue all'interno del quarto ventricolo (emoventricolo). Secondo gli autori, l'assunzione di ecstasy tra gli adole-

scenti dovrebbe essere considerata tra i principali fattori di rischio di ictus emorragico e di sofferenza neurologica (Auer J et al., 2002).

Figura 2 - Immagini di Tomografia Assiale Computerizzata (TAC) rivelano i danni causati dall'emorragia cerebrale conseguente all'uso di Ecstasy. Fonte: Auer J et al, 2002.

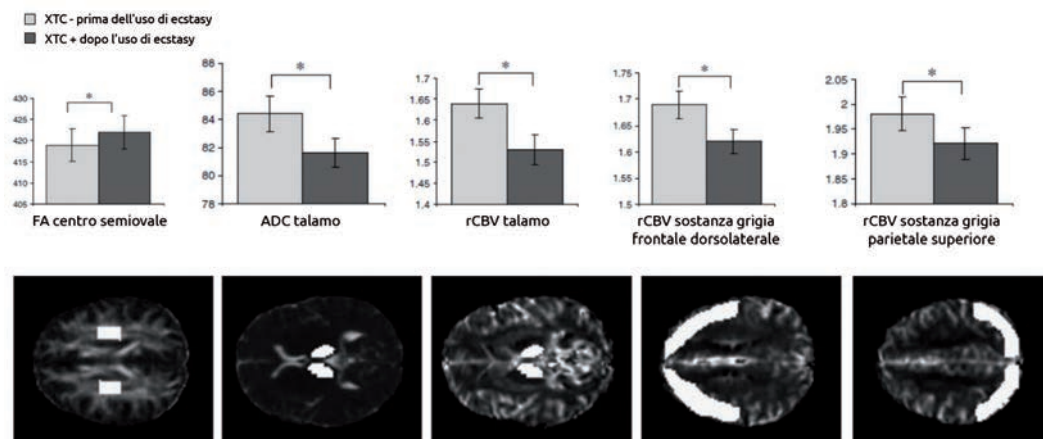


In una ricerca longitudinale effettuata in Olanda (de Win ML et al., 2008) sono state effettuate varie sequenze di Risonanza Magnetica su un campione di 188 adolescenti che non avevano mai fatto uso di ecstasy (età media  $21,7 \pm 3,0$ ). Nel follow-up dopo 12 e 24 mesi sono stati eseguiti nuovamente gli esami di neuroimmagine e le valutazioni tossicologiche ai ragazzi, una parte dei quali, nel frattempo, aveva iniziato ad usare ecstasy. Nel gruppo dei nuovi utilizzatori è stato osservato, rispetto ai soggetti non utilizzatori, un piccolo ma significativo decremento dell'Anisotropia Frazionaria (FA), una misura che riflette l'organizzazione direzionale microtessutale e che è di particolare utilità nel quantificare eventuali danni a carico di strutture ben direzionate all'interno della sostanza bianca. In presenza di danno patologico, la FA diminuirà proporzionalmente alla perdita di direzionalità delle strutture cerebrali ben organizzate (fisiologicamente dotate di elevata direzionalità e quindi di elevati valori di FA; Costa A, 2009). Le regioni maggiormente segnate in questo studio erano il talamo e la sostanza bianca frontoparietale. Sono state riscontrate, inoltre, una diminuzione nel volume cerebrale regionale relativo nel globo pallido e nel putamen ed un significativo aumento del coefficiente apparente di diffusione (ADC) nel talamo (l'ADC aumenta proporzionalmente alla perdita di integrità tissutale).

I risultati di questo studio suggeriscono che anche uno scarso consumo di ecstasy (alcuni adolescenti con rilevata compromissione ne avevano consumata una sola pastiglia), può avere effetti neurotossici prolungati sul cervello. La diminuzione dell'indice di FA e l'aumento di ADC nel talamo potrebbero riflettere, secondo gli autori, un danno assonale indotto direttamente dall'assunzione di ecstasy. In particolare, il significativo decremento di FA a livello della sostanza bianca fronto-parietale potrebbe essere significativo di una maturazione anomala di questo circuito, iposviluppato a causa della sostanza.

Danni  
microstrutturali  
alla sostanza bianca  
associati all'uso di  
ecstasy

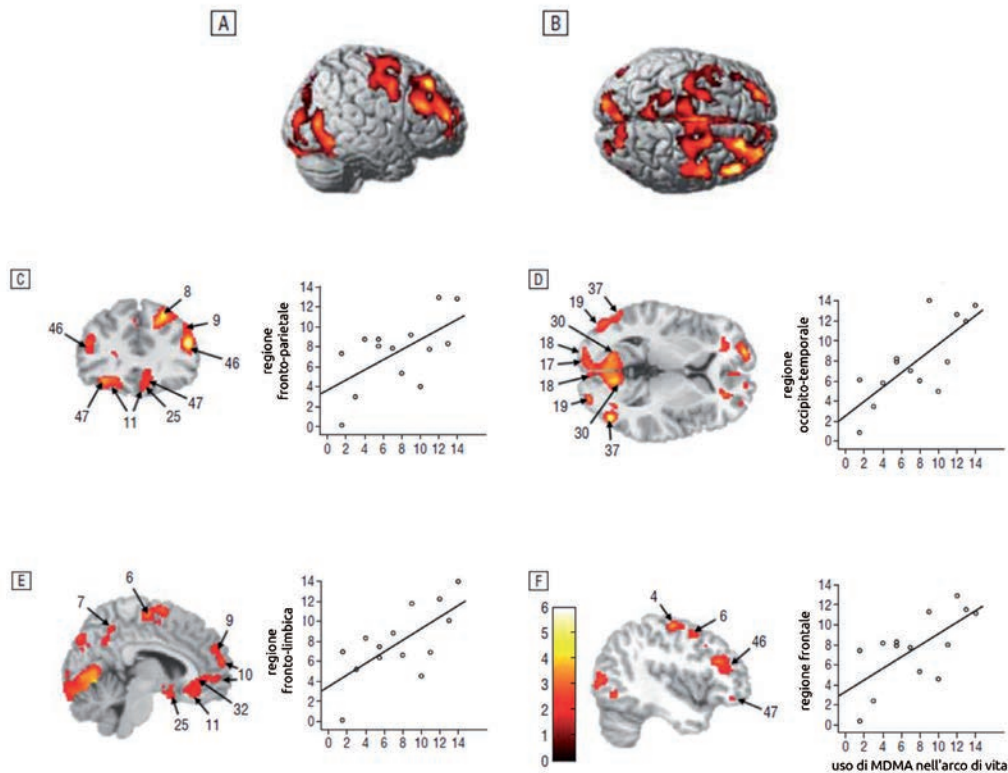
Figura 3 - Sopra. Le colonne rappresentano i corrispondenti valori di Anisotropia Frazionaria (FA) nei centri semiovali, i valori del Coefficiente Apparente di Diffusione (ADC) nel talamo e del volume ematico cerebrale relativo (rCBV) nel talamo, nella sostanza grigia frontale dorsolaterale e nel giro parietale superiore alla baseline prima dell'uso di ecstasy (XTC-) e nel follow-up dopo l'utilizzo di ecstasy (XTC+). Sotto. Le regioni cerebrali corrispondenti alle misurazioni. Segnate in bianco sono le zone che differiscono significativamente nei valori dalla baseline al follow-up. Fonte: de Win ML et al., 2008.



Evidenze di una maggiore densità di recettori per la serotonina in ragazze adolescenti utilizzatrici di MDMA

Un campione di 15 ragazze (18-25 anni) utilizzatrici di MDMA è stato sottoposto ad una scansione PET, al fine di determinare lo stato dei recettori per la serotonina nella corteccia cerebrale (Di Iorio C.R. et al. 2011). In particolare, gli autori hanno voluto indagare se l'uso di ecstasy fosse associato a riduzione cronica nella trasmissione di serotonina che si riflette nell'aumento del numero di recettori 2A per la serotonina. Il gruppo di controllo era costituito da 10 ragazze di pari età ( $21,6 \pm 1,78$  anni) che non avevano mai fatto uso di ecstasy. Le ragazze che utilizzavano MDMA hanno mostrato un aumento recettoriale nelle regioni occipitoparietali, occipito-temporo-parietali, frontali e frontoparietali. Anche l'uso occasionale di MDMA è risultato positivamente associato al numero di recettori 2A per la serotonina nelle regioni frontoparietali, occipitotemporali, frontolimbiche e frontali. L'uso ricreazionale di MDMA ha dunque come risultato un aumento duraturo nella densità dei recettori per la serotonina. Il livello del numero di questi recettori correla positivamente con l'età di primo contatto della sostanza, e non diminuisce con l'astinenza.

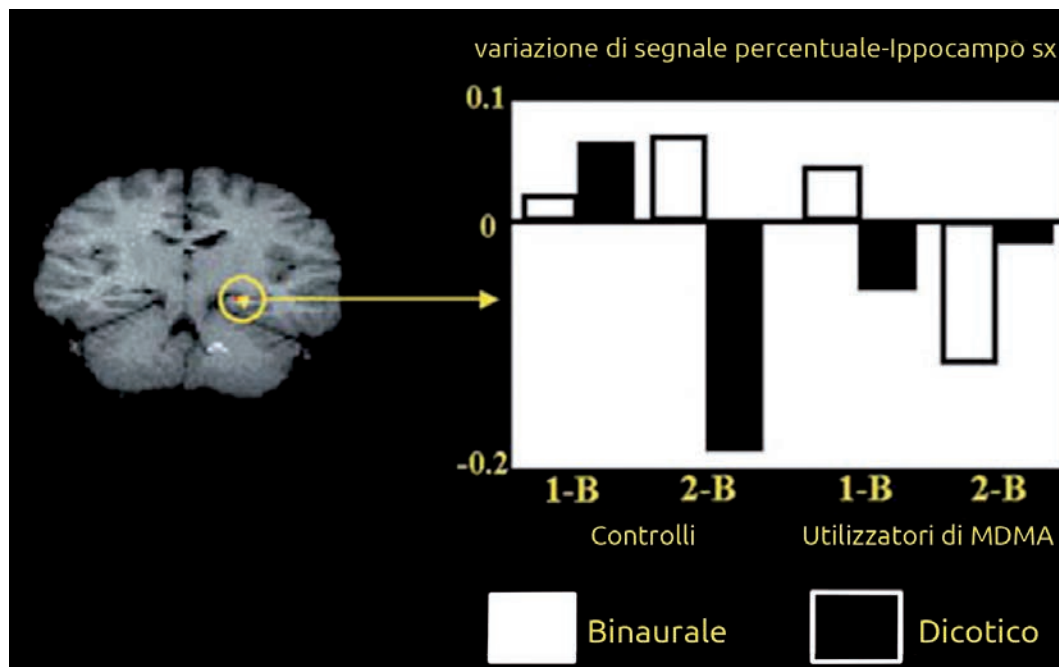
Figura 4 - Regioni dell'emisfero destro (A) e bilaterali superiori (B) in cui l'uso lifetime di MDMA correla positivamente con la disponibilità recettoriale (serotonin2ABPND) nel gruppo di utilizzatrici di MDMA, dopo aver aggiustato i dati per le possibili variabili confondenti. (C-F) le aree di Broadmann sono evidenziate su sezioni cerebrali e su grafico di dispersione che mostra la correlazione dell'uso lifetime di ecstasy e dei recettori serotonin2ABPND. La scala a colori indica i valori t per i voxel significativi nell'analisi di regressione. Fonte: Di Iorio CR et al., 2011.



Jacobsen e colleghi hanno testato le funzioni cognitive in 6 adolescenti con storia di uso di ecstasy (età media  $17,3 \pm 1,1$  anni), utilizzando compiti per l'attenzione e per la memoria di lavoro verbale e visiva (Jacobsen et al., 2004). Il gruppo di controllo era costituito da 6 adolescenti di pari età ( $17,1 \pm 1,1$ ) che non avevano mai fatto uso di MDMA. Dopo la somministrazione dei test per l'attenzione sostenuta (Continuous Performance Test – CPT) e per l'attenzione selettiva e divisa (mediante compiti di riconoscimento di parole), i ricercatori hanno sottoposto i soggetti ad una scansione di risonanza magnetica funzionale mentre eseguivano un compito di memoria di lavoro. I ricercatori hanno misurato, negli adolescenti con storia di ecstasy, tempi di reazione significativamente maggiori nei test di attenzione selettiva e condivisa rispetto ai controlli. Inoltre, gli adolescenti del gruppo MDMA falliscono nel deattivare in modo adeguato l'ippocampo sinistro durante compiti con alti carichi di memoria di lavoro verbale suggerendo, secondo gli autori, che l'uso di questa droga in adolescenza potrebbe essere associato a compromissione cognitiva e malfunzionamento dei network inibitori delle regioni ippocampali.

Deficit nei circuiti inibitori che regolano la memoria di lavoro in adolescenti con storia di MDMA

Figura 5 - (Sinistra) I risultati dell'ANOVA voxel by voxel che mostrano un'interazione significativa tra l'uso di MDMA, il carico di memoria di lavoro ed il carico di attenzione selettiva nell'ippocampo sinistro utilizzando una soglia di significatività  $P \leq 0,01$ . La parte sinistra del cervello è rappresentata a destra. (Destra) Grafico a barre che mostra la variazione di segnale media della regione cerchiata, dell'ippocampo sinistro definita funzionalmente, associata con ogni condizione del compito di memoria di lavoro per gli utilizzatori di MDMA e per i controlli. 1-B=oneback, 2-B=two-back. Fonte: Jacobsen LK et al., 2004.



Alterazioni nelle concentrazioni dei metaboliti cerebrali associabili all'uso di MA in adolescenza

In uno studio del 2011 Cloak e colleghi (Cloak C.C. et al., 2011) hanno studiato, utilizzando la spettroscopia di Risonanza Magnetica (RMS), la corteccia cingolata anteriore (ACC), la sostanza bianca frontale (FWM), i gangli della base ed il talamo, in un gruppo di 54 adolescenti che utilizzavano metanfetamina (MA) di età compresa tra i 13 ed i 23 anni ed in 53 soggetti di controllo di pari età e scolarità. Nei soggetti sono state misurate le concentrazioni dei principali metaboliti cerebrali e la loro associazione con l'età, il sesso e con i risultati ad una batteria di test cognitivi. I ricercatori hanno rilevato che alti livelli di composti contenenti colina (CHO) nella corteccia cingolata anteriore (ACC) dei controlli erano associati con le migliori performance al test di Stroop. I soggetti maschi con storia di metanfetamina presentavano risultati peggiori nelle capacità inibitorie al test di Stroop, insieme a livelli di CHO nell'ACC non adeguati all'età. Dal punto di vista comportamentale, i maschi che utilizzavano metanfetamina hanno mostrato funzioni esecutive mediamente deficitarie rispetto ai controlli, un dato che, secondo gli autori, unito ai valori metabolici alterati, potrebbe significare un'interferenza della sostanza nella normale maturazione cerebrale.



Figura 6 - Immagini di Risonanza magnetica rappresentative (alto) e spettro di risonanza (basso) di un ragazzo di 13 anni utilizzatore di metanfetamine. Le regioni di interesse e gli spettri rappresentativi sono mostrati nella corteccia cingolata anteriore (ACC), nella sostanza bianca frontale (FWM), nel talamo e nei gangli della base. I metaboliti d'interesse sono mio-inositolo (ml), composti contenenti colina (Cho), creatina totale (tCr), glutammato + glutamina (GLX) e composti N-acetilici (NA). Fonte: Cloak C et al., 2011.

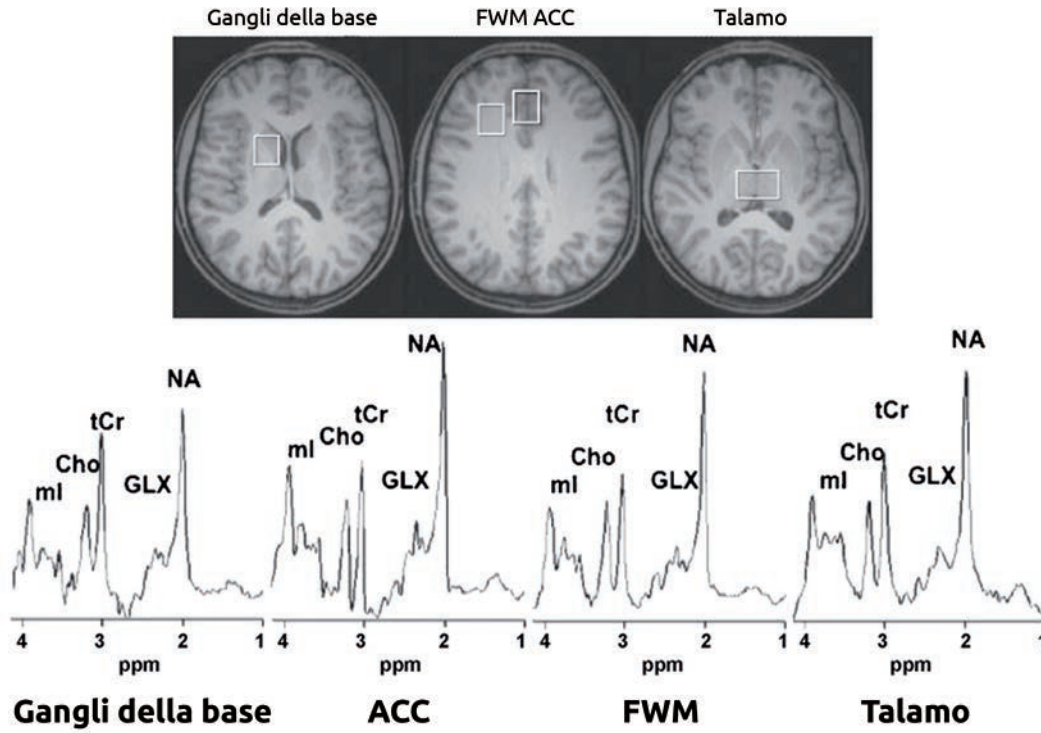
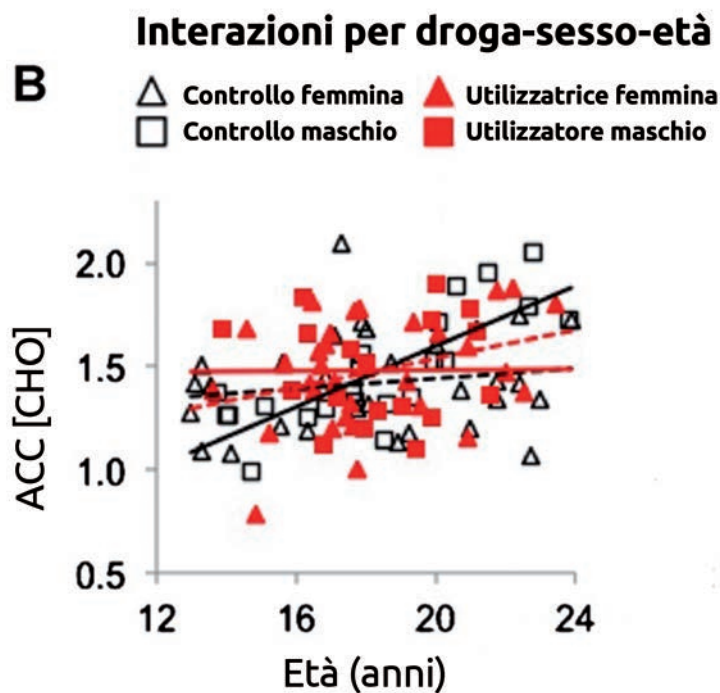


Figura 7 - I metaboliti cerebrali correlano con la misura delle funzioni esecutive nei soggetti di controllo maschi. I tempi di risposta più veloci al test di stroop sono associati con concentrazioni maggiori di CHO nell'ACC solo nei soggetti maschi. Fonte: Cloak C et al., 2011.



Indici più alti di Anisotropia Frazionaria (FA) nei bambini esposti durante la gravidanza riflettono uno sviluppo anomalo della sostanza bianca

## Conclusioni

Nonostante il limitato numero di ricerche che riguardano le conseguenze dell'uso della metanfetamina e dei suoi derivati sul cervello in piena maturazione degli adolescenti, quelle effettuate mostrano alterazioni persistenti che influiscono sul normale sviluppo cerebrale. Le metanfetamine, di facile produzione in laboratori casalinghi, ma ancora più il suo derivato principale, l'ecstasy, sono droghe che stanno avendo una notevole diffusione tra gli adolescenti che ne ricercano le proprietà stimolanti ed entactogene. Alcune ricerche in particolare mostrano che anche l'uso "ricreazionale" di basse quantità di queste sostanze possono causare danni neurologici (ictus emorragico), neuropsicologici e metabolici gravi (Auer J et al, 2002; de Win M et al., 2008).

## Bibliografia

1. Auer, J., Berent, R., Weber, T., Lassnig, E., & Eber, B. (2002). Subarachnoid haemorrhage with "Ecstasy" abuse in a young adult. *Neurol Sci*.
2. Barnea-Goraly, N., Menon, V., Eckert, M., Tamm, L., Bammer, R., Karchemskiy, A., ... Reiss, A. L. (2005). White matter development during childhood and adolescence: a cross-sectional diffusion tensor imaging study. *Cereb. Cortex*, 1848–1854.
3. Chambers, R. A., & Potenza, M. N. (2003). Neurodevelopment, Impulsivity, and Adolescent Gambling. *Journal of Gambling Studies*, 53-84.
4. Cloak, C., Alicata, D., Chang, L., Andrews-Shigaki, B., & Ernst, T. (2011). Age and sex effects levels of choline compounds in the anterior cingulate cortex of adolescent methamphetamine users. *Drug and Alcohol Dependence*, 207–215.
5. Costa, A., & Caltagirone, C. (2009). *Malattia di Parkinson e parkinsonismi: La prospettiva delle neuroscienze cognitive*. Springer.
6. de Win, M. L., Jager, G., Booij, J., Reneman, L., Schilt, T., & Lavini, C. (2008). Sustained effects of ecstasy on the human brain: A prospective neuroimaging study in novel users. *Brain*, 2936-2945.
7. Di Iorio, C., Watkins, T., Dietrich, M., & Cao, A. (2011). Evidence for Chronically Altered Serotonin Function in the Cerebral Cortex of Female 3,4-Methylenedioxymethamphetamine Polydrug Users. *ARCH GEN PSYCHIATRY*.
8. Gazzaniga, M., Ivry, R., & Mangun, G. (2005). *NEUROSCIENZE COGNITIVE*. Zanichelli.
9. Giedd, J. N. (2006). Structural Magnetic Resonance Imaging of the Adolescent Brain. *Adolescent Brain Development: Vulnerabilities and Opportunities*, 77–85.
10. Giorgio, A., Watkins, K. E., Douaud, G., James, A. C., James, S., De Stefano, N., ... Johansen-Berg, H. (2008). Changes in white matter microstructure during adolescence. *NeuroImage*, 52–61.
11. Iritani, B. J., Hallfors, D. D., & Bauer, D. J. (2007). Crystal methamphetamine use among young adults in the USA. *Addiction*, 1102–1113.
12. Jacobsen, L., Mencl, W., Pugh, K., Skudlarski, P., & Krystal, J. (2004). Preliminary evidence of hippocampal dysfunction in adolescent MDMA ("ecstasy") users: possible relationship to neurotoxic effects. *Psychopharmacology*, 383–390.
13. Jernigan, T., Gamst, A., Archibald, S., & Fennema-Notestine, C. (2005). Effects of methamphetamine dependence and HIV infection on cerebral morphology. *American Journal of Psychiatry*, 1461–72.
14. King, G., Alicata, D., Cloak, C., & Chang, L. (2010). Psychiatric symptoms and HPA axis function in adolescent methamphetamine users. *J. Neuroimmune Pharmacol*, 582–591.
15. Lenroot, R. K., & Giedd, J. N. (2006). Brain development in children and adolescents: Insights from anatomical magnetic resonance imaging. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 718–729.
16. Mabbott, D. J., Noseworthy, M., Bouffet, E., Laughlin, S., & Rockel, C. (2006). White matter growth as a mechanism of cognitive development in children. *NeuroImage*, 936–946.
17. McKetin, R., McLaren, J., Lubman, D. I., & Hides, L. (2006). The prevalence of psychotic symptoms among methamphetamine users. *Addiction*, 1473–1478.
18. Morales, A. M., Lee, B., Hellemann, G., O'Neill, J., & London, E. D. (2012). Gray-matter volume in methamphetamine dependence: Cigarette smoking and changes with abstinence from methamphetamine. *Drug and Alcohol Dependence*.
19. O'Hearn, E., Battaglia, G., De Souza, E. B., Kuhar, M. J., & Molliver, M. E. (1988). Methylenedioxymethamphetamine (MDA) and methylenedioxymethamphetamine (MDMA) cause selective ablation of serotonergic axon terminals in forebrain: immunocytochemical evidence for neurotoxicity. *J Neurosci*, 8:2788–2803.
20. Qiu, D., Tan, L. H., Zhou, K., & Khong, P. L. (2008). Diffusion tensor imaging of normal white matter maturation from late childhood to young adulthood: voxel-wise evaluation of mean diffusivity, fractional anisotropy, radial and axial diffusivity, and correlation with reading development. *Neuroimage*, 223-232.
21. Quinton, M. S., & Yamamoto, B. K. (2006). Causes and consequences of methamphetamine and MDMA toxicity. *Aaps J*, 8:E337–E347.
22. Reneman, L., de Win, M. L., van den Brink, W., Booij, J., & den Heeten, G. J. (2006). Neuroimaging findings with MDMA/ecstasy: technical aspects, conceptual issues and future prospects. *J Psychopharmacol*, 164–75.
23. Reneman, L., Majoie, C. B., Habraken, J. B., & den Heeten, G. (2001). Effects of ecstasy (MDMA) on the brain in abstinent users: initial observations with diffusion and perfusion MR imaging. *Radiology*, 611–7.
24. Renshaw, P. (07/01/2008 - 06/30/2013). *Longitudinal Neuroimaging of Metamphetamine-dependent Adolescents*. NIH/NIDA.

25. Ricaurte, G. A., Schuster, C. R., & Seiden, L. S. (1980). Long-term effects of repeated methylamphetamine administration on dopamine and serotonin neurons in the rat brain: a regional study. *Brain Res*, 193:153–163.
26. Serpelloni, G., Bricolo, F., & Gomma, M. (2010). *Elementi di Neuroscienze e Dipendenze* 2° edizione. Verona: Dipartimento delle Dipendenze.
27. Sowell, E., Trauner, D., Gamst, A., & Jernigan, T. (2002). Development of cortical and subcortical brain structures in childhood and adolescence: a structural MRI study. *Dev Med Child Neurol*, 4–16.
28. Spear, L. P. (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 417–463.
29. Wagner, G. C., Ricaurte, G. A., Johanson, C. E., Schuster, C. R., & Seiden, L. S. (1980). Amphetamine induces depletion of dopamine and loss of dopamine uptake sites in caudate. *Neurology*, 30:547–550.
30. Zhou, F. C., & Bledsoe, S. (1996). Methamphetamine causes rapid varicosis, perforation and definitive degeneration of serotonin fibers: an immunocytochemical study of serotonin transporter. *Neuroscience-Net*, 1–17.



## 2.4.3 Modificazioni cerebrali, strutturali e funzionali, in adulti consumatori di metanfetamina e suoi derivati

Giuseppe Cuoghi<sup>1</sup>, Franco Alessandrini<sup>2</sup>, Giada Zoccatelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona

<sup>2</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

Introduzione

Le evidenze che la metanfetamina (MA) ed i suoi derivati inducano danni organici al cervello provengono ormai da molti studi effettuati attraverso le neuroimmagini, alcuni dei quali hanno usato tecniche d'indagine strutturale, altri funzionale, e sono stati svolti sia su animali che su esseri umani. L'esposizione ad alte dosi di MA è stata indicata come causa di alterazioni a lungo termine nei sistemi dopaminergico (Ricaurte GA et al., 1980; Wagner GC et al., 1980; Ricaurte GA et al., 1984) e serotoninergico (O'Hearn E et al., 1988; Zhou FC et al., 1996) sia negli umani che nei primati. I danni sono stati evidenziati principalmente nelle regioni frontostriatali, necessarie per i processi di attenzione selettiva (striato, corteccia frontale e amigdala), così come nelle regioni implicate nelle funzioni di memoria quali l'ippocampo (Melega WP, et al., 1996). Esistono minori evidenze di cambiamenti strutturali nelle regioni posteriori del cervello a seguito di esposizione alla MA (Molliver ME et al. 1990). Un dato trasversale a questi studi è una generale ipertrofia della sostanza bianca (WM), insieme ad un declino della sostanza grigia (GM) negli utilizzatori di metanfetamina.

### 1. Neuroimaging strutturale

Uno studio recente di MRI strutturale ad alto campo magnetico (3.0 T) effettuato su 22 adulti con storia di dipendenza da MA secondo i criteri del DSM IV ( $35,3 \pm 1,66$  anni di età) e su 21 soggetti di controllo di età statisticamente confrontabile, riporta anomalie strutturali negli utilizzatori cronici di MA (Thompson PM et al., 2004). Le mappe corticali hanno rivelato gravi deficit di GM nella corteccia cingolata, nell'ippocampo e nelle regioni paralimbiche. Per determinare i possibili legami tra l'atrofia rilevata nelle regioni ippocampali con i deficit di memoria che spesso sono presenti negli individui che usano MA, ai soggetti è stato somministrato un test di memoria episodica (Simon, 1999). In media, gli utilizzatori di MA presentavano volumi degli ippocampi minori del 7,8% rispetto ai controlli ed una riduzione dell'11,3% nel cingolato e nella corteccia paralimbica. I deficit ippocampali inoltre correlavano con la performance al compito di memoria. I risultati di questo studio suggeriscono che l'uso di MA potrebbe danneggiare principalmente le regioni ippocampali e le cortecce limbica e cingolata, e questo potrebbe avere forte impatto sulle prestazioni di memoria.

L'uso di MA  
danneggia le  
regioni ippocampali  
e le cortecce  
limbica e cingolata

Figura 1 - Differenze di sostanza grigia nelle superfici laterali del cervello. La riduzione media di sostanza grigia nel gruppo di dipendenti da MA rispetto ai controlli, è espresso come percentuale e mostrato con codici a colori (blu: nessuna riduzione; rosso: riduzione massima). Fonte: Thompson PM et al., 2004.

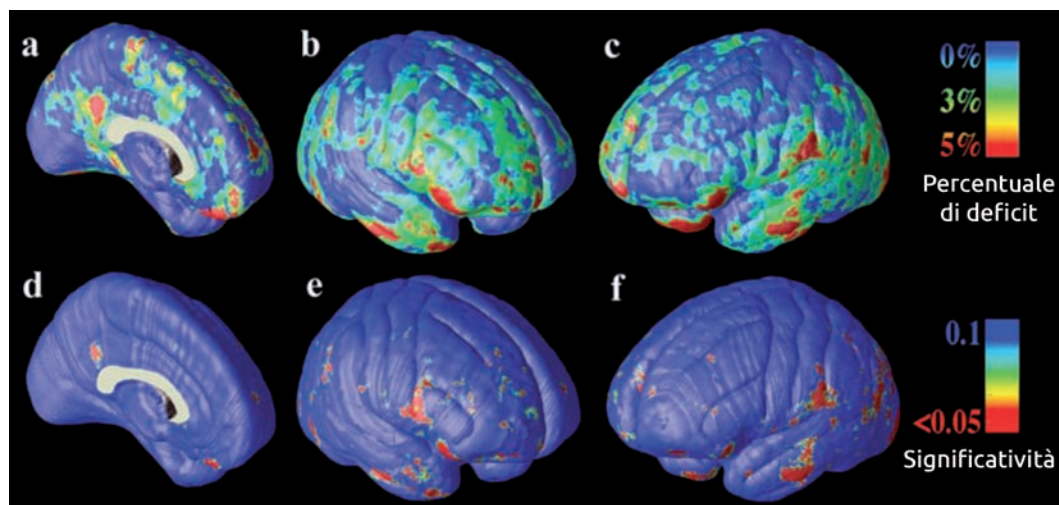


Figura 2 - Differenze di sostanza grigia nella superficie mediale del cervello. In (c) sono mostrate le differenze percentuali medie di sostanza grigia tra la media del gruppo di controllo (a) e la media nel gruppo MA (b), in accordo con la barra a colori. Il giro del cingolo presenta perdita di sostanza grigia altamente significative (colore rosso). La regione di massimo deficit di sostanza grigia (b,d), si trovano nella corteccia cingolata posteriore dell'emisfero destro. Fonte: Thompson PM et al., 2004.

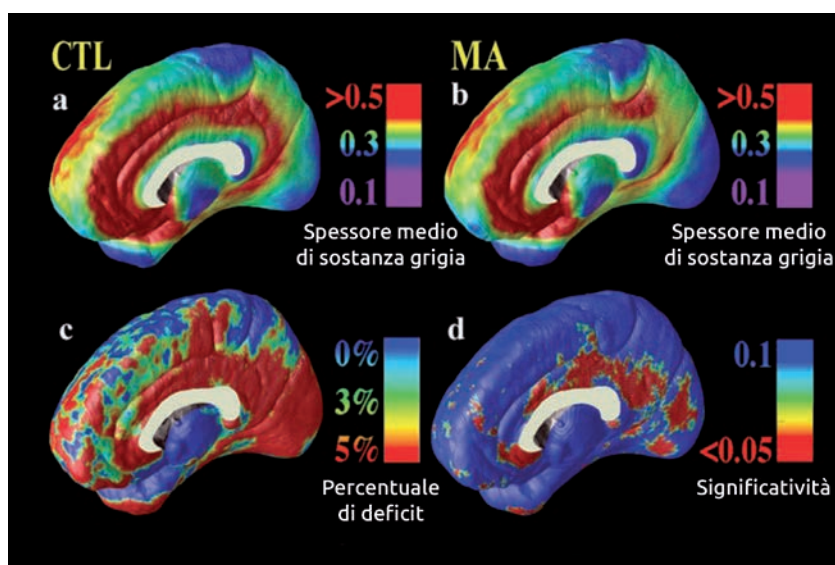
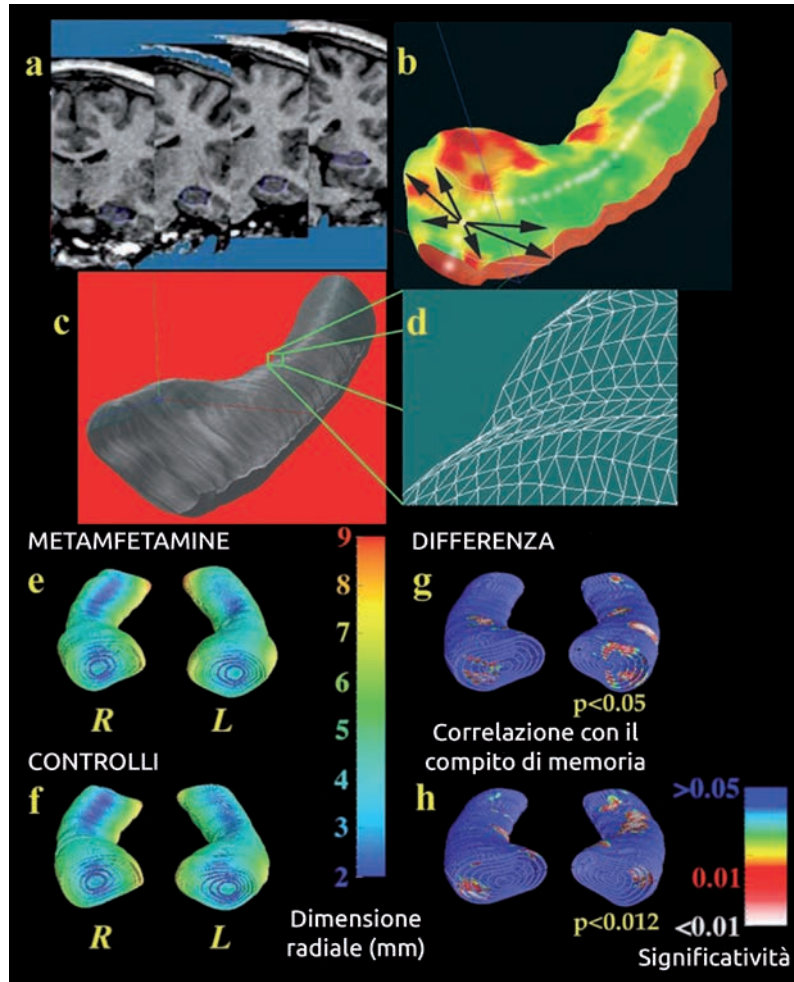




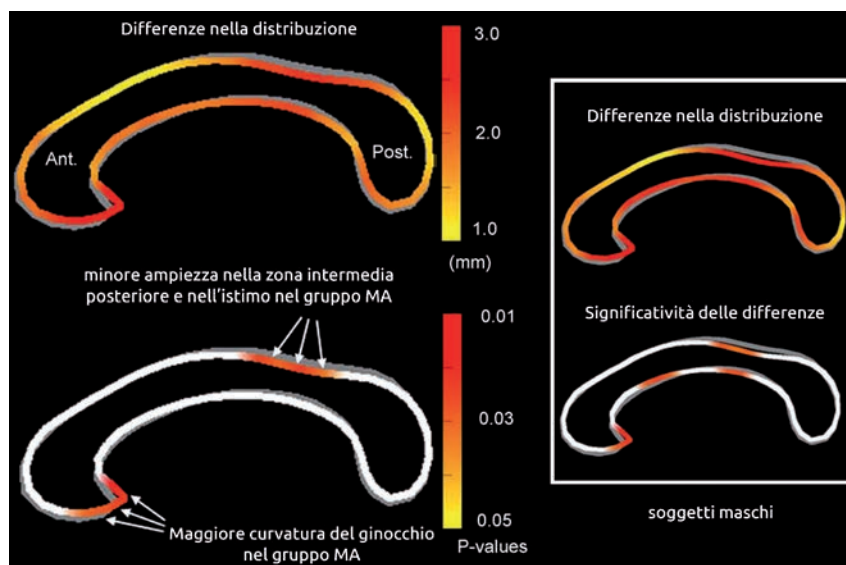
Figura 3 - L'atrofia ippocampale nei soggetti dipendenti da MA è correlata ad una povera performance ai test di memoria. Nelle figure (e) ed (f) viene mostrata, in millimetri, la dimensione radiale media degli ippocampi che, nei soggetti dipendenti da MA (e) risulta ridotta in alcune regioni [colore rosso in (g)], rispetto alle regioni corrispondenti nei soggetti di controllo (f). In (h) sono mostrate le regioni ippocampali in cui la prestazione al compito di memoria di rievocazione di parole è significativamente correlata con l'atrofia radiale. Fonte: Thompson PM et al., 2004.



In aggiunta alle evidenze sulle anomalie strutturali provocate dalla metanfetamina nella corteccia temporale e paralimbica, è stata effettuata una ricerca volta ad esaminare i suoi effetti sul corpo calloso (CC). Il gruppo di ricerca di Oh (Oh JS et al., 2005) ha esaminato la forma e la dimensione del CC in un gruppo di 27 utilizzatori di MA con diagnosi di dipendenza (DSM IV) ed età media di  $36.7 \pm 5.6$  anni, confrontandolo con 18 controlli sani ( $33.6 \pm 6.7$  anni). I ricercatori hanno misurato la curvatura locale e l'ampiezza del corpo calloso, oltre a rilevare le dimensioni delle diverse sottoregioni dello stesso. Nonostante non siano state osservate differenze nel volume totale del CC, sono stati riscontrati pattern diversi nella curvatura e nella larghezza di distinte sottoregioni del CC tra i due gruppi. I soggetti che utilizzavano la sostanza hanno mostrato una minore ampiezza nell'istmo e nella parte posteriore del CC, oltre ad una maggiore curvatura del ginocchio del corpo calloso. Questi dati suggeriscono che l'uso di MA sia associato a cambiamenti in specifiche zone di fasci di sostanza bianca, che connettono le cortecce parietali e frontali e che queste anomalie potrebbero rappresentare il substrato anatomico delle manifestazioni cliniche della dipendenza da MA.

Alterazioni  
strutturali al Corpo  
Calloso associate  
all'uso di MA

Figura 4 - Differenze configurazionali del corpo calloso in sezione sagittale tra gli utilizzatori di MA ed il gruppo di controllo sano. Riga superiore: sovrapposizione dei contorni del corpo calloso nel gruppo MA rispetto al gruppo di controllo. Il grado di differenza nella distribuzione è indicato in 'mm' e segue il codice a colori della striscia colorata. Riga inferiore: è visibile la maggiore curvatura del ginocchio del CC e la minore ampiezza della zona intermedia posteriore e dell'istmo nel gruppo MA, misurate con il metodo di analisi configurazionale model-based e indicate dalle frecce. Queste aree corrispondono alle aree di maggior dislocamento dei contorni nella figura superiore (indicate dal colore rosso). Le differenze sono risultate significative solo per i soggetti maschi. Abbreviazioni: CC: corpo calloso; MA: metanfetamine  
Fonte: Oh JS et al., 2005.



#### Alterazioni dello Striato associate all'uso di MA

Una ricerca di Chang e collaboratori ha messo in evidenza alterazioni morfometriche nelle regioni striatali in soggetti con storia di dipendenza da MA, nonostante un'astinenza di almeno due anni (Chang L et al. 2005). Gli autori hanno sottoposto a risonanza magnetica strutturale 50 soggetti con utilizzo cronico di MA ora in astinenza, di età compresa tra i 19 ed i 49 anni, ed un gruppo di 50 soggetti di controllo nello stesso range di età. I soggetti MA hanno mostrato un allargamento del putamen e del globo pallido rispetto al gruppo di controllo. I ricercatori suggeriscono che tra i possibili meccanismi che potrebbero causare l'allargamento dello striato sarebbero da considerare l'attivazione gliale e le alterazioni infiammatorie associate alle lesioni causate dalla metanfetamina e che, in ultima analisi, rappresenterebbero una risposta compensatoria agli effetti neurotossici della sostanza. Solo le donne del gruppo MA presentavano anche un allargamento della zona intermedia posteriore del corpo calloso suggerendo che potrebbero esistere fattori di vulnerabilità diversi tra i sessi.

Figura 5 - Sinistra: sezione assiale di MRI che mostra le regioni cerebrali misurate in questo studio. Destra: Grafici a barre che mostrano l'allargamento del nucleo lenticolare (putamen e globo pallido) nei soggetti dipendenti da MA rispetto ai soggetti di controllo. Fonte: Chang L et al., 2005.

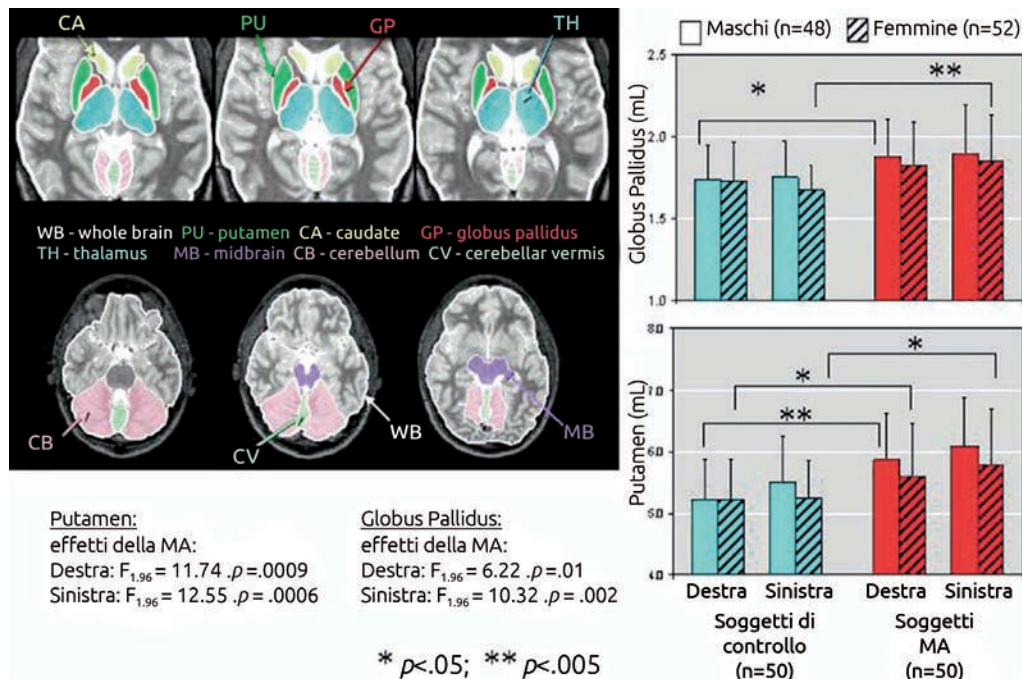
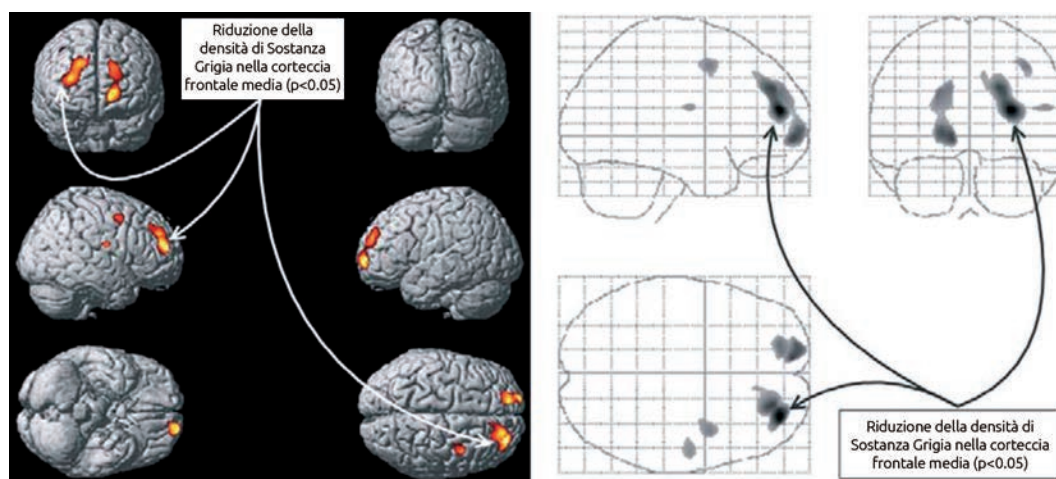


Figura 6 - Localizzazione del decremento di sostanza grigia nei consumatori di metanfetamina (MA) in astinenza. Le zone di diminuzione della sostanza grigia sono rappresentate in un'immagine di rendering tridimensionale del cervello (a) ed in una proiezione bidimensionale (b), e sono contrassegnate dalle frecce. La densità di sostanza grigia nel giro frontale medio destro [area di Brodmann (BA 10)] è minore nei soggetti dipendenti da MA rispetto ai soggetti di controllo. Altre aree hanno mostrato una perdita di sostanza grigia anche se in misura minore: il giro frontale medio sinistro (BA 10), la corteccia premotoria destra (BA 6), ed il giro postcentrale destro (BA 43). Fonte: Kim SJ et al., 2006.



Il secondo studio che ha utilizzato la voxel-based morphometry (VBM) per esaminare le alterazioni strutturali ha reclutato un campione di 61 soggetti con diagnosi di dipendenza da MA da poco in astinenza (età media  $33,4 \pm 8,4$ ) (Schwartz DL et al., 2010). Il gruppo di controllo era formato da 44 soggetti di pari caratteristiche socioculturali e di età confron-

Altre evidenze di riduzione della densità di sostanza grigia associata all'uso di MA



tabile ( $34,1 \pm 10,7$  anni). Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad un compito di decision making, al fine di valutare l'impulsività delle scelte nei confronti di ricompense differite nel tempo. Gli autori hanno osservato una minore densità bilateralmente nella sostanza grigia delle regioni insulari e nel giro frontale medio destro nel gruppo MA rispetto ai controlli. L'impulsività misurata è risultata più alta nei soggetti dipendenti da MA, e si è visto che correlava positivamente con la densità corticale nel giro del cingolo posteriore e nello striato ventrale, mentre vi era una correlazione inversa con la densità di sostanza grigia nel giro frontale superiore sinistro. I ricercatori hanno inoltre trovato una correlazione positiva tra la durata dell'astinenza e la maggiore densità nell'amigdala. Secondo Schwartz e collaboratori questi risultati possono essere in accordo con molteplici meccanismi possibili, tra cui il neuroadattamento causato dal comportamento addittivo, la neuroinfiammazione causata dalla droga e la neurotossicità della MA sui sistemi dopaminergici e serotoninergici.

Alterazioni nelle concentrazioni dei metaboliti cerebrali associabili all'uso di MA in adolescenza

Figura 7 - (A) regioni in cui la densità corticale nei soggetti dipendenti da MA è risultata significativamente inferiore rispetto ai controlli. (B) la densità corticale media per ciascun soggetto nell'insula sinistra (cerchiata in verde) è mostrata in un grafico. Le medie e le deviazioni standard sono rispettivamente  $0.72 \pm 0.01$  e  $0.80 \pm 0.02$  per il gruppo MA e per i soggetti di controllo. Fonte: Schwartz DL et al., 2010.

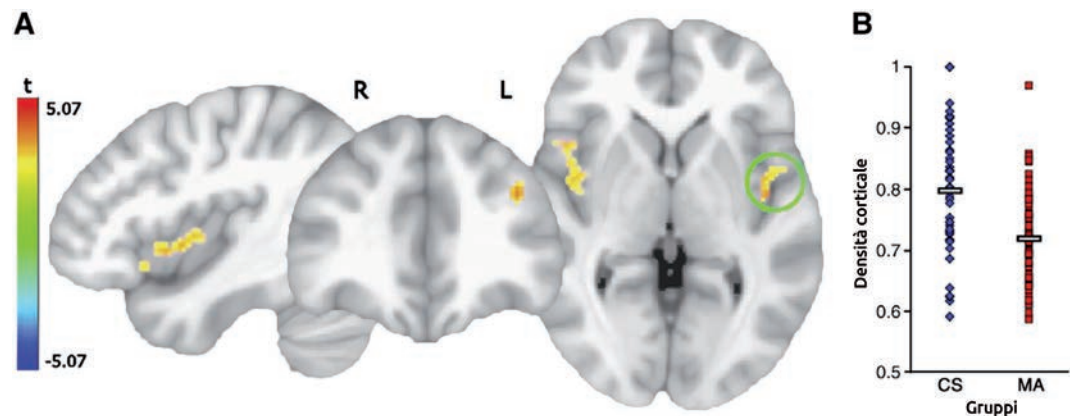
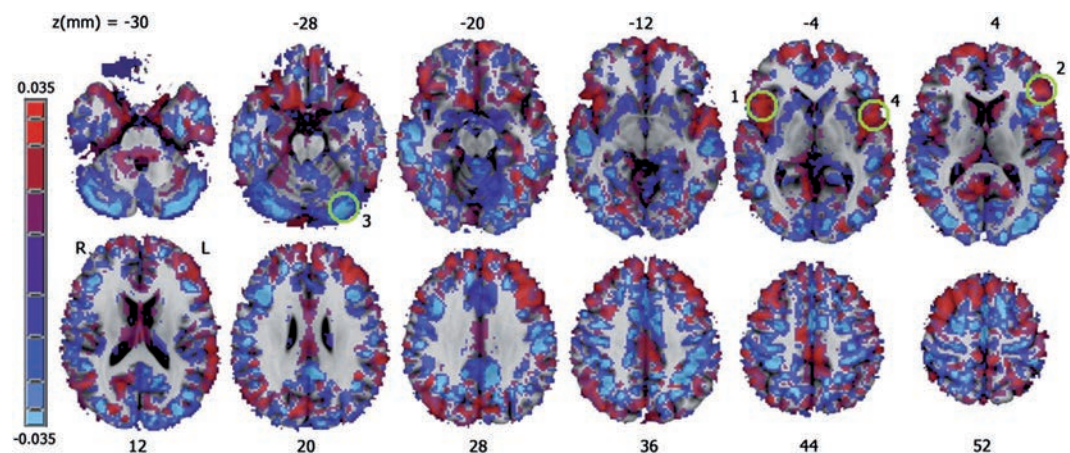


Figura 8 - Una mappa del coefficiente di regressione di tutti i soggetti dopo correzione statistica per età e genere. Dove la densità di sostanza grigia nei controlli è maggiore del gruppo MA è rappresentato in rosso, dove il gruppo MA presenta sostanza grigia maggiore rispetto ai controlli, in blu. I cerchi verdi indicano le regioni di significatività. Fonte: Schwartz DL et al. 2010.



## 2. Spettroscopia di Risonanza Magnetica (RMS)

Già alcuni tra i primi studi MRS protonici mostrano evidenza di danno neuronale fronto-striatale negli utilizzatori di metanfetamina (Ernst T et al. 2000; Taylor MJ et al. 2000; Nordahl TE et al., 2002).

L'uso di MA altera i principali metaboliti cerebrali

Sung e colleghi (Sung YH et al., 2007) hanno indagato le alterazioni nei neurotrasmettitori in 30 soggetti in astinenza da MA, sia nella sostanza bianca che nella sostanza grigia dell'encefalo. I soggetti, con precedente diagnosi di dipendenza da metanfetamine, sono stati a loro volta divisi in due gruppi a seconda del periodo di astinenza (maggiore o minore ai 6 mesi) e della quantità di sostanza usata nel corso della vita, e confrontati con un gruppo di controllo di 20 soggetti sani. In questo studio, condotto con un magnete a 3T, sono stati rilevati un aumento del mioinositolo (MI) ed una minore concentrazione di N-acetilaspartato (NAA) nelle regioni frontali del gruppo MA. Inoltre, la concentrazione di NAA nella sostanza bianca frontale correlava inversamente con la dose totale di MA assunta dai soggetti dipendenti nel corso della vita, mentre l'NAA nella sostanza grigia frontale correlava inversamente con la quantità di MA assunta in vita e positivamente con la durata dell'astinenza. Secondo gli autori, questi risultati suggeriscono che i danni cerebrali indotti da MA siano dose-dipendenti e, inoltre, che le anomalie collegate all'uso di metanfetamina potrebbero essere, almeno in parte, recuperabili grazie all'astinenza prolungata per quanto riguarda la sostanza grigia, ma non nelle regioni di sostanza bianca.

Figura 9a - Correlazione tra le concentrazioni di N-acetylaspartato nella sostanza bianca frontale sinistra, la quantità totale di metanfetamina assunta nel corso della vita e la durata dell'astinenza nel gruppo di dipendenti da MA. (Sopra) La correlazione è significativa tra la concentrazione di NAA nella sostanza bianca frontale e la quantità di dosi di metanfetamina assunte. (Sotto) non è significativa tra la concentrazione di NAA e la durata dell'astinenza. Fonte: Sung YH et al., 2007.

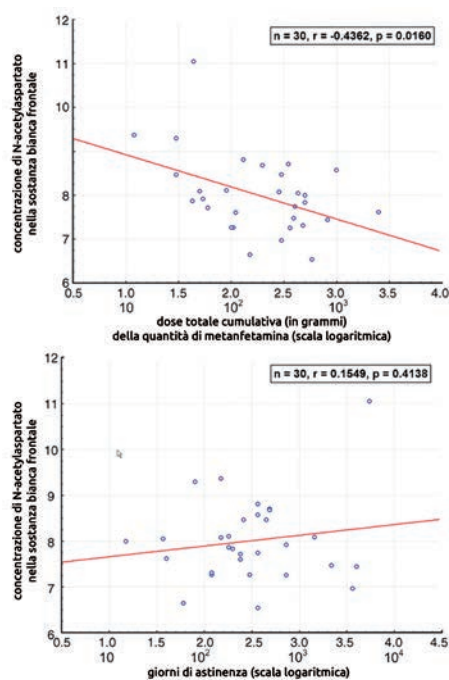
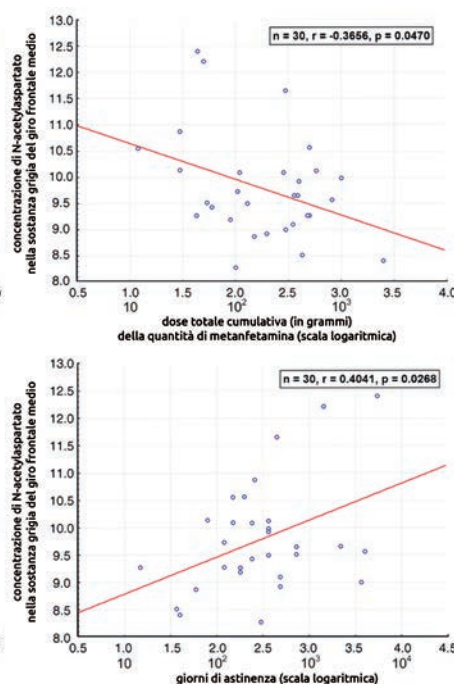


Figura 9b - Correlazione tra le concentrazioni di N-acetylaspartato nella sostanza grigia del giro frontale medio, la quantità totale di metanfetamina assunta nel corso della vita e la durata dell'astinenza nel gruppo di dipendenti da MA. (Sopra) La correlazione è significativa tra la concentrazione di NAA nella sostanza grigia frontale e la quantità di dosi di metanfetamina assunte. (Sotto) È significativa anche la correlazione tra la concentrazione di NAA nella sostanza grigia e la durata dell'astinenza. Fonte: Sung YH et al., 2007.



Uno dei meccanismi neurali attraverso cui si ritiene che la MA possa essere causa di danno al cerebrale risiede nella neurotossicità mediata da un eccesso di glutammato (Quinton MS & Yamamoto BK, 2006).

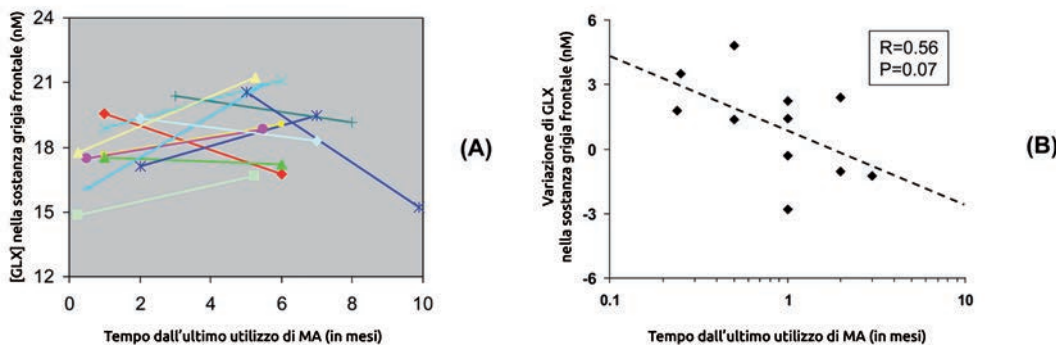
Alterazione nel GLX  
cerebrale associabile  
all'uso di MA

Ernst T. e colleghi hanno condotto uno studio per misurare il segnale di glutammato nei gangli della base, nella sostanza grigia e nella sostanza bianca frontale in un gruppo di 25 soggetti con storia di dipendenza da MA ( $31.8 \pm 7.4$  anni) in astinenza da tempi variabili (Ernst T and Chang L, 2008). Il gruppo di controllo era costituito da 28 persone sane nello stesso range di età. Gli autori hanno osservato minori livelli di GLX (Glutammato + Glutamina), rispetto ai controlli sani, nella sostanza grigia delle regioni frontali dei soggetti del gruppo MA che erano in astinenza da meno di un mese. La durata del periodo di astinenza correlava inoltre positivamente con la quantità di GLX nella sostanza bianca e in quella grigia del lobo frontale, ed i pazienti che manifestavano i sintomi di craving più pronunciati erano quelli che avevano livelli minori di GLX nella corteccia frontale. Ad alcuni dei soggetti dipendenti da MA i ricercatori hanno potuto fare una seconda misurazione spettroscopica dopo 5 mesi di astinenza, verificando un lieve processo di normalizzazione dei valori di GLX cerebrale. Secondo Ernst e colleghi questi risultati suggeriscono anomalie dinamiche nei livelli di glutammato cerebrale degli individui da poco in astinenza da MA, con una deplezione del sistema glutamatergico nei primi 2 mesi ed una parvenza di recupero dopo



astinenza prolungata.

Figura 10 - (A): Grafico delle concentrazioni di GLX nella corteccia frontale degli individui MA a cui è stato possibile effettuare una seconda indagine MRS (n=12). Le due misure di ogni soggetto sono unite da una linea di colore diverso. La linea blu più a destra è stata ottenuta in un partecipante che era stato inizialmente esaminato dopo 5 mesi di astinenza ma che, da lì a poco, è ricaduto nell'uso di MA e a cui è stata fatta la spettroscopia dopo 10 mesi. (B): Il grafico di dispersione mostra la relazione esistente tra il tempo di astinenza e le variazioni nella concentrazione di GLX negli utilizzatori di metanfetamina, nel corso di 5 mesi, escludendo il soggetto che ha avuto la ricaduta. Fonte: Ernst T et al., 2008.



Utilizzando un campo magnetico sufficientemente alto è possibile rilevare i valori del singolo glutammato non contaminato dalla glutammina. È quanto hanno fatto Sailasuta N. e colleghi (2010) che hanno utilizzato un campo magnetico da 3.0 T per esaminare i livelli dei metaboliti nelle regioni frontali di un gruppo di soggetti con storia di dipendenza da MA (DSM IV) in regime di astinenza, ed un gruppo di controllo. I ricercatori hanno sviluppato una tecnica di spettroscopia al carbonio ( $^{13}\text{C}$  MRS) per quantificare selettivamente il flusso di metaboliti nelle cellule gliali frontali. Essi hanno rilevato un notevole aumento di glutammato e una riduzione di N-acetilaspargato nella sostanza bianca frontale dei soggetti in astinenza, nonché una significativa diminuzione delle concentrazioni di bicarbonato cerebrale ( $\text{HCO}_3$ ), indice di probabile danno alle cellule gliali.

Alterazione nel glutammato cerebrale in soggetti dipendenti da MA

Figura 11 - Spettroscopia  $^{13}\text{C}$  MR alle regioni frontali nel gruppo di controllo (A) e nel gruppo MA in astinenza (B). Si nota la significativa deplezione di bicarbonato cerebrale ( $\text{HCO}_3^-$ ) nel gruppo MA rispetto ai controlli. Fonte: Sailasuta N et al., 2010.

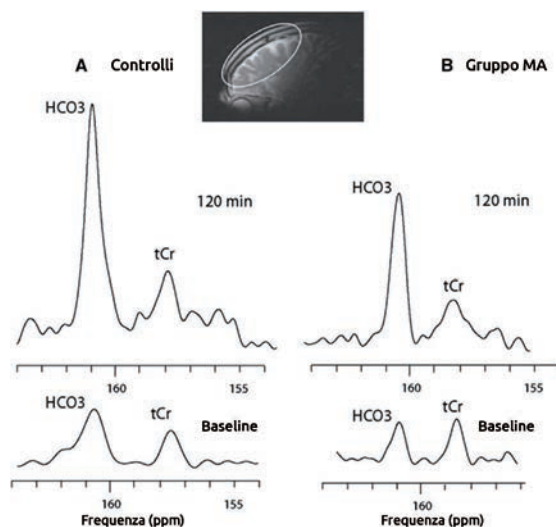
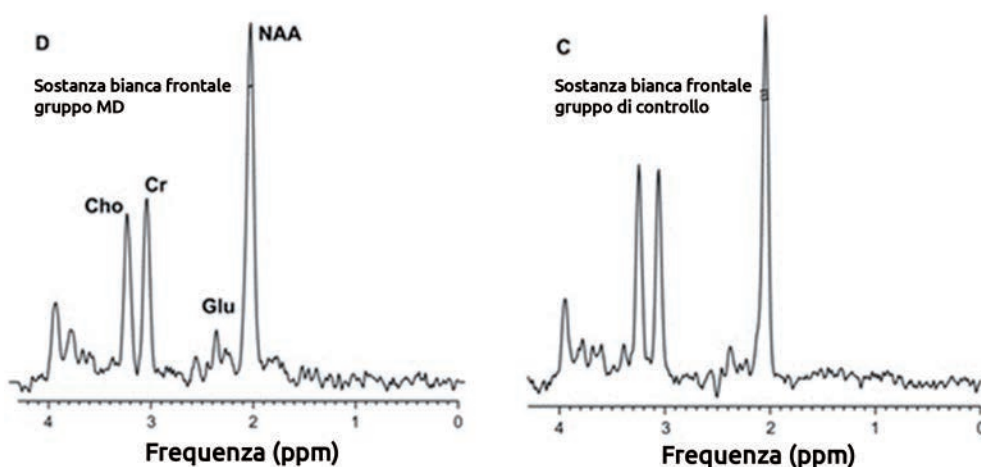


Figura 12 - Spettro MRS rappresentativo di un soggetto dipendente da MA in astinenza (D) e di un controllo (C) effettuato sulla sostanza bianca frontale. Gli autori hanno trovato minori concentrazioni di NAA ed un aumento dei livelli di Glu nella sostanza bianca delle regioni frontali del gruppo MA rispetto ai controlli. Fonte: Sailasuta N et al., 2010.



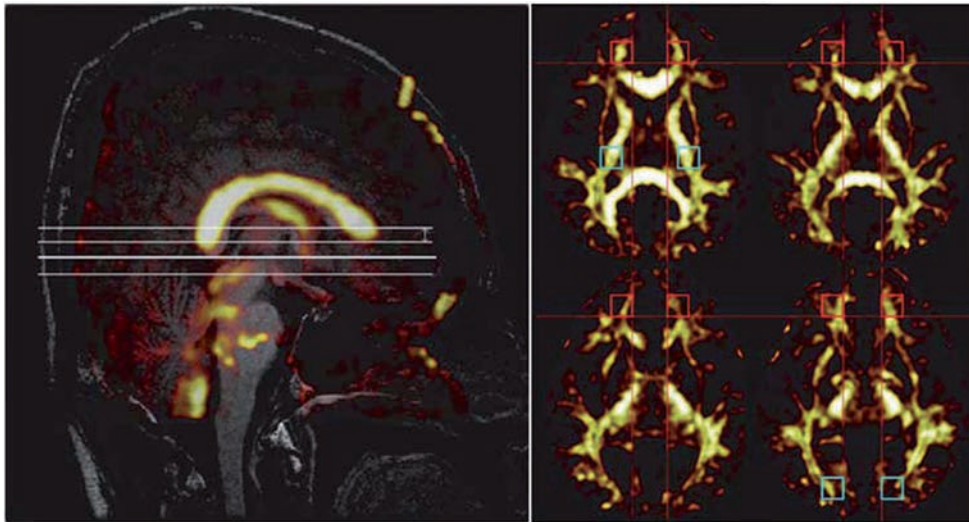
### 3. Imaging con Tensore di Diffusione (DTI)

Compromessi i  
fasci di sostanza  
bianca nelle  
regioni frontali nei  
consumatori di MA

Uno dei primi studi che ha utilizzato l'Imaging con Tensore di diffusione (DTI) nello studio dell'abuso di MA (Chung A et al., 2007), ha riscontrato alterazioni nei fasci di sostanza bianca delle regioni frontali di 32 consumatori di MA con diagnosi di dipendenza secondo il DSM IV. Ai soggetti è stato anche somministrato il Wisconsin Card Sorting Test (WCST) per valutare le funzioni frontali. Rispetto ad un gruppo di controllo costituito da 30 soggetti sani, i soggetti MA hanno mostrato una riduzione del valore di anisotropia frazionaria (FA) nelle regioni frontali. Queste alterazioni nella microstruttura della sostanza bianca sono

state osservate bilateralmente a livello del piano tra la commissura anteriore e quella posteriore e potrebbero rappresentare il risultato di un processo di demielinizzazione oppure di un danno assonale. Il gruppo MA ha anche fatto molti più errori nel WCSD rispetto ai controlli, e gli autori hanno potuto constatare che il punteggio a questo test correlava negativamente con i valori di FA a livello frontale, segno di una compromissione in queste regioni associata all'uso di metanfetamine.

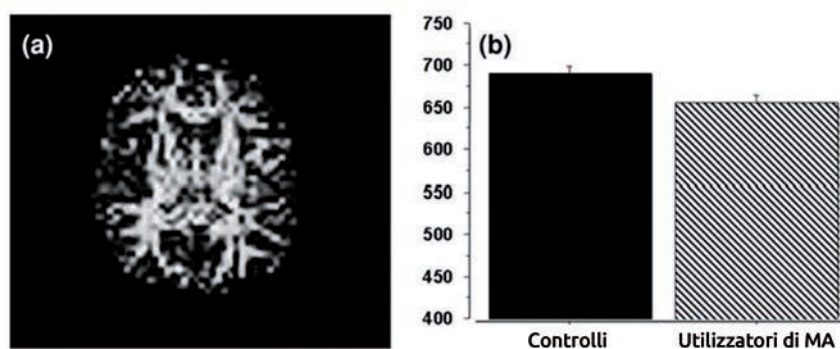
**Figura 13 - Zone di interesse per la misura dei valori di anisotropia frazionaria (FA). Sezione assiale di 4 regioni d'indagine nella sostanza bianca frontale (quadrati rossi) e di 2 regioni di controllo (quadrati blu).** Fonte: Ckung A et al., 2007.



Ulteriori evidenze della compromissione della microstruttura della sostanza bianca callosale associata all'uso di MA

Uno studio recente ha riportato i dati provenienti dall'analisi della microstruttura della sostanza bianca del corpo calloso (CC) in 37 utilizzatori cronici di MA in astinenza, confrontandoli con quelli ricavati da un gruppo costituito da 17 soggetti sani di pari età (dai 18 ai 55 anni) (Salo R et al. 2009). A tutti i partecipanti è stata anche somministrata una versione computerizzata del test di Stroop che valuta l'attenzione selettiva ed il controllo cognitivo. Gli autori hanno trovato differenze significative nei valori di anisotropia frazionaria (FA) nel ginocchio del corpo calloso dei soggetti MA, che hanno mostrato valori inferiori rispetto al gruppo di controllo. Questi valori inoltre correlavano con le minori prestazioni al test di Stroop e, quindi, con il minore controllo cognitivo mostrato dai soggetti dipendenti da MA.

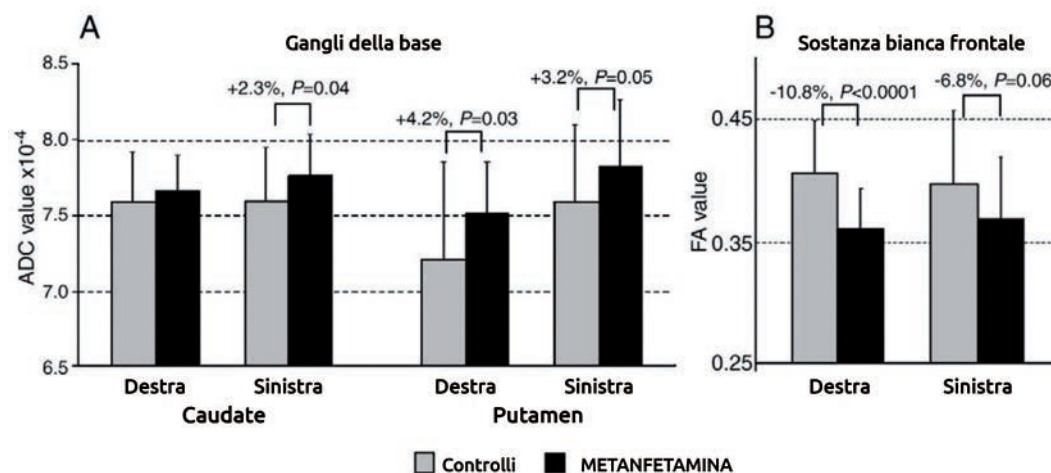
**Figura 14 - Differenze di gruppo nell'anisotropia frazionaria (FA) tra i consumatori di metanfetamina (MA) ed i controlli (b). Immagine di FA (a).** Fonte: Salo R et al., 2009.



Alterazioni  
nell'indice di  
Anisotropia  
Frazionaria nel  
Corpo Calloso di  
consumatori di MA

Uno studio di Alicata D. e colleghi (2009) ha indagato, con campo magnetico a 3.0 T, il coefficiente di diffusività (ADC) della sostanza bianca e l'integrità delle fibre nel corpo calloso (CC), nelle regioni frontali, nei gangli della base e nel cervelletto di 30 soggetti con diagnosi di dipendenza da MA. Diversamente da altri studi che hanno utilizzato la DTI, non sono state evidenziate differenze nei valori di FA nei fasci del CC ma una riduzione di anisotropia frazionaria è stata riscontrata nella sostanza bianca frontale, insieme ad una maggiore diffusività nello striato (caudato e putamen), rispetto ai 30 soggetti di controllo. I valori più alti di ADC nel putamen correlavano con l'età d'inizio di assunzione e con la quantità totale consumata nel corso della vita. Gli autori suggeriscono che questo pattern di aumentata diffusività nel corpo striato possa riflettere una risposta neuroinfiammatoria all'uso di MA, risposta più accentuata nei soggetti con un uso più severo. L'indice più basso di AF nella sostanza bianca frontale potrebbe indicare un danno assonale in questa zona associato all'utilizzo di MA.

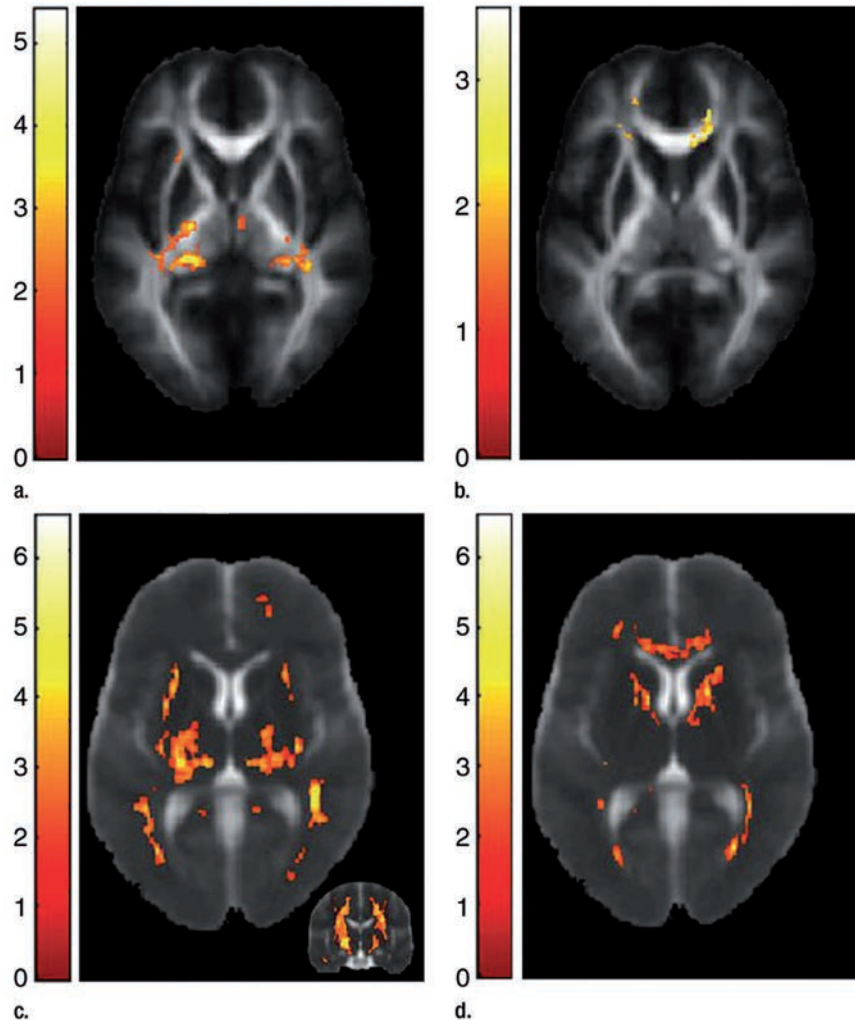
Figura 15 - Rispetto ai soggetti di controllo i consumatori di metanfetamina hanno mostrato valori più alti nei coefficienti di diffusione (ADC) nel caudato sinistro nel putamen bilaterale (A), ed una minore anisotropia frazionaria (FA) nella sostanza bianca bilaterale (B). Fonte: Alicata D et al., 2009.



Alterazioni  
spettroscopiche  
associate all'uso di  
MDMA

In una recente ricerca è stato utilizzato il DTI per indagare l'integrità delle fibre di sostanza bianca in un gruppo di 31 giovani adulti dai 18 ai 33 anni di età, che avevano fatto uso continuativo di MDMA (ecstasy) per almeno un anno. L'ecstasy è forse il tipo di metanfetamina più conosciuto, dagli spiccati effetti eccitanti ed entactogeni (Liu HS et al., 2011). Nello stesso studio è stata effettuata anche un'indagine di spettroscopia MR per valutare le possibili alterazioni indotte dalla sostanza nella corteccia frontale mediale e nei gangli della base, bilateralmente. La concentrazione media di mioinositolo (MI) nei gangli della base dei soggetti tossicodipendenti è risultata essere significativamente più alta rispetto ai soggetti di controllo, indice probabilmente di una risposta gliale alle funzioni serotoninergiche in via di deterioramento. Gli assuntori di MDMA hanno inoltre mostrato un significativo innalzamento negli indici di Anisotropia Frazionaria (FA) nei talami bilateralmente, nonché notevoli variazioni nella diffusività dell'acqua in molte regioni collegate al circuito gangli della base-talamo-corticale. L'alterazione del MI e degli indici di integrità della microstruttura della sostanza bianca nei gangli della base suggerisce, secondo gli autori, che queste regioni, essenziali nella regolazione motoria, sensorimotoria, cognitiva ed emotiva-motivazionale, siano particolarmente suscettibili alla tossicità MDMA-correlata.

Figura 16 - Mappe statistiche di FA e di ADC. (a) In questa mappa sono mostrate le zone in cui FA è maggiore negli utilizzatori di MDMA rispetto ai controlli. (b) Le zone in cui FA è maggiore nei controlli rispetto agli utilizzatori di MDMA. (c) Le zone in cui ADC è maggiore nei controlli rispetto al gruppo MDMA. (d) Le zone in cui ADC è maggiore nel gruppo MDMA rispetto ai controlli. I colori giallo-rosso indicano una differenza significativa tra i due gruppi. Fonte: Liu HS et al., 2011.



## 4. Imaging funzionale fMRI

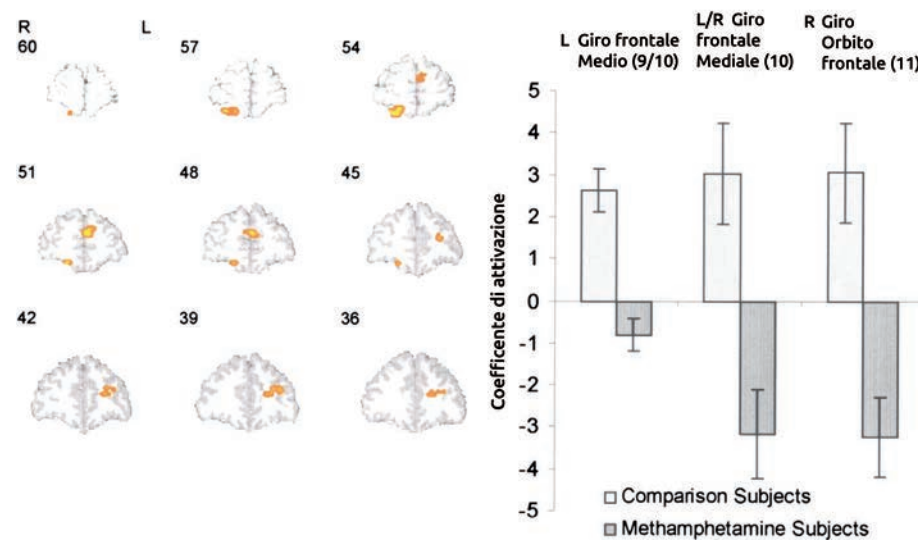
Molti studi di Risonanza Magnetica funzionale (fMRI) sulla dipendenza da metanfetamina provengono dal gruppo di ricerca di Paulus e colleghi (Paulus MP et al. 2002, 2003, 2005, 2008). Essi hanno utilizzato tecniche di fMRI per indagare i correlati neurali delle competenze decisionali, notevolmente compromesse nei soggetti dipendenti da MA. Comprendere i processi di decision-making in questo tipo di soggetti è cruciale per capire i meccanismi attraverso i quali tali individui sembrano effettuare decisioni sub-ottimali, che può condurli all'uso continuativo di sostanze e alla tossicodipendenza. Per investigare le basi anatomiche del decision-making nella dipendenza da MA, Paulus e collaboratori hanno utilizzato lo stesso compito cognitivo (two-choice prediction task) nei diversi studi che hanno effettuato. Questo compito valuta la capacità di effettuare decisioni ottimali in situazioni di incertezza sul futuro, con solo un 50% delle risposte corrette che vengono rinforzate. I

Alterazione dei  
processi decisionali  
associate all'utilizzo  
di MA



dati comportamentali che provengono da questi studi riportano in misura consistente che i consumatori di MA vengono maggiormente influenzati nelle loro scelte dai successi o dai fallimenti più immediati o recenti. Al contrario, i controlli sono più inclini a modulare la strategia di risposta in base all'outcome che segue la risposta. I dati di neuroimaging funzionale che provengono da questi studi indicano che l'attività cerebrale associata a questo compito cognitivo è maggiore nel giro destro frontale inferiore (BA44) e nel giro sinistro frontale mediale (BA46) nei controlli rispetto al gruppo di dipendenti da MA (Paulus MP et al. 2002).

Figura 17 - (Sinistra) Mappa delle soglie di attivazione. I numeri corrispondono alle coordinate secondo Talairach. (Destra) Differenze di attivazione tra il gruppo di soggetti dipendenti da MA ed i controlli nel giro frontale medio di sinistra, nel giro frontale mediale bilaterale e nel giro orbito-frontale destro (i numeri tra parentesi sono le aree di Brodmann). Fonte: Paulus MP et al., 2002.

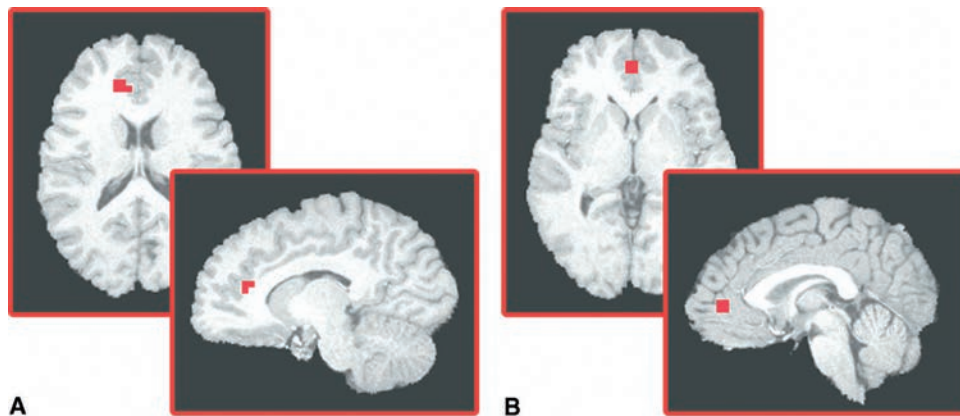


Pattern di alterata attivazione corticale durante i processi decisionali nei soggetti che utilizzano MA

In uno studio più recente ancora il gruppo di ricerca di Paulus ha effettuato una risonanza magnetica funzionale mentre veniva testata la capacità d'inibizione alla risposta mediante un paradigma di GO/NO-GO in 19 individui da poco tempo astinenti da MA (25-50 giorni), confrontandola con quella di un gruppo di controllo di pari età (Leland DS et al., 2008). I dati di imaging funzionale rivelano che il gruppo di soggetti con dipendenza da MDMA presenta maggiore attività in presenza dello stimolo a cui dovevano dare risposta nella corteccia cingolata anteriore (ACC) ventrale e dorsale rispetto ai controlli. Secondo gli autori questo pattern di attivazione alterato nella corteccia cingolata anteriore, zona critica nei processi decisionali, potrebbe essere associabile alle difficoltà che presentano gli utilizzatori di MA nell'inibirne l'uso e le ricadute.



Figura 18 - Attivazione della corteccia cingolata anteriore nei soggetti dipendenti da metanfetamina (A) e nei controlli sani (B) durante l'inibizione (compito no-go/go). Fonte: Leland DS et al., 2008.



Kim e colleghi hanno esaminato i processi di empatia sociale in 19 utilizzatori di MA in astinenza e in 19 controlli (Kim YT et al., 2011). Gli autori hanno usato dei cartoni su cui hanno disegnato due categorie differenti di storie, che implicavano empatia e causalità fisica. La condizione di empatia richiedeva che i soggetti si avvicinassero emotivamente alla situazione delle storie dipinte per immaginarsi il loro stato emotivo, mentre la condizione fisica richiedeva ai soggetti di immaginarsi solamente eventi fisici. Il risultato di chi utilizzava MA si è mostrato peggiore dei controlli in entrambe le condizioni. I reperti di imaging hanno rivelato, nel gruppo MA, una minore attività nella corteccia orbitofrontale, nei poli temporali e nell'ippocampo, ed un'iperattività nella corteccia prefrontale dorsolaterale. Gli autori concludono suggerendo che nei soggetti MA si assiste ad un maggiore utilizzo della corteccia prefrontale dorsolaterale rispetto ai controlli proprio a causa del mal funzionamento della corteccia orbitofrontale e alla compromissione dei processi coinvolti nell'empatia. La corteccia frontale mediale, compresa la OFC, si ritiene implicata nei processi di espressione emozionale, pertanto potrebbe essere critica nell'esperienza di empatia.

Pattern di alterata attivazione corticale durante i processi di empatia sociale nei soggetti che utilizzano MA

Altri studi hanno investigato la capacità di differire la gratificazione in soggetti con dipendenza da MA. Il differimento temporale della gratificazione si riferisce alla tendenza a preferire ricompense immediate rispetto a ricompense distanti nel tempo, e viene solitamente studiata attraverso paradigmi che presentano ai soggetti la scelta tra piccole ricompense immediate e grossi guadagni posticipati nel tempo. In questo modo può essere misurata l'impulsività individuale elicitata da una ricompensa, confrontandola con quella di altri soggetti. Si ipotizza che esistano due distinti sistemi neurali preposti a regolare questo tipo di processo decisionale: il sistema cognitivo, che include la corteccia prefrontale dorsolaterale e la corteccia parietale, che sarebbe coinvolta nel controllo cognitivo, ed il sistema limbico, che risponde maggiormente alle ricompense immediate (per questo descritto come il sistema "impaziente") (McClure SM et al., 2004). Questi due sistemi rappresentano una parte cruciale nei processi decisionali quotidiani, e vi sono evidenze che siano disfunzionali nei soggetti con dipendenza.

Alterazioni nei processi decisionali associate all'uso di MA

Altre evidenze  
di alterazioni nei  
processi decisionali  
associate all'uso  
di MA

Monterosso e il suo gruppo di ricerca hanno esaminato l'attività cerebrale durante un compito di differimento di una ricompensa in 12 soggetti dipendenti da metanfetamina (DSM IV) confrontandolo con 17 controlli sani (Monterosso JR et al., 2007). Il paradigma sperimentale era composto da 3 tipi di scelte: "le scelte difficili", in cui si trattava di scegliere tra una ricompensa immediata più piccola e una più grande differita, in cui però il valore delle 2 alternative era abbastanza simile; le "scelte facili" in cui le alternative si differenziavano drasticamente nel valore, e una condizione di controllo o di "non scelta". I dati comportamentali hanno mostrato una maggiore impulsività nelle scelte per la ricompensa immediata nel gruppo MA rispetto ai soggetti di controllo.

Le aree di attività durante il compito decisionale includevano la corteccia prefrontale ventrolaterale e dorsolaterale, e le aree attigue al solco intraparietale (IPS). I soggetti di controllo attivavano in misura molto maggiore la corteccia prefrontale dorsolaterale ed il solco parietale inferiore destro rispetto ai soggetti dipendenti da MA durante le scelte più difficoltose. Inoltre, nel gruppo MA non sono state rilevate differenze di attività tra le scelte "facili" e quelle "difficili" mentre i soggetti di controllo esibivano un minore reclutamento neurale nelle scelte "facili" rispetto a quelle "difficili". Gli autori suggeriscono che questa apparente inefficienza dei processi decisionali a livello corticale possa essere in parte collegato alla marcata incapacità a differire la gratificazione in questa popolazione.

**Figura 19 - Presentazione delle aree in cui è stato osservato un segnale significativamente maggiore nei blocchi di "scelte difficili" rispetto ai blocchi di "non scelta" nel gruppo di controllo rispetto agli utilizzatori di MA. Fonte: Monterosso JR et al., 2007.**

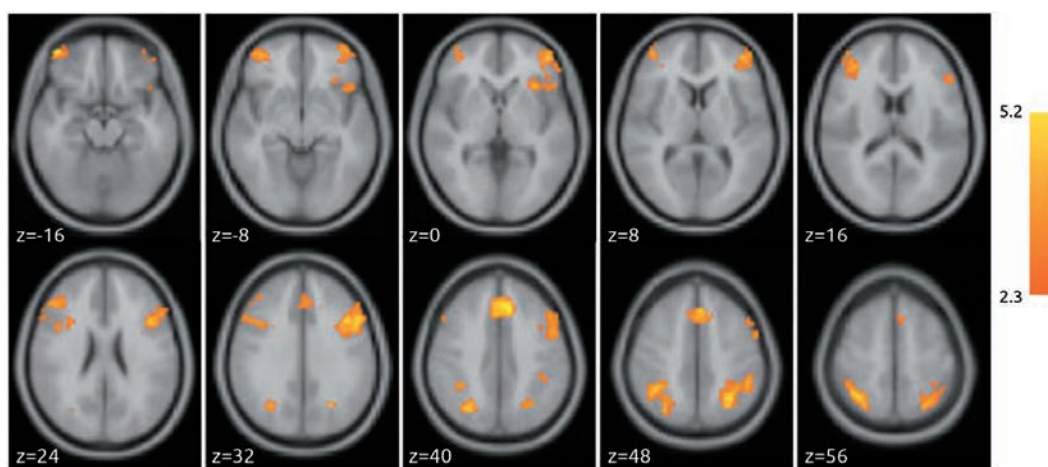
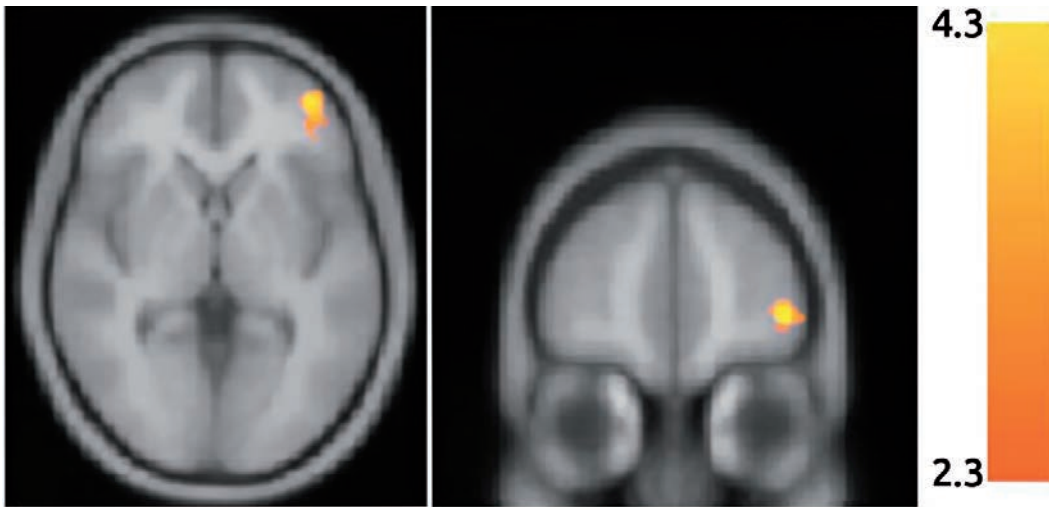


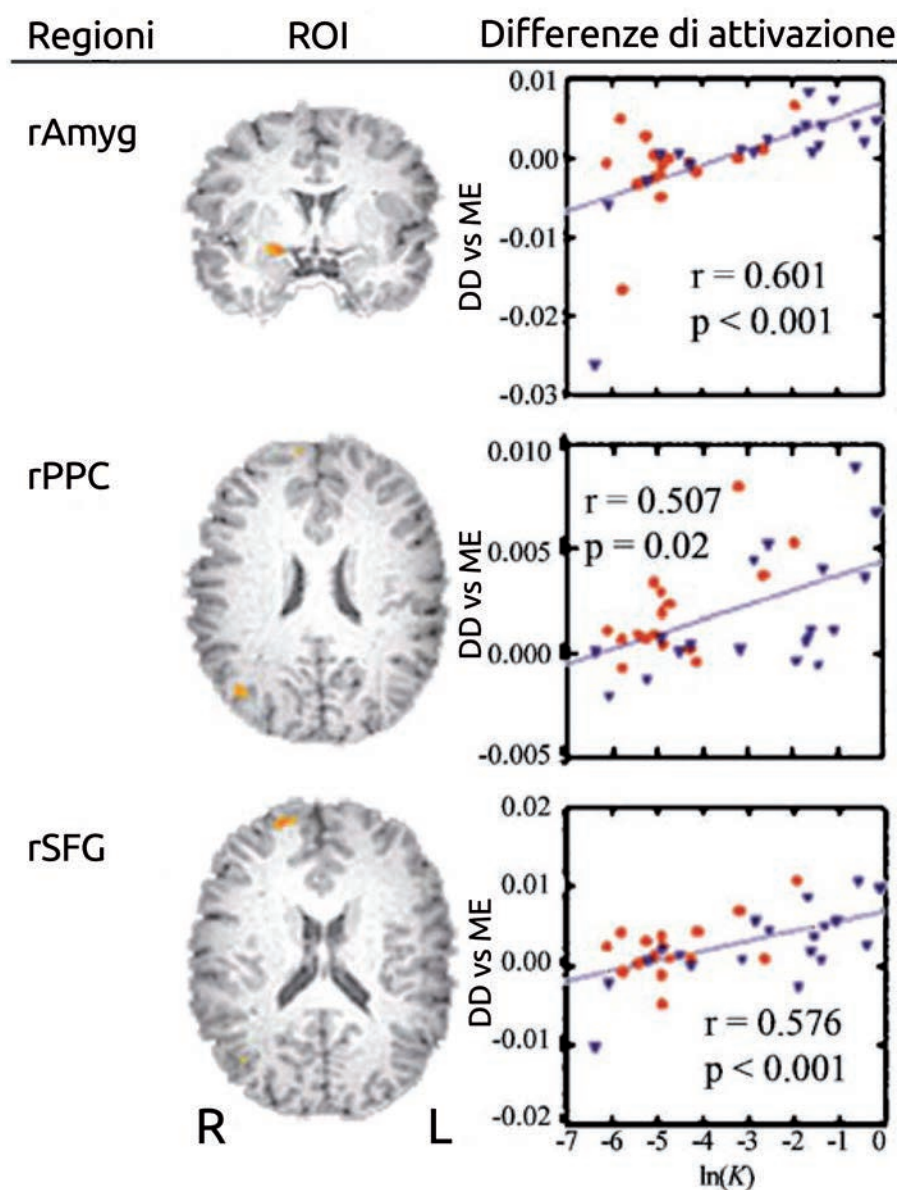
Figura 20 - Immagine radiologica di un cluster di attivazione sito nella corteccia prefrontale ventro-laterale (VLPFC) in cui un segnale più alto nelle "scelte difficili" era associato con minore differimento della gratificazione nei soggetti che utilizzavano MA. Fonte: Monterosso JR et al., 2007.



Anche Hoffmann e colleghi hanno misurato l'impulsività in un compito di differimento della gratificazione mentre monitoravano l'attività cerebrale in 19 soggetti con diagnosi di dipendenza da MA ( $34.8 \pm 10.0$  anni), e in 17 controlli sani (Hoffman WF et al., 2008). Partendo dai risultati di Monterosso e del suo gruppo che indicavano nei soggetti MA una maggiore propensione per le ricompense immediate, Hoffman ha ipotizzato una compromissione nel sistema cognitivo associata ad una maggiore funzionalità del sistema limbico-affettivo, i due sistemi preposti a mediare la scelta tra le piccole gratificazioni immediate e le più grosse ricompense differite. I dati comportamentali hanno rivelato che i soggetti con dipendenza da MA prendevano le decisioni più impulsivamente rispetto ai controlli e mostravano un'ipoattività nel precuneo bilaterale, nel caudato destro, nella corteccia cingolata anteriore (ACC) e nella corteccia prefrontale dorsolaterale. Il gruppo di controllo d'altra parte ha esibito in queste stesse zone un'attivazione molto maggiore durante le scelte "difficili". Questi risultati sono consistenti con la teoria secondo cui i sistemi cognitivi dorsali modulano le risposte neurali fornite dalle regioni ventrali. I pazienti dipendenti da MA, che preferiscono sensibilmente le piccole ricompense immediate rispetto a quelle più grandi ma posticipate nel tempo, attivano il sistema cognitivo dorsale per poter soppraffare questa loro attitudine.

Ipoattività delle regioni prefrontali nei soggetti dipendenti da MA

Figura 21 - Valori medi di attivazione nelle regioni d'interesse (sinistra) per i singoli soggetti. (punti rossi) controlli, (punti blu) soggetti MA. rAmyg= amigdala destra, rPPC= corteccia parietale posteriore destra, rSFG= giro frontale superiore destro. Fonte: Hoffman WF et al., 2008.



Alterazione  
funzionale nelle  
regioni critiche per  
la memoria verbale  
nei consumatori di  
MDMA

Vi sono numerose evidenze che l'uso di 3,4-metilenediossimetanfetamina (MDMA) alteri la memoria ed alcuni studi di morfometria hanno mostrato che nei consumatori di questa droga vi è una diminuzione della sostanza grigia nelle aree di Brodmann (BA) 18, 21 e 45, regioni con un ruolo critico nella memoria verbale (Cowan RL et al., 2003). Raj e i suoi collaboratori hanno effettuato uno studio di fMRI su 18 soggetti dipendenti da ecstasy mentre effettuavano un compito di memoria verbale semantica per verificare se si evidenziavano alterazioni nell'attivazione metabolica in queste zone (Raj V et al., 2010). Durante il riconoscimento semantico i soggetti con dipendenza da MDMA hanno mostrato effettivamente un minore cambiamento nel segnale BOLD nelle aree di Brodmann 9, 18 e 21/22 nell'emisfero sinistro. Queste aree in particolare mediano la memoria verbale, e questo potrebbe, in parte, spiegare i deficit di memoria osservata in questo tipo di pazienti.

Figura 22 - (Sopra) Proiezioni nei 3 assi che dimostrano le regioni di ridotto spessore nella sostanza grigia nei soggetti che usano MDMA rispetto ai controlli. P: posteriore, R: destra. A: anteriore. BA: area di Brodmann. (Sotto) Sezioni laterale e ventrale che mostrano la riduzione nella concentrazione della sostanza bianca negli utilizzatori di MDMA, sovrapposte ad un cervello standard (in rosso la soglia di significatività). Fonte: Cowan RL et al., 2003.

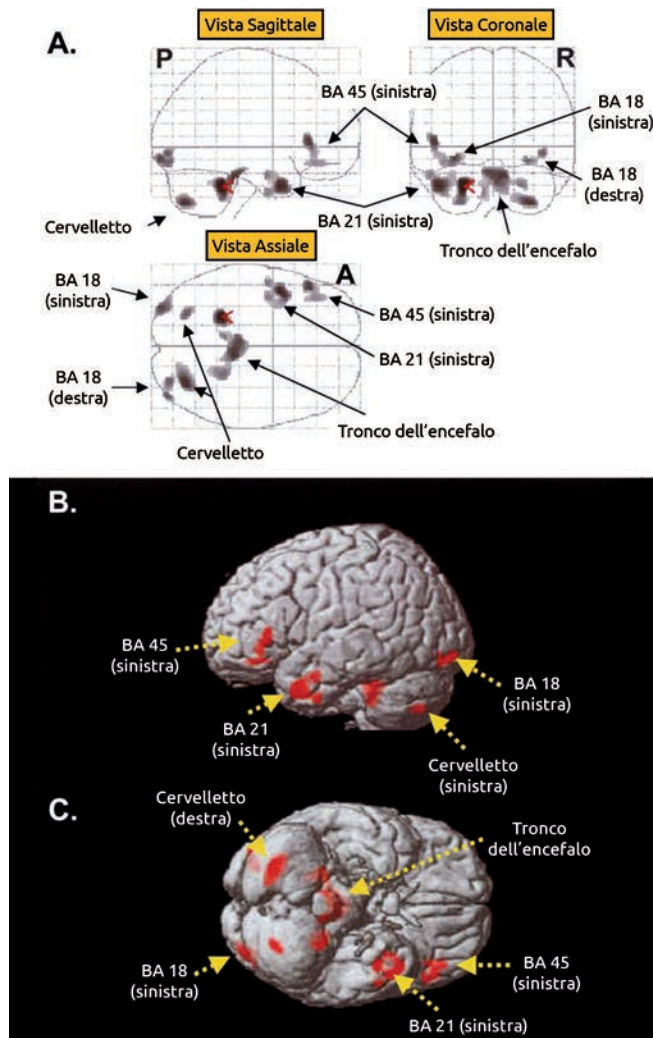
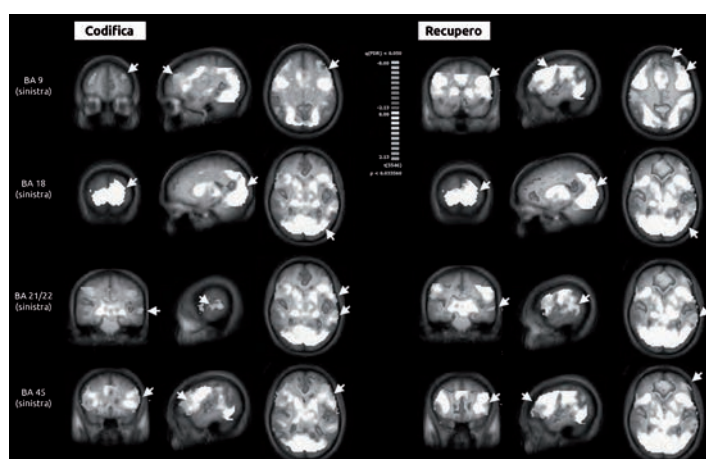


Figura 23 - Attivazione cerebrale durante la codifica ed il recupero di parole. Le frecce indicano l'attivazione regionale nelle aree di Brodmann (BA) 9, 18, 21/22 e 45. Il bianco più intenso indica una maggiore attivazione durante il compito. Fonte: Raj V et al., 2010.

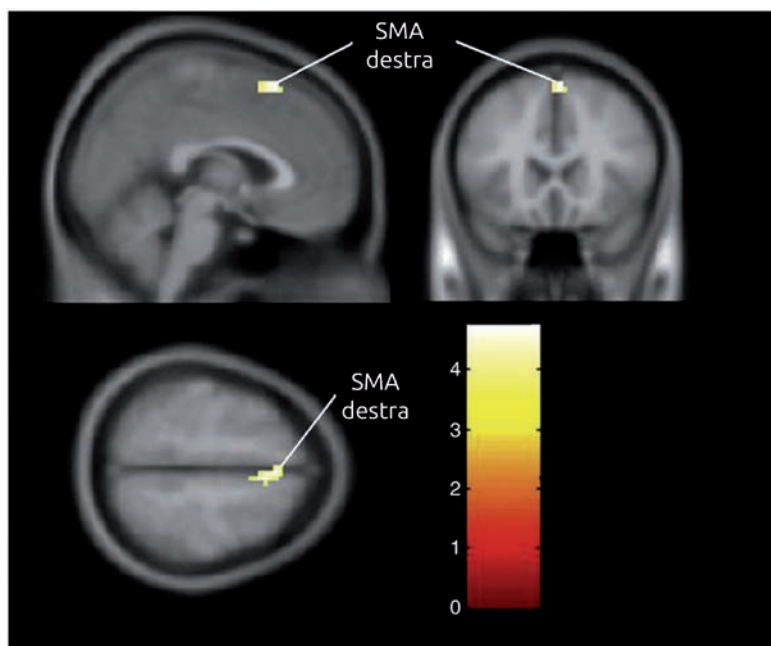




### Alterazioni nei processi motori correlate all'uso di MDMA

Un altro recente studio ha utilizzato la risonanza magnetica funzionale ad alto campo (3.0 Tesla) per analizzare le variazioni nell'attivazione cerebrale durante un compito motorio di reazione attraverso digitazione in 14 consumatori di MDMA di età compresa tra i 18 ed i 35 anni, e in 10 controlli sani (Karageorgiou J et al. 2009). Gli autori hanno riscontrato, nei soggetti sperimentali, una maggiore attivazione funzionale nell'area motoria supplementare (SMA) rispetto al gruppo di controllo, nonostante non vi fossero differenze significative tra i 2 gruppi nei tempi di reazione. La maggiore attivazione correlava inoltre con gli anni di utilizzo della sostanza, suggerendo, secondo gli autori, che l'uso di ecstasy potrebbe indurre alterazioni secondarie nei processi motori, attraverso il circuito gangliare-talamo-corticale.

Figura 24 - Differenze tra gruppi (Utilizzatori di MDMA-Controlli) di attivazione durante il task motorio nell'area supplementare motoria destra (SMA). Fonte: Karageorgiou J et al., 2009.

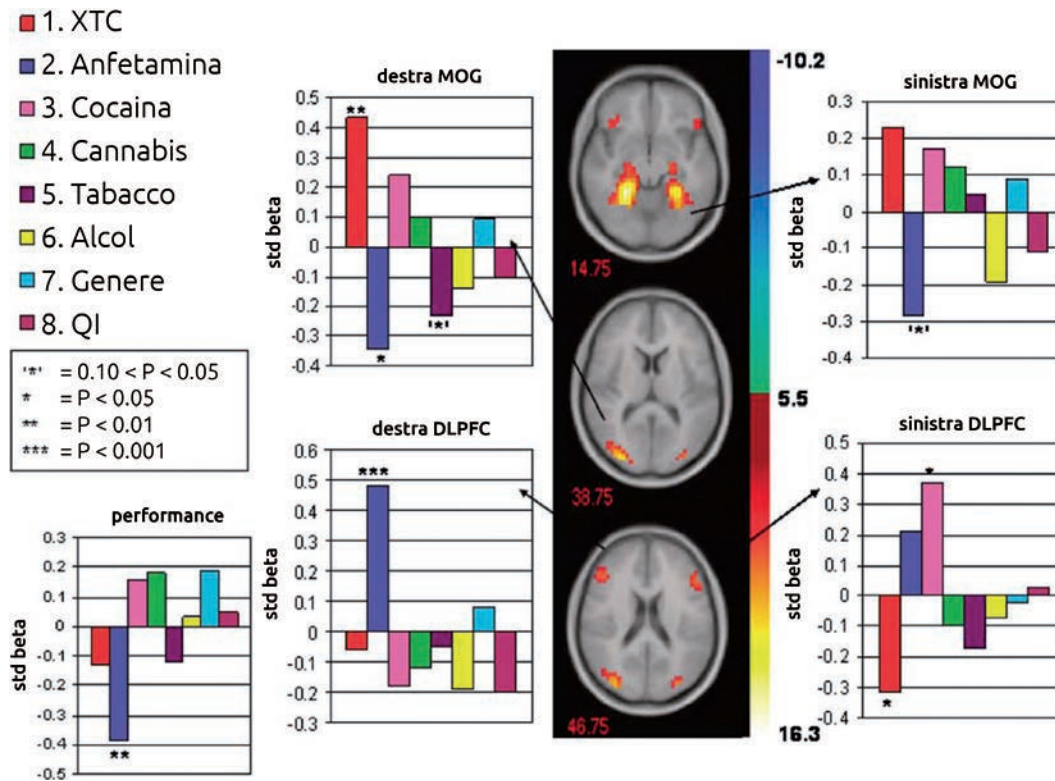


### L'MDMA altera i processi di apprendimento associativo

In un interessante studio di Jager e colleghi gli autori hanno indagato gli effetti specifici dell'ecstasy sulla working memory, sull'attenzione e sulla memoria associativa, utilizzando la risonanza magnetica funzionale e cercando di dissociare gli effetti causati dalle altre droghe (Jager G et al., 2008). La maggiore criticità nello studio dei soggetti che fanno uso di MDMA e di metanfetamine è che essi sono quasi sempre poliassuntori, quindi i risultati possono essere soggetti a molti fattori confondenti. Il campione includeva 33 utilizzatori di ecstasy (una media di 322 pasticche assunte nel corso della vita) ai quali sono state testate le funzioni neuropsicologiche nei 3 domini cognitivi per mezzo di test specifici. Gli effetti dell'uso di ecstasy sono stati rilevati indipendentemente da quelli delle altre sostanze e sono stati analizzati separatamente mediante regressione multipla. L'analisi statistica ha mostrato che l'uso di ecstasy e di metanfetamine altera significativamente l'attività cerebrale legata all'apprendimento associativo, anche se in modo diverso, a causa dei diversi sistemi neurotrasmettitoriali su cui queste due droghe agiscono principalmente, quello serotoninergico per l'ecstasy e quello dopaminergico per le metanfetamine.



Figura 25 - Quadro d'insieme dei risultati dell'analisi di regressione multipla. I valori sulle assi verticali riflettono la forza e la direzione dell'associazione tra l'uso della droga e l'intensità dell'attività in una data regione cerebrale. Le barre colorate sull'asse orizzontale rappresentano le diverse droghe (vedi legenda) Abbreviazioni: L-PHR regione paraippocampale sinistra, L-DLPFC corteccia prefrontale dorsolaterale sinistra, R-DLPFC corteccia prefrontale dorsolaterale destra, R-MOG giro medio occipitale destro. Le sezioni sono in coordinate radiologiche (il lato sinistro è l'emisfero destro e viceversa) Fonte: Jager G et al., 2008.



## 5. Tomografia a Emissione di Positroni (PET)

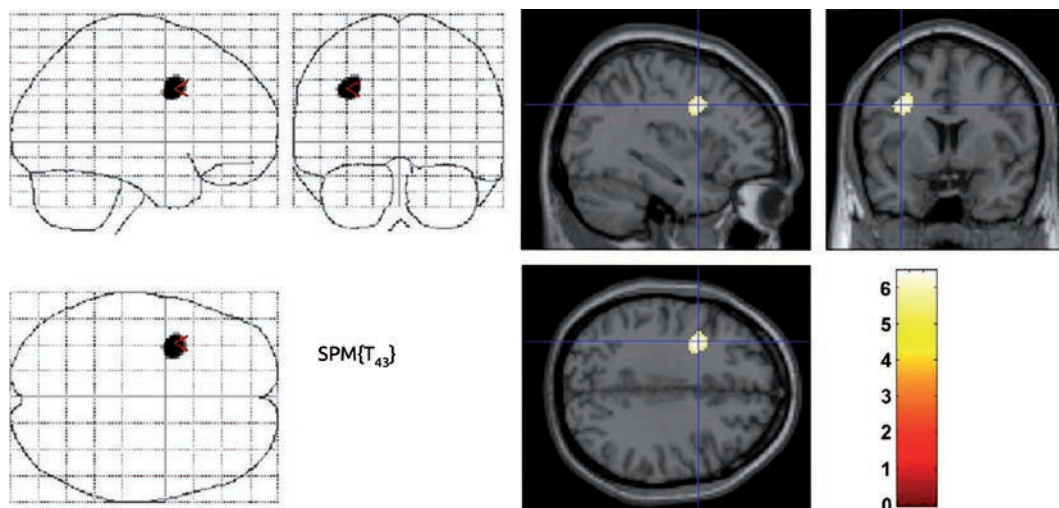
La PET può essere utilizzata per esaminare il funzionamento dopaminergico, comprese le proprietà di legame recettoriale ed il funzionamento dei trasportatori della dopamina (DAT), il funzionamento serotoninergico ed il metabolismo del glucosio in individui con storia di metanfetamina. Gli studi preclinici suggeriscono che l'MA produca profondi danni alle cellule dopaminergiche (Preston KL et al., 1985) e serotoninergiche (Ricaurte GA et al. 1980, 1994).

Kim e colleghi hanno indagato, in uno studio PET, la funzionalità della corteccia frontale in 24 pazienti dipendenti da metanfetamina e in 21 controlli di pari età (Kim YT et al., 2009). La scansione PET è stata effettuata sia in stato di riposo (paradigma resting state) che durante l'esecuzione di un compito per le funzioni esecutive (Wisconsin Card Sorting Test). Dal punto di vista comportamentale i soggetti dipendenti da MA ottenevano punteggi più bassi al WCST rispetto ai controlli, commettendo molti più errori perseverativi ed errori totali. I risultati della PET hanno mostrato un ipometabolismo del glucosio nella sostanza bianca frontale sinistra inferiore nei soggetti in astinenza da MA, che correlava con la dose cumulativa di metanfetamina assunta durante la vita, alterazione metabolica che può esse-

Alterazioni funzionali nelle regioni frontali associate all'uso di MA

re associata ai deficit riscontrati nelle funzioni esecutive.

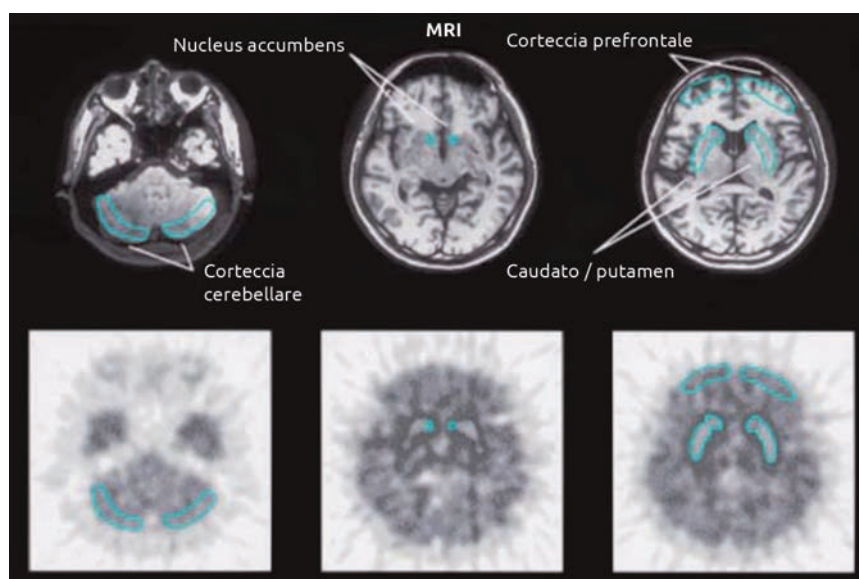
Figura 26 - L'analisi PET ha rivelato un significativo ipo-metabolismo nella sostanza bianca inferiore sinistra nei pazienti dipendenti da metanfetamina rispetto ai controlli. (Sinistra) Proiezione trasparente, (Destra) Vista in sezioni su un template standard. Fonte: Kim YT et al., 2009.



Alterazioni  
del sistema  
dopaminergico  
associate all'uso  
di MA

Una quantità notevole di studi ha riportato una severa deplezione di dopamina nei cervelli degli utilizzatori cronici di MA. Iyo e colleghi, hanno esaminato le alterazioni neurochimiche e metaboliche in 11 soggetti dipendenti da MA ed in 9 controlli che non utilizzavano sostanze (Iyo M et al., 2004). Nonostante non siano state trovate differenze significative tra i due gruppi nella densità dei recettori D2 per la dopamina nello striato, tuttavia è risultata molto più bassa la densità dei trasportatori della dopamina (DAT) nel nucleo accumbens, nel caudato e nel putamen del gruppo MA. È interessante notare che questa riduzione risultava significativamente correlata con gli anni di utilizzo della metanfetamina.

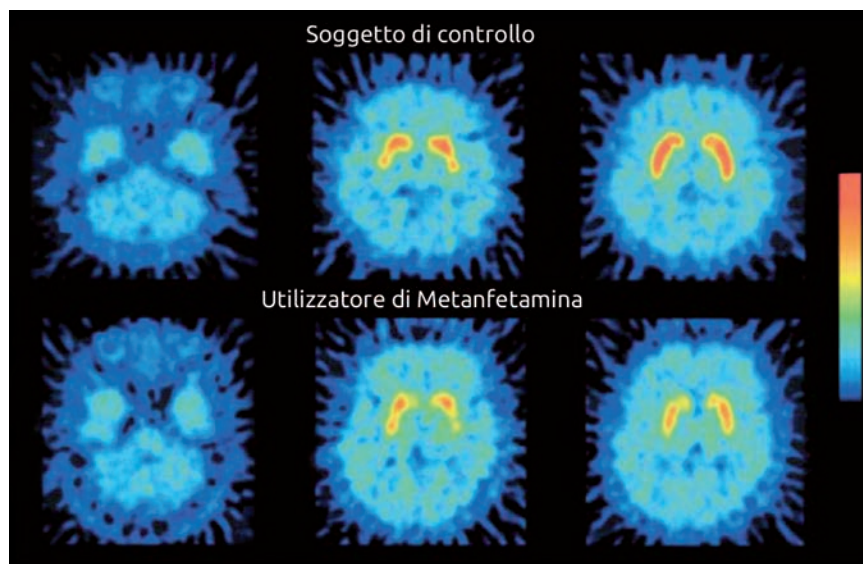
Figura 27 - Regioni cerebrali d'interesse per uno studio PET di 11 soggetti dipendenti da metanfetamina e 9 soggetti di controllo. Le regioni d'interesse (ROI) sono mostrate bilateralmente su immagini di risonanza magnetica MRI e PET. Fonte: Iyo M et al., 2004.



Uno studio PET di Sekine e colleghi (Sekine Y et al., 2001) ha indagato approfonditamente la densità dei trasportatori della dopamina (DAT) nella corteccia prefrontale, nel nucleo accumbens, nel caudato e nel putamen in 11 soggetti maschi dipendenti da MA secondo il DSM IV ed in 9 soggetti di controllo. I ricercatori hanno trovato, iniettando un radioligando specifico, una densità molto minore dei trasportatori per la dopamina in tutte queste regioni nei soggetti MA rispetto ai controlli. La diminuzione dei trasportatori per la dopamina correlava con l'intensità dei sintomi psicotici e con gli anni di utilizzo di sostanza. Secondo gli autori questi risultati potrebbero provare che un uso più lungo di metanfetamine potrebbe provocare una perdita dei trasportatori di dopamina nel cervello, a cui potrebbero essere attribuiti i sintomi psichiatrici persistenti in molti utilizzatori di metanfetamina.

Diminuzione della densità dei trasportatori della dopamina (DAT) associata all'uso di MA

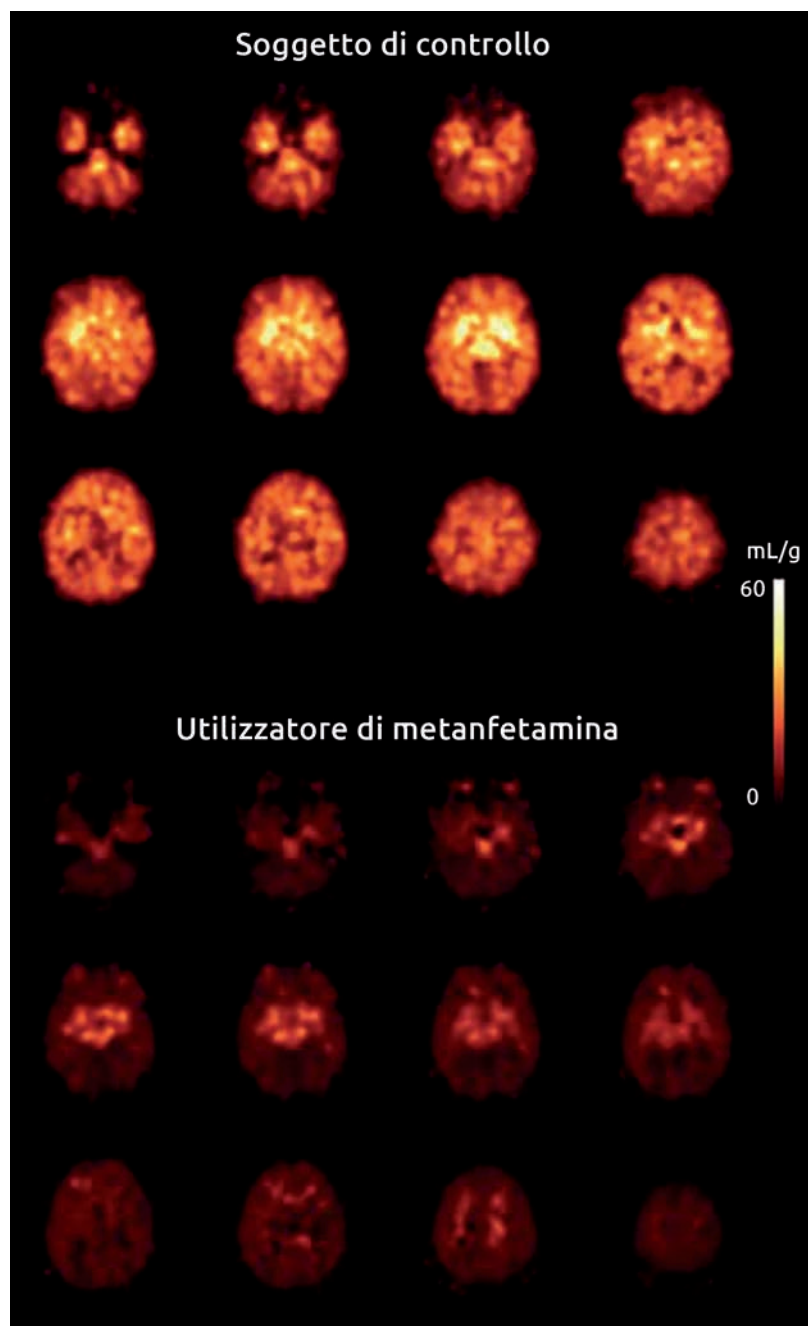
**Figura 28 - Immagini PET di un soggetto di controllo rappresentativo e di un paziente dipendente da metanfetamina ricostruite dopo 60 minuti dall'iniezione del tracciante ([11C]WIN-35,428).** I livelli di radioattività nel nucleo accumbens, nel caudato e nel putamen erano significativamente minori negli utilizzatori di metanfetamina rispetto ai controlli. Fonte: Sekine Y et al., 2001.



Pochi studi hanno utilizzato la PET per indagare gli effetti a lungo termine dell'uso di metanfetamina sul sistema serotoninergico negli umani. Sekine e colleghi hanno trovato una diminuzione del trasportatore presinaptico per la serotonina (SERT) nel mesencefalo, nel talamo, nel caudato, nel putamen e nella corteccia orbitofrontale di soggetti in astinenza da MA, rispetto ai controlli sani. Questo decremento correlava con gli anni di utilizzo della sostanza e non aveva invece correlazione alcuna con il periodo di astinenza (che poteva durare da 6 mesi a 5 anni) (Sekine Y et al., 2006).

Alterazioni del sistema serotoninergico associate all'uso di MA

Figura 29 - Immagine voxel-based morphometry della distribuzione del trasportatore presinaptico per la serotonina in un soggetto di controllo e su un utilizzatore di metanfetamina. La densità nel cervello del soggetto dipendente è molto minore rispetto a quella del soggetto sano. Fonte: Sekine Y et al., 2006.

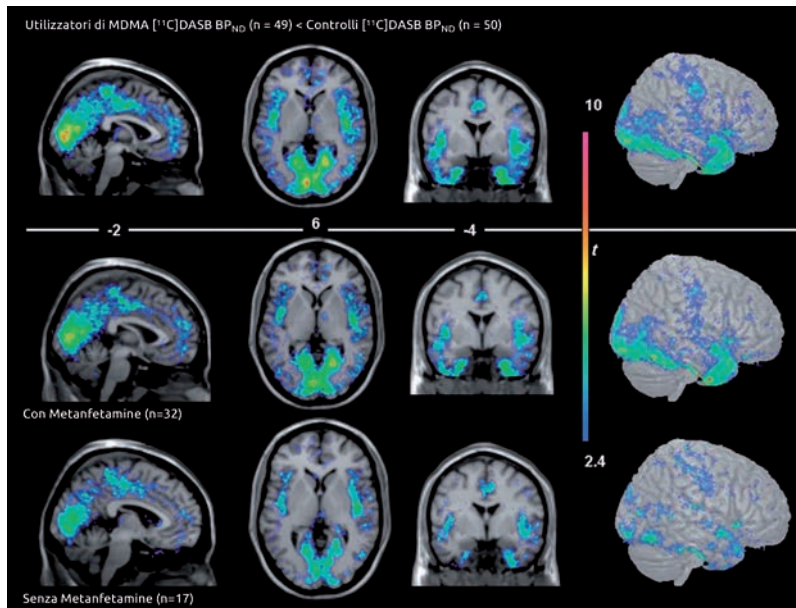


Alterazioni  
del sistema  
serotonergico  
associate all'uso di  
MDMA

Anche nei soggetti dipendenti da ecstasy Kish SJ e colleghi (2010) hanno indagato la densità di trasportatori della serotonina (SERT) in alcune zone d'interesse del cervello, utilizzando un radiolegando specifico ( $[^{11}\text{C}]\text{DASB BPND}$ ). Misurando la densità dei trasportatori presinaptici per la serotonina in 49 utilizzatori cronici di ecstasy dopo breve astinenza, gli autori hanno misurato, rispetto ai 50 controlli, una significativa riduzione su tutta la corteccia cerebrale e nell'ippocampo. Questa diminuzione correlava con gli anni di utilizzo di sostanza e, di nuovo, non sembrava recedere dopo il periodo di astinenza.



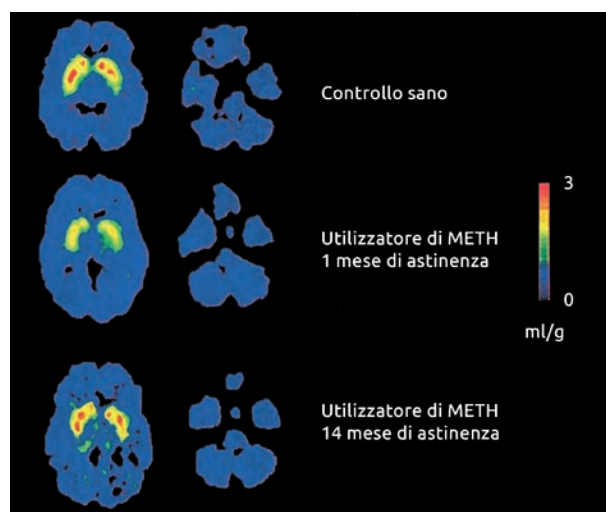
Figura 30 - Mappa statistica che mostra una ridotta quantità di [ $^{11}\text{C}$ ]DASB BPND corticale e ippocampale negli utilizzatori di ecstasy. Alcuni dei pazienti che facevano uso anche di metanfetamina hanno mostrato livelli ancora più bassi del trasportatore per la serotonina. Fonte Kish SJ et al., 2010.



Questo pattern di mancato recupero dopo astinenza sembra non essere replicato dai trasportatori cerebrali della dopamina (DAT). Infatti, in un importante studio PET longitudinale su consumatori di metanfetamina (Volkow ND et al., 2001), gli autori hanno esaminato la riduzione del trasportatore DAT nello striato di 5 utilizzatori di MA che erano stati testati dopo un breve periodo di astinenza (meno di 6 mesi) e poi di nuovo dopo che essi avevano protratto l'astinenza più a lungo (12-17 mesi). I ricercatori hanno misurato un sostanziale incremento nei trasportatori per la dopamina a seguito di un periodo di astinenza di un anno o più, suggerendo che l'astinenza prolungata potrebbe rendere reversibili alcune delle alterazioni indotte dalla metanfetamina sul sistema dopaminergico cerebrale.

Parziale reversibilità delle alterazioni ai trasportatori della dopamina (DAT) dopo astinenza prolungata

Figura 31 - Immagini PET della distribuzione del radioligando specifico per i trasportatori della dopamina [ $^{11}\text{C}$ ] d-threomethylphenidate, nel cervello di un soggetto di controllo e di un utilizzatore di metanfetamina. Le valutazioni sono state fatte 2 volte, durante breve astinenza e dopo astinenza protratta nel tempo. Da notare il significativo aumento nella disponibilità di legame nello striato del consumatore di metanfetamina dopo astinenza prolungata. Fonte: Volkow ND et al., 2001.



## 6. Conclusioni

La principale criticità nello studio dei danni e dei meccanismi teratogeni apportati dalle metanfetamine e dai suoi derivati al cervello risiede nel fatto che la maggior parte dei soggetti che usano MA sono di fatto policonsumatori, che utilizzano abitualmente altre sostanze. Tutti gli approcci di neuroimaging sono quindi critici per comprendere a pieno i potenti effetti neurotossici delle metanfetamine sul cervello umano e, attraverso l'elaborazione statistica, per poter isolare gli effetti imputabili direttamente a queste sostanze. In alcuni casi sembra che la funzionalità neurale abbia la capacità di recuperare a seguito di una prolungata astinenza (Salo et al., 2011; Volkow et al., 2001; Wang et al., 2004; Nordahl et al., 2005; Kim et al., 2006; Ernst e Chang, 2008). Questo potrebbe in parte essere dovuto al fatto che, nonostante le MA siano particolarmente dannose per i processi assonali, potrebbero risparmiare il corpo cellulare (Fowler et al., 2008). Questi risultati che collegano lunghi periodi di astinenza a miglioramenti nella funzionalità cerebrali sono stati estesi anche alle capacità cognitive (Simon et al., 2010; Salo et al., 2009).

## Bibliografia

1. Alicata D, Chang L, Cloak C, Abe K, Ernst T (2009) Higher diffusion in striatum and lower fractional anisotropy in white matter of methamphetamine users. *Psychiatry Res* 174:1–8.
2. Auer, J., Berent, R., Weber, T., Lassnig, E., & Eber, B. (2002). Subarachnoid haemorrhage with "Ecstasy" abuse in a young adult. *Neurol Sci*.
3. Chang L, Cloak C, Patterson K, Grob C, Miller EN, Ernst T (2005) Enlarged striatum in abstinent methamphetamine abusers: a possible compensatory response. *Biol Psychiatry* 57:967–974.
4. Chung A, Lyoo IK, Kim SJ, Hwang J, Bae SC, Sung YH, Sim ME, Song IC, Kim J, Chang KH, Renshaw PF (2007) Decreased frontal white-matter integrity in abstinent methamphetamine abusers. *Int J Neuropsychopharmacol* 10:765–775.
5. Costa, A., & Caltagirone, C. (2009). *Malattia di Parkinson e parkinsonismi: La prospettiva delle neuroscienze cognitive*. Springer.
6. Di Iorio, C., Watkins, T., Dietrich, M., & Cao, A. (2011). Evidence for Chronically Altered Serotonin Function in the Cerebral Cortex of Female 3,4-Methylenedioxymethamphetamine Polydrug Users. *ARCH GEN PSYCHIATRY*.
7. Ernst T, Chang L (2008) Adaptation of brain glutamate plus glutamine during abstinence from chronic methamphetamine use. *J NeuroimmunePharmacol* 3:165–172.
8. Fowler JS, Volkow ND, Logan J, Alexoff D, Telang F, Wang GJ, Wong C, Ma Y, Kriplani A, Pradhan K, Schlyer D, Jayne M, Hubbard B, Carter P, Warner D, King P, Shea C, Xu Y, Muench L, Apelskog K (2008) Fast uptake and long-lasting binding of methamphetamine in the human brain: comparison with cocaine. *Neuroimage* 43:756–763.
9. Hoffman WF, Schwartz DL, Huckans MS, McFarland BH, Meiri G, Stevens AA, Mitchell SH (2008) Cortical activation during delay discounting in abstinent methamphetamine dependent individuals. *Psychopharmacology (Berl)* 201:183–193.
10. Hua-Shan Liu, Ming-Chung Chou, Hsiao-Wen Chung, Nai-Yu Cho, Shih-Wei Chiang, Chao-Ying Wang, Hung-Wen Kao, Guo-Shu Huang, Cheng-Yu Chen (2011) Potential Long-term Effects of MDMA on the Basal Ganglia-Thalamocortical Circuit: A Proton MR Spectroscopy and Diffusion-Tensor Imaging Study. *Radiology: Volume 260: Number 2*.
11. Iyo M, Sekine Y, Mori N (2004) Neuromechanism of developing methamphetamine psychosis: a neuroimaging study. *Ann N Y AcadSci* 1025:288–295.
12. Jernigan, T., Gamst, A., Archibald, S., & Fennema-Notestine, C. (2005). Effects of methamphetamine dependence and HIV infection on cerebral morphology. *American Journal of Psychiatry*, 1461–72.
13. Jager G, de Win M, van der Tweel I, et al. Assessment of Cognitive Brain Function in Ecstasy Users and Contributions of Other Drugs of Abuse: Results from an fMRI Study. *Neuropsychopharmacology* (2008) 33, 247–258.
14. Karageorgiou J., Dietrich MS, Charboneau EJ, Woodward ND, Blackford JU, Salomon RM, Cowan RL (2009). Prior MDMA (Ecstasy) use is associated with increased basal ganglia-thalamocortical circuit activation during motor task performance in humans: An fMRI study. *NeuroImage* 46 (2009) 817–826
15. Kim SJ, Lyoo IK, Hwang J, Chung A, Hoon Sung Y, Kim J, Kwon DH, Chang KH, Renshaw PF (2006) Prefrontal grey-matter changes in short-term and long-term abstinent methamphetamine abusers. *Int J Neuropsychopharmacol* 9:221–228.
16. Kim YT, Kwon DH, Chang Y (2011) Impairments of facial emotion recognition and theory of mind in methamphetamine abusers. *Psychiatry Res* 186:80–84.
17. Kish, S.J., Lerch, J., Furukawa, Y., Tong, J., Mc Cluskey, T., Wilkins, D., Houle, S., Meyer, J., Mundo, E., Wilson, A.A., Rusjan, P.M., Saint-Cyr, J.A., Guttman, M., Collins, D.L., Shapiro, C., Warsh, J.J., Boileau, I., 2010. Decreased



- sed cerebral cortical serotonin transporter binding in ecstasy users: a positron emission tomography/[<sup>11</sup>C] DASB and structural brain imaging study. *Brain* 133, 1779–1797.
18. Leland DS, Arce E, Miller DA, Paulus MP (2008) Anterior cingulate cortex and benefit of predictive cueing on response inhibition in stimulant dependent individuals. *Biol Psychiatry* 63:184–190
  19. Melega, W. P., Quintana, J., Raleigh, M. J., Stout, D. B., Yu, D. C., Lin, K. P., . . . Phelps, M. E. (1996). 6-[<sup>18</sup>F] fluoro-L-DOPA-PET studies show partial reversibility of long-term effects of chronic amphetamine in monkeys. *Synapse*, 22:63–69.
  20. Monterosso JR, Ainslie G, Xu J, Cordova X, Domier CP, London ED (2007) Frontoparietal cortical activity of methamphetamine-dependent and comparison subjects performing a delay discounting task. *Hum Brain Mapp* 28:383–393.
  21. Nordahl TE, Salo R, Natsuaki Y, Galloway GP, Waters C, Moore CD, Kile S, Buonocore MH (2005) Methamphetamine users in sustained abstinence: a proton magnetic resonance spectroscopy study. *Arch Gen Psychiatry* 62:444–452.
  22. Oh JS, Lyoo IK, Sung YH, Hwang J, Kim J, Chung A, Park KS, Kim SJ, Renshaw PF, Song IC (2005) Shape changes of the corpus callosum in abstinent methamphetamine users. *NeurosciLett* 384:76–81.
  23. O'Hearn, E., Battaglia, G., De Souza, E. B., Kuhar, M. J., & Molliver, M. E. (1988). Methylenedioxymphetamine (MDA) and methylenedioxymethamphetamine (MDMA) cause selective ablation of serotonergic axon terminals in forebrain: immunocytochemical evidence for neurotoxicity. *J Neurosci*, 8:2788–2803.
  24. Paulus MP, Hozack NE, Zauscher BE, Frank L, Brown GG, Braff DL, Schuckit MA (2002) Behavioral and functional neuroimaging evidence for prefrontal dysfunction in methamphetamine-dependent subjects. *Neuropsychopharmacology* 26:53–63.
  25. Payer DE, Lieberman MD, London ED (2011) Neural correlates of affect Processing and aggression in methamphetamine dependence. *Arch Gen Psychiatry* 68:271–282.
  26. Quinton, M. S., & Yamamoto, B. K. (2006). Causes and consequences of methamphetamine and MDMA toxicity. *Aaps J*, 8:E337–E347.
  27. V. Raj, HC Liang, ND Woodward, AL Bauernfeind, J. Lee, MS Dietrich, S. Park and RL Cowan. MDMA (ecstasy) use is associated with reduced BOLD signal change during semantic recognition in abstinent human polydrug users: a preliminary fMRI study. *J Psychopharmacol* 2010 24:187.
  28. Ricaurte, G. A., Schuster, C. R., & Seiden, L. S. (1980). Long-term effects of repeated methylamphetamine administration on dopamine and serotonin neurons in the rat brain: a regional study. *Brain Res*, 193:153–163.
  29. Ricaurte, G. A., Seiden, L. S., & Schuster, C. R. (1984). Further evidence that amphetamines produce long-lasting dopamine neurochemical deficits by destroying dopamine nerve fibers. *Brain Res*, 303:359–364.
  30. Salo R, Buonocore MH, Leamon M, Natsuaki Y, Waters C, Moore CD, Galloway GP, Nordahl TE (2011a) Extended findings of brain metabolite normalization in MA-dependent subjects across sustained abstinence: a proton MRS study. *Drug Alcohol Depend* 113:133–138.
  31. Salo R, Nordahl TE, Buonocore MH, Natsuaki Y, Waters C, Moore CD, Galloway GP, LeamonMH (2009) Cognitive control and white matter callosal microstructure in methamphetamine-dependent subjects: a diffusion tensor imaging study. *Biol Psychiatry* 65:122–128.
  32. Salo R, Nordahl TE, Galloway GP, Moore CD, Waters C, LeamonMH (2009b) Drug abstinence and cognitive control in methamphetamine-dependent individuals. *J Subst Abuse Treat* 37:292–297.
  33. Schwartz DL, Mitchell AD, Lahna DL, Luber HS, Huckans MS, Mitchell SH, Hoffman WF (2010) Global and local morphometric differences in recently abstinent methamphetamine dependent individuals. *Neuroimage* 50:1392–1401.
  34. Sekine Y, Ouchi Y, Takei N, Yoshikawa E, Nakamura K, Futatsubashi M, Okada H, Minabe Y, Suzuki K, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Tsukada H, Iyo M, Mori N (2006) Brain serotonin transporter density and aggression in abstinent methamphetamine abusers. *Arch Gen Psychiatry* 63:90–100.
  35. Simon SL, Dean AC, Cordova X, Monterosso JR, London ED (2010) Methamphetamine dependence and neuropsychological functioning: evaluating change during early abstinence. *J Stud Alcohol Drugs* 71:335–344.
  36. Sung YH, Cho SC, Hwang J, Kim SJ, Kim H, Bae S, Kim N, Chang KH, Daniels M, Renshaw PF, Lyoo IK (2007). Relationship between N-acetyl-aspartate in gray and white matter of abstinent methamphetamine abusers and their history of drug abuse: a proton magnetic resonance spectroscopy study. *Drug Alcohol Depend* 88:28–35.
  38. Taylor MJ, Schweinsburg BC, Alhassoon OM, Gongvatana A, Brown GG, Young-Casey C, Letendre SL, Grant I (2007) Effects of human immunodeficiency virus and methamphetamine on cerebral metabolites measured with magnetic resonance spectroscopy. *J Neurovirol* 13:150–159.
  39. Thompson PM, Hayashi KM, Simon SL, Geaga JA, Hong MS, Sui Y, Lee JY, Toga AW, Ling W, London ED (2004) Structural abnormalities in the brains of human subjects who use methamphetamine. *J Neurosci* 24:6028–6036.
  40. Volkow, N. D., Chang, L., Wang, G. J., Fowler, J. S., Franceschi, D., & Sedler, S. (2001). Loss of Dopamine Transporters in Methamphetamine Abusers Recovers with Protracted Abstinence. *The Journal of Neuroscience*, 9414–9418.
  41. Wagner, G. C., Ricaurte, G. A., Johanson, C. E., Schuster, C. R., & Seiden, L. S. (1980). Amphetamine induces depletion of dopamine and loss of dopamine uptake sites in caudate. *Neurology*, 30:547–550.
  42. Wang GJ, Volkow ND, Chang L, Miller E, Sedler M, Hitzemann R, Zhu W, Logan J, Ma Y, Fowler JS (2004) Partial recovery of brain metabolism in methamphetamine abusers after protracted abstinence. *Am J Psychiatry* 161:242–248.
  43. Zhou, F. C., & Bledsoe, S. (1996). Methamphetamine causes rapid varicosis, perforation and definitive degeneration of serotonin fibers: an immunocytochemical study of serotonin transporter. *Neuroscience-Net*, 1–17.



## 2.4.4 Ridotta complessità corticale nei consumatori di metanfetamina

Kyongsik Yun<sup>1</sup>, Hee-Kwon Park<sup>2</sup>, Do-Hoon Kwon<sup>3</sup>, Yang-Tae Kim<sup>3</sup>, Sung-Nam Cho<sup>3</sup>, Hyun-Jin Cho<sup>3</sup>, S. Peterson<sup>4</sup>, Jaeseung Jeong<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Bio and Brain Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST), Daejeon 305-701, Republic of Korea

<sup>2</sup> Department of Neurology, Seoul National University Hospital, Seoul 110-744, Republic of Korea

<sup>3</sup> Department of Psychiatry, Bugok National Hospital, Gyeongnam 635-890, Republic of Korea

<sup>4</sup> Department of Psychiatry, Columbia University, E college of Physicians and Surgeons, New York, NY 10032 USA

### Abstract

Lo studio è mirato a verificare se i soggetti che fanno uso di metanfetamina (MA) presentano alterazioni nella struttura complessa del tracciato encefalografico (EEG) e determinare se tali eventuali alterazioni si associno a specifici pattern d'uso. Il tracciato elettroencefalografico è stato acquisito in 48 soggetti anfetamina-dipendenti di sesso maschile e in astinenza, e in 20 soggetti sani comparabili per età e sesso. Per quantificare il grado di complessità corticale, è stata stimata l'Entropia Approssimata (ApEn), una misura dell'irregolarità del tracciato elettroencefalografico mutuata dalla teoria dell'Informazione. I valori ApEn sono risultati significativamente inferiori nei soggetti che consumavano metanfetamina, in confronto ai soggetti sani, nella maggior parte delle regioni corticali, segno di una diminuita complessità corticale nei primi, che potrebbe essere associata a una compromissione delle attività di specializzazione e integrazione corticale dovuta all'uso di MA. Inoltre, i valori dell'Entropia Approssimata hanno evidenziato correlazioni significative con una serie di fattori clinici, tra cui i pattern d'uso, la sintomatologia psicotica, e il concomitante consumo di alcol e tabacco. I dati ottenuti consentono di approfondire le nostre conoscenze in merito alle anomalie del processo di elaborazione delle informazioni che caratterizzano i soggetti consumatori di metanfetamina e suggeriscono che la misura dell'Entropia Approssimata rilevata dal tracciato EEG possa essere utilizzata come strumento supplementare per la diagnosi quantitativa dell'uso di MA. Lo studio rappresenta il primo tentativo di valutare la "complessità dinamica gravità-dipendente" dei pattern encefalografici di soggetti consumatori di metanfetamina in astinenza e delle loro associazioni con i pattern d'uso individuali e con gli altri parametri di natura clinica.

### 1. Introduzione

L'uso di metanfetamina ("speed") e della sua forma cristallina pura (nota come "crystal meth", "ice", "glass") ha oramai raggiunto le dimensioni di un'epidemia. La prevalenza stimata dell'uso cronico di metanfetamina è pari al 5,3% negli Stati Uniti, in cui ben 33 stati hanno registrato, negli anni tra il 1992 e il 2001, un aumento del 100% del numero di persone ricoverate in strutture sanitarie per uso di MA (Office of Applied Studies, 2005). All'altro capo del mondo, le Nazioni Unite riferiscono che all'incirca 33,4 milioni di persone fanno uso di metanfetamina nel continente asiatico, e più precisamente nei paesi dell'Asia orientale e sud-orientale, come il Giappone e la Corea del Sud, dove il consumo di MA costituisce uno dei problemi sociali più preoccupanti (Farrell et al., 2002; Chung et al., 2004; Kulsudjarit, 2004). Si tratta di comportamenti che spesso comportano gravissime conseguenze sotto il profilo della salute pubblica e del benessere sociale (Seivewright 2000;

London et al. 2004; Sekine et al. 2006). Tuttavia, malgrado la prevalenza elevata e gli effetti distruttivi dell'uso di questa sostanza, le conseguenze a lungo termine prodotte dalla MA sulla neurodinamica della rete corticale sono ancora scarsamente conosciute.

La metanfetamina (MA) è una potente neurotossina, che provoca danni a lungo termine a carico del sistema nervoso centrale. Gli studi su animali hanno dimostrato che la somministrazione continua di MA produce riduzioni durature nelle concentrazioni di dopamina (DA) striatale, nei livelli dei trasportatori della dopamina, e negli enzimi sintetici rate-limiting, oltre a causare l'autofagocitosi dei neuriti e l'apoptosi dei neuroni dopaminergici nello striato (Ricaurte et al. 1980; Wagner et al. 1980; Villemagne et al. 1998). Studi in vivo sugli effetti neurobiologici acuti della MA sull'uomo hanno documentato marcate alterazioni del sistema dei neurotrasmettitori dopaminergici e del metabolismo neuronale nel cervelletto e nei gangli basali. Recenti studi di neuroimaging hanno evidenziato come il consumo prolungato di MA si rifletta in una minore densità dei trasportatori per la DA nei circuiti della gratificazione (McCann et al. 1998; Sekine et al. 2001; Volkow et al. 2001a,b; Sekine et al. 2003), e dei trasportatori per la serotonina nelle regioni corticali (Sekine et al. 2006). Più specificamente, l'uso prolungato di MA è stato associato a un ipometabolismo del glucosio nelle regioni frontali (Kim et al. 2005b), a una bassa attività nella corteccia prefrontale dorsolaterale e ventromediale (Paulus, 2002) e in anomalie corticali strutturali del lobo temporale medio e della corteccia cingolo-limbica (Thompson et al. 2004; Kime et al. 2005a). Da tali studi si evince che l'intossicazione da MA non si limita alle strutture subcorticali, ma si estende anche alle regioni corticali.

Sono poco numerosi gli autori che hanno indagato sui pattern elettroencefalografici che caratterizzano i soggetti consumatori di MA, allo scopo di individuare possibili anomalie della rete corticale e le loro eventuali associazioni con fattori comportamentali quali le ridotte prestazioni della memoria di lavoro (Newton et al. 2004). L'analisi spettrale (power spectrum analysis) ha rivelato un evidente rallentamento dell'EEG nei consumatori di MA (Newton et al. 2003, 2004), ma non sono state esaminate le eventuali correlazioni con i pattern di uso e i fattori sociali.

Malgrado studi clinici e pre-clinici abbiano dimostrato che la metanfetamina provoca danni a lungo termine nei circuiti dopaminergici della ricompensa, danni che si traducono in deficit motori e cognitivi (Volkow et al. 2001b; Johanson et al. 2006; McCann et al. 2008), si sa ancora poco delle conseguenze dinamiche a carico della rete corticale nei soggetti che fanno uso di MA. L'obiettivo di questo studio è dunque quello di stabilire se consumatori di MA in condizioni di astinenza presentino alterazioni della complessità encefalografica. Tononi e colleghi. (1998) sostengono che il funzionamento ottimale del cervello presuppone un'interazione dinamica tra la specializzazione locale e l'integrazione globale dell'attività cerebrale, avanzando l'ipotesi che un tale stato ottimale produca attività complesse e che attraverso una misura della complessità neuronale sia possibile stimare il livello di equilibrio tra localizzazione e integrazione delle reti neurali (Tononi et al. 1998; Tononi and Edelman, 1998; Sporns et al. 2000). In effetti, la ridotta complessità dei pattern EEG era stata osservata in pazienti affetti da malattia di Alzheimer (Jeong et al. 1998; Abasolo et al. 2005), schizofrenia (Roschke et al. 1994; Breakspear et al. 2003; Paulus e Braff, 2003; Keshavan et al. 2004; Micheloyannis et al. 2006), e depressione (Roschke et al. 1994; Thomasson et al. 2002; Bob et al. 2006; Fingelkurts et al. 2007) e per molti di questi soggetti era stato ipotizzato che soffrissero di una ridotta connettività funzionale tra le regioni corticali. In uno studio precedente era stato osservato che la complessità del tracciato EEG si riduceva di pari passo con la profondità del sonno, per poi aumentare durante la fase REM (Burioka et al. 2005b). Sulla scorta di questi dati, gli autori del presente studio hanno deciso

di esaminare l'interazione tra l'integrazione funzionale e la segregazione delle reti corticali e, di conseguenza, l'efficienza dell'elaborazione delle informazioni corticali attraverso la quantificazione della complessità nei tracciati elettroencefalografici di soggetti consumatori di MA.

Per stimare la complessità dei tracciati EEG nell'uso di MA, è stata utilizzata l'Entropia Approssimata (ApEn), una misura dell'irregolarità mutuata dalla teoria dell'informazione. La misura dell'ApEn consente di quantificare in maniera stabile la complessità di una serie temporale breve e disturbata da rumore, come nel caso dei tracciati elettrofisiologici (Pincus, 1991; Pincus, 1995). Diversi studi hanno riferito che l'ApEn può essere utilizzata per individuare numerose condizioni neuropsichiatriche, come la malattia di Alzheimer, il coma (Abasolo et al. 2005; Lin et al. 2005) e l'epilessia (Radhakrishnan e Gangadhar, 1998; Hornero et al. 1999; Burioka et al. 2005a). Uno studio precedente riferiva anche che l'analisi del livello di ApEn nel ritmo cardiaco mostrava, nei soggetti cocaina-dipendenti, una complessità ridotta, suggerendo così che una funzionalità compromessa, l'isolamento e la riduzione del neurone si possano manifestare su molteplici assi (Newlin et al. 2000).

È noto che la MA induce una molteplicità di comportamenti sintomatici durante lo stato di intossicazione o la sindrome di astinenza, come irritabilità, ansia, eccitazione, allucinazioni, paranoia (sia di tipo maniacale che psicotico) e aggressività. Devianze sociali quali atti sessuali o comportamenti criminali costituiscono un fenomeno frequente da parte dei consumatori di MA in stato di intossicazione. I comportamenti psicotici di questi soggetti sono correlati all'età, e potrebbero essere associati a disturbi della neurotrasmissione corticale-subcorticale durante l'età evolutiva (Chen et al. 2003). Un altro tratto comune tra i consumatori di MA è la tendenza ad assumere altre sostanze, come alcol e nicotina, durante lo stato di intossicazione da MA. Questo quadro multifattoriale è alla base delle difficoltà incontrate nel trattamento delle dipendenze da metanfetamina. Malgrado gli effetti evidenti quanto devastanti della MA sul sistema nervoso e sul comportamento sociale, è molto limitato il numero di studi elettrofisiologici o di neuroimaging dedicati al rapporto esistente tra alterazioni corticali e fattori critici quali i pattern di uso e i comportamenti sociali. È in questo contesto che il nostro studio si è proposto di analizzare l'associazione tra la complessità dei tracciati EEG di alcuni soggetti consumatori di MA e i loro pattern di uso.

## 2. Metodi

Come partecipanti allo studio sono stati arruolati, presso il Bugok National Hospital, Corea del Sud, consumatori di MA in stato di astinenza (N=48, età tra i 26 e i 49 anni, età media =36,7±5,8 anni, tutti di sesso maschile) e 20 soggetti di controllo (N=20, tra i 23 e i 48 anni, età media =34,5±7,7 anni, tutti di sesso maschile). I consumatori di MA erano pazienti ricoverati che rispondevano ai criteri del DSM-IV (Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali, IV edizione)(Spitzer et al. 1994) per la diagnosi di consumatore cronico (lifetime abuser) di MA (N=31) o soggetto affetto da dipendenza da MA (N=17). Nello studio sono stati reclutati tutti soggetti di sesso maschile, sulla base della dimostrata specificità di genere della neurotossicità indotta dalla metanfetamina, che presenta valori molto più elevati negli uomini rispetto alle donne (Wagner et al. 1980; Dluzen et al. 2002; D'Astous et al. 2005; Kim et al. 2005b). I soggetti non presentavano segni di anomalie neurologiche quali convulsioni, discinesia o coma, e venivano esclusi dalla partecipazione allo studio qualora dall'anamnesi fossero emerse malattie psichiatriche concomitanti pregresse o ancora in atto, eccezion fatta per l'uso di sostanze (diagnosi di Asse I o II del DSM-IV). A tutti i sogget-

Soggetti  
partecipanti allo  
studio

ti è stata fornita un'esauriente descrizione dello studio ed è stato chiesto di sottoscrivere un modulo di consenso informato prima di prendere parte alle attività di ricerca, nel rispetto delle procedure previste dal Comitato Etico del Bugok National Hospital.

Per quanto concerne il livello di dettaglio dei profili dei singoli pazienti, informazioni particolareggiate sulle abitudini e sulle modalità di consumo della MA sono state ottenute mediante interviste strutturate, sul modello del DSM-IV [(Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID)], dai pazienti e dai loro familiari, nonché attraverso una rapida verifica delle cartelle mediche individuali. I dati clinici comprendevano il periodo di uso di MA, l'età in cui era stata consumata per la prima volta MA ed eventualmente altre sostanze come nalbupina, nicotina, alcol, e solventi inalanti. I criteri di classificazione per il consumo di alcol e nicotina erano i seguenti: forte bevitore = consumo medio giornaliero superiore a quattro drink; forte fumatore: consumo medio giornaliero di due o più pacchetti di sigarette. Sono state raccolte informazioni anche in merito ai precedenti penali e ai comportamenti sessuali. Durante le fasi di uso incontrollato di MA, si accelera il battito cardiaco e aumentano metabolismo, pressione sanguigna e pulsazioni. Durante questo stadio di euforia (noto come "high") il soggetto si abbandona a un'ampia varietà di comportamenti a rischio, come ad esempio guida pericolosa, atti contro la legge e marcato incremento dell'attività sessuale.

Le valutazioni sono state effettuate entro i 3 giorni successivi alla registrazione dell'EEG, da parte di uno psichiatra che non era a conoscenza dei risultati dell'elettroencefalogramma. Tutti i soggetti consumatori di MA avevano assunto la sostanza per via endovenosa per un periodo di almeno 2 anni, e tutti erano in astinenza da più di 6 giorni al momento dell'EEG. Era stato previsto che il farmaco venisse assunto esclusivamente per via endovenosa poiché questa è la modalità di assunzione più comune nella Corea del Sud (Chung et al. 2004). Gli esami delle urine sono stati effettuati immediatamente prima di eseguire l'EEG, al fine di escludere uno stato di intossicazione in atto.

I soggetti di controllo sono stati reclutati nell'ambito delle comunità locali di Bugok e Busan, nella Corea del Sud. I soggetti selezionati erano comparabili ai pazienti consumatori di MA per età, sesso e status socioeconomico (reddito: <\$25.000; livello di istruzione: diploma di scuola superiore o primo livello universitario) e non avevano precedenti di consumo o dipendenza da MA o da altre sostanze. Nessuno di essi presentava un'anamnesi familiare di malattia psichiatrica alla verifica effettuata mediante intervista non strutturata condotta da uno psichiatra. Nessuno dei soggetti reclutati assumeva farmaci al momento dello studio, e per tutti gli esami tossicologici delle urine hanno permesso di escludere l'utilizzo di sostanze psicoattive. I soggetti venivano esclusi dal gruppo di controllo qualora riferissero di assumere alcol più di una volta al giorno o più di 40 g alla settimana, o riferissero di fumare più di 10 sigarette al giorno.

Dopo la valutazione dei tracciati EEG, è stato calcolato il QI di tutti i soggetti, come indice psicometrico della funzionalità intellettuale (Sattler, 2001) mediante la versione breve della Korean-Wechsler Adult Intelligence Scale (K-WAIS) (Yeom e et al. 1992). Le quattro sezioni in cui si articola questo test abbreviato prevedono che il soggetto risponda a quesiti in merito alle informazioni che sono state fornite, che risponda a domande di aritmetica, che completi immagini e disegni a blocchi. Il punteggio QI ottenuto viene successivamente normalizzato in base all'età del soggetto analizzato.

#### Tracciati EEG

I tracciati sono stati registrati su 16 canali, mediante amplificatore EEG (Model 9 EEG Grass Instrument Co.), al mattino (10:30–11:30 AM), allo scopo di ridurre al minimo la modulazione omeostatica e circadiana dello stato di veglia (Taillard et al., 2003). È stato chiesto ai



soggetti di restare sdraiati e con gli occhi chiusi, in un ambiente con rumori attenuati, senza pensare a niente in particolare, ma senza addormentarsi. Gli elettrodi Ag-AgCl sono stati posizionati secondo il sistema di riferimento internazionale 10–20. I dati sono stati raccolti con un montaggio referenziale Cz e digitalizzati con una frequenza di 200 campioni EEG al secondo, ottenuti con sistema QUINGY, MASS (filtro passa banda 0,3–70 Hz). Sono stati registrati almeno 20 minuti di attività EEG, selezionando mediante controllo visivo, un minimo di 30s di tracciato esente da artefatti da sottoporre ad analisi. Al fine di ottenere dati EEG stazionari della massima lunghezza possibile, sono stati scartati i primi 2 minuti di dati. Per stimare i valori dell'Entropia Approssimata sono state selezionate in maniera random tre epoche di 10s di registrazione, utilizzandone le mediane. Quindi sono state selezionate, sempre in maniera random, altre tre epoche di 10s ciascuna. I valori ApEn sono stati giudicati robusti per le epoche selezionate e i risultati coerenti, in quanto tutti i consumatori di MA hanno mostrato valori di entropia ridotti rispetto a quelli dei soggetti di controllo, su tutti e 15 i canali ( $p < 0,001$ ) a eccezione di F4 ( $p > 0,05$ ). Non si osservavano effetti attribuibili alla selezione delle epoche ( $p > 0,3$ ). L'impiego di dati EEG stazionari e di epoche selezionate in modo randomizzato aiuta a tenere sotto controllo la possibile variabilità dei processi cognitivi coinvolti nello stato di riposo. Inoltre, la robustezza dei valori ApEn ottenuti rispetto alla selezione delle epoche potrebbe indicare il mantenimento di uno stato cognitivo costante durante la posizione supina di riposo da noi adottata.

I dati elettroencefalografici registrati sono stati riformattati off-line per l'analisi spettrale (cfr. materiale supplementare sull'analisi spettrale e i relativi risultati) e il calcolo dei valori ApEn. Introdotta per la prima volta da Pincus, l'Entropia Approssimata rappresenta un indice quantitativo dell'irregolarità o della complessità di un sistema dinamico (Pincus, 1991). Il suo utilizzo si rivela particolarmente efficiente con i dati di serie storiche corte e rumorose come i dati fisiologici. L'ApEn misura la frequenza logaritmica con cui intorni di pattern temporali di lunghezza  $m$  che si trovano a una certa distanza ( $r$ ) in uno spazio delle fasi rimangono l'uno accanto all'altro ( $br$ ) per pattern che aumentano di un punto nel tempo (ovverossia pattern di lunghezza  $m+1$ ) (cfr. materiale supplementare per i dettagli dell'algoritmo). In tal modo, valori di ApEn più bassi implicano una maggiore regolarità o persistenza in una serie temporale. Al contrario, valori di ApEn più elevati sono un indice della presenza di maggiori fluttuazioni, ovvero di irregolarità, in una serie temporale. I valori ApEn dell'EEG potrebbero essere determinati dall'equilibrio tra segregazione e integrazione funzionale all'interno delle regioni corticali.

Analisi dell'Entropia  
Approssimata

Mediante t-test sono state effettuate comparazioni di gruppo tra le variabili demografiche. I valori medi di ApEn dei tracciati EEG nei soggetti MA-dipendenti e nei soggetti di controllo vengono presentati sotto forma di "valore medio  $\pm$  errore standard, per tutti i soggetti partecipanti allo studio. L'analisi della varianza a una via (ANOVA) è stata utilizzata al fine di comparare l'uso severo e moderato di MA con il gruppo di controllo. Se i risultati ottenuti con metodica ANOVA raggiungevano una significatività statistica ( $p < 0,05$ ), venivano effettuati successivamente confronti multipli [LSD test (Least Significant Difference test)]. Gli effetti dei pattern d'uso, i parametri clinici e sociali e la comorbidità delle complessità corticali dei soggetti consumatori di MA venivano valutate separatamente, mediante t-test. Per l'analisi della correlazione lineare è stato utilizzato il coefficiente di correlazione di Pearson, unitamente a un software statistico (SPSS 11.0.1, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Come significatività statistica è stata assunto un livello alfa di 0,05. Gli elettrodi contigui sono stati raggruppati per effettuare la correzione dei confronti multipli pair-wise (Fp1–F3,

Analisi statistica

Fp2–F4, F7–T3, F8–T4, C3–P3, C4–P4, T5–O1, T6–O2).

Per la verifica della normalità dei dati, è stato impiegato il test di 'Kolmogorov–Smirnov' prima di eseguire l'analisi dell'ApEn, mentre non sono stati utilizzati outliers, al fine di preservare la normalità dei dati. I valori devianti sono stati individuati esaminando visivamente i diagrammi di dispersione e quelli di distribuzione delle probabilità normali. A seguito del test di normalità sono stati esclusi dallo studio meno di tre canali per ciascun soggetto analizzato, sul totale degli elettrodi posizionati. Nei confronti tra i due campioni (t-test), le varianze di alcuni dati EEG non sono risultate uguali tra i diversi gruppi di soggetti. Di conseguenza, è stato impiegato il test di Levene per il controllo dell'Uguaglianza delle Varianze, allo scopo di selezionare gli strumenti statistici più appropriati. Un risultato  $p < 0,05$  al test di Levene costituiva un indice di non omogeneità delle varianze. Se il test indicava un'omogeneità tra i due gruppi, veniva applicato il test t di Student, in caso contrario il test di Welch, che rappresenta una variazione del test t di Student, da utilizzarsi per due campioni con varianze disuguali.

Tabella 1 - Profilo demografico del campione analizzato.

	Gruppo MA (n=48)	Gruppo di controllo (n=20)
Età (anni)	37,0 (5,8)	34,5 (7,7)
QI (punteggio)	97,8 (6,1)	116,5 (5,3)*
Durata dell'uso di MA (anni)	11,8 (6,5)	N/A
Periodo di astinenza (giorni)	30,5 (27,2)	N/A
Quantità totale nell'anno precedente (g)	1,125 (1,095)	N/A

Valori medi con deviazioni standard in parentesi.

\*  $p < 0,05$

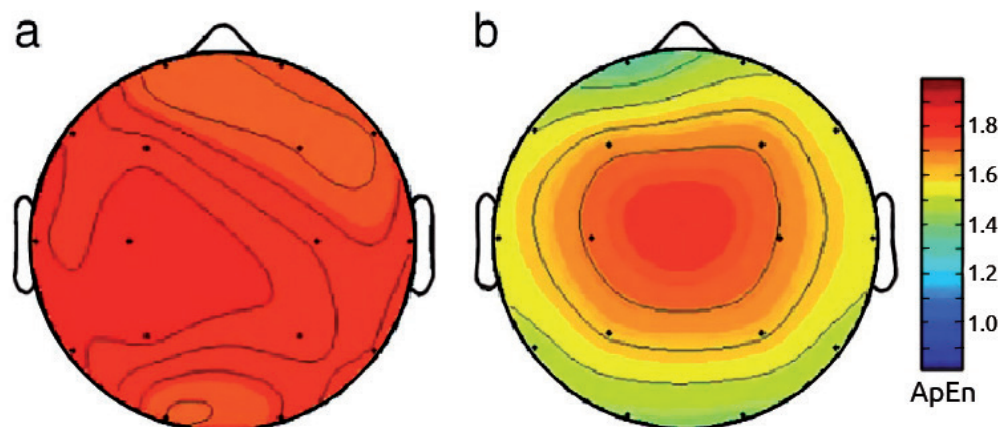
### 3. Risultati

Complessità  
corticale ridotta nei  
consumatori di MA

La Tabella 1 sintetizza le caratteristiche demografiche dei due gruppi di soggetti partecipanti allo studio, mettendo in evidenza le analogie tra i consumatori di MA in astinenza e il gruppo di controllo. I due gruppi non differiscono in maniera significativa per l'età, ma emergono delle differenze in termini di quoziente intellettivo ( $p < 0,05$ ). Allo scopo di valutare la possibile presenza di livelli di complessità anomali nell'attività corticale dei consumatori di MA, sono stati stimati i valori di ApEn nei tracciati EEG di 48 soggetti consumatori, confrontandoli con quelli dei 20 soggetti di controllo. È risultato che i consumatori di MA esprimevano valori di entropia più bassi rispetto a quelli dei soggetti sani, in tutti e 16 i canali (test t di Student;  $p < 0,00001$ ) (Fig. 1). È stato anche calcolato un modello lineare multivariato generale (variabili dipendenti: valori di ApEn sui 16 canali, fattore fisso: consumatori di MA/controlli, covariata: QI, livello di tabagismo). L'inclusione del QI e del fumo tra le covariate riduceva la differenza statistica tra i due gruppi. Tuttavia, la maggior parte dei canali restava significativamente differente tra i due gruppi di soggetti (Fp1, T6, O1, O2,  $p < 0,0001$ ; T5,  $p < 0,001$ ; Fp2, P3, P4, F7, F8, T3,  $p < 0,01$ ; F3, C3, C4, T4,  $p < 0,05$ ).

Figura 1 - Mappa topografica dei valori medi di ApEn in (a) soggetti sani e (b) soggetti consumatori di MA. I soggetti consumatori di MA mostrano valori ApEn ridotti in confronto ai soggetti sani in tutti i canali (Test t di Student  $p < 0,00001$ ).

L'uso di MA altera i principali metaboliti cerebrali



Per verificare gli effetti dell'uso di MA sui valori dell'entropia approssimata nei tracciati elettroencefalografici, il gruppo dei consumatori di MA è stato suddiviso in due sottogruppi in base all'uso di MA ("moderato" e "cronico"), in base alla durata del periodo di uso e alla quantità di sostanza assunta di recente. Il gruppo dei "consumatori cronici" (età media  $37,7 \pm 5,52$  anni; età comprese tra i 29 e i 49 anni; quantità cumulativa media di MA  $14,3 \pm 15,2$ g) era composto da soggetti che avevano utilizzato MA per almeno 6 anni o più, in quantitativi superiori a 0,75g di sostanza iniettata nell'anno di uso più recente, in contrapposizione al gruppo dei "consumatori moderati" (età media  $30,6 \pm 3,31$  anni; età compresa tra i 26 e i 35 anni; quantità cumulativa media di MA  $0,92 \pm 0,52$ g). L'analisi ANOVA indicava che i consumatori cronici e moderati e il gruppo di controllo mostravano differenze significative nei valori di ApEn in tutti i canali ( $p < 0,0001$ ), dimostrando così un'influenza significativa della durata del periodo di uso e della dose di MA assunta l'anno precedente. Per controllare le eventuali differenze legate all'età, è stata applicata un'analisi della covarianza (ANCOVA), selezionando come covariate l'età, il QI e la quantità di tabacco fumata. Tutti i canali, tranne F4, risultavano ancora significativamente diversi tra i due gruppi di consumatori di MA e il gruppo di controllo (Fp1, T6, O1, O2,  $p < 0,0001$ ; P4, T3, T5,  $p < 0,001$ ; F3, C3, P3, F7, F8,  $p < 0,01$ ; Fp2, C4, T4,  $p < 0,05$ ). All'analisi post-hoc, venivano individuate differenze significative tra il gruppo dei consumatori moderati e il gruppo dei consumatori cronici nelle aree corticali di sinistra (LSDtest; F3,  $t(43,999) = 51,638$ ,  $p = 0,042$ ; C3,  $t(44,421) = 65,289$ ,  $p = 0,031$ ; P3,  $t(44,793) = 40,909$ ,  $p = 0,049$ ; F7,  $t(42,743) = 30,308$ ,  $p = 0,043$ ; T5,  $t(41,146) = 25,373$ ,  $p = 0,037$ ; O1,  $t(44,979) = 23,934$ ,  $p = 0,030$ ). Il gruppo dei consumatori cronici mostrava valori di ApEn significativamente più bassi di quelli del gruppo di controllo nella maggior parte dei canali (Fp1, Fp2, C3, P3, F7, F8, T3, T5, T6, O1, O2,  $p < 0,005$ ; F3, C4, P4, T4,  $p < 0,05$ ). Il gruppo dei consumatori moderati mostrava valori ApEn nel canale Fp1 significativamente ridotti in confronto ai valori registrati per i soggetti di controllo [LSD test;  $t(43,592) = 24,366$ ,  $p < 0,0001$ ] (Tabella 2). Tali risultati indicano una riduzione periodo-dipendente, MA-indotta, della complessità corticale nel gruppo di soggetti consumatori di metanfetamina (Figura 2).

Figura 2 - Valori di ApEn nei tracciati EEG del gruppo di controllo, dei consumatori moderati e dei consumatori cronici di MA. Le differenze significative riscontrate tra il gruppo dei consumatori moderati e il gruppo dei consumatori cronici nelle regioni corticali sono state contrassegnate con un asterisco (F3, C3, P3, F7, T5, O1;  $p < 0,05$ ).

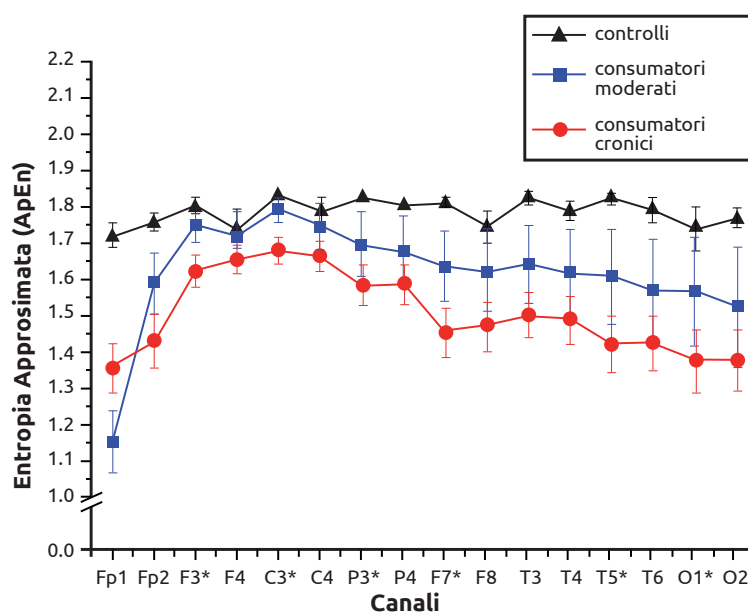


Tabella 2 - Differenze significative dei valori di ApEn misurati nell'EEG di consumatori di MA e nei soggetti di controllo. Il Gruppo 1 corrisponde a un gruppo con valori di ApEn inferiori a quelli del Gruppo 2.

Gruppo 1		Gruppo 2
MA*	Controllo	Fp1, Fp2, F3, C3, P3, P4, F7, F8, T3, T4, T5, T6, O1
MA cronico*	MA moderato	F3, C3, P3, F7, T5, O1
Assenza di psicosi*	Con psicosi	Fp1, Fp2, F3, F4, C4, P4, F7, F8, T3, T4, T5, T6, O1, O2
Assenza atti sessuali*	Con atti sessuali	C3, P3
Con precedenti penali per droga*	Senza precedenti penali	Fp2, F4, C3, C4, P3, P4, F7, F8, T3, T4, T5, T6, O1, O2
Forte fumatore*	Fumatore moderato	C4, P4, F8, T4, T5, T6, O1, O2
Non consumatore di nalbupina*	Consumatore di nalbupina	Fp2, F4, C3, C4, P3, P4, F7, F8, T3, T4, T6, O2

MA Cronico: 6 o più anni di uso di MA o assunzione di almeno 0,75 g di MA nel corso dell'anno precedente.

MA Moderato: meno di 6 anni di uso di MA e assunzione di meno di 0,75 g di MA nel corso dell'anno precedente.

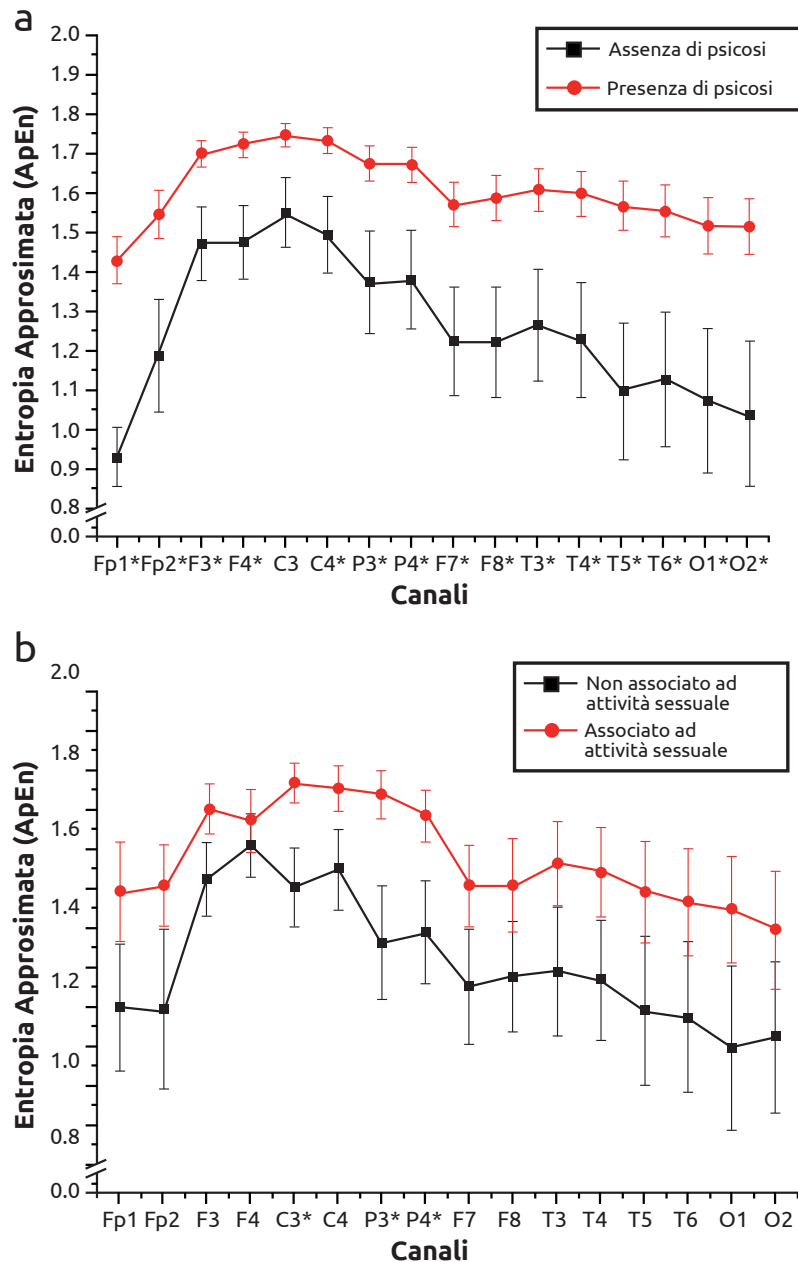
Forte fumatore: 2 o più pacchetti/giorno.

Fumatore moderato: meno di 2 pacchetti/giorno.

\*  $p < 0,05$ .

Figura 3 - Valori elettroencefalografici (EEG) di ApEn correlati con (a) la presenza di psicosi; (b) rapporti sessuali durante una intossicazione da MA. L'asterisco (\*) indica le differenze significative nei valori ApEn ( $p < 0,05$ ).

Correlazioni tra i valori di ApEn e i parametri clinici e sociali



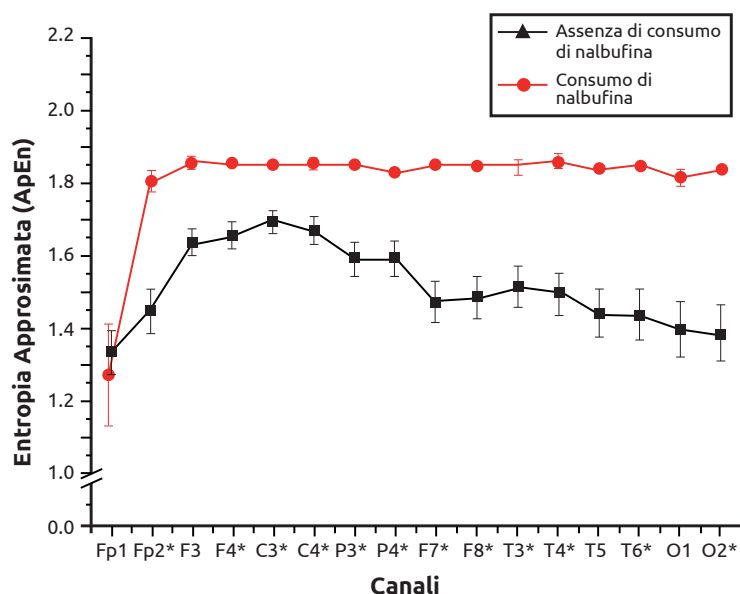
Allo scopo di analizzare le possibili associazioni tra i valori ApEn e i fattori di natura clinica, i consumatori di MA sono stati suddivisi in diversi gruppi, sulla base dell'anamnesi sessuale, dei precedenti penali legati all'uso di droga e degli eventuali sintomi psicotici comuni (come allucinazioni o deliri). Non sono state individuate correlazioni significative tra il valore ApEn del tracciato EEG e l'età in cui il soggetto aveva assunto MA per la prima volta. I pazienti che avevano consumato metanfetamina e che presentavano sintomi di allucinazione o delirio ( $N=37$ ) registravano valori ApEn più elevati in quasi tutti i canali, in confronto ai pazienti consumatori esenti da tale sintomatologia (Fp1, Fp2, F3, F4, C4, P4, F7, F8, T3, T4, T5, T6, O1, O2;  $p < 0,05$ ) (Fig. 3a). I pazienti consumatori di MA che avevano avuto rapporti sessuali durante episodi di consumo incontrollato della sostanza (MA binges) ( $N=25$ )

registravano valori di ApEn più elevati nelle aree centro-parietali rispetto ai consumatori che avevano svolto altri tipi di attività (come guidare l'automobile o giocare ai videogiochi) (C3, P3;  $p < 0,05$ ) (Fig. 3b). I pazienti consumatori di MA che avevano precedenti penali per reati legati alla droga (N=21) registravano valori di ApEn inferiori a quelli degli altri soggetti (tutti i canali, tranne Fp1 e F3;  $p < 0,05$ ) (Fig. S2). È però da sottolineare che i pazienti MA con precedenti penali di altro tipo presentavano valori di ApEn inferiori soltanto nelle aree centro-parietali (C4, P4;  $p < 0,05$ ). Questi risultati dimostrano che le riduzioni della complessità corticale (misurate attraverso i valori dei tracciati elettroencefalografici) dei soggetti che fanno uso di metanfetamina sono associate a comportamenti patologici, posti in atto durante il periodo di utilizzo della sostanza.

Correlazione tra  
i valori ApEn e le  
comorbidità

È stata analizzata la relazione esistente tra i valori di ApEn dei tracciati EEG dei soggetti consumatori di MA e la presenza di patologie concomitanti legate all'uso di altri tipi di sostanze. Anche se il contemporaneo uso di solventi inalanti (N=7) non incideva sui valori di ApEn, è stato riscontrato che un elevato livello di tabagismo (due o più pacchetti di sigarette fumate al giorno) (N=5) causava una riduzione dei valori di ApEn nelle aree frontali e centrali di destra e su entrambi i lati delle aree temporali e occipitali (C4, P4, F8, T4, T5, T6, O1, O2,  $p < 0,05$ ) (Fig. S3). I valori di ApEn registrati rivelavano che i consumatori di MA che erano anche forti fumatori presentavano maggiori disfunzioni corticali rispetto a coloro che fumavano un numero limitato di sigarette o che non fumavano affatto. L'uso di nalbupina cloridrato o di altri farmaci oppioidi analoghi (N=7) faceva crescere i valori ApEn in tutte le aree corticali (Fp2, F4, C3, C4, P3, P4, F7, F8, T3, T4, T6, O2;  $p < 0,05$ ) (Figura 4).

Figura 4 - Valori di ApEn nei consumatori di MA, correlati all'uso di nalbupina. L'asterisco (\*) indica la presenza di differenze significative nei valori di ApEn ( $p < 0,05$ ).





## 4. Discussione

Nel corso dello studio qui presentato, sono stati individuati valori di ApEn (corrispondente a una misura della complessità corticale) significativamente più bassi nei pattern elettroencefalografici di consumatori di MA in astinenza, in tutte le regioni corticali, a paragone dei corrispondenti valori registrati per il gruppo di controllo. All'interno del gruppo di consumatori di MA, i soggetti con un grado severo di uso della sostanza evidenziavano riduzioni della complessità corticale molto più marcate rispetto a quelle evidenziate dai consumatori moderati. Malgrado la scarsa capacità di risoluzione spaziale dello strumento EEG, e fermo restando la necessità di interpretare con estrema cautela le implicazioni topografiche di questi risultati, tale riduzione è apparsa più evidente nelle regioni frontotemporali e occipitali. I pazienti consumatori di MA che soffrivano di allucinazioni e deliri o quelli che avevano partecipato ad attività sessuali durante il periodo di intossicazione con MA, evidenziavano livelli superiori di complessità corticale, in confronto a quei consumatori di MA che non avevano partecipato a tali attività e che non mostravano sintomi psicotici. I pazienti con un trascorso di attività criminali legate alla droga presentavano il livello di complessità corticale più ridotto all'interno del gruppo. I consumatori di MA che facevano un elevato consumo di tabacco presentavano livelli di complessità corticale ridotti nelle aree frontali, centrali, temporali e occipitali di destra. I soggetti che facevano uso concomitante di nalbufina cloridrato presentavano invece livelli maggiori di complessità corticale in quasi tutte le aree, a paragone degli altri consumatori di MA. Questi risultati indicano una complessiva riduzione della complessità dinamica delle reti corticali nei soggetti consumatori di MA, forse a causa della forte e duratura presenza di tossine nel sistema dei neurotrasmettitori monoaminergici, nel cervello di questi soggetti. In base ai dati in nostro possesso, questo studio rappresenta il primo tentativo di valutare la "complessità dinamica gravità-dipendente" dei pattern EEG registrati in consumatori di metanfetamina in astinenza e le relative associazioni con i pattern di uso e gli altri parametri clinici individuali.

L'ApEn rispecchia l'equilibrio dinamico esistente tra segregazione e integrazione funzionali delle reti neurali (Pincus and Goldberger, 1994; Tononi et al., 1994). L'ApEn sembra diminuire quando la rete funzionale corticale è isolata o disaccoppiata, e questa ridotta integrazione conduce a una ipoattività, ovvero a un segnale di trasmissione lento all'interno delle reti corticali (Pincus, 1994). Una tale riduzione della complessità corticale, in special modo nelle regioni frontali e temporali, scaturisce probabilmente dalle disconnessioni anatomiche e funzionali tra le regioni che più risentono della tossicità di lungo periodo della metanfetamina. Questa ipotesi speculativa potrebbe giustificare le riduzioni del tasso di metabolismo della sostanza bianca frontale rilevate nei consumatori di MA, e suggerisce la possibilità di deficit persistenti a carico dei lobi frontali (Kim et al., 2005b). Nei consumatori di MA, il circuito frontostriatale potrebbe essere coinvolto in modo tale che la diminuzione del tasso metabolico striatale provochi a sua volta livelli metabolici più bassi nelle regioni corticali frontali. Questo ipo-metabolismo, registrato nelle regioni corticali, potrebbe causare una minore integrazione delle reti neurali, conducendo così all'isolamento o al disaccoppiamento della rete. In alternativa, la ridotta complessità dinamica dei pattern EEG potrebbe riflettere la tossicità della metanfetamina nei confronti di diversi sistemi di neurotrasmissione monoaminergica, come quelli della dopamina e della noradrenalina, riducendo in tal modo il livello di attività locale delle regioni corticali. Gli effetti più tossici e più evidenti si registrano sui neuriti dei neuroni dopaminergici del cervello profondo, come lo striato, il caudato e il putamen (Kraemer and Maurer, 2002; Kita et al., 2003). Il danno cere-

brale causato dalla MA non si limita alle strutture cerebrali profonde, ma si estende anche alle aree corticali globali (Ciraulo et al., 2003; Kim et al., 2005a). È probabile che il coinvolgimento della dopamina nel processo della tossicodipendenza si accompagni a modifiche funzionali e strutturali a livello circuitale, comprese le aree corticali. Il vasto danno causato alle regioni corticali e subcorticali verso le quali si proiettano questi sistemi monoaminergici, così come riscontrato da studi precedenti, potrebbe giustificare la riduzione del livello di complessità dinamica globale osservato nei consumatori di MA che hanno partecipato al nostro studio. A prescindere dalla minore complessità dinamica che ne consegue, e che potrebbe essere la conseguenza dell'uso di MA su un sistema neurale funzionalmente integrato o degli effetti comparabili del farmaco su molteplici sistemi monoaminergici, la durata dell'uso e la quantità stimata di MA assunta presentano forti correlazioni con la complessità globale e dinamica dell'EEG in tutte le componenti di tali reti monoaminergiche e funzionali. In base a questi risultati, la durata e l'entità dell'esposizione alla metanfetamina possono spiegare una percentuale significativa della varianza osservata nella severità degli effetti neurotossici sistemici e di lunga durata subiti dai consumatori di MA.

Studi precedenti hanno associato i deliri e le allucinazioni osservati nei consumatori di MA ad anomalie dei recettori dopaminergici o nei trasportatori del caudato, del putamen e del nucleo accumbens (Wada e Fukui, 1990; Sekine et al., 2001). La misura dell'ApEn ha rivelato che i consumatori di MA che presentavano deliri e allucinazioni, avevano un'attività corticale più complessa dei soggetti consumatori esenti da tali sintomi psicotici. Sembrerebbe che i sintomi psicotici possano non soltanto spiegare taluni deficit del sistema dopaminergico, ma che la loro presenza possa costituire anche il motivo alla base della riorganizzazione o del recupero parziale dei deficit (Lautenschlager e Forstl, 2001; Kato et al., 2006) derivanti dalla tossicità della sostanza e dal danno ai sistemi corticali e subcorticali, come ad esempio al sistema serotoninergico, causato dalla psicosi scatenata dall'uso di MA (Sekine et al., 2006).

Nei pattern EEG dei consumatori di MA che avevano avuto rapporti sessuali durante gli episodi di consumo incontrollato della sostanza, sono stati misurati alti livelli di complessità corticale, prevalentemente nelle aree centroparietali di sinistra. Studi precedenti avevano ipotizzato un'associazione tra le regioni parietali e gli stimoli erotici, in particolare quelli di natura visiva (Montorsi et al. 2003; Mouras et al. 2003). I nostri dati suggeriscono che i rapporti sessuali che hanno luogo in concomitanza con l'uso di MA siano in qualche misura associati con una funzione del cervello relativamente intatta, piuttosto che con un semplice comportamento ricreativo. Per confermare il potere diagnostico di questa misura saranno necessarie ulteriori indagini, che prendano in esame non soltanto soggetti consumatori in astinenza, ma anche consumatori attuali e potenziali.

I risultati da noi ottenuti vanno interpretati alla luce dei limiti dello studio qui presentato. In primo luogo, gli esatti processi mentali che hanno luogo durante lo stato di riposo rimangono sostanzialmente esclusi dal controllo. Diversi stati mentali potrebbero avere influenzato il livello di entropia da noi misurato. Questa costituisce probabilmente la principale limitazione all'utilizzo della dinamica in stato di riposo. Tuttavia, gli effetti del cosiddetto "mind-wandering" casuale (vagabondare a caso con il pensiero) potrebbero essere eliminati attraverso l'uso di dati statistici inter-soggettivi. In secondo luogo, la durata del periodo di utilizzo e le quantità di MA assunte sono state determinate in base ad autodichiarazioni retrospettive, che hanno una validità e una precisione limitata. In terzo luogo, la scelta di esaminare soltanto individui di sesso maschile, che probabilmente sono più suscettibili delle donne nei confronti degli effetti neurotossici della metanfetamina, limita parimenti la possibilità di generalizzazione dei nostri risultati. In quarto luogo, non

sono stati effettuati dettagliati test neuropsicologici, e dunque non è stato possibile valutare i correlati funzionali dell'alterata complessità dei tracciati EEG misurata nel corso dello studio. Per finire, malgrado l'esclusione dallo studio dei soggetti con forte consumo di nicotina o di alcol, è probabile che gli utilizzatori di metanfetamina abbiano assunto, nel corso della vita, quantità maggiori di altre droghe rispetto ai soggetti di controllo, e questo potrebbe avere "confuso" la nostra capacità di ascrivere alla sola metanfetamina le cause dell'ipoattività. Nondimeno, le misure della complessità scaturite dalle nostre analisi dei tracciati elettroencefalografici possono contribuire a chiarire il modo in cui le informazioni possono essere elaborate in maniera anomala nelle reti corticali dei soggetti che fanno uso di metanfetamina. Dallo studio emerge la possibilità di servirsi di misure della complessità dinamica quali l'Entropia Approssimata come di un ulteriore strumento diagnostico quantitativo per l'uso di metanfetamina.

Tradotto e riprodotto ad opera della redazione dall'originale versione in inglese pubblicata in *Psychiatry Research: Neuroimaging* 2012 Mar 31;201(3):226-32, con il permesso dell'Editore. Titolo originale: Decreased cortical complexity in methamphetamine abusers.

## Bibliografia

1. Abasolo, D., Hornero, R., Espino, P., Poza, J., Sanchez, C.I., de la Rosa, R., 2005. Analysis of regularity in the EEG background activity of Alzheimer's disease patients with Approximate Entropy. *Clinical Neurophysiology* 116, 1826–1834.
2. Bob, P., Susta, M., Prochazkova-Vecero, A., Kukleta, M., Pavlat, J., Jagla, F., Raboch, J., 2006. Limbic irritability and chaotic neural response during conflicting Stroop task in the patients with unipolar depression. *Physiological Research* 55, S107–S112.
3. Breakspear, M., Terry, J.R., Friston, K.J., Harris, A.W., Williams, L.M., Brown, K., Brennan, J., Gordon, E., 2003. A disturbance of nonlinear interdependence in scalp EEG of subjects with first episode schizophrenia. *NeuroImage* 20.
4. Burioka, N., Cornelissen, G., Maegaki, Y., Halberg, F., Kaplan, D.T., Miyata, M., Fukuoka, Y., Endo, M., Suyama, H., Tomita, Y., 2005a. Approximate entropy of the electroencephalogram in healthy awake subjects and absence epilepsy patients. *Clinical EEG and Neuroscience* 36, 188–193.
5. Burioka, N., Miyata, M., Cornelissen, G., Halberg, F., Takeshima, T., Kaplan, D.T., Suyama, H., Endo, M., Maegaki, Y., Nomura, T., 2005b. Approximate entropy in the electroencephalogram during wake and sleep. *Clinical EEG and Neuroscience* 36, 21.
6. Chen, C.K., Lin, S.K., Sham, P.C., Ball, D., Loh, E.W., Hsiao, C.C., Chiang, Y.L., Ree, S.C., Lee, C.H., Murray, R.M., 2003. Pre-morbid characteristics and co-morbidity of methamphetamine users with and without psychosis. *Psychological Medicine* 33, 1407–1414.
7. Chung, H., Park, M., Hahn, E., Choi, H., Choi, H., Lim, M., 2004. Recent trends of drug abuse and drug-associated deaths in Korea. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1025, 458–464.
8. Ciraulo, D.A., Piechniczek-Buczek, J., Iscan, E.N., 2003. Outcome predictors in substance use disorders. *The Psychiatric Clinics of North America* 26, 381–409.
9. D'Astous, M., Mickley, K.R., Dluzen, D.E., Di Paolo, T., 2005. Differential protective properties of estradiol and tamoxifen against methamphetamine-induced nigrostriatal dopaminergic toxicity in mice. *Neuroendocrinology* 82, 111–120.
10. Dluzen, D.E., Anderson, L.I., Pilati, C.F., 2002. Methamphetamine-gonadal steroid hormonal interactions: effects upon acute toxicity and striatal dopamine concentrations. *Neurotoxicology and Teratology* 24, 267–273.
11. Farrell, M., Marsden, J., Ali, R., Ling, W., 2002. Methamphetamine: drug use and psychoses becomes a major public health issue in the Asia Pacific region. *Addiction* 97, 771–772.
12. Fingelkurts, A.A., Rytala, H., Suominen, K., Isometsa, E., Kahkonen, S., 2007. Impaired functional connectivity at EEG alpha and theta frequency bands in major depression. *Human Brain Mapping* 28 (3), 247–261.
13. Hornero, R., Espino, P., Alonso, A., Lopez, M., 1999. Estimating complexity from EEG background activity of epileptic patients. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine* 18, 73–79.
14. Jeong, J., Kim, S.Y., Han, S.H., 1998. Non-linear dynamical analysis of the EEG in Alzheimer's disease with optimal embedding dimension. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 106, 220–228.
15. Johanson, C.E., Frey, K.A., Lundahl, L.H., Keenan, P., Lockhart, N., Roll, J., Galloway, G.P., Koeppe, R.A., Kilbourn, M.R., Robbins, T., 2006. Cognitive function and nigrostriatal markers in abstinent methamphetamine abusers. *Psychopharmacology* 185, 327–338.
16. Kato, Y., Muramatsu, T., Kato, M., Shibukawa, Y., Shintani, M., Yoshino, F., 2006. Cortical reorganization and somatic delusional psychosis: a magnetoencephalographic study. *Psychiatry Research: Neuroimaging* 146, 91–95.
17. Keshavan, M.S., Cashmere, J.D., Miewald, J., Yeragani, V.K., 2004. Decreased nonlinear complexity and chaos during sleep in first episode schizophrenia: a preliminary report. *Schizophrenia Research* 71, 263–272.
18. Kim, S.J., Lyoo, I.K., Hwang, J., Chung, A., Hoon Sung, Y., Kim, J., Kwon, D.H., Chang, K.H., Renshaw, P.F.,



- 2005a. Prefrontal grey-matter changes in short-term and long-term abstinent methamphetamine abusers. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* 9, 221–228.
19. Kim, S.J., Lyoo, I.K., Hwang, J., Sung, Y.H., Lee, H.Y., Lee, D.S., Jeong, D.U., Renshaw, P.F., 2005b. Frontal glucose hypometabolism in abstinent methamphetamine users. *Neuropsychopharmacology* 30, 1383–1391.
20. Kita, T., Wagner, G.C., Nakashima, T., 2003. Current research on methamphetamine-induced neurotoxicity: animal models of monoamine disruption. *Journal of Pharmacological Sciences* 92, 178–195.
21. Kraemer, T., Maurer, H.H., 2002. Toxicokinetics of amphetamines: metabolism and toxicokinetic data of designer drugs, amphetamine, methamphetamine, and their N-alkyl derivatives. *Therapeutic Drug Monitoring* 24, 277–289.
22. Kulsudjarit, K., 2004. Drug problem in Southeast and Southwest Asia. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1025, 446–457.
23. Lautenschlager, N.T., Forstl, H., 2001. Organic psychosis: insight into the biology of psychosis. *Current Psychiatry Reports* 3, 319–325.
24. Lin, M.A., Chan, H.L., Fang, S.C., 2005. Linear and nonlinear EEG indexes in relation to the severity of coma. *Engineering in Medicine and Biology Society, 2005. IEEE-EMBS 2005. 27th Annual International Conference*, pp. 4580–4583.
25. London, E.D., Simon, S.L., Berman, S.M., Mandelkern, M.A., Lichtman, A.M., Bramen, J., Shinn, A.K., Miotto, K., Learn, J., Dong, Y., 2004. Mood disturbances and regional cerebral metabolic abnormalities in recently abstinent methamphetamine abusers. *Archives of General Psychiatry* 61, 73–84.
26. McCann, U.D., Wong, D.F., Yokoi, F., Villemagne, V., Dannals, R.F., Ricaurte, G.A., 1998. Reduced striatal dopamine transporter density in abstinent methamphetamine and methcathinone users: evidence from positron emission tomography studies with [<sup>11</sup>C] WIN-35,428. *The Journal of Neuroscience* 18, 8417–8422.
27. McCann, U.D., Kuwabara, H., Kumar, A., Palermo, M., Abbey, R., Brasic, J., Ye, W., Alexander, M., Dannals, R.F., Wong, D.F., 2008. Persistent cognitive and dopamine transporter deficits in abstinent methamphetamine users. *Synapse* 62, 91–100.
28. Micheloyannis, S., Pachou, E., Stam, C.J., Breakspear, M., Bitsios, P., Vourkas, M., Erimaki, S., Zervakis, M., 2006. Small-world networks and disturbed functional connectivity in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 87, 60–66.
29. Montorsi, F., Perani, D., Anchisi, D., Salonia, A., Scifo, P., Rigioli, P., Deho, F., De Vito, M.L., Heaton, J., Rigatti, P., 2003. Brain activation patterns during video sexual stimulation following the administration of apomorphine: results of a placebo-controlled study. *European Urology* 43, 405–411.
30. Mouras, H., Stoleru, S., Bittoun, J., Glutron, D., Pelegrini-Issac, M., Paradis, A.L., Burnod, Y., 2003. Brain processing of visual sexual stimuli in healthy men: a functional magnetic resonance imaging study. *NeuroImage* 20, 855–869.
31. Newlin, D.B., Wong, C.J., Stapleton, J.M., London, E.D., 2000. Intravenous cocaine decreases cardiac vagal tone, vagal index (derived in Lorenz space), and heart period complexity (approximate entropy) in cocaine abusers. *Neuropsychopharmacology* 23, 560–568.
32. Newton, T.F., Cook, I.A., Kalechstein, A.D., Duran, S., Monroy, F., Ling, W., Leuchter, A.F., 2003. Quantitative EEG abnormalities in recently abstinent methamphetamine dependent individuals. *Clinical Neurophysiology* 114, 410–415.
33. Newton, T.F., Kalechstein, A.D., Hardy, D.J., Cook, I.A., Nestor, L., Ling, W., Leuchter, A.F., 2004. Association between quantitative EEG and neurocognition in methamphetamine-dependent volunteers. *Clinical Neurophysiology* 115, 194–198.
34. Office of Applied Studies, 2005. Overview of Findings from the 2004 National Survey on Drug Use and Health. (Publication No. 05-4061) Substance Abuse and Mental Health Services Administration, DHHS, Rockville, MD.
35. Paulus, M., 2002. Behavioral and functional neuroimaging evidence for prefrontal dysfunction in methamphetamine-dependent subjects. *Neuropsychopharmacology* 26, 53–63.
36. Paulus, M.P., Braff, D.L., 2003. Chaos and schizophrenia: does the method fit the madness? *Biological Psychiatry* 53, 3–11.
37. Pincus, S.M., 1991. Approximate entropy as a measure of system complexity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88, 2297–2301.
38. Pincus, S.M., 1994. Greater signal regularity may indicate increased system isolation. *Mathematical Biosciences* 122, 161–181.
39. Pincus, S., 1995. Approximate entropy (ApEn) as a complexity measure. *Chaos* 5, 110–117.
40. Pincus, S.M., Goldberger, A.L., 1994. Physiological time-series analysis: what does regularity quantify? *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 266, 1643–1656.
41. Radhakrishnan, N., Gangadhar, B.N., 1998. Estimating regularity in epileptic seizure time-series data. *Engineering in Medicine and Biology Magazine, IEEE* 17, 89–94.
42. Ricaurte, G.A., Schuster, C.R., Seiden, L.S., 1980. Long-term effects of repeated methylamphetamine administration on dopamine and serotonin neurons in the rat brain: a regional study. *Brain Research* 193, 153–163.
43. Roschke, J., Mann, K., Fell, J., 1994. Nonlinear EEG dynamics during sleep in depression and schizophrenia. *The International Journal of Neuroscience* 75, 271–284.
44. Sattler, J.M., 2001. *Assessment of Children: Cognitive Applications*, Fourth Edition. PRO-ED Inc.
45. Seivewright, N., 2000. Disorders relating to the use of amphetamine and cocaine. *New Oxford Textbook of Psychiatry*. Oxford University, New York, pp. 531–534.
46. Sekine, Y., Iyo, M., Ouchi, Y., Matsunaga, T., Tsukada, H., Okada, H., Yoshikawa, E., Futatsubashi, M., Takei, N., Mori, N., 2001. Methamphetamine-related psychiatric symptoms and reduced brain dopamine transporters studied with PET. *The American Journal of Psychiatry* 158, 1206–1214.
47. Sekine, Y., Minabe, Y., Ouchi, Y., Takei, N., Iyo, M., Nakamura, K., Suzuki, K., Tsukada, H., Okada, H., Yoshikawa, E., 2003. Association of dopamine transporter loss in the orbitofrontal and dorsolateral prefrontal cortices with methamphetamine-related psychiatric symptoms. *The American Journal of Psychiatry* 160, 1699–1701.
48. Sekine, Y., Ouchi, Y., Takei, N., Yoshikawa, E., Nakamura, K., Futatsubashi, M., Okada, H., Minabe, Y., Suzuki, K., Iwata, Y., Tsuchiya, K.J., Tsukada, H., Iyo, M., Mori, N., 2006. Brain serotonin transporter density and aggres-

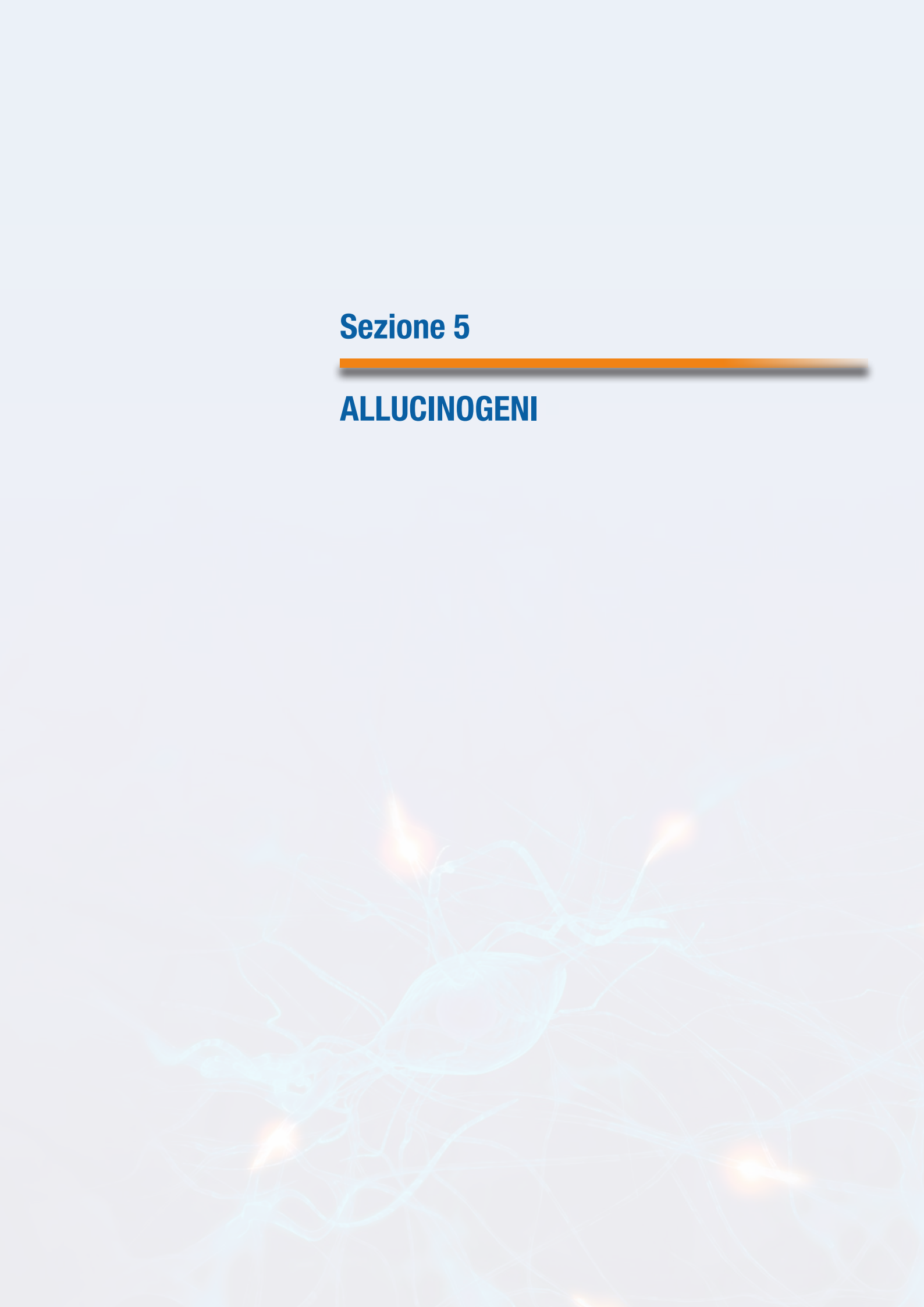
- sion in abstinent methamphetamine abusers. *Archives of General Psychiatry* 63, 90–100.
49. Spitzer, R.L., Williams, J.B.W., Gibbon, M., 1994. Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID). Biometrics Research Department, New York State Psychiatric Institute, New York.
  50. Sporns, O., Tononi, G., Edelman, G.M., 2000. Connectivity and complexity: the relationship between neuroanatomy and brain dynamics. *Neural Networks* 13, 909–922.
  51. Taillard, J., Philip, P., Coste, O., Sagaspe, P., Bioulac, B., 2003. The circadian and homeostatic modulation of sleep pressure during wakefulness differs between morning and evening chronotypes. *Journal of Sleep Research* 12, 275–282.
  52. Thomasson, N., Pezard, L., Boyer, P., Renault, B., Martinerie, J., 2002. Nonlinear EEG changes in a 48-hour cyclic manic-depressive patient. *Nonlinear Dynamics, Psychology, and Life Sciences* 6, 259–267.
  53. Thompson, P.M., Hayashi, K.M., Simon, S.L., Geaga, J.A., Hong, M.S., Sui, Y., Lee, J.Y., Toga, A.W., Ling, W., London, E.D., 2004. Structural abnormalities in the brains of human subjects who use methamphetamine. *The Journal of Neuroscience* 24, 6028–6036.
  54. Tononi, G., Edelman, G.M., 1998. Consciousness and complexity. *Science* 282, 1846–1851.
  55. Tononi, G., Sporns, O., Edelman, G.M., 1994. A measure for brain complexity: relating functional segregation and integration in the nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91, 5033–5037.
  56. Tononi, G., Edelman, G.M., Sporns, O., 1998. Complexity and coherency: integrating information in the brain. *Trends in Cognitive Sciences* 2, 474–484.
  57. Villemagne, V., Yuan, J., Wong, D.F., Dannals, R.F., Hatzidimitriou, G., Mathews, W.B., Ravert, H.T., Musachio, J., McCann, U.D., Ricaurte, G.A., 1998. Brain dopamine neurotoxicity in baboons treated with doses of methamphetamine comparable to those recreationally abused by humans: evidence from [<sup>11</sup>C] WIN-35,428 positron emission tomography studies and direct in vitro determinations. *The Journal of Neuroscience* 18, 419–427.
  58. Volkow, N.D., Chang, L., Wang, G.J., Fowler, J.S., Franceschi, D., Sedler, M., Gatley, S.J., Miller, E., Hitzemann, R., Ding, Y.S., 2001a. Loss of dopamine transporters in methamphetamine abusers recovers with protracted abstinence. *The Journal of Neuroscience* 21, 9414.
  59. Volkow, N.D., Chang, L., Wang, G.J., Fowler, J.S., Leonido-Yee, M., Franceschi, D., Sedler, M.J., Gatley, S.J., Hitzemann, R., Ding, Y.S., 2001b. Association of dopamine transporter reduction with psychomotor impairment in methamphetamine abusers. *The American Journal of Psychiatry* 158, 377–382.
  60. Wada, K., Fukui, S., 1990. Relationship between years of methamphetamine use and symptoms of methamphetamine psychosis. *Arukoku Kenkyuto Yakubutsu Ison* 25, 143–158.
  61. Wagner, G.C., Ricaurte, G.A., Johanson, C.E., Schuster, C.R., Seiden, L.S., 1980. Amphetamine induces depletion of dopamine and loss of dopamine uptake sites in caudate. *Neurology* 30, 547–550.
  62. Yeom, T.H., Park, Y.S., Oh, K.J., Kim, J.K., Lee, Y.H., 1992. K-WAIS Application Principles. Korea Guidance, Seoul.





## Sezione 5

### ALLUCINOGENI





## 2.5.1 Allucinogeni: effetti dell'esposizione prenatale e del consumo in adolescenza e in età adulta sulle strutture e sulle funzioni cerebrali

Franco Alessandrini<sup>1</sup>, Giada Zoccatelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

A causa di una spiccata immaturità cerebrale, durante l'adolescenza può esserci un'alta coesistenza di comportamenti a rischio nei giovani (Carter CS et al., 1998), quali attività sessuali non protette e uso di sostanze stupefacenti. Non è quindi raro trovare giovani adolescenti che fanno uso o abuso di sostanze stupefacenti e siano contemporaneamente in gravidanza (Lassen JF et al., 1992). Nelle giovani madri che fanno uso di droghe, l'esposizione alle sostanze per il feto avviene principalmente nei primi periodi di gestazione, quando la gravidanza non è ancora riconosciuta. Non esiste una numerosa letteratura scientifica circa gli effetti dell'esposizione prenatale a sostanze allucinogene (LSD, Ketamina, ecc) poiché esse sono principalmente assunte assieme e secondariamente ad altre droghe (cocaína, eroina, marijuana). Saranno quindi enunciati alcuni risultati ottenuti da ricerche che hanno studiato gli effetti neurotossici dell'esposizione prenatale alle droghe considerando, tra queste, anche gli effetti degli allucinogeni.

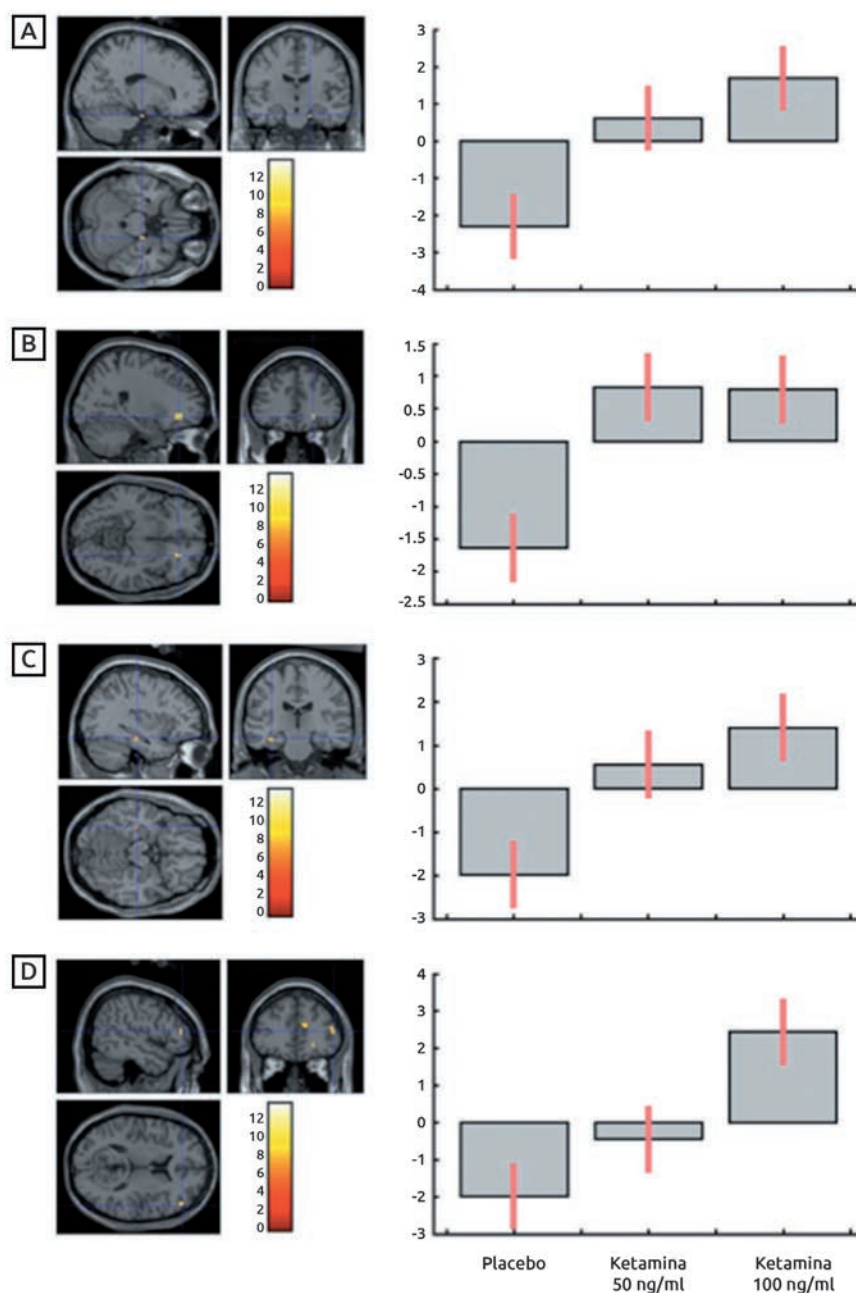
Le sostanze allucinogene sono principalmente assunte assieme ad altre droghe

La ketamina è utilizzata in medicina, sia sull'uomo che sull'animale, come anestetico ed il suo uso illegale come droga ricreazionale è un fenomeno in rapida crescita. Purtroppo ancora poco è conosciuto circa le conseguenze negative dell'uso ripetuto di ketamina sul cervello dell'uomo. Uno studio londinese condotto presso l'Università di Cambridge (Honey GD., 2004) ha riportato i risultati ottenuti da una ricerca effettuata con la risonanza magnetica funzionale (fMRI) che caratterizza gli effetti dell'uso di ketamina sulla risposta neurale della corteccia frontale e ippocampale, il circuito neurale coinvolto nella capacità di codifica, memorizzazione e recupero delle informazioni. Il consumo di ketamina come antagonista dei recettori N-metil-D-aspartato (NMDA) in queste strutture, produce deficit della memoria episodica. Sono stati reclutati 20 soggetti volontari (range d'età 18-49 anni) e sottoposti ad un disegno di studio doppio cieco, randomizzato, di confronto tra soggetti a cui sono state somministrate una dose intravenosa di ketamina e una dose placebo. Gli effetti della droga sulla capacità di memoria sono stati valutati mediante un compito somministrato in due diverse fasi: nella prima, gli stimoli sono stati codificati prima dell'infusione di droga ed è stato testato il recupero mnestico durante la scansione con fMRI; nella seconda, la codifica degli stimoli avveniva dopo infusione di droga mentre il recupero mnestico veniva valutato dopo l'abbassamento dei livelli plasmatici di ketamina. In questo modo è stato possibile determinare l'interazione dell'effetto di ketamina con la capacità del processamento di codifica. I risultati dello studio hanno fornito importanti informazioni sulla natura cognitiva dei cambiamenti della capacità mnestica causati dalla ketamina. Nella condizione placebo si è attivato l'ippocampo sinistro durante la codifica dello stimolo, fenomeno già noto, per permettere il successivo recupero mnestico dell'informazione (Brewer JB et al., 1998; Wagner AD et al., 1998b; Henson RN et al., 1999b; Kirchhoff BA

L'uso di Ketamina danneggia il circuito frontale e ippocampale, deputato alla capacità di codifica e memoria episodica

et al., 2000; Otten LJ et al., 2001). Dopo la somministrazione di ketamina, nella fase di recupero mnestico, si è attivata la corteccia prefrontale laterale destra, anch'essa coinvolta nella capacità di riconoscimento dello stimolo (Figura 1). Anche lo studio di Otten LJ et al. (2001) ha mostrato un'attivazione diffusa nella corteccia prefrontale destra suggerendo che tale attivazione, osservata anche in compiti di memoria episodica non verbale (Brewer JB et al., 1998; Wagner AD et al., 1998a; McDermott KB et al., 1999), potrebbe riflettere il coinvolgimento di un'incidentale strategia di elaborazione di stimoli non verbali. I risultati dello studio sarebbero quindi consistenti con un'aumentata richiesta di elaborazione non verbale durante l'uso di ketamina, un fenomeno che, ad alte dosi, si associa a disordini del pensiero (Malhotra AK et al., 1996; Adler CM et al., 1999; Duncan EJ et al., 2001). La ketamina produce inoltre un'aumentata attivazione della corteccia frontale sinistra quando l'elaborazione cognitiva prevede una profonda codifica dello stimolo, nello specifico il processamento dell'informazione semantica. L'attivazione della corteccia frontale sinistra non avviene infatti nella condizione placebo. La precisa natura di questo effetto non è ancora del tutto chiara. L'attivazione del giro frontale inferiore sinistro durante compiti di processamento semantico è stata interpretata come necessaria per il recupero dell'informazione (Wagner AD et al., 2001) e nelle operazioni di selezione dello stimolo rilevante (Thompson-Schill SL et al., 1997; Fletcher PC et al., 2000; Fletcher PC e Henson RN, 2001). E' quindi possibile interpretare i risultati dello studio, in particolare l'aumentata attivazione della corteccia frontale sinistra come risposta a stimoli piacevoli/spiacevoli, come una difficoltà di giudizio cognitivo nell'identificare e selezione le caratteristiche semantiche rilevanti per il contesto. Tale difficoltà potrebbe riflettere un effetto della ketamina sulla capacità di giudizio che, ad alte dosi di assunzione, può portare a gravi disordini del pensiero (Adler CM et al., 1998). Lo studio dimostra che anche quando non sia evidente la compromissione comportamentale, la ketamina ha un impatto a livello cerebrale sul reclutamento di regioni indispensabili a una corretta abilità di memorizzazione, in particolare per la memoria di tipo episodico. Mentre esistono già studi comportamentali che dimostrano l'effetto negativo della ketamina sulla capacità di recupero dell'informazione (Oye I et al., 1992; Hetem LA et al., 2000; Honey GD et al., 2005), usando la fMRI questa ricerca ha mostrato l'esistenza di profondi cambiamenti della ketamina sulla capacità mnestica anche quando la codifica dell'informazione avviene prima della somministrazione della sostanza. Questi effetti negativo sul recupero episodico sono consistenti con una diminuzione della capacità di accesso alle caratteristiche contestuali dello stimolo.

Figura 1 - Regioni cerebrali che dimostrano un' aumentata attivazione funzionale (aumento del segnale BOLD) durante un compito di identificazione di stimoli (risposte corrette vs risposte errate) nella condizione con somministrazione di ketamina e placebo. Fonte: Honey GD. et al., 2004.

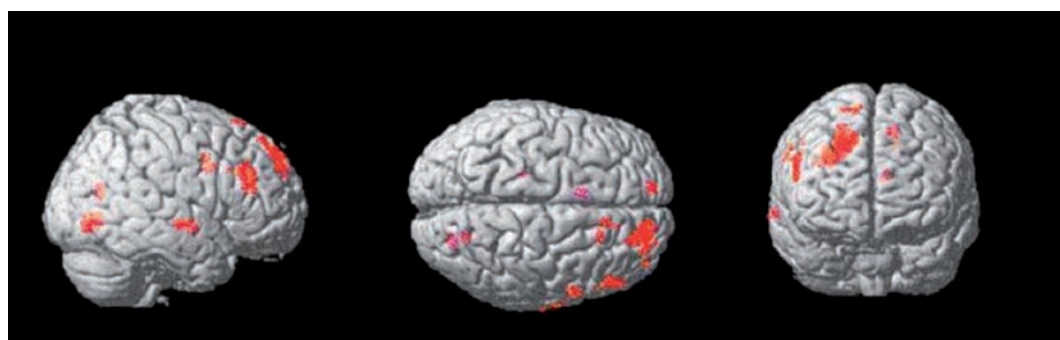


La ketamina rappresenta un potente antagonista non competitivo del recettore glutamatergico N-methyl-D-aspartate (NMDA). Le ricerche sugli animali indicano che il sistema prefrontale dopaminergico è particolarmente vulnerabile agli effetti tossici della ripetuta somministrazione di antagonisti del recettore NMDA. Nello studio di Narendran R. (2005) è stata eseguita la tomografia ad emissione di positroni (PET) per determinare le caratteristiche del recettore dopaminergico D1 e del radioligando [ $^{11}\text{C}$ ]NNC 112 in un gruppo di 14 consumatori ricreazionali di ketamina confrontati con un gruppo di controllo. Il consumo di droga è stato confermato attraverso l'analisi del capello. La presenza del recettore D1 era notevolmente aumentata nella corteccia prefrontale dorsolaterale dei consumato-

La PET mostra un alterato metabolismo della dopamina nella corteccia prefrontale dorsolaterale in consumatori cronici di Ketamina

ri cronici di ketamina, come dimostrato dalla presenza del radioligando (valore medio di  $[^{11}\text{C}]\text{NNC} = 112 \pm 1.68 \text{ ml/g}$ ,  $\text{SD}=0.40$ ), rispetto ai soggetti di controllo (valore medio  $= 1.35 \text{ ml/g}$ ,  $\text{SD}=0.35$ ). Non sono state registrate differenze significative in altre regioni corticali, limbiche o striatali. Nei consumatori di ketamina, la presenza del radioligando nella corteccia prefrontale dorsolaterale è risultata significativamente correlata con il numero di fiale di ketamina usate per settimana (una fiala contiene approssimativamente 200–300 mg di ketamina). Consumatori di ketamina esibiscono quindi una selettiva sovra regolazione della disponibilità di recettori D1 nella corteccia prefrontale dorso laterale (Figura 2), un fenomeno osservato anche in studi su animali dopo una cronica deplezione di dopamina. Questo studio sull'uomo suggerisce quindi che l'uso ripetuto di ketamina per scopi ricreazionali può alterare la trasmissione dopaminergica della corteccia prefrontale, un sistema neuronale criticamente coinvolto nella capacità di memorizzazione (memoria di lavoro) e nel controllo delle funzioni esecutive.

Figura 2 - In arancione sono indicate le regioni cerebrali, in particolare la corteccia prefrontale dorsolaterale destra, che esibiscono una significativa maggiore disponibilità del radioligando  $[^{11}\text{C}]\text{NNC} 112$  in consumatori cronici di ketamina ( $N=14$ ) rispetto ai soggetti di controllo sani ( $N=14$ ). Fonte: Narendran R. et al., 2005.



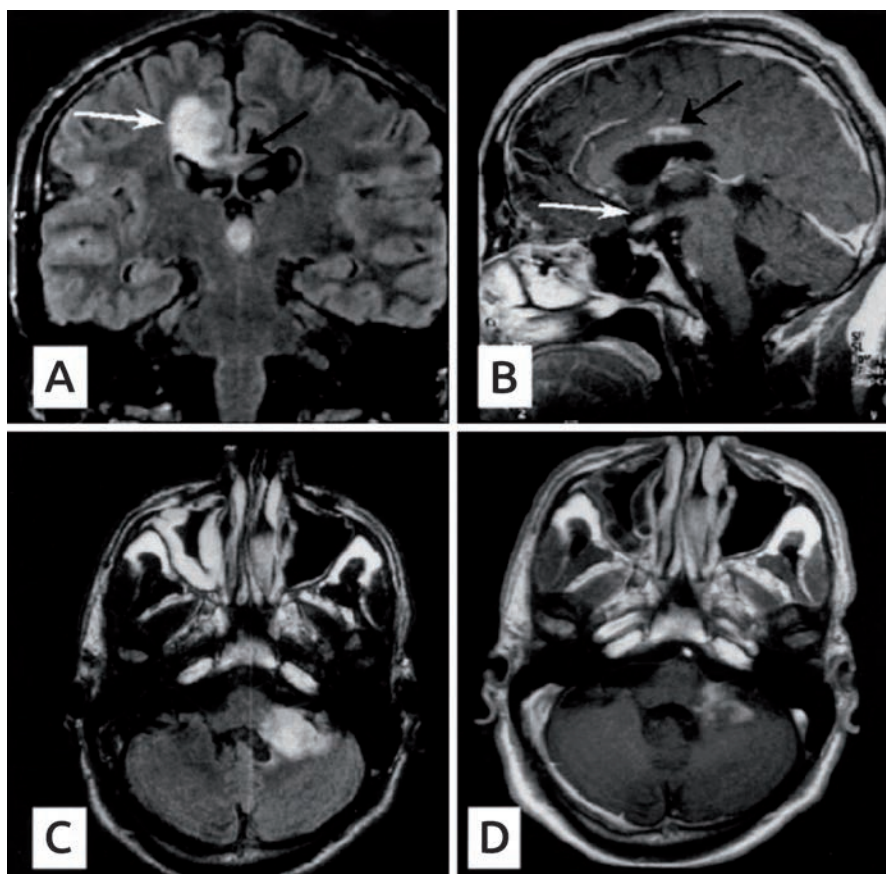
Lesioni  
multifocali da  
demyelinizzazione  
dopo abuso di  
"funghi magici"

È abbastanza comune l'assunzione volontaria di sostanze naturali con proprietà allucinatorie, come i "magic mushrooms" o funghi magici (Lassen JF et al., 1992; Peden NR. et al., 1982; Schwartz RH et al., 1998). Sappiamo che questi tipi di funghi possono avere diversi effetti sull'organismo: si possono infatti manifestare reazioni simpatico-mimetiche (attivazione del sistema nervoso autonomo), problemi renali e aritmia, arrivando fino all'infarto miocardico (Franz M. et al., 1996; Hyde C., 1978, Lassen JF et al., 1992; Peden NR. et al., 1982, Raff E. et al., 1992). Uno studio tedesco (Spendos K. et al., 1999) ha descritto il caso di due soggetti che hanno presentato a livello cerebrale delle lesioni multifocali ascrivibili a demielinizzazione neuronale, dopo ingestione di funghi magici. Il primo soggetto, trentatreenne con una storia d'abuso di alcol e hashish, ha manifestato monoparesi alla gamba sinistra e disturbi visivi (anopsia) bilaterali, due settimane dopo aver assunto, per la prima volta, funghi magici. All'esame clinico, il soggetto presenta cecità transitoria ad entrambi gli occhi (amaurosi), un'inflammatione dei dischi ottici con demielinizzazione medio temporale dei nervi ottici (neurite ottica) e paresi della gamba sinistra. L'analisi del liquido cerebrospinale rilevava una distruzione della barriera ematoencefalica senza bande oligoclonali (marker di demielinizzazione). L'analisi tossicologica è risultata negativa per l'uso di altre sostanze. Assenti i potenziali evocati visivi (VEP). È stata esclusa la possibilità di una malattia autoimmune per la mancanza di specifici anticorpi nel sangue e nel liquido cerebrospinale. La Risonanza Magnetica, dopo somministrazione di contrasto paramagne-



tico endovenoso, ha mostrato delle aree di aumentato segnale demielinizzante in sede parietale destra (Figura 3a), lungo la parte centrale del corpo calloso e di entrambi i nervi ottici (Figura 3b, freccia bianca e nera). Due settimane dopo avere consumato ancora funghi magici, il soggetto accusa sbandamenti alla marcia, sordità all'orecchio sinistro (lesione vestibolare centrale) ed eccessivi riflessi tendinei della parte sinistra del corpo senza segni piramidali. La MRI evidenzia una nuova zona di demielinizzazione cerebrale (Figura 3c) dopo somministrazione di contrasto paramagnetico nel tronco encefalico e nel peduncolo cerebellare sinistro (Figura 3d). La terapia con alte dosi di corticosteroidi e l'astinenza dall'assunzione di funghi magici, ha portato alla scomparsa dei sintomi clinici. La MRI nel controllo a sei mesi mostra un significativo miglioramento della condizione cerebrale. Questo caso clinico permette di fare alcune importanti considerazioni; il fatto che il soggetto abbia manifestato deficit neurologici due volte, ciascuna dopo 2 settimane di latenza dopo l'assunzione di funghi magici, indica una stretta correlazione tra il consumo della sostanza e i sintomi clinici, confermata dalle lesioni demielinizzanti riscontrate con la MRI. E' possibile quindi ipotizzare un effetto tossico dei funghi sul sistema nervoso centrale, nonostante l'esatto meccanismo patogenetico rimanga ancora sconosciuto.

**Figura 3** - A) Immagine di MRI secondo il piano coronale del parenchima cerebrale mediante sequenza FLAIR (fluid-attenuated inversion recovery), che mostra la presenza di un'intensità di segnale (freccia bianca) in regione parietale paramediana destra, coinvolgente il corpo calloso (freccia nera). B) Immagine secondo il piano sagittale mediante sequenza pesata in T1 (T1-weighted) e somministrazione di mezzo di contrasto, mostra la presa di contrasto (lesione demielinizzante) in entrambi i nervi ottici (freccia bianca) e lungo il chiasma. Le zone di demielinizzazione comprendono anche la zona centrale del corpo calloso (freccia nera). C) Immagine assiale mediante sequenza FLAIR, mostra una vasta lesione iperintensa a livello del peduncolo cerebellare che coinvolge le strutture laterali del tronco encefalico e l'emisfero cerebellare sinistro adiacente alla cisterna cerebellopontina. D) Immagine assiale con sequenza T1 che mostra dopo contrasto, la distruzione della barriera ematoencefalica a livello della lesione cerebellopontina sinistra. Fonte: Spendos K. et al., 2000.



Sostanze  
psichedeliche  
come la psilocibina  
inducono una  
disgregazione della  
consapevolezza  
cognitiva

La psilocibina è una triptamina (un alcaloide, cioè una sostanza organica di origine vegetale avente gruppi amminici) allucinogena presente in alcuni funghi allucinogeni del genere *Psilocybe* e *Stropharia*. Alcuni ricercatori dell'Università di Bristol (Londra) e di Copenhagen (Danimarca) hanno utilizzato la Risonanza Magnetica funzionale (fMRI) e la tecnica ASL (arterial spin labeling) per studiare gli effetti neurali sottostanti agli stati di coscienza alterati, indotti dalle sostanze stupefacenti (Carhart-Harris R.L et al., 2011). La variazione dei livelli di ossigenazione del sangue (fenomeno BOLD) e il flusso sanguigno cerebrale sono stati analizzati prima e dopo un'iniezione intravenosa di una sostanza placebo e di psilocibina, in 15 soggetti volontari mediante fMRI e in altri 15 mediante tecnica ASL (2 femmine, età media di 32 anni). La somministrazione della psilocibina o del placebo avveniva in 2 sessioni separate (in ordine bilanciato), con un intervallo di 14 giorni l'una dall'altra. L'iniezione veniva eseguita 6 minuti dopo la scansione RM, sia con tecnica fMRI che con tecnica ASL. Come ipotizzato, si sono osservati profondi cambiamenti nello stato di coscienza dei soggetti dopo somministrazione di psilocibina, ma sorprendentemente la diminuzione del flusso sanguigno e del segnale BOLD sono stati riscontrati solo in regioni come il talamo, la corteccia cingolata anteriore e posteriore (ACC e PCC). La diminuzione dell'attività funzionale nella ACC e nella corteccia prefrontale media (mPFC) correlava inoltre con il grado di alterazione di coscienza, ossia maggiore era la diminuzione dell'attività neurale e maggiori erano i sintomi allucinatori riscontrati nei soggetti. Partendo da questi risultati i ricercatori hanno investigato l'interazione esistente tra connettività funzionale ed effetti farmacologici/fisiologici della psilocibina a livello della corteccia prefrontale media. La psilocibina sembra provocare una significativa riduzione della connettività tra mPFC e PCC. Questo significa che le droghe psichedeliche e i loro effetti sull'organismo causano una significativa riduzione dell'attività e della connettività funzionale, proprio nelle aree cerebrali coinvolte nei circuiti neuronali d'integrità delle funzioni mentali, dando origine ad uno stato di disgregazione della consapevolezza cognitiva.

**Figura 4 - In alto: deattivazione cerebrale dopo iniezione di psilocibina. Le 3 immagini in alto (rappresentazione dell'encefalo secondo il piano sagittale e assiale), mostrano le aree (in azzurro/blu) di significativa riduzione del segnale BOLD dopo psilocibina rispetto al placebo (valore di  $z$ : 1.8–3). Analisi "Mixed-effects",  $z > 1.8$ ,  $P < 0.05$ . In basso: aree di consistente diminuzione di CBF e segnale BOLD dopo psilocibina. La significativa riduzione del segnale BOLD è stata calcolata mediante utilizzo di una maschera basata sui risultati ottenuti dal segnale mediante tecnica ASL, ad un livello di soglia statistica pari a  $p = 0.05$ . Non sono state trovate aree di aumentato CBF o segnale BOLD. Fonte: Carhart-Harris R.L et al., 2011.**

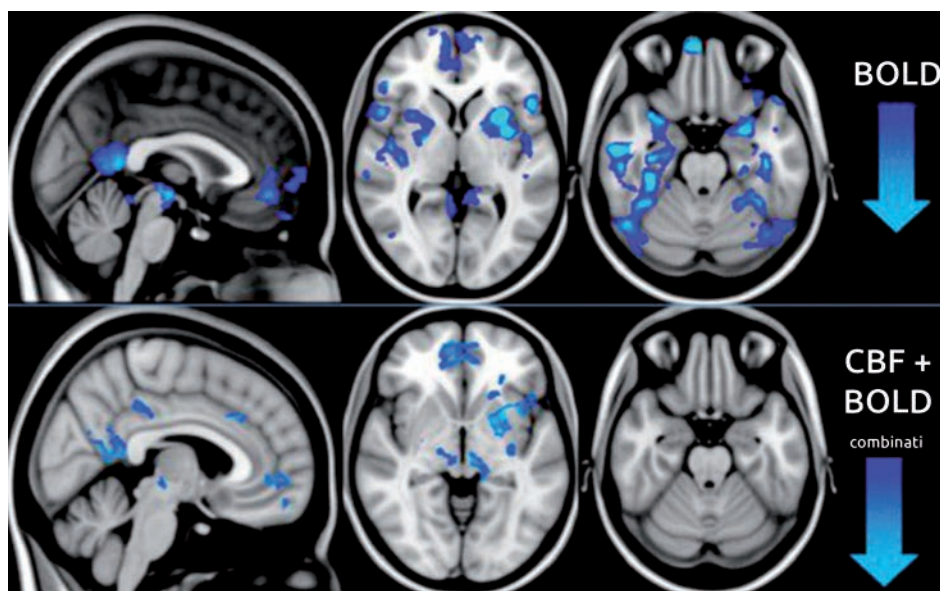
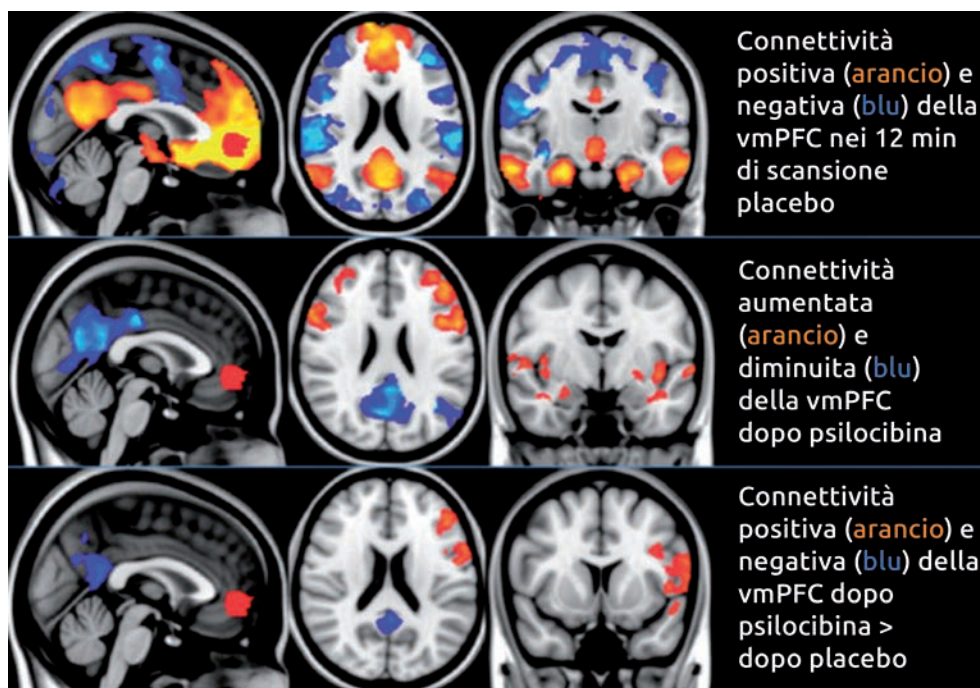


Figura 5 - Cambiamenti della connettività funzionale nella corteccia prefrontale ventromediale (vmPFC) dopo psilocibina. Immagine in alto: in arancione le regioni cerebrali positivamente correlate all'attivazione della vmPFC, in blu le regioni negativamente correlate all'attività della vmPFC. Immagine al centro: significativo aumento (in arancione) e riduzione (in blu) della connettività funzionale dopo somministrazione di psilocibina. Immagine in basso: aree di significativo incremento e riduzione della connettività funzionale dopo psilocibina rispetto al placebo. Analisi statistica di tipo "mixed effects",  $z > 2.3$ ,  $P < 0.05$  whole-brain cluster corrected,  $n = 15$ . Fonte: Carhart-Harris R.L et al., 2011.

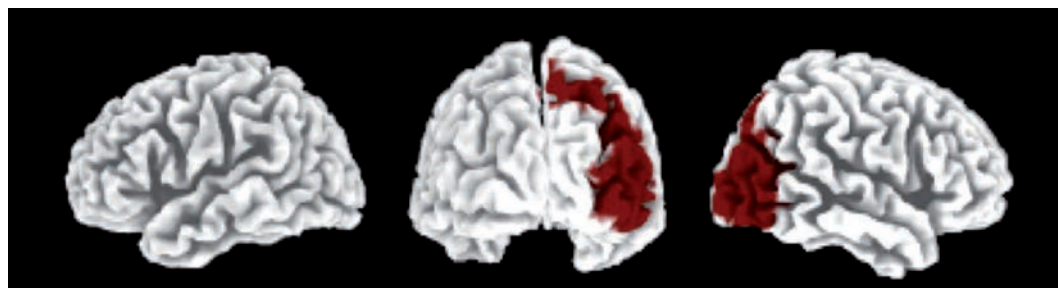


Il sistema serotoninergico, e in particolare i recettori 5-HT<sub>2A/1A</sub>, sembrano coinvolti nel processamento dell'informazione visiva e nella patofisiologia dei disturbi visivi che comprendono le allucinazioni nella malattia di Parkinson e nella schizofrenia. Uno studio multicentrico, che comprende l'Università di Zurigo (Svizzera), di San Diego (California) e di Melbourne (Australia) ha investigato il ruolo dei recettori 5-HT<sub>2A/1A</sub> nella elaborazione dell'informazione visiva e nella generazione di allucinazioni visive mediante somministrazione di psilocibina in 17 soggetti volontari (Kometer M. et al., 2011). Ai partecipanti è stata somministrata la sostanza (125 e 250 µg/Kg) o un placebo. Gli studiosi hanno analizzato le dinamiche spazio-temporali della visione di un oggetto registrando i potenziali evocati visivi assieme a tecniche di mappaggio topografico e analisi di sorgente del segnale. Gli effetti sono stati poi considerati in relazione alla soggettiva intensità delle allucinazioni visive indotte dall'assunzione di psilocibina, quantificate mediante misure psicometriche. Le analisi dei dati dimostrano che la psilocibina ha un effetto dose-dipendente con una riduzione della componente N170 e, all'opposto, un incremento selettivo della componente P1 registrato dagli elettrodi posti nella zona occipitale dello scalpo. La diminuzione della N170 è più marcata durante l'elaborazione di figure incomplete di oggetti. Inoltre, la generale riduzione di attivazione della componente N170 nelle aree parietali posteriori ed extrastriata destra correla positivamente con l'intensità delle allucinazioni visive. I risultati dello studio suggeriscono il ruolo centrale dei recettori 5-HT<sub>2A/1A</sub> nella modulazione del processamento visivo. La riduzione della componente N170 rappresenta quindi una prova del ruolo dei recettori 5-HT<sub>2A/1A</sub> nel mediare le allucinazioni visive dopo somministrazione di psilocibina e delle aberrazioni visive durante l'elaborazione di informazioni oggettuali incomplete.

La psilocibina agisce sul sistema visivo, in particolare su alcuni recettori del sistema serotoninergico



Figura 6 - Analisi di correlazione dell'onda N170 (148–223 msec) che mostra la relazione tra allucinazioni visive e somministrazione del placebo o psilocibina. La psilocibina induce un decremento dell'onda N170 in corrispondenza dei regioni extra striate dell'emisfero destro e nelle aree parietali posteriori (in rosso, aree significative con  $p < 0,05$ ). Questo fenomeno appare correlato con l'intensità delle allucinazioni visive percepite dai soggetti. Fonte: Kometer M. et al., 2011.



## Bibliografia

1. Adler CM, Goldberg TE, Malhotra AK, Pickar D, Breier A (1998) Effects of ketamine on thought disorder, working memory, and semantic memory in healthy volunteers. *Biol Psychiatry* 43:811–816.
2. Adler CM, Malhotra AK, Elman I, Goldberg T, Egan M, Pickar D, Breier A (1999) Comparison of ketamine-induced thought disorder in healthy volunteers and thought disorder in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 156:1646–1649.
3. Brebion G, Smith MJ, Widlocher D (1997) Discrimination and response bias in memory: effects of depression severity and psychomotor retardation. *Psychiatry Res* 70:95–103.
4. Breier A, Malhotra AK, Pinals DA, Weisenfeld NI, Pickar D (1997) Association of ketamine-induced psychosis with focal activation of the prefrontal cortex in healthy volunteers. *Am J Psychiatry* 154:805–811.
5. Brewer JB, Zhao Z, Desmond JE, Glover GH, Gabrieli JD (1998) Making memories: brain activity that predicts how well visual experience will be remembered. *Science* 281:1185–1187.
6. Borowiak KS, Ciechanowski K, Waloszczyk P (1998) Psilocybin mushroom (*Psilocybe semilanceata*) intoxication with myocardial infarction. *J Toxicol Clin Toxicol* 36:47–49.
7. Cabeza R, Locantore JK, Anderson ND (2003) Lateralization of prefrontal activity during episodic memory retrieval: evidence for the production-monitoring hypothesis. *J Cogn Neurosci* 15:249–259.
8. Caley A, Venable PH, Monk AF (1983) Evidence for distinct verbal memory pathologies in severely and mildly disturbed schizophrenics. *Schizophr Bull* 9:247–264.
9. Carter CS, Braver TS, Barch DM, Botvinick MM, Noll D, Cohen JD (1998) Anterior cingulate cortex, error detection, and the online monitoring of performance. *Science* 280:747–749. Abstract/FREE Full Text
10. Craik FIM, Lockhart RS (1972) Levels of processing: A framework for memory research. *J Verb Learn Verb Behav* 11:671–684.
11. Domino EF, Zsigmond EK, Domino LE, Domino KE, Kothary SP, Domino SE (1982) Plasma levels of ketamine and two of its metabolites in surgical patients using a gas chromatographic mass fragmentographic assay. *Anesth Analg* 61:87–92.
12. Duncan EJ, Madonick SH, Parwani A, Angrist B, Rajan R, Chakravorty S, Efferen TR, Szilagyi S, Stephanides M, Chappell PB, Gonzenbach S, Ko GN, Rotrosen JP (2001) Clinical and sensorimotor gating effects of ketamine in normals. *Neuropsychopharmacology* 25:72–83.
13. Eyler Zorrilla LT, Jeste DV, Paulus M, Brown GG (2003) Functional abnormalities of medial temporal cortex during novel picture learning among patients with chronic schizophrenia. *Schizophr Res* 59:187–198. CrossRefMedlineWeb of Science
14. Fletcher PC, Henson RN (2001) Frontal lobes and human memory: insights from functional neuroimaging. *Brain* 124:849–881.
15. Fletcher PC, Shallice T, Frith CD, Frackowiak RS, Dolan RJ (1996) Brain activity during memory retrieval. The influence of imagery and semantic cueing. *Brain* 119:1587–1596.
16. Fletcher PC, Shallice T, Dolan RJ (2000) 'Sculpting the response space' — an account of left prefrontal activation at encoding. *Neuroimage* 12:404–417. Fletcher PC, Stephenson CM, Carpenter TA, Donovan T, Bullmore ET (2003) Regional brain activations predicting subsequent memory success: an event-related fMRI study of the influence of encoding tasks. *Cortex* 39:1009–1026.
17. Francis WN, Kucera H (1982) Frequency analysis of English usage: lexicon and grammar. Boston, MA: Houghton Mifflin.
18. Franz M, Regele H, Kirchmair M, et al (1996) Magic mushrooms: hope for a "cheap high" resulting in end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 11: 2324–2327
19. Friston KJ, Holmes AP, Worsley KJ, Poline JB, Frith CD, Frackowiak RSJ (1995) Statistical parametric maps in functional imaging: a general linear approach. *Hum Brain Mapp* 2:189–210.
20. Friston KJ, Fletcher P, Josephs O, Holmes A, Rugg MD, Turner R (1998) Event-related fMRI: characterizing differential responses. *Neuroimage* 7:30–40.
21. Gold JM, Randolph C, Carpenter CJ, Goldberg TE, Weinberger DR (1992) Forms of memory failure in schizophrenia. *J Abnorm Psychol* 101:487–494.

22. Hyde C, Glancy G, Omerod P, Hall D, Taylor GS (1978) Abuse of indigenous psilocybin mushrooms: a new fashion and some psychiatric complications. *Br J Psychiatry* 602–604.
23. Heckers S, Rauch SL, Goff D, Savage CR, Schacter DL, Fischman AJ, Alpert NM (1998) Impaired recruitment of the hippocampus during conscious recollection in schizophrenia. *Nat Neurosci* 1:318–323.
24. Heinrichs RW, Zakzanis KK (1998) Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology* 12:426–445.
25. Henson RN, Shallice T, Dolan RJ (1999a) Right prefrontal cortex and episodic memory retrieval: a functional MRI test of the monitoring hypothesis. *Brain* 122:1367–1381.
26. Henson RN, Rugg MD, Shallice T, Josephs O, Dolan RJ (1999b) Recollection and familiarity in recognition memory: an event-related functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci* 19:3962–3972.
27. Hetem LA, Danion JM, Diemunsch P, Brandt C (2000) Effect of a subanesthetic dose of ketamine on memory and conscious awareness in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 152:283–288.
28. Hofer A, Weiss EM, Golaszewski SM, Siedentopf CM, Brinkhoff C, Kremser C, Faber S, Fleischhacker WW (2003) An fMRI study of episodic encoding and recognition of words in patients with schizophrenia in remission. *Am J Psychiatry* 160:911–918.
29. Holcomb HH, Lahti AC, Medoff DR, Weiler M, Tamminga CA (2001) Sequential regional cerebral blood flow brain scans using PET with H<sub>2</sub>(15)O demonstrate ketamine actions in CNS dynamically. *Neuropsychopharmacology* 25:165–172.
30. Honey RAE, Honey GD, O'Loughlin C, Sharar SR, Kumaran D, Bullmore ET, Menon DK, Donovan T, Lupson VC, Bisbrown-Chippendale R, Fletcher PC (2004) Acute ketamine administration alters the brain responses to executive demands in a verbal working memory task: an fMRI study. *Neuropsychopharmacology* 29:1203–1214.
31. Honey GD, Honey RAE, Sharar SR, Turner DC, Pomarol-Clotet E, Kumaran D, Simons JS, Hu X, Rugg MD, Bullmore ET, Fletcher PC (2005) Impairment of specific episodic memory processes by sub-psychotic doses of ketamine: the effects of levels of processing at encoding and of the subsequent retrieval task. *Psychopharmacology* (in press).
32. Jessen F, Scheef L, Germeshausen L, Tawo Y, Kockler M, Kuhn KU, Maier W, Schild HH, Heun R (2003) Reduced hippocampal activation during encoding and recognition of words in schizophrenia patients. *Am J Psychiatry* 160:1305–1312.
33. Kharasch ED, Labroo R (1992) Metabolism of ketamine stereoisomers by human liver microsomes. *Anesthesiology* 77:1201–1207.
34. Kirchhoff BA, Wagner AD, Maril A, Stern CE (2000) Prefrontal-temporal circuitry for episodic encoding and subsequent memory. *J Neurosci* 20:6173–6180.
35. Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB, Jr., Charney DS (1994) Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry* 51:199–214.
36. Yonezawa Y, Kuroki T, Kawahara T, Tashiro N, Uchimura H (1998) Involvement of gamma-aminobutyric acid neurotransmission in phencyclidine-induced dopamine release in the medial prefrontal cortex. *Eur J Pharmacol* 341:45–56.
37. Lahti AC, Holcomb HH, Medoff DR, Tamminga CA (1995) Ketamine activates psychosis and alters limbic blood flow in schizophrenia. *Neuroreport* 6:869–872.
38. Lassen JF, Lassen NF, Skov J (1992) Consumption of psilocybin-containing hallucinogenic mushrooms by young people. *Ugeskr Laeger* 154:2678–2681.
39. Lepage M, Habib R, Tulving E (1998) Hippocampal PET activations of memory encoding and retrieval: the HIPER model. *Hippocampus* 8:313–322.
40. Leube DT, Erb M (2002) Hippocampal dysfunction during episodic memory encoding in patients with schizophrenia - an fMRI study. *Schizophr Res* 187:1–3.
41. Maldjian JA, Laurienti PJ, Kraft RA, Burdette JH (2003) An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets. *Neuroimage* 19:1233–1239.
42. Malhotra AK, Pinals DA, Weingartner H, Sirocco K, Missar CD, Pickar D, Breier A (1996) NMDA receptor function and human cognition: the effects of ketamine in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology* 14:301–307.
43. McDermott KB, Buckner RL, Petersen SE, Kelley WM, Sanders AL (1999) Set- and code-specific activation in frontal cortex: an fMRI study of encoding and retrieval of faces and words. *J Cogn Neurosci* 11:631–640.
44. McKenna PJ, Tamlyn D, Lund CE, Mortimer AM, Hammond S, Baddeley AD (1990) Amnesic syndrome in schizophrenia. *Psychol Med* 20:967–972.
45. Moghaddam B, Adams B, Verma A, Daly D (1997) Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *J Neurosci* 17:2921–2927.
46. Monaghan DT, Buller AL (1995) Anatomical, pharmacological and molecular diversity of native NMDA receptor subtypes. In: *The NMDA receptor*, 2nd edn (Collingridge JL, Watkins JC, eds), pp. 158–176. New York: Oxford University Press.
47. Morgan CJA, Mofeez A, Brandner B, Bromley L, Curran HV (2004) Acute effects of ketamine on memory systems and psychotic symptoms in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology* 29:208–218.
48. Morris RG, Anderson E, Lynch GS, Baudry M (1986) Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 319:774–776.
49. Narendran R, Frankle W. G., Scott Mason N., Laymon C. M., Lopresti BJ, Price J C., Kendro S, Vora, Maralee S. Litschge, James M. Mountz, Chester A. Mathis PET Imaging of D2/3 agonist binding in healthy human subjects with the radiotracer [11C]-N-propyl-nor-apomorphine (NPA): preliminary evaluation and reproducibility studies *Synapse*. 2009 July; 63(7): 574–584.
50. Nelson H (1982) *National Adult Reading Test*. New York: NFER-Nelson.
51. Newcomer JW, Farber NB, Jevtovic-Todorovic V, Selke G, Melson AK, Hershey T, et al. (1999) Ketamine-induced NMDA receptor hypofunction as a model of memory impairment and psychosis. *Neuropsychopharmacology* 20:106–118.



52. Nolde SF, Johnson MK, D'Esposito M (1998) Left prefrontal activation during episodic remembering: an event-related fMRI study. *Neuroreport* 9:3509–3514.
53. Olney JW, Farber NB (1995) Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 52:998–1007.
54. Otten LJ, Henson RN, Rugg MD (2001) Depth of processing effects on neural correlates of memory encoding: relationship between findings from across- and within-task comparisons. *Brain* 124:399–412.
55. Oye I, Paulsen O, Maurset A (1992) Effects of ketamine on sensory perception: evidence for a role of N-methyl-D-aspartate receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 260:1209–1213.
56. Peden NR, Pringle SD, Crooks J (1982) The problem of psilocybin mushroom abuse. *Hum Toxicol* 1:417–424.
57. Radant AD, Bowdle TA, Cowley DS, Kharasch ED and Roy-Byrne PP (1998) Does ketamine-mediated N-methyl-D-aspartate receptor antagonism cause schizophrenia-like oculomotor abnormalities? *Neuropsychopharmacology* 19:434–444.
58. Raff E, Hallora PF, Kjellstrand CM (1992) Renal failure after eating “magic” mushrooms. *Can Med Assoc J* 147:1339–1341.
59. Ragland JD, Gur RC, Raz J, Schroeder L, Kohler CG, Smith RJ, Alavi A, Gur RE (2001) Effect of schizophrenia on frontotemporal activity during word encoding and recognition: a PET cerebral blood flow study. *Am J Psychiatry* 158:1114–1125.
60. Rugg MD, Fletcher PC, Chua PM, Dolan RJ (1999) The role of the prefrontal cortex in recognition memory and memory for source: an fMRI study. *Neuroimage* 10:520–529.
61. Schacter DL, Alpert NM, Savage CR, Rauch SL, Albert MS (1996) Conscious recollection and the human hippocampal formation: evidence from positron emission tomography. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:321–325.
62. Schwartz RH, Smith DE (1998) Hallucinogenic mushrooms. *Clin Pediatr (Phila)* 27:70–73.
63. Tamminga CA, Holcomb HH, Gao XM, Lahti AC (1995) Glutamate pharmacology and the treatment of schizophrenia: current status and future directions. *Int Clin Psychopharmacol* 10:29–37.
64. Thompson-Schill SL, D'Esposito M, Aguirre GK, Farah MJ (1997) Role of left inferior prefrontal cortex in retrieval of semantic knowledge: a reevaluation. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:14792–14797.
65. Tsai G, Coyle JT (2002) Glutamatergic mechanisms in schizophrenia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 42:165–179.
66. Vollenweider FX, Leenders KL, Oye I, Hell D, Angst J (1997a) Differential psychopathology and patterns of cerebral glucose utilisation produced by (S)- and (R)-ketamine in healthy volunteers using positron emission tomography (PET). *Eur Neuropsychopharmacol* 7:25–38.
67. Vollenweider FX, Leenders KL, Scharfetter C, Antonini A, Maguire P, Missimer J, Angst J (1997b) Metabolic hyperfrontality and psychopathology in the ketamine model of psychosis using positron emission tomography (PET) and [18F]fluorodeoxyglucose (FDG). *Eur Neuropsychopharmacol* 7:9–24.
68. Wagner AD, Poldrack RA, Eldridge LL, Desmond JE, Glover GH, Gabrieli JD (1998a) Material-specific lateralization of prefrontal activation during episodic encoding and retrieval. *Neuroreport* 9:3711–3717.
69. Wagner AD, Schacter DL, Rotte M, Koutstaal W, Maril A, Dale AM, Rosen BR, Buckner RL (1998b) Building memories: remembering and forgetting of verbal experiences as predicted by brain activity. *Science* 281:1188–1191.
70. Wagner AD, Pare-Blagoev EJ, Clark J, Poldrack RA (2001) Recovering meaning: left prefrontal cortex guides controlled semantic retrieval. *Neuron* 31:329–338.
71. Weiss AP, Schacter DL, D CG, Rauch SL, Alpert NM, Fischman AJ, Heckers S (2003) Impaired hippocampal recruitment during normal modulation of memory performance in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 53:48–55.
72. Wilkinson D, Halligan P (2004) Opinion: The relevance of behavioural measures for functional-imaging studies of cognition. *Nat Rev Neurosci* 5:67–73.



## Sezione 6

### ALCOL





## 2.6.1 Esposizione prenatale all'alcol e compromissioni cerebrali

Franco Alessandrini<sup>1</sup>, Giada Zoccatelli<sup>1</sup>, Giovanni Serpelloni<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

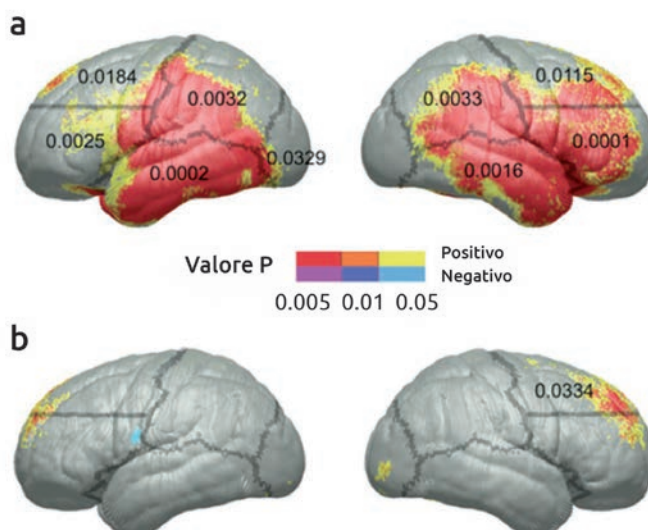
<sup>2</sup> Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri

L'esposizione prenatale all'alcol può causare numerosi e selettivi danni al cervello, in particolar modo se l'esposizione avviene su un cervello in via di sviluppo. La ricerca scientifica ha investigato con diverse metodologie i cambiamenti dei segnali neurofisiologici associati alle diverse funzioni cerebrali in soggetti esposti all'alcol durante la gestazione. Le tecniche più utilizzate sono l'elettroencefalogramma (EEG), la tomografia ad emissioni di positroni (PET), la tomografia computerizzata a emissione di singolo fotone (SPECT) e la risonanza magnetica funzionale (fMRI). È possibile diagnosticare in questi individui una vera e propria sindrome da esposizione prenatale all'alcol, dall'inglese "fetal alcohol syndrome" (FAS) o altri disordini da esposizione prenatale all'alcol, "fetal exposed spectrum disorders" (FASD). Una revisione scientifica sul tema dell'esposizione prenatale all'alcol è stata da poco pubblicata da alcuni ricercatori dell'università della California (Lebel C., 2011) al fine di dimostrare quali anomalie cerebrali manifestassero i soggetti che sono stati esposti all'alcol prima della nascita. Le ricerche considerate dagli studiosi hanno tutte utilizzato l'imaging di risonanza magnetica (MRI) per analizzare la struttura di diverse aree cerebrali. In particolare, sono emerse delle anomalie o malformazioni strutturali che includono una riduzione del volume totale del corpo calloso (CC). Il corpo calloso è una struttura cerebrale mediana, costituita da una lamina di sostanza bianca che connette tra loro i due emisferi cerebrali, ossia un canale attraverso il quale le informazioni vengono trasmesse da un emisfero all'altro. Il CC ha un ruolo importante nella coordinazione di varie funzioni, come quelle motorie bimanuali, l'attenzione sostenuta, la visione, e la memoria di lavoro visuo-spaziale (Devinsky O., 2004). Nell'esposizione alcolica prenatale un incompleto o ridotto sviluppo del CC (ipoplasia) è stato osservato con una certa frequenza (Autti-Ramo I., 2002; Sowell ER, 2001; Riley EP, 1995). Una ricerca condotta a San Diego ha riscontrato che le porzioni anteriore e posteriore del CC risultano significativamente ridotte nel gruppo con storia di esposizione prenatale all'alcol (Riley EP, 1995). Bookstein FL. (2002), utilizzando la tecnica analitica basata sulla morfologia è riuscito a classificare correttamente 100 individui esposti su 117 (85%) (Bookstein FL., 2003). L'analisi morfometrica del corpo calloso può dunque offrire un valido contributo all'identificazione dei soggetti con esposizione alcolica prenatale. Diverse ricerche hanno mostrato mediante tecniche avanzate di RM le modifiche di forma, spessore e dislocamenti di molte regioni cerebrali in soggetti esposti all'alcol. Uno studio di Sowell ER. (2008) ha mostrato la presenza di dismorfismi cerebrali in soggetti FASD, specificatamente localizzati a livello della corteccia parietale e temporale posteriore. L'analisi dello spessore corticale nei soggetti esaminati, ha fatto rilevare un aumentato spessore della corteccia nelle regioni frontali destre. Questo dato risulta correlato con le anomalie riscontrate negli stessi soggetti con FASD alle prove di abilità verbale, evidenziando così una relazione tra l'alterazione cerebrale frontale e le performance cognitivo-

Effetto teratogeno  
dell'alcol sul  
feto durante la  
gestazione

comportamentali (Figura 1). Gli effetti teratogenici dell'alcol sembrano influenzare diverse zone del cervello, in modo ampio e distribuito all'intera superficie encefalica. Le uniche regioni che sembrano essere risparmiate dall'effetto neurotossico della sostanza sembrano essere i lobi occipitali. Recenti studi (Coles CD., 2011) hanno esaminato il collegamento tra deficit cognitivi e anomalie cerebrali in soggetti esposti all'alcol durante la gestazione riportando dati importanti sulla relazione tra la severità del danno cerebrale e la presenza di dismorfismi facciali in base all'entità dell'esposizione prenatale. Sono necessari studi in futuro in grado di esplorare le relazioni tra struttura cerebrale, misure cognitive, dismorfismo, età e altre variabili che possono essere considerate per meglio comprendere i vasti effetti dell'esposizione prenatale all'alcol, in una politica della prevenzione il cui obiettivo finale sia arrivare a interventi sempre più precoci ed efficaci.

Figura 1 - Mappe di spessore corticale in soggetti esposti all'alcol durante la gestazione, confrontati con soggetti sani di controllo. a) Localizzazione delle aree di diverso spessore corticale tra i 2 gruppi di studio. b) Mappe di correlazione tra spessore corticale e performance comportamentale al test CVLT-C, un compito di apprendimento verbale. Le aree di significativa correlazione sono localizzate nel lobo frontale destro dei soggetti con esposizione prenatale all'alcol. Fonte: Sowell ER et al., 2008.



Nella sindrome da esposizione alcolica, la fMRI e la PET dimostrano un globale decremento dell'attività neurale necessaria al corretto funzionamento cognitivo

La risonanza magnetica funzionale (fMRI) offre l'opportunità di esaminare e quindi di capire gli effetti dell'esposizione prenatale all'alcol sul funzionamento cerebrale. Poiché esiste una correlazione tra attivazione neurale e risposta comportamentale, negli individui con esposizione prenatale all'alcol sono stati descritti deficit e anomalie del comportamento proprio in funzione degli effetti dell'alcol sulla struttura cerebrale. Questi studi hanno dimostrato che è possibile studiare in modo continuo e non invasivo individui con storia di esposizione prenatale all'alcol, identificando gli eventuali deficit o alterazioni del sistema nervoso centrale associati alla sostanza; tuttavia attualmente la ricerca in questo ambito è ancora limitata e poco sistematica. I primi risultati pubblicati sugli effetti dell'esposizione prenatale all'alcol risalgono solo al 2005 (Pfefferbaum A, 2005; Ma X., 2005), dimostrando come questo ambito di studio sia recente e ancora poco sviluppato. Questi primi studi suggeriscono comunque che l'esposizione prenatale all'alcol, o una diagnosi di FAS, possano portare ad una restrizione dell'efficienza delle cellule nervose o ad un globale decremento delle risorse cerebrali necessarie all'elaborazione delle informazioni. Si ritiene che questo insieme di anomalie sia strettamente correlato a diversi deficit funzionali tipici dei

soggetti con FASD, come per esempio i disturbi della memoria spaziale, la perseverazione (Mattson SN, 1996). Inoltre, la PET (Tomografia a Emissione di Positroni) ha evidenziato nei soggetti con FAS un ipometabolismo nei gangli della base, e specificamente nei talami e nuclei caudati e nel putamen destro. Tali nuclei sono situati nelle profondità del cervello, abbondantemente connessi alle aree motorie corticali e sottocorticali, e quindi legati al movimento e all'apprendimento procedurale. Essi sono inoltre coinvolti in diverse funzioni cognitive, affettive e motivazionali (Devinsky O, D'Esposito M., 2004). Poiché dal talamo passano le vie motorie corticali e sottocorticali, le sue anomalie possono portare a deficit della coordinazione motoria (Mattson SN, 1998). Alcuni ricercatori vi associano anche la disinibizione comportamentale e le ridotte abilità di giudizio sociale molto spesso presenti negli individui con FASD (Mattson SN, 1996).

Recentemente, alcuni studi di neuroimmagine hanno identificato quali deficit cerebrali si manifestano in soggetti con esposizione prenatale all'alcol (PAE) e in quali specifiche zone del cervello essi avvengono (Pfefferbaum A., 2005; Lee KT, 2004). La localizzazione di tali specifici effetti della PAE rappresenta un importante passo avanti per la comprensione del meccanismo teratogeno dell'alcol sul cervello dell'uomo. Queste conoscenze possono permettere la differenziazione degli effetti della PAE da altri disordini. Chen (2011) ha voluto studiare con risonanza magnetica strutturale alcuni giovani soggetti con diagnosi di PAE. Le immagini di RM dei partecipanti sottoposti a scansione cerebrale sono state esaminate da un punto di vista esclusivamente morfologico; mediante algoritmi di segmentazione automatica sono state definite alcune regioni di interesse (ROIs) corrispondenti a zone corticali e sottocorticali. Sono state successivamente utilizzate delle analisi di gruppo per evidenziare le differenze volumetriche delle strutture considerate tra il gruppo di soggetti con PAE e un gruppo di controllo. L'analisi di gruppo ha evidenziato delle differenze nei soggetti con PAE in diverse regioni occipitali e temporali. Questi risultati sono inconsistenti con quelli di studi precedenti con gruppi di bambini. Tuttavia, è plausibile ipotizzare una differenza di genere come effetto della PAE. I risultati della ricerca suggeriscono che il tipo di campionamento e il genere possono essere importanti fattori per interpretare gli specifici effetti dell'esposizione prenatale all'alcol sul cervello dell'uomo. Mediante un approccio di tipo parametrico, la ricerca ha inoltre dimostrato che alti livelli di PAE sono associati a un minor volume cerebrale totale e a un minor quoziente intellettivo. Diverse regioni corticali e sottocorticali hanno inoltre mostrato una correlazione negativa tra PAE e dimensione volumetrica. Questi dati dimostrano come l'esposizione prenatale all'alcol, a livello cerebrale, possa avere un effetto in generale sulla crescita fisica fino all'età adulta. Questo studio fornisce quindi nuove prove sugli effetti specifici della PAE sul cervello dell'uomo e suggerisce importanti implicazioni per studi futuri in questo campo.

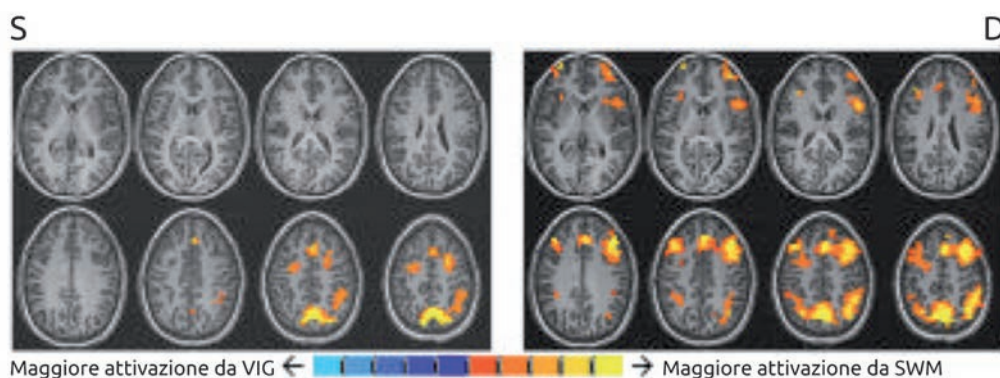
Negli individui con storia di esposizione prenatale all'alcol è stato consistentemente trovato un collegamento tra deficit neurocognitivi e anomalie strutturali cerebrali dovuti agli effetti neurotossici della sostanza. Nello specifico sono state osservate anomalie cerebrali strutturali in regioni coinvolte nella capacità di memorizzazione spaziale (spatial working memory). Nei soggetti con diagnosi di disordine da esposizione prenatale all'alcol (FASDs - Foetal Alcohol Spectrum Disorders) sono stati infatti osservati deficit del funzionamento visuo-spaziale. Un ricercatore italiano dell'Università della California, Spadoni AD (2009) ha utilizzato la risonanza magnetica funzionale (fMRI) per investigare le variazioni dei livelli di ossigenazione del sangue (effetto BOLD) in soggetti esposti all'alcol durante l'esecuzione di un compito di memoria di lavoro spaziale (SWM task). Sono stati coinvolti nello studio

Dagli studi morfometrici è possibile identificare i danni cerebrali conseguenti all'esposizione alcolica nei giovani adulti

L'alcol induce un'anomala risposta neurale nelle aree cerebrali deputate alla capacità mnestica

22 giovani (età 10-18 anni), di questi 10 con una documentata storia di cronica esposizione prenatale all'alcol (ALC,  $n = 10$ ), e 12 soggetti di controllo sani confrontabili per età (CON,  $n = 12$ ). Tutti i partecipanti allo studio hanno eseguito il compito di memoria spaziale richiesto durante la scansione di fMRI. Le analisi dei dati RM non hanno dimostrato differenze tra i gruppi, nell'accuratezza e nei tempi di reazione durante il compito SWM, sebbene i soggetti di controllo avessero tempi di risposta più veloci durante la condizione di vigilanza. Le immagini funzionali mostrano un simile pattern di attivazione cerebrale tra due gruppi, che comprende i lobi prefrontali dorso laterali bilateralmente e le aree parietali. L'analisi del segnale BOLD fa tuttavia rilevare una risposta maggiore nel gruppo di soggetti ALC durante l'esecuzione del compito nella condizione di vigilanza nelle regioni frontali, insulari, temporali medio e superiore, occipitali e sottocorticali. Nelle stesse aree i soggetti di controllo mostrano una minor attivazione cerebrale. Tali differenze nella variazione del segnale neurale rimangono significative anche includendo come covariata i punteggi alla scala di valutazione del quoziente intellettivo. Nonostante sia evidente una equivalenza tra i gruppi nell'esecuzione del compito di memoria spaziale, la differente risposta neurale, in particolare l'aumentato segnale BOLD nei soggetti con esposizione prenatale all'alcol, potrebbe indicare una diminuita efficienza delle reti neurali in tali soggetti, o rappresentare un meccanismo compensatorio per aumentare i livelli di performance neurale e/o cognitivi. Nei soggetti con esposizione prenatale all'alcol o FASDs, l'aumentata attivazione prefrontale in risposta a compiti di memoria di lavoro verbale e di inibizione della risposta, può rappresentare una prova che le strutture frontali, in tali soggetti, siano coinvolte in maggior misura, con un maggior dispendio di risorse cognitive, al fine di eseguire in modo corretto il compito richiesto.

Figura 2 - Mappe di analisi statistica del segnale BOLD (within group t-tests,  $\alpha=0.05$ ) che mostrano il pattern di attivazione della corteccia prefrontale dorsolaterale al compito SWM rispetto alla condizione di vigilanza, in entrambi i gruppi di studio. Sulla destra viene riportata la mappa di attivazione nel gruppo ALC; e risulta evidente la maggiore estensione e ampiezza delle aree attive, sia corticali che sottocorticali, nel gruppo ALC rispetto al gruppo CON (immagine a sinistra). Fonte: Spadoni AD., 2009.



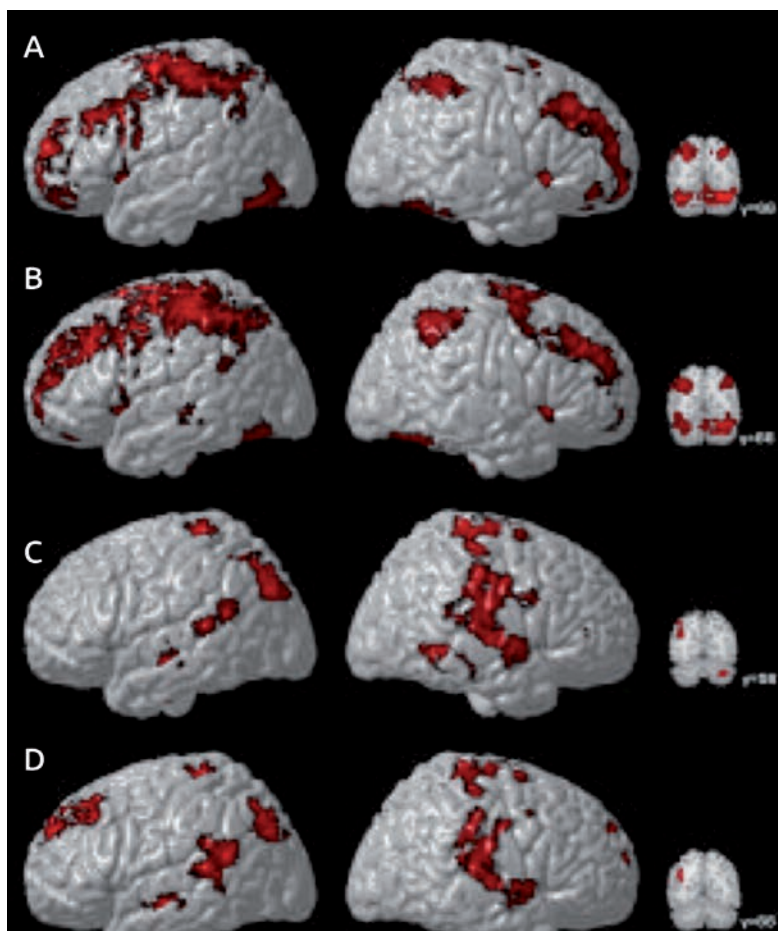
I deficit di memoria conseguenti all'esposizione prenatale di alcol dipendono da un'alterato funzionamento del circuito fronto-parietale

In uno studio di O'Hare (2009) è stato dimostrato che i bambini e gli adolescenti con una cronica esposizione prenatale all'alcol presentano anomalie del funzionamento delle aree cerebrali fronto parietali, che si manifestano con problematiche nella capacità di memorizzare le informazioni. La ricerca ha valutato le basi neurali della memoria di lavoro verbale (WM) in un gruppo di 20 bambini e adolescenti con diagnosi di disordine da esposizione prenatale all'alcol (FASDs) confrontati con 20 soggetti di controllo di pari età mediante



utilizzo di una risonanza magnetica funzionale (fMRI). L'analisi dei dati ha mostrato che entrambi i gruppi a livello cerebrale presentano una estesa attivazione del sistema di aree che comprende il circuito fronto-parieto-cerebellare noto per essere coinvolto nella memoria di lavoro verbale. Tutti i partecipanti hanno eseguito un compito di memoria verbale (WM) contemporaneamente alla scansione con fMRI. Le analisi del segnale funzionale hanno mostrato una equivalente performance comportamentale, sebbene i soggetti con esposizione all'alcol presentassero un'aumentata attivazione della corteccia frontale dorsale sinistra, della corteccia parietale inferiore sinistra e delle regioni temporali posteriori bilaterali. Queste differenze nell'attivazione neurale tra i gruppi sono state statisticamente confermate anche quando nell'analisi dei dati è stato considerato il quoziente intellettivo. Questo pattern di aumentata attivazione neurale nei soggetti con FASD, nonostante l'equivalente abilità comportamentale con il gruppo di controllo, suggerisce che l'esposizione prenatale all'alcol altera il cervello portando ad una maggiore richiesta energetica delle regioni cerebrali coinvolte nella memoria di lavoro verbale. Questi risultati suggeriscono che il processamento fronto-parietale durante l'elaborazione di compiti di memoria verbale sia meno efficiente nei soggetti esposti all'alcol durante la gestazione.

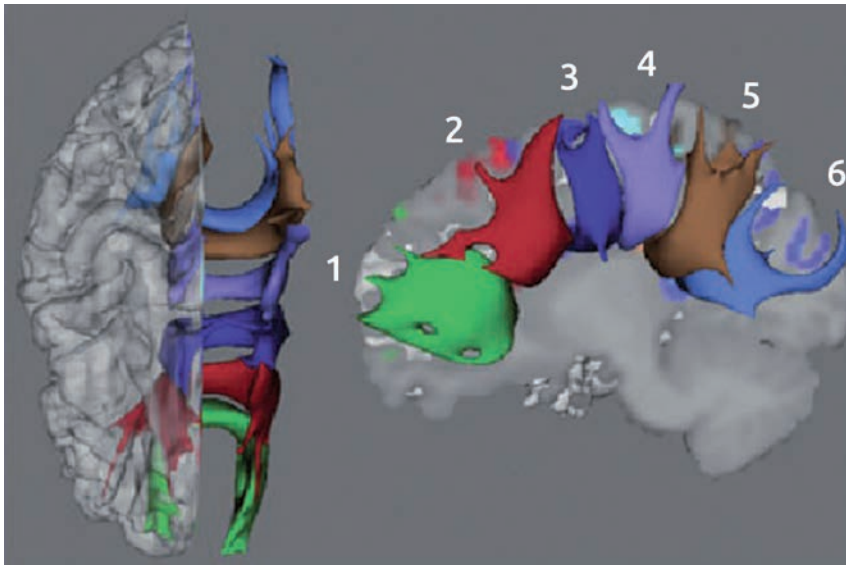
Figura 3 - Ricostruzione tridimensionale della superficie cerebrale lateralmente (immagine a sinistra e centrale) e coronale (immagine a destra) con sovrapposizione delle mappe di attivazione in base all'analisi di gruppo. A) attivazione cerebrale nei soggetti di controllo con esposizione prenatale all'alcol; B) attivazione cerebrale nei soggetti con esposizione prenatale all'alcol; C) differenze di attivazione cerebrale nel confronto tra i gruppi; D) differenze di attivazione cerebrale tra i gruppi e correlazione con i valori di quoziente intellettivo in relazione alla sostanza bianca. Vengono visualizzate le aree con attivazione significativa ( $Z > 1.7$  e soglia di significatività del cluster di  $p = 0.05$  (corrected)). Le aree evidenziate in C e D rappresentano le zone di maggiore attivazione nei soggetti con esposizione all'alcol rispetto ai soggetti di controllo. Fonte: O'Hare ED., 2009.



L'esposizione all'alcol durante la gestazione provoca nel feto delle alterazioni microstrutturali nello splenio del corpo calloso

Per misurare l'integrità della sostanza bianca nel corpo calloso degli individui esposti ad alcol è stata utilizzata la tecnica DTI (*Diffusion Tensor Imaging*, imaging del tensore di diffusione) (Ma X., 2005). La DTI misura la coerenza della diffusione delle molecole di acqua mediante l'anisotropia frazionaria (FA, *Fractional Anisotropy*) e la circolazione a livello intra ed extra-cellulare o coefficiente di diffusione apparente (ADC, *Apparent Diffusion Coefficient*), due misure quantitative dell'integrità microstrutturale. Solitamente queste due misure sono inversamente correlate: una maggiore FA denota una struttura delle fibre efficiente mentre un maggiore ADC indica un'aumentata circolazione intra- o extra-cellulare (Pfefferbaum A, 2005). Un basso valore di FA indica la presenza di anomalie nella microstruttura della sostanza bianca e una formazione di fibre meno coerente. I bambini nati da madri che hanno assunto alcol durante la gravidanza mostrano delle anomalie strutturali della sostanza bianca cerebrale, in particolare a livello del corpo calloso. In una ricerca con tensore di diffusione (DTI) è stato possibile identificare delle alterazioni presenti a livello cerebrale in soggetti con esposizione prenatale all'alcol (Wozniak JR, 2009). Questi dati suggeriscono che in particolare le regioni posteriori del corpo calloso potrebbero essere colpite dagli effetti neurotossici dell'alcol in un organismo in via di sviluppo. Questa ricerca rappresenta un lavoro molto importante di integrazione di studi precedenti poiché utilizza un metodo avanzato di tracciografia e un ampio campione di studio. Sono stati infatti reclutati 33 bambini con diagnosi di disturbo da esposizione prenatale all'alcol (FASD), di questi 8 con sindrome fetale alcolica (FAS), 23 con una FAS parziale e 2 con encefalopatia statica. Il gruppo di controllo era costituito da 19 soggetti non esposti all'alcol con età da 10 a 17 anni. Tutti i partecipanti sono stati sottoposti a scansione DTI e test di intelligenza. I gruppi (FASD vs controllo) sono stati confrontati in base a due indici di diffusività, l'anisotropia frazionaria (FA) e la diffusività media (MD), in sei tratti che proiettano attraverso il corpo calloso. Le analisi sono anche state condotte esaminando le relazioni tra le misure di diffusione (DTI) a livello del corpo calloso e le misure di funzionamento intellettuale e la dismorfologia facciale. Rispetto al gruppo di controllo, i soggetti FASD mostrano un significativo più basso valore di FA in tre tratti posteriori del corpo calloso: il corpo medio posteriore, l'istmo e lo splenio. Il valore di FA è risultato inoltre tendenzialmente significativo anche a livello del ginocchio del corpo calloso. Le misure di integrità della sostanza bianca e le misure cognitive risultano correlate e suggeriscono una specificità di organizzazione regionale, ossia solo le regioni posteriori del corpo calloso sono associate con le abilità visuo-percettive. Le correlazioni tra le misure di dismorfologia facciale e le regioni posteriori del corpo calloso non sono invece risultate significative. Tali risultati, consistenti con quelli ottenuti da precedenti studi con tecnica DTI, suggeriscono che bambini esposti all'alcol durante la gestazione presentano anomalie microstrutturali nelle zone posteriori del corpo calloso e deficit cognitivi. Queste anomalie sono clinicamente rilevanti proprio perché associate alle difficoltà cognitive riscontrate nei bambini, come risultato diretto dell'esposizione alcolica indipendentemente dalle caratteristiche dismorfiche. Come tali, esse forniscono importanti informazioni prognostiche e diagnostiche prima ancora delle tradizionali caratteristiche morfologiche facciali.

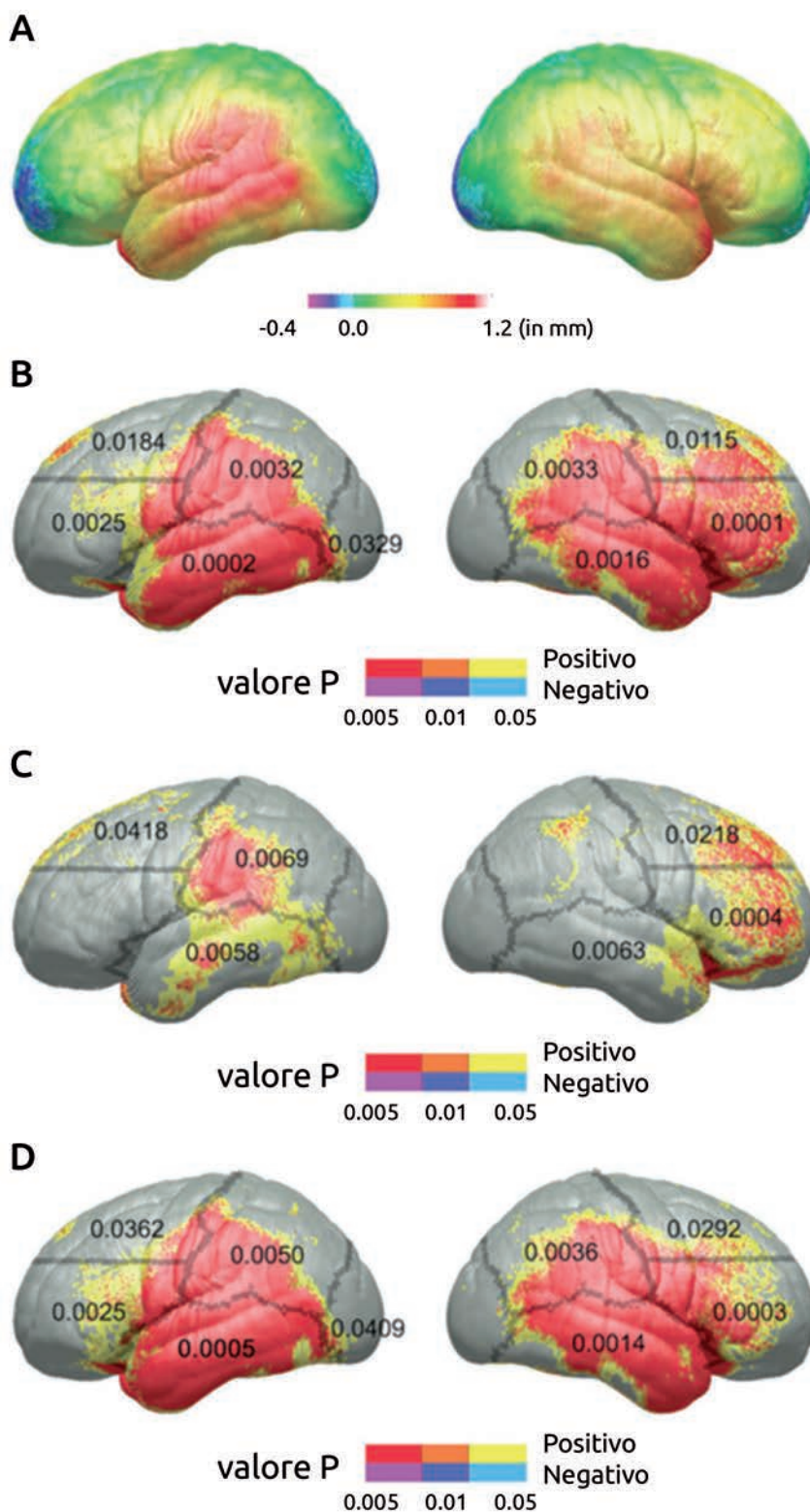
Figura 4 - Distribuzione dei 6 principali fasci di connettività interemisferica del corpo calloso, mediante tecnica di trattografia (orientamento antero-posteriore): 1. genu; 2. parte rostrale; 3. parte medio-anteriore; 4. parte medio-posteriore; 5. istmo; 6. splenio. Fonte: Wozniak JR., 2009.



Le persone esposte all'alcol durante la gestazione possono presentare dei disordini associati a tale condizione (FASDs, una combinazione tra l'esposizione prenatale all'alcol - PEA e una sindrome alcolica fetale - FAS), con alterazioni evidenti nella struttura morfologica dell'encefalo, in particolare delle anomalie nello spessore corticale, un indice di atrofia o perdita neuronale, e associate anomalie comportamentali a livello cerebrale. Le persone con diagnosi di FASDs mostrano in particolare un'anomala organizzazione morfologica della corteccia temporale posteriore e parietale. Lo studio di Sowell E.R. (2008) ha per la prima volta misurato lo spessore corticale dell'intera superficie cerebrale di soggetti con storia di esposizione prenatale all'alcol. Prima di allora non era stata esaminata la relazione esistente tra disfunzionalità cognitiva e spessore corticale. Attraverso l'uso di sofisticati algoritmi di ricostruzione e tecniche per la misurazione dello spessore corticale in millimetri, nello studio di Sowell sono stati analizzati mediante risonanza magnetica strutturale (MRI) gli encefali di 21 soggetti con FASD (età dagli 8 ai 22 anni, età media 12,6 anni) confrontati con un gruppo di controllo costituito da 21 soggetti sani (età dagli 8 ai 25 anni, età media 13,5 anni). Le misure di spessore corticale sono state correlate con le variabili cognitive di memoria verbale e funzionamento visuo-spaziale. Le analisi di gruppo mostrano nei soggetti con FASD un aumento dello spessore corticale (superiore di circa 1,2 mm) in vaste zone della corteccia temporale bilaterale, parietale inferiore bilaterale e frontale destra. Esiste inoltre una significativa correlazione tra le misure morfologiche e i punteggi di memoria verbale nella corteccia fronto-dorsale destra e nelle regioni occipitali sinistre per le misure visuo-spaziali. I risultati di questa ricerca confermano e supportano i dati già conosciuti da precedenti studi, tuttavia per la prima volta, è stato dimostrato un aumento dello spessore corticale nelle regioni fronto-laterali destre in bambini con esposizione prenatale all'alcol. Le funzionalità cognitive influenzano le risposte e le abilità comportamentali degli individui; nelle persone esposte all'alcol durante la gestazione tali funzionalità risultano alterate come diretta conseguenza dell'esposizione alla sostanza.

Correlazioni  
cognitivo-  
comportamentali e  
spessore corticale  
nei soggetti  
con esposizione  
prenatale cronica  
all'alcol: uno studio  
di RM strutturale

Figura 5 - (A) Mappe delle differenze nello spessore corticale (in millimetri e secondo un codice colorimetrico) tra il gruppo di persone esposte all'alcol durante la gestazione (FASD) e il gruppo di controllo. (B) Mappe delle differenze nello spessore corticale con statistica di P non corretta. Le correlazioni positive (FASD > controlli) sono mostrate nello spettro dei colori caldi (es. rosso e arancione), mentre le correlazioni negative con colori freddi (es. blu e celeste). Nei soggetti FASD non sono state trovate aree di ridotto spessore corticale rispetto ai controlli. Le aree in rosso sono significative con un valore di P non corretto pari 0.005 o meno; in arancione le aree con valore di P tra 0.01 e 0.005; e in giallo le aree con valore di P tra 0.05 e 0.01. (C) Mappe di attivazione con valore statistico di P non corretto nei soggetti PEA rispetto ai controlli. (D) Mappe di attivazione con valore statistico di P non corretto nei soggetti FAS rispetto ai controlli. Fonte: Sowell E.R. et al., 2008.





In un altro studio, Sowell E.R. (2008 b) ha voluto investigare la presenza di anomalie microstrutturali della sostanza bianca cerebrale nei bambini con disordini legati all'alcol. Scopo della ricerca è stato capire se le alterazioni nell'integrità della sostanza bianca siano collegate ai deficit funzionali e morfologici riscontrati in soggetti con FASD. Gli autori hanno combinato le informazioni ottenute dalle immagini della risonanza magnetica strutturale e le misure di diffusività mediante tensore di diffusione (DTI) per esaminare la microstruttura cerebrale di bambini con deficit cognitivi esposti all'alcol. Il gruppo di studio era composto da 17 bambini e adolescenti con FASDs e 19 soggetti di controllo di pari età. L'anisotropia frazionaria (FA) è risultata ridotta nel lobo temporale laterale bilateralmente e nello splenio del corpo calloso dell'emisfero destro nei bambini con FASD. Anche la densità delle fibre è risultata ridotta in molte zone, ma non in tutte quelle in cui anche la FA era più bassa. È stato ipotizzato che la riduzione di FA nei bambini con FASDs dipenda da un fenomeno di demielinizzazione o da una disorganizzazione delle fibre associato all'effetto dell'alcol. Il gruppo con FASD ha inoltre mostrato delle correlazioni significative tra la performance al compito d'integrazione visuo-motoria e il valore di FA nello splenio, ma non nelle regioni temporali. Tali correlazioni non si sono invece verificate nel gruppo di controllo, e non c'è stata alcuna significatività con le misure di abilità nella lettura. Questi risultati suggeriscono che le regioni posteriori del corpo calloso siano particolarmente sensibili all'effetto neurotossico dell'alcol e vengano per prime danneggiate in caso di esposizione cronica alla sostanza. Il consumo di alcol in gravidanza provoca quindi nel feto delle anomalie di sviluppo morfologico e microstrutturale della parte posteriore del corpo calloso (splenio), che causa difficoltà delle abilità d'integrazione visuo-spaziale nel nascituro.

Correlati  
neurocomportamentali  
e mappaggio  
dell'integrità della  
sostanza bianca  
cerebrale nei  
disordini fetali da  
esposizione all'alcol

Il cervelletto è associato a funzioni motorie importanti come l'equilibrio, la postura e la coordinazione. Si ritiene inoltre che sia coinvolto in diversi aspetti della cognizione, tra cui i processi attentivi (Devinsky O, 2004). Alcune ricerche hanno dimostrato che possa trattarsi di un'altra area cerebrale particolarmente sensibile agli effetti dell'alcol, poichè durante l'esposizione alcolica prenatale è stata osservata una riduzione della superficie (Autti-Ramo I, 2002) e del volume (Archibald SL, 2001) del cervelletto. I dati pubblicati da Archibald SL (2001) dimostrano come il cervelletto debba essere considerato particolarmente vulnerabile alle caratteristiche temporali dell'esposizione all'alcol.

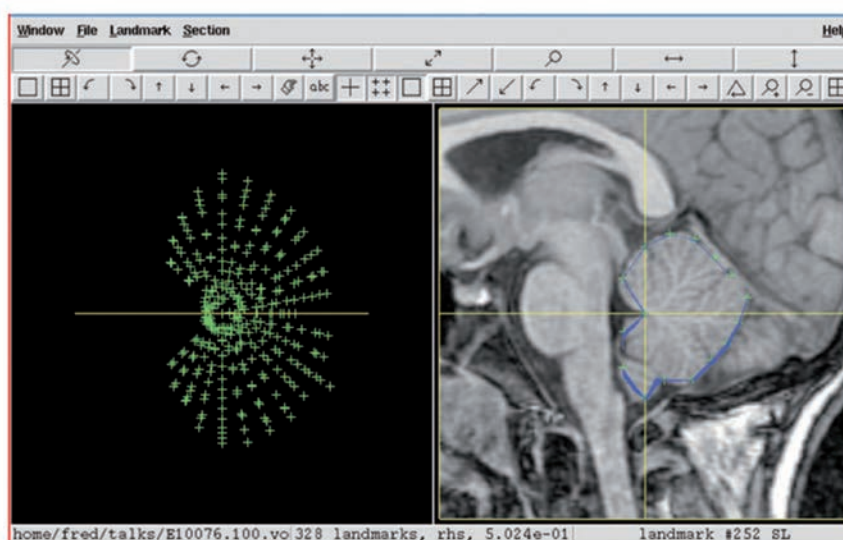
Analisi  
dell'anatomia  
cerebellare  
mediante tecnica  
biometrica:  
ipoplasia del  
cervelletto nel feto  
come conseguenza  
dell'esposizione  
prenatale all'alcol

I soggetti con FASD hanno mostrato, rispetto ai soggetti di controllo, una riduzione del volume cerebellare e delle sostanze bianche e grigie del cervelletto stesso (Archibald SL, 2001). Tutti i partecipanti erano stati esposti all'alcol nel primo trimestre di gravidanza, il che suggerisce che in questa fase di crescita cerebrale rapida l'alcol eserciti effetti particolarmente dannosi sulle strutture in via di sviluppo. Oltre al ridotto volume generale, sono stati osservati anche danni localizzati in specifiche regioni del cervelletto (Autti-Ramo I, 2002), in particolare è risultato significativamente ridotto il volume del verme cerebellare anteriore (lobuli I-V), una parte del cervelletto che si sviluppa precocemente, e le regioni superiore e anteriore del verme anteriore. E' probabile che le anomalie strutturali cerebellari contribuiscano a determinare nei pazienti FASD i deficit funzionali che vengono comunemente osservati nell'equilibrio posturale, nella coordinazione bimanuale (Roebuck-Spencer TM, 2004) e nell'attenzione (Lee KT, 2004).

Esiste una notevole varietà di queste anomalie, sia per la zona cerebrale colpita che per le misure di riferimento. Bookstein FL (2006) ha cercato di classificare le alterazioni cerebellari riscontrate in bambini e adolescenti con FASDs attraverso una ricerca della letteratura esistente ed individuando circa 180 studi di risonanza magnetica. Di queste 180 immagini, metà riguardano cervelli di adolescenti, metà di adulti; metà sono di individui maschi e

metà di femmine; un terzo presenta diagnosi di FASDs, un terzo mostra segni di esposizione alcolica e l'altro terzo non è mai stato esposto all'alcol. L'analisi morfologica del cervelletto è stata effettuata mediante utilizzo di sofisticati algoritmi di ricostruzione tridimensionale. Tramite questo sistema di analisi è possibile discriminare con un'accuratezza del 75% le eventuali alterazioni cerebellari in soggetti con FASDs. Del campione studiato, circa  $\frac{3}{4}$  dei soggetti con FASDs mostra anomalie strutturali del cervelletto. Questi risultati corrispondono ai dati di ipoplasia cerebellare già riscontrati negli animali esposti all'alcol durante la gestazione. L'analisi morfometrica del cervelletto può quindi essere considerata un importante indice di discriminazione epidemiologica in caso di esposizione prenatale all'alcol. Sembra dunque che i danni del cervelletto possano avere un ruolo importante nell'ambito del tipico pattern di deficit neurocognitivi specifici della FAS.

**Figura 6 - Riferimento anatomico utilizzato per la visualizzazione della superficie cerebellare. Sinistra:** sistema di coordinate meridiane cerebellari all'altezza del maggior asse del quarto ventricolo. **Destra:** visione del piano sagittale (linea gialla). Un singolo punto di riferimento, Tip4V, si trova all'intersezione degli assi. L'asse verticale è allineato con il bordo posteriore del tronco encefalico lungo il piano di riferimento. Sotto al punto Tip4V, il verme del cervelletto è stato localizzato da 2 punti corrispondenti a dove la superficie taglia l'asse verticale e altri 13 punti.



I dati MRI suggeriscono che anche il corpo calloso può essere, come il cervelletto, una struttura particolarmente vulnerabile all'esposizione prenatale all'alcol. Diversi studi sembrano attestare l'esistenza di una relazione tra dismorfismi del corpo calloso e deficit funzionali, in particolare della coordinazione bimanuale (Roebuck TM., 1998), dell'attenzione (Coles CD, 1997, 2002), del funzionamento esecutivo (Mattson SN, 1996; Kodituwakku PW, 2001) e delle abilità di apprendimento verbale (Bookstein FL, 2002). Sembra anche che alcune anomalie specifiche siano associate a specifici deficit cognitivi. Esistono inoltre delle correlazioni tra caratteristiche cognitivo-comportamentali e alterazioni dello spessore corticale nei soggetti con esposizione prenatale cronica all'alcol, rilevate mediante lo studio della morfologia cerebrale, che identificano disordini nel corretto sviluppo corticale in tali soggetti. L'alcol ha un effetto teratogeno anche sul cervelletto e sui nuclei profondi del cervello. Nel loro complesso, quindi, i risultati derivati dalle neuroimmagini suggeriscono che nei soggetti prenatalmente esposti all'alcol aumenta la va-



riabilità morfologica, la dislocazione e la riduzione di alcune importanti aree cerebrali che possano essere associate a prestazioni peggiori in una vasta gamma di compiti funzionali e cognitivi.

## Bibliografia

1. May PA, Gossage JP. Estimating the prevalence of fetal alcohol syndrome: A summary. *Alcohol Res Health* 2001;25:159-67.
2. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet* 1973;2:999-1001.
3. Jones KL, Smith DW, Ulleland CN, Streissguth AP. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet* 1973;1:1267-71.
4. Mattson SN, Schoenfeld AM, Riley EP. Teratogenic effects of alcohol on brain and behavior. *Alcohol Res Health* 2001;25:185-91.
5. Harwood H, The Lewin Group. Updating estimates of the economic costs of alcohol abuse in the United States: Estimates, update methods, and data. Bethesda, MD: National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism; 2000.
6. Wisneski K, Damska M, Sher JH, Qasi Q. A clinical neuropathological study of the fetal alcohol syndrome. *Neuropediatrics* 1983;14:197-201.
7. Clarren SK, Alvord Jr. EC, Sumi SM, Streissguth AP, Smith DW. Brain malformations related to prenatal exposure to alcohol. *J Pediatrics* 1978;92:64-7.
8. Peiffer J, Majewski F, Fishbach H, Bierich JR, Volk B. Alcohol embryo-and fetopathy. *J Neurol Sci* 1979;41:125-37.
9. Mattson SN, Riley EP. A review of the neurobehavioral deficits in children with fetal alcohol syndrome or prenatal exposure to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:279-94.
10. Archibald SL, Fennema-Notestine C, Gamst A, Riley EP, Mattson SN, Jernigan TL. Brain dysmorphology in individuals with severe prenatal alcohol exposure. *Dev Med Child Neurol* 2001;43:148-54.
11. Autti-Ramo I, Autti T, Korkman M, Kettunen S, Salonen O, Valanne L. MRI findings in children with school problems who had been exposed prenatally to alcohol. *Dev Med Child Neurol* 2002;44:98-106.
12. Sowell ER, Thompson PM, Mattson SN, Tessner KD, Jernigan TL, Riley EP. Voxel-based morphometric analyses of the brain in children and adolescents prenatally exposed to alcohol. *Neuroreport* 2001;12:515-23.
13. Sowell ER, Thompson PM, Mattson SN, Tessner KD, Jernigan TL, Riley EP. Regional brain shape abnormalities persist into adolescence after heavy prenatal alcohol exposure. *Cereb Cortex* 2002;12:856-65.
14. Sowell ER, Mattson SN, Thompson PM, Jernigan TL, Riley EP, Toga AW. Mapping callosal morphology and cognitive correlates: effects of heavy prenatal alcohol exposure. *Neurology* 2001;57:235-44.
15. Mattson SN, Riley EP, Sowell ER, Jernigan TL, Sobel DF, Jones KL. A decrease in the size of the basal ganglia in children with fetal alcohol syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:1088-93.
16. Kodituwakku PW, Kalberg W, May PA. The effects of prenatal alcohol exposure on executive functioning. *Alcohol Res Health* 2001;25:192-8.
17. Goodlett CR, Marcussen BL, West JR. A single day of alcohol exposure during the brain growth spurt induces brain weight restriction and cerebellar purkinje cell loss. *Alcohol* 1990;7:107-14.
18. Roebuck-Spencer TM, Mattson SN, Marion SD, Brown WS, Riley EP. Bimanual coordination in alcohol-exposed children: Role of the corpus callosum. *J Int Neuropsychol Soc* 2004;10:536-48.
19. Cortese, B.M.; Moore, G.J.; Bailey, B.A. Magnetic resonance and spectroscopic imaging in prenatal alcohol-exposed children: Preliminary findings in the caudate nucleus. *Neurotoxicology and Teratology* 28(5):597-606, 2006.
20. Lee KT, Mattson SN, Riley EP. Classifying children with heavy prenatal alcohol exposure using measures of attention. *J Int Neuropsychol Soc* 2004;10:271-77.
21. Riley EP, Mattson SN, Sowell ER, Jernigan TL, Sobel DF, Jones KL. Abnormalities of the corpus callosum in children prenatally exposed to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1995;19:1198-202.
22. Bookstein FL, Sampson PD, Streissguth AP, Connor PD. Geometric morphometrics of corpus callosum and subcortical structures in the fetal-alcohol-affected brain. *Teratol.* 2001;64:4-32.
23. Bookstein FL, Sampson PD, Connor PD, Streissguth AP. Midline corpus callosum is a neuroanatomical focus of fetal alcohol damage. *Anat Rec* 2002;269:162-74.
24. Ma X, Coles CD, Lynch ME, LaConte SM, Zurkiya DW, Hu X. Evaluation of corpus callosum anisotropy in young adults with fetal alcohol syndrome using diffusion tensor imaging. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:14-22.
25. Pfefferbaum A, Sullivan EV. Disruption of brain white matter microstructure by excessive intracellular and extracellular fluid in alcoholism: evidence from diffusion tensor imaging. *Neuropsychopharm* 2005;30:423-32.
26. Pfefferbaum A, Sullivan EV, Hedehus M, Adalsteinsson E, Lim KO, Moseley M. In vivo detection and functional correlates of white matter microstructural disruption in chronic alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 2000;24:1214-21.
27. Bhatara VS, Lovrein F, Kirkeby J, Swayze II V, Unruh E, Johnson V. Brain function in fetal alcohol syndrome assessed by single photon emission computed tomography. *S D J Med* 2002;55:59-62.
28. Roebuck TM, Mattson SN, Riley EP. A review of the neuroanatomical findings in children with fetal alcohol syndrome or prenatal exposure to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22:339-44.
29. Coles CD, Platzman KA, Raskind-Hood CL, Brown RT, Falek A, Smith IE. A comparison of children affected by prenatal alcohol exposure and attention deficit, hyperactivity disorder. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21:150-61.
30. Coles CD, Platzman KA, Lynch ME, Freides D. Auditory and visual sustained attention in adolescents prenatally exposed to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:263-71.



31. Mattson SN, Riley EP, Jernigan TL, Ehlers CL, Delis DC, Jones KL. Fetal alcohol syndrome: a case report of neuropsychological, MRI and EEG assessment of two children. *Alcohol Clin Exp Res* 1992;16(5):1001-3.
32. Riikonen R, Salonen I, Partanen K, Verho S. Brain perfusion SPECT and MRI in foetal alcohol syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1999;41:652-9.
33. Johnson TB, Goodlet CR. Selective and enduring deficits in spatial learning after limited neonatal binge alcohol exposure in male rats. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:83-93.
34. Hamilton DA, Kodituwakku P, Sutherland RJ, Savage DD. Children with fetal alcohol syndrome impaired at place learning but not cued-navigation in virtual Morris water task. *Behav Brain Res* 2003;143:85-94.
35. Adalsteinsson E, Sullivan EV, Pfefferbaum A. Biochemical, functional and microstructural magnetic resonance imaging (MRI). In: Liu Y, Lovinger DM (Ed.). *Methods in alcohol-related neuroscience research*. Boca Raton: CRC Press; 2002. p. 345-71. Bookstein, F.L.; Streissguth, A.P.; Sampson, P.D. Corpus callosum shape and neuropsychological deficits in adult males with heavy fetal alcohol exposure. *NeuroImage* 15(1):233-251, 2002b.
36. Lebel C, Roussotte F, Sowell ER. Imaging the Impact of Prenatal Alcohol Exposure on the Structure of the Developing Human Brain. *Neuropsychol Rev*. 2011 June; 21(2): 102-118.
37. Coles CD, Li Z. Functional Neuroimaging in the Examination of Effects of Prenatal Alcohol Exposure. *Neuropsychol Rev*. 2011 Jun;21(2):119-32 (2011)
38. Chen X, Coles CD, Lynch ME, Hu X. Understanding specific effects of prenatal alcohol exposure on brain structure in young adults. *Hum Brain Mapp*. 2012 Jul;33(7):1663-76.
39. Spadoni AD, Bazinet AD, Fryer SL, Tapert SF, Mattson SN, Riley EP. BOLD Response During Spatial Working Memory in Youth With Heavy Prenatal Alcohol Exposure. *Alcohol Clin Exp Res*. 2009 Dec;33(12):2067-76.
40. Nuñez S.C., Roussotte F., Sowell E.R. Structural and Functional Brain Abnormalities in Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *Alcohol Research & Health*, Volume 34, Issue Number 1, 2008
41. Sowell, E.R.; Jernigan, T.L.; Mattson, S.N.. Abnormal development of the cerebellar vermis in children prenatally exposed to alcohol: Size reduction in lobules I-V. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 20(1):31-34, 1996.
42. Sowell, E.R.; Mattson, S.N.; Kan, E. Abnormal cortical thickness and brain-behavior correlation patterns in individuals with heavy prenatal alcohol exposure. *Cerebral Cortex* 18(1):136-144, 2008b
43. Toga, A.W.; Thompson, P.M.; Sowell, E.R. Mapping brain maturation. *Trends in Neurosciences* 29(3):148-159, 2006.
44. Warren, K.R., Li, T.K. Genetic polymorphisms: Impact on the risk of fetal alcohol spectrum disorders. *Birth Defects Research. Part A, Clinical and Molecular Teratology* 73(4):195-203, 2005.
45. Wozniak, J.R.; Mueller, B.A.; Chang, P.N. Diffusion tensor imaging in children with fetal alcohol spectrum disorders. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 30(10):1799-1806, 2006.

## 2.6.2 Documentazione degli effetti dell'uso di alcol sul cervello in adolescenza

Diana Candio<sup>1</sup>, Elisa Bellamoli<sup>2</sup>, Franco Alessandrini<sup>3</sup>, Giada Zoccatelli<sup>3</sup>, Giovanni Serpelloni<sup>4</sup>

<sup>1</sup> European Institute for Health Promotion, Verona

<sup>2</sup> Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona

<sup>3</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

<sup>4</sup> Dipartimento Politiche Antidroga, Presidenza del Consiglio dei Ministri

Introduzione

L'adolescenza è una tappa dello sviluppo umano caratterizzata da cambiamenti dinamici del cervello che si verificano nel contesto di importanti transizioni fisiologiche, psicologiche e sociali. La crescita della corteccia prefrontale, delle strutture del sistema limbico e delle fibre di associazione della materia bianca, durante questo periodo, sono collegate allo sviluppo di sofisticate funzioni cognitive ed emotive utili per destreggiarsi in un ambiente psicosociale complesso. Nonostante questi progressi, l'adolescenza si caratterizza anche per un aumento dei comportamenti a rischio e una maggiore vulnerabilità psicopatologica (Spear L., 2010).

La propensione degli adolescenti verso comportamenti e decisioni a rischio sarebbe correlata a caratteristiche neurali uniche, che aumenterebbero la loro sensibilità verso stimoli gratificanti. Ad oggi, sussistono due ipotesi accreditate che spiegherebbero tali meccanismi e che fanno riferimento a diverse funzioni nel corpo striato. La prima postula che l'ipoattivazione del sistema striatale porti l'adolescente alla ricerca di gratificazioni come risposta di compensazione. L'altra suggerisce, invece, che l'iperattività del corpo striato spinga ad una maggiore ricerca di gratificazioni (Bava S. et al., 2010). I più recenti studi di risonanza magnetica funzionale sosterrrebbero quest'ultima ipotesi dimostrando che, in previsione di una ricompensa e nel momento in cui si riceve tale ricompensa, si osserva negli adolescenti una maggiore attivazione dello striato ventrale rispetto agli adulti e ai bambini (Galvan A. 2010, Geier C et al., 2010, Van Leijenhorst L. et al., 2010).

La propensione per l'assunzione di rischi e la ricerca di sensazioni gratificanti in adolescenza è associata ad un rischio di uso di sostanze e a potenziali problemi di salute a lungo termine (Nixon K. et al., 2010). L'alcol è la sostanza psicoattiva più utilizzata dagli adolescenti e i tassi di utilizzo aumentano drasticamente durante l'adolescenza, un momento critico per lo sviluppo di disturbi alcol correlati (Johnston L. et al., 2012). In particolare, tra gli adolescenti è molto diffusa la pratica del binge drinking, ossia l'assunzione di grandi quantità di alcol (5 o più unità alcoliche) in un breve periodo di tempo (circa 2 ore), con lo scopo di raggiungere l'ebbrezza alcolica (NIAAA 2004).

In primo luogo, infatti, gli adolescenti sono più sensibili agli effetti piacevoli derivanti dall'alcol, che agiscono rinforzando i comportamenti di assunzione eccessiva (Spear L. et al. 2005). Tuttavia, il cervello degli adolescenti è più sensibile rispetto agli adulti agli effetti neurodegenerativi dell'alcol, che riducono la capacità di controllo del comportamento e portano alla dipendenza (White A. et al., 2004). La differente risposta all'alcol di un adolescente rispetto ad un adulto ha componenti farmacodinamiche e farmacocinetiche che modificano l'assorbimento e il metabolismo dell'etanolo in base all'età e al genere (Walker B. et al., 2009). Gli studi di neuroimmagine hanno permesso di approfondire le conoscenze sul neurosviluppo dell'adolescente e di individuare i deficit a carico del sistema cerebrale

causati dall'uso di sostanze. Di seguito vengono presentati alcuni tra i più recenti studi condotti sugli adolescenti utilizzatori di alcol e sugli effetti del binge drinking in adolescenza. Sono stati inoltre proposti alcuni studi che utilizzano i potenziali evento-correlati per valutare i processi nervosi sensoriali, motori e cognitivi correlati all'uso di alcol durante l'adolescenza.

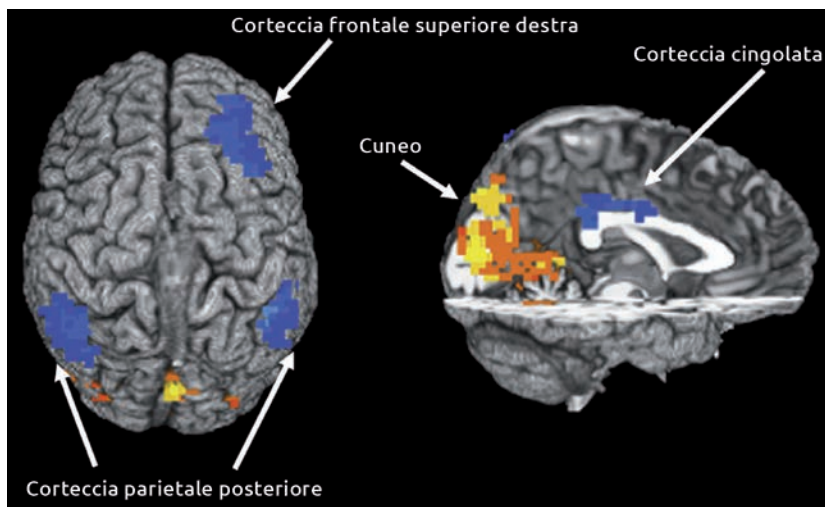
#### Compromissione dei processi di apprendimento e memorizzazione

La pratica del binge drinking è comune tra gli adolescenti, il 22% degli studenti americani di 17 anni riferisce infatti di essersi ubriacato almeno una volta nelle ultime due settimane (Johnston L. et al., 2012). Il consumo eccessivo e cronico di alcol è associato a deficit dell'apprendimento verbale e della memoria sia negli adulti che negli adolescenti. Recenti studi di neuroimaging strutturale hanno evidenziato volumi ridotti dell'ippocampo e della corteccia prefrontale associati all'uso di alcol, aree cerebrali cruciali nei processi di apprendimento e memorizzazione (Medina K. et al., 2008). In questo studio, Schweinsburg e colleghi (2010) hanno analizzato i livelli di ossigeno nel sangue dipendenti dal segnale cerebrale (BOLD) durante lo svolgimento di un compito di codifica verbale, per caratterizzare i substrati neurali di apprendimento e memoria negli adolescenti binge drinker.

Lo studio ha coinvolto studenti delle scuole superiori di San Diego (California) di età compresa tra i 16-18 anni, classificati in binge drinker (n=12) e astemi (n=12). I partecipanti erano tutti non fumatori, e gli adolescenti binge drinker non consumavano alcol in media da 33 giorni al momento della scansione. Agli studenti è stato proposto un compito di codifica verbale in cui dovevano memorizzare una lista di 16 coppie di parole. La ripetizione delle coppie veniva proposta sino a quando i giovani erano in grado di ricordare correttamente almeno 10 coppie di parole. Durante la scansione, gli studenti venivano sottoposti a due diversi compiti: ripetere le coppie di parole già memorizzate, codificare ed acquisire nuove coppie di parole. Al termine della scansione veniva valutato il recupero delle coppie di parole vecchie e nuove.

Durante la scansione, il gruppo di controllo è riuscito a ricordare l'85 ± 9% delle parole rispetto al 78 ± 11% dei binge drinker. Rispetto ai non bevitori, i binge drinker hanno mostrato una risposta BOLD maggiore nella corteccia frontale superiore destra e in quella parietale posteriore bilaterale (lobulo parietale inferiore destro, lobulo parietale inferiore e superiore sinistro, giro frontale medio e superiore, cingolato) durante la codifica di nuove coppie di parole. Hanno invece mostrato una risposta BOLD significativamente minore rispetto al gruppo di controllo nella corteccia occipitale (cuneo bilaterale, giro linguale, giro paraippocampale e precuneo mediale destro). I controlli, infine, hanno mostrato una significativa attivazione nell'ippocampo sinistro durante la codifica di nuovi stimoli (Figura 1).

Figura 1 - Differenze tra adolescenti bevitori e non bevitori nei livelli di BOLD durante la codifica di nuove coppie di parole. Le regioni bianche indicano le aree dove i non bevitori mostrano una maggiore risposta rispetto ai bevitori, e le regioni blu quelle dove i bevitori mostrano una maggiore risposta rispetto ai non bevitori (cluster > 1.512  $\mu$ L,  $P < 0,05$ ). Fonte: Schweinsburg A. et al., 2010.



Nonostante l'uso temporale relativamente breve di alcol, gli adolescenti binge drinker mostrano modelli di funzionamento cerebrale differenti e prestazioni di codifica verbale minori rispetto ai coetanei astemi. Gli adolescenti binge drinker hanno ricordato il 7% in meno di coppie e circa la metà non è riuscito nella prima sessione a ricordare il numero minimo di coppie di parole (10 su 16), mentre un solo adolescente astemio ha avuto il medesimo insuccesso. Le performance più scarse potrebbero, quindi, indicare una compromissione dei processi di elaborazione di nuove informazioni verbali e un apprendimento più lento nei giovani bevitori.

Il modello specifico di consumo di alcol osservato nel binge drinking, ossia l'alternanza di forti intossicazioni a periodi di astinenza, è particolarmente dannoso per il cervello. I pochi studi che si sono concentrati sui correlati cerebrali del binge drinking, negli ultimi 2 anni, hanno restituito dati preliminari significativi che confermano la compromissione cerebrale causata da questa pratica. Maurage e colleghi (2012) hanno condotto uno studio sulla popolazione studentesca con l'obiettivo di individuare la fase cognitiva in cui appaiono i deficit funzionali, e il ruolo dell'uso di alcol e del binge drinking nel determinare tali deficit. Dopo uno screening iniziale su circa 600 studenti (età media 21 anni), sono stati selezionati 80 partecipanti che rispondevano a specifici criteri di inclusione (assenza di storie di alcolismo familiare, esclusione dell'uso di sostanze come tabacco, medicinali o droghe, assenza di disturbi del sistema nervoso o di depressione e ansia). Gli studenti sono stati divisi in quattro gruppi sulla base del consumo di alcol: gruppo di controllo, bevitori quotidiani, binge drinker moderati e binge drinker spinti.

A tutti i partecipanti è stato chiesto di astenersi dall'alcol per almeno 5 giorni prima dell'esperimento, che consisteva in un compito di rilevamento di volti (paradigma di oddball visivo) durante il quale sono stati registrati i potenziali evento-relati (ERP), ossia l'attività cerebrale associata ai processi cognitivi. I partecipanti dovevano segnalare la presenza di uno stimolo raro all'interno di una sequenza di stimoli visivi frequenti. In questo caso, un volto di persona nuovo, presentato casualmente all'interno di una sequenza di volti maschili e femminili, con caratteristiche che si ripetevano.

Studi sui potenziali evento relati (ERP)

#### Alterazione dei processi di percezione, attenzione e decisione

Il paradigma di oddball visivo è uno strumento utile per individuare alterazioni cerebrali in popolazioni psicopatologiche (Campanella S. et al., 2006), che permette di esaminare: (1) la compromissione dei compiti cognitivi di base, (2) la tempistica con cui si manifesta ed evolve questa alterazione, (3) il ruolo svolto dalla comorbidità, (4) il ruolo svolto dall'alcol e dalla modalità di assunzione del binge-drinking. Dall'analisi dei risultati è emerso che i giovani binge drinker presentavano compromissioni elettrofisiologiche precoci e complessive, che influenzavano sia gli stadi cognitivi di basso livello (percezione e attenzione) che quelli di alto livello (prendere decisioni). Il binge drinking, infatti, è stato associato ad una significativa compromissione degli ERP, a partire dal livello percettivo (P100/N100 e N170/P2) sino a quello attenzionale (N2b/P3a) e decisionale (P3b). Inoltre, i ricercatori hanno dimostrato che il binge drinking è dannoso per il cervello non solo a causa dell'alcol, ma anche per la modalità di assunzione (grandi quantità in poco tempo). Ciò suggerisce che le conseguenze del binge drinking per il cervello siano precoci e marcate, classificando il binge-drinking come una modalità di consumo particolarmente dannosa (Maurage P. et al. 2012).

#### ERP ed alterazioni del controllo inibitorio

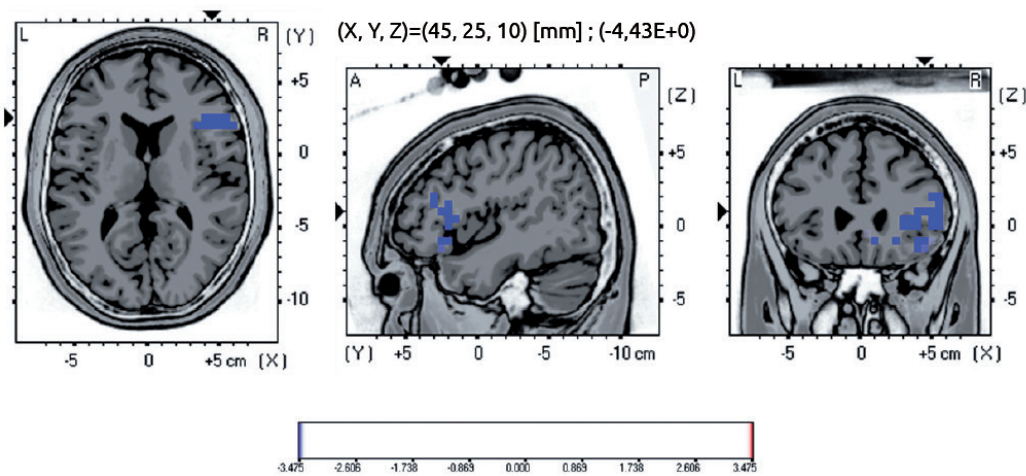
López-Caneda e colleghi (2012) si sono proposti di esaminare gli effetti del binge drinking sulle capacità di controllo inibitorio, focalizzando l'attenzione sulle funzioni cerebrali prefrontali. A tale scopo, sono stati registrati i potenziali evento-relati (ERP) durante lo svolgimento di un compito Go/NoGo, per identificare possibili anomalie neurofunzionali in giovani binge drinkers. Al momento questo è il primo studio che analizza la relazione tra binge drinking e controllo inibitorio, e il paradigma Go/NoGo risulta particolarmente efficace nel misurare l'attività nella corteccia prefrontale e le funzioni di esecuzione ed inibizione allo stimolo (Chambers C et al., 2009; Aron A et al., 2005).

Il compito Go/NoGo prevede che i partecipanti rispondano, premendo un bottone, agli stimoli Go (cerchi verdi e quadrati blu), e si astengano dal rispondere agli stimoli NoGo (cerchi blu e quadrati verdi). Hanno partecipato allo studio 48 studenti, 25 soggetti di controllo (14 femmine) e 23 binge drinker (10 femmine), senza storia personale o familiare di alcolismo o disturbi psicopatologici. Gli studenti sono stati valutati due volte, all'età di 18-19 anni e di 20-21 anni, chiedendo loro di astenersi dall'uso di alcol nelle 12 ore precedenti all'esperimento e da tè, caffè e sigarette nelle 3 ore prima.

I ricercatori hanno utilizzato la tomografia elettromagnetica a bassa risoluzione (eLORETA) per stimare la componente P3 elicitata dagli ERP e le sue fonti neurali durante lo svolgimento del compito, al fine di comprendere gli effetti del binge drinking sul controllo inibitorio. Inoltre, è stato valutato il cambiamento (aumento, diminuzione, mantenimento) delle anomalie correlate al binge drinking nel corso dei due anni.

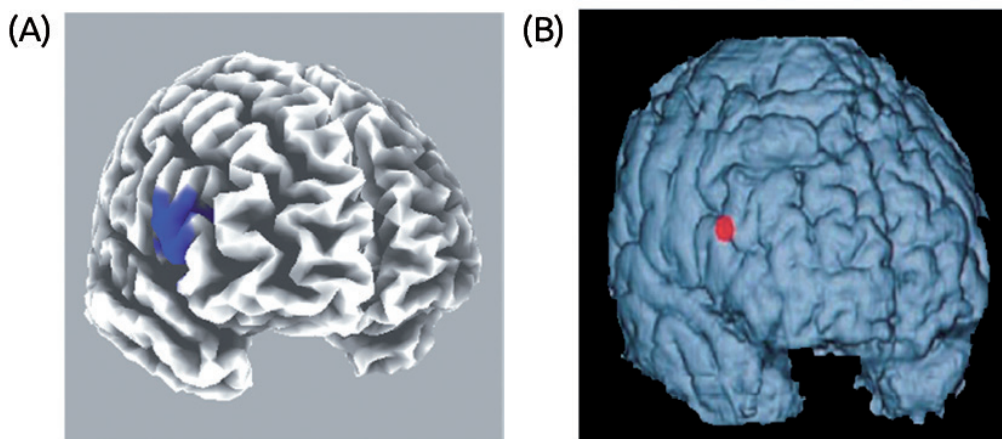


Figura 2 - Mappature basate su statistiche non parametriche (SnPM) con eLORETA, che mettono a confronto i valori esatti di densità tra i soggetti di controllo e i binge drinker durante l'inibizione della risposta (NoGo-P3). La maggiore attivazione ( $P < 0,05$ ) osservata nei binge drinker rispetto ai controlli è indicata in blu. L: sinistra; R: destra; A: anteriore; P: posteriore. Fonte: López-Caneda E. et al., 2012.



I binge drinkers hanno mostrato una maggiore ampiezza della componente Go-P3 rispetto ai soggetti di controllo sia nella prima che nella seconda valutazione ( $P = 0.019$ ). I giovani binge drinkers sembrano, quindi, mostrare un'attività cerebrale anomala durante l'esecuzione e l'inibizione delle risposte allo stimolo, nonostante i livelli di prestazione siano simili a quelli del gruppo di controllo (Figura 2). Le anomalie elettrofisiologiche, manifestate durante l'inibizione della risposta, potrebbero rappresentare una difficoltà nel controllo degli impulsi.

Figura 3 - A) Immagine tridimensionale (eLORETA) che mostra l'attivazione significativamente maggiore della corteccia frontale inferiore destra (rIFC) durante l'inibizione della risposta (componente NoGo-P3) nei binge drinker rispetto ai controlli. (B) Attività cerebrale registrata nello studio di fMRI di Konishi durante l'inibizione della risposta ad uno stimolo. Si noti che le regioni colorate sono simili in entrambi i casi. Fonte: López-Caneda E. et al., 2012.



Nella seconda valutazione, a distanza di 2 anni dalla prima, i binge drinker hanno mostrato una maggiore ampiezza della componente NoGo-P3 ( $P = 0.002$ ), e un'attivazione significativamente maggiore della corteccia frontale inferiore destra, in corrispondenza dell'inibi-

zione (corretta) della risposta (Figura 3). Ciò dimostra che, se la pratica del binge drinking persiste, alcune anomalie persistono (aumento dell'ampiezza della componente Go-P3), mentre altre possono emergere (aumento dell'ampiezza della componente NoGo-P3). L'iper-attivazione della corteccia frontale inferiore destra può riflettere un meccanismo neurale compensatorio delle alterazioni funzionali emergenti nelle regioni coinvolte nel controllo inibitorio (López-Caneda E. et al., 2012).

#### ERP e reattività agli stimoli alcol correlati

Petit e colleghi (2012) hanno condotto uno studio per esaminare l'attivazione cerebrale di studenti binge drinker, con una storia di esposizione all'alcol relativamente breve in termini temporali rispetto all'età anagrafica e senza diagnosi di disturbi da uso problematico di alcol, in risposta a stimoli legati all'alcol. In particolare, gli autori hanno analizzato l'eventuale presenza di differenze nella reattività cerebrale di studenti binge drinker e soggetti di controllo esposti a stimoli legati all'alcol. L'ipotesi era che i binge drinker avrebbero mostrato una maggiore reattività agli stimoli legati all'alcol rispetto agli stimoli di controllo.

Per verificare tale ipotesi sono stati registrati i potenziali evento-relati (ERP) durante lo svolgimento di un compito basato sul paradigma di oddball visivo, in cui i partecipanti dovevano segnalare rapidamente la presenza di stimoli devianti rispetto ad una serie di stimoli standard frequenti. Al termine del compito, ai partecipanti veniva chiesto di valutare le immagini che avevano visto in relazione alla specificità all'alcol e alla reazione emotiva soggettiva.

Sono stati selezionati 36 studenti universitari della Facoltà di Psicologia di Brussels, rispondenti ai criteri di selezione (assenza di disturbi al Sistema Nervoso Centrale, assenza di storie familiari di alcolismo, esclusione dell'uso di altre sostanze oltre all'alcol) e classificati in base alle abitudini di consumo di alcol in binge drinker e gruppo di controllo.

La registrazione degli ERP cerebrali durante il compito ha permesso di monitorare i processi di elaborazione delle informazioni durante l'intero flusso informazione-elaborazione, dai processi sensoriali ai processi cognitivi superiori. Ciò ha permesso di distinguere tra il primo processamento sensoriale automatico e inconscio (P100) e meccanismi più coscienti di orientamento dell'attenzione (N2b), fino alle componenti cognitive decisionali (P300). Sebbene non siano emerse differenze comportamentali tra i due gruppi dopo la rilevazione degli stimoli, i valori degli ERP hanno dimostrato che l'elaborazione degli stimoli legati all'alcol era modulata dal binge drinking. Infatti, nei binge drinker l'ampiezza della componente P100 elicitata dalle immagini alcol correlate era significativamente maggiore rispetto a quelle elicitate dalle immagini di controllo, mentre non sono emerse differenze significative nell'ampiezza della componente P100 rispetto ai diversi stimoli nel gruppo di controllo.

Questo studio ha dimostrato l'amplificazione dei processi di elaborazione visiva degli stimoli alcol correlati nei giovani binge drinker, indicando che la reattività agli stimoli legati all'alcol non è un fenomeno esclusivo degli alcolisti adulti. Sebbene la reattività alcol-relata degli adolescenti binge drinker possa essere minore rispetto a quella degli alcolisti, mantenere tali abitudini di consumo a rischio potrebbe generare modulazioni neurobiologiche permanenti e lo sviluppo di una dipendenza cronica (Petit G. et al., 2012).

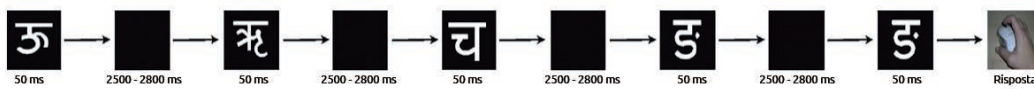
#### ERP e alterazioni funzionali della corteccia prefrontale

La memoria di lavoro è una delle principali funzioni cognitive che viene alterata dal consumo cronico di alcol, probabilmente a causa degli effetti dell'alcol sull'ippocampo e sulla corteccia prefrontale. Gli studi sugli animali e sull'uomo hanno dimostrato che il cervello degli adolescenti è più sensibile agli effetti neurotossici dell'alcol, rispetto al cervello adulto, proprio in queste aree cerebrali che maturano più tardi (Crews F. et al., 2006).

Un team di neuroscienziati guidato dal professor Crego (2010) si è proposto di valutare la funzionalità della memoria visiva di lavoro e i suoi correlati neurali in giovani studenti universitari che praticavano il binge drinking. Obiettivi dello studio erano stabilire eventuali differenze nella memoria di lavoro tra studenti universitari binge drinker e un gruppo di controllo, ed esaminare le potenziali differenze correlate all'uso di alcol nell'attivazione neurale.

Nel presente studio i ricercatori hanno registrato i potenziali evento-relati (ERP) al fine di esplorare i correlati neurali della memoria di lavoro visiva durante lo svolgimento di un compito del tipo IP-CPT. I partecipanti dovevano segnalare agli sperimentatori la ripetizione consecutiva di due elementi identici, in una sequenza di stimoli visivi mostrati ad intervalli regolari (Figura 4).

**Figura 4 - Descrizione del compito: esempio di sequenza di stimoli e tempi di visualizzazione (ms). Fonte: Crego A. et al. 2010.**

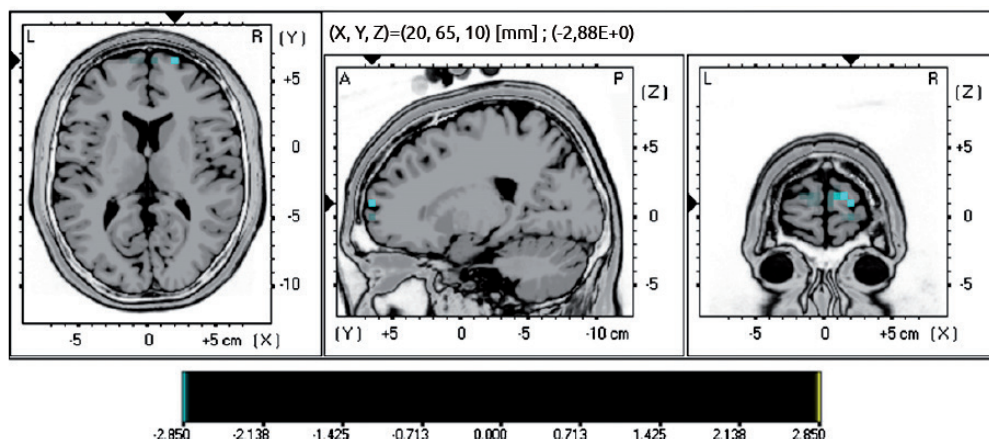


Ai partecipanti, 42 binge drinker e 53 soggetti di controllo, è stato chiesto di astenersi dal consumo di alcol e droghe almeno 12 ore prima dell'esperimento. I ricercatori, durante lo svolgimento del compito IP-CPT, hanno sottoposto i partecipanti ad elettroencefalogramma per registrare gli ERP. Il compito IP-CPT è in grado di suscitare una componente, denominata complesso positivo tardivo (LPC), che è strettamente legata ai processi della memoria di lavoro e alla attivazione della corteccia prefrontale, e che indica la durata e il livello di elaborazione dell'informazione. Le specifiche aree di attivazione corticale durante il compito sono state modellizzate ed analizzate attraverso la tomografia elettromagnetica a bassa risoluzione (eLORETA).

I risultati hanno rivelato negli studenti binge drinker una riduzione del complesso positivo tardivo (LPC), associato all'ipoattivazione della corteccia prefrontale anteriore, rispetto al gruppo di controllo, sebbene non fossero emerse differenze comportamentali tra i due gruppi (Figura 5).

Correlazioni  
cognitivo-  
comportamentali e  
spessore corticale  
nei soggetti  
con esposizione  
prenatale cronica  
all'alcol: uno studio  
di RM strutturale

Figura 5 - Mappature basate su statistiche non parametriche (SnPM) con eLORETA che mettono a confronto i valori esatti di densità tra i binge drinker e i soggetti di controllo rispetto al complesso positivo tardivo (LPC). Una significativa riduzione dell'attivazione ( $P < 0,05$ ) nei binge drinker bevitori viene evidenziata in blu. L: sinistra, R: destra, A: anteriore, P: posteriore. Fonte: Crego A. et al., 2010.



Precedenti studi hanno rivelato che i giovani binge drinker mostrano anomalie elettrofisiologiche nell'elaborazione di stimoli emotivi, e i risultati del presente studio suggeriscono che tali anomalie si presentano anche durante i processi di memoria di lavoro. I giovani binge drinker - senza comorbidità psicopatologiche, dipendenza da alcol o da altre droghe illegali, o storia familiare di alcolismo - manifestano anomalie nelle risposte elettrofisiologiche durante l'elaborazione di informazioni, anche in assenza di una compromissione comportamentale. In altre parole, la pratica del binge drinking provoca un'alterazione funzionale nei processi di identificazione della memoria di lavoro e una compromissione della corteccia prefrontale che può verificarsi in età precoce (Crego A. et al., 2010).

#### Studi di genere

Squeglia e colleghi (2011 a) hanno condotto un'indagine per esaminare lo spessore corticale in adolescenti maschi e femmine, con e senza storia di binge drinking. I ricercatori ipotizzano che, data la relativa immaturità dei sistemi frontali e la maggiore vulnerabilità ai danni alcol-correlati, gli adolescenti binge drinker mostrino segni di un maggiore spessore corticale nelle regioni frontali. Inoltre, l'ispessimento corticale frontale sarebbe più pronunciato nelle femmine, a causa della loro maggiore suscettibilità ai danni neurocognitivi causati dall'alcol.

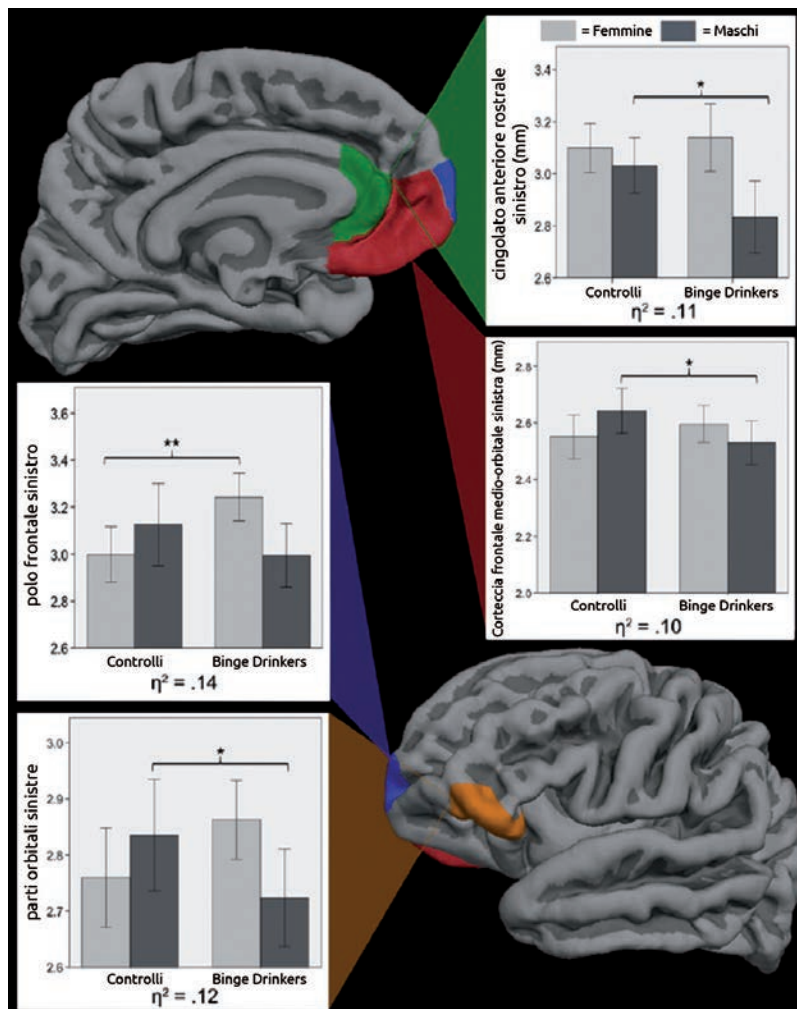
Lo studio ha coinvolto 59 studenti (30 maschi, 29 femmine) di età compresa tra i 16-19 anni frequentanti scuole pubbliche di San Diego (California). Sono stati classificati come binge drinker gli studenti che hanno riferito negli ultimi 3 mesi più di un episodio di binge drinking (più di 4 drink per le femmine, più di 5 drink per i maschi, in un'unica occasione). I due gruppi (29 binge drinker, 30 controlli) sono stati appaiati per età, genere, sviluppo puberale e familiarità per alcolismo. I partecipanti sono stati sottoposti a una batteria di test neuropsicologici e ad una scansione di risonanza magnetica.

#### Confronto dello spessore corticale in adolescenti binge drinker e astemi

Dall'analisi dei dati raccolti emergono significative interazioni tra il comportamento di binge drinking e il genere, evidenziate dallo spessore corticale in 4 regioni frontali sinistre: polo frontale, parte orbitale, frontale medio-orbitale, e cingolato anteriore rostrale. Ciascuna interazione presentava le medesime caratteristiche: le femmine binge drinker avevano la corteccia più spessa rispetto alle femmine di controllo, mentre i maschi binge drinker

avevano la corteccia più sottile rispetto ai maschi di controllo (Figura 6). L'ispessimento della corteccia frontale sinistra, nei soggetti binge drinker, corrispondeva a prestazioni visuo-spaziali, attentive e di inibizione ridotte nelle femmine ( $r=-0.69$  to  $0.50$ ,  $p<0.05$ ), e a peggiori performance di attenzione nei maschi ( $r=-0.69$ ,  $p=0.005$ ). Le ragazze con recenti episodi di binge drinking avevano la corteccia più spessa di circa l'8% nelle aree frontali di sinistra rispetto alle coetanee non-bevitrici. Invece, i maschi con binge drinking hanno mostrato una corteccia più sottile di circa il 7% rispetto ai coetanei non bevitori. Tali anomalie sono associate a ridotte prestazioni visuo-spaziali, attentive e di inibizione.

**Figura 6 - Parcellizzazione delle aree del lobo frontale dell'emisfero sinistro e interazioni significative tra comportamento di binge drinking e genere (N=59; femmine bevitrici=14, femmine controllati=15, maschi bevitori=15, maschi controllati=15).** Ciascuna interazione presenta le medesime caratteristiche: le femmine binge drinker hanno la corteccia più spessa rispetto alle femmine di controllo; i maschi binge drinker hanno la corteccia più sottile rispetto ai maschi di controllo. I grafici a barre rappresentano i dati grezzi. \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.005$  Fonte: Squeglia L. et al., 2011 a.



In conclusione, la pratica del binge drinking durante l'adolescenza è associata a differenze specifiche di genere nello spessore corticale frontale, e le femmine adolescenti risultano più suscettibili agli effetti negativi dell'alcol sul neurosviluppo. Questi dati trasversali suggeriscono diversi fattori di rischio, sia per i maschi che per le femmine, per lo sviluppo di modelli di consumo problematico di alcol o di disturbi alcol correlati (Squeglia L. et al., 2011 a).

Correlati neurocomportamentali e mappaggio dell'integrità della sostanza bianca cerebrale nei disordini fetali da esposizione all'alcol

Analisi dell'anatomia cerebellare mediante tecnica biometrica: ipoplasia del cervelletto nel feto come conseguenza dell'esposizione prenatale all'alcol

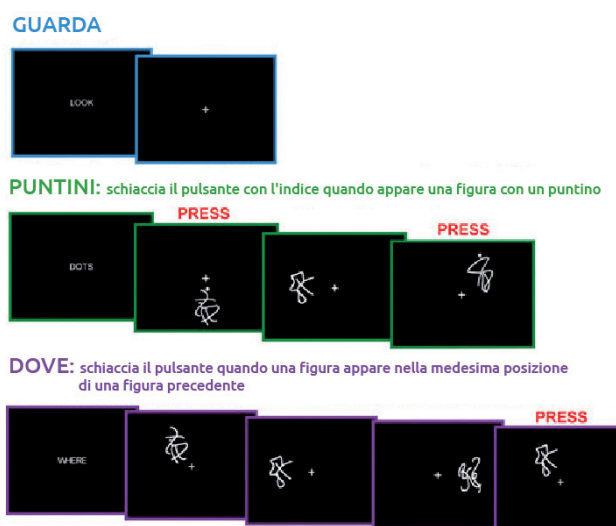


### Alterazione della memoria di lavoro in adolescenti maschi e femmine

Le traiettorie di sviluppo neurologico mostrano modelli specifici secondo il genere, differenziando la vulnerabilità individuale di maschi e femmine adolescenti agli effetti dell'alcol e di altre sostanze psicoattive. La letteratura esistente suggerisce che la memoria di lavoro coinvolga una rete neurale frontoparietale che si sviluppa precocemente nelle femmine. Queste regioni sono particolarmente sensibili ai danni alcol correlati e le femmine risulterebbero, quindi, più suscettibili agli effetti negativi rispetto ai maschi. Per caratterizzare meglio l'influenza del genere e del consumo di alcol sul funzionamento frontoparietale, Squeglia e colleghi (2011 b) hanno condotto un'indagine di fMRI su un campione di adolescenti, durante lo svolgimento di un compito di memoria di lavoro spaziale. Secondo i ricercatori sarebbero emerse delle differenze tra adolescenti binge drinker e adolescenti astemi nell'attivazione di specifiche aree cerebrali, misurata attraverso i livelli di ossigeno nel sangue dipendenti dal segnale cerebrale (BOLD). Inoltre, queste differenze sarebbero state più pronunciate nelle femmine che nei maschi bevitori.

L'indagine ha coinvolto adolescenti di età compresa tra i 16-19 anni frequentanti scuole pubbliche di San Diego (California), suddivisi in binge drinker (n=40) e gruppo di controllo (n=55). I partecipanti sono stati sottoposti a test neuropsicologici ed a interviste riguardanti l'uso di sostanze. Il compito di memoria di lavoro spaziale consisteva in una serie di stimoli visivi presentati in blocchi alternati (condizione sperimentale, condizione di vigilanza, condizione di riposo). Nella condizione sperimentale, i partecipanti dovevano segnalare quando uno stimolo veniva riproposto nella stessa posizione spaziale di uno stimolo precedente. Nella condizione di vigilanza, invece, i partecipanti dovevano segnalare la comparsa di un punto accanto allo stimolo (Figura 7). La condizione di vigilanza permetteva un controllo di base sui processi motori e di attenzione visiva che sarebbero stati coinvolti nella condizione sperimentale.

Figura 7 - Compito di memoria di lavoro spaziale. "DOTS" è la condizione di vigilanza, "WHERE" rappresenta la condizione sperimentale per la memoria di lavoro spaziale. Fonte: Squeglia L. et al., 2011 b.

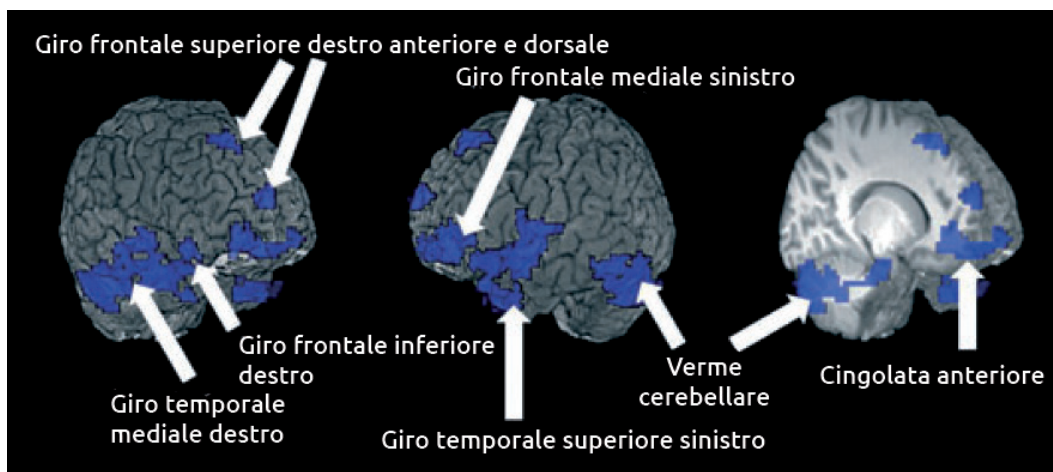


Sebbene i gruppi abbiano ottenuto prestazioni simili nel compito, sono stati osservati pattern diversi di risposta BOLD. Infatti, i ragazzi che avevano avuto almeno un episodio di binge drinking negli ultimi 3 mesi prima della risonanza hanno mostrato una minore attivazione nel giro frontale superiore ed inferiore rispetto al gruppo di controllo. L'analisi delle



regioni di interesse e dell'intero cervello hanno rivelato un'attivazione divergente, nei maschi e nelle femmine, in numerose aree frontali, nella corteccia temporale e nel cervelletto. Durante lo svolgimento del compito, le femmine binge drinker hanno infatti mostrato una minore attivazione in queste aree cerebrali rispetto alle coetanee del gruppo di controllo. La minore attivazione osservata corrisponderebbe a performance di vigilanza e di memoria di lavoro più scarse ( $p < 0.025$ ). I maschi binge drinker, invece, hanno mostrato una maggior attivazione rispetto ai coetanei del gruppo di controllo (Figura 8).

**Figura 8 - I cluster delle regioni di interesse e l'analisi dell'intero cervello mostrano significative interazioni tra le variabili "binge drinking" e "genere" ( $p < 0.05$ ;  $N = 95$ ). Le aree in blu indicano dove le femmine binge drinker hanno minori livelli di ossigeno nel sangue (BOLD) durante il compito nella condizione sperimentale rispetto alla condizione di vigilanza. I maschi binge drinker hanno invece una maggiore attivazione BOLD. Fonte: Squeglia L. et al., 2011 b.**



Il binge drinking durante l'adolescenza influisce sulla qualità delle performance cognitive, con differenze specifiche secondo il genere, e agendo su specifiche aree cerebrali coinvolte nei processi di memoria spaziale. Durante l'adolescenza, le femmine possono essere più vulnerabili agli effetti neurotossici dell'alcol, mentre i maschi possono essere più resilienti agli effetti dannosi del binge drinking. L'attivazione cerebrale della memoria di lavoro potrebbe essere utilizzata come un marcatore neurocognitivo precoce dell'impatto dell'alcol sul cervello e su comportamenti come i risultati scolastici, le prestazioni neuropsicologiche, la sicurezza alla guida (Squeglia L. et al., 2011 b).

Medina e colleghi (2008) sono stati i primi ricercatori a condurre uno studio sul volume della corteccia prefrontale, confrontando adolescenti con disturbi da uso di alcol (AUD). I ricercatori hanno escluso la presenza di disturbi psichiatrici quali il disturbo dell'umore, dell'attenzione o d'ansia nei soggetti esaminati, poiché la comorbidità psichiatrica e altri fattori di rischio, come una storia familiare di uso di sostanze, sono connessi ad anomalie neurocognitive che avrebbero potuto alterare i risultati dell'indagine (Medina K. et al., 2008; Kamarajan et al., 2006; Kim et al., 2001; Kruesi et al., 2004; Meyerhoff et al., 2004; Tapert 2000). Lo studio, inoltre, ha esaminato se il genere (maschile/femminile) moderava la relazione tra uso di alcol e morfometria della corteccia prefrontale.

L'indagine ha coinvolto adolescenti di 15-17 anni che soddisfacevano i criteri di diagnosi di AUD ( $n=14$ ), e un gruppo di controllo ( $n=17$ ) con caratteristiche demografiche simili. Il campione è stato statisticamente aggiustato per disturbo della condotta, che ha un'alta

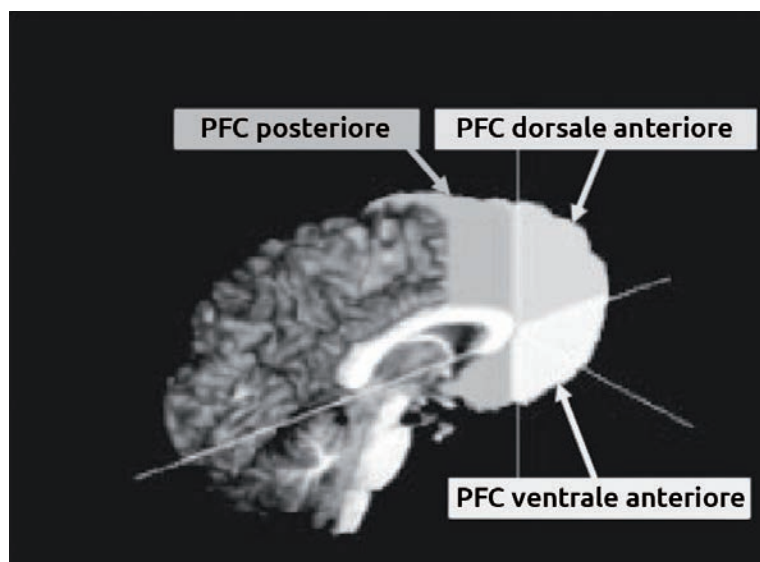
Volumi della  
corteccia  
prefrontale in  
adolescenti maschi  
e femmine

prevalenza tra gli adolescenti con AUD, e storia familiare di uso di sostanze. I soggetti sono stati sottoposti a risonanza magnetica strutturale dopo almeno 5 giorni di astinenza da alcol o droghe.

Il gruppo di adolescenti con AUD, rispetto al gruppo di controllo, ha riferito un uso di alcol più recente e un maggior uso nel corso della vita, oltre a maggiori sintomi di dipendenza, maggior uso di marijuana nel corso della vita e un maggior numero di sigarette fumate al giorno ( $p < 0,05$ ). I due gruppi non differivano, invece, rispetto all'uso di altre droghe nel corso della vita ed all'uso recente di marijuana.

Negli adolescenti con AUD sono stati riscontrati volumi della corteccia prefrontale anteriore-ventrale relativamente minori rispetto agli adolescenti di controllo, specialmente nella materia bianca anteriore al ginocchio del corpo calloso. Nonostante modelli simili di abuso di alcol, i maschi e le femmine adolescenti con AUD mostravano modelli morfometrici opposti nella corteccia prefrontale: le femmine mostravano volumi minori, mentre i maschi mostravano volumi maggiori rispetto ai controlli dello stesso genere.

Figura 9 - Ricostruzione tridimensionale della corteccia prefrontale in sezione sagittale. Fonte: Medina K. et al., 2008.



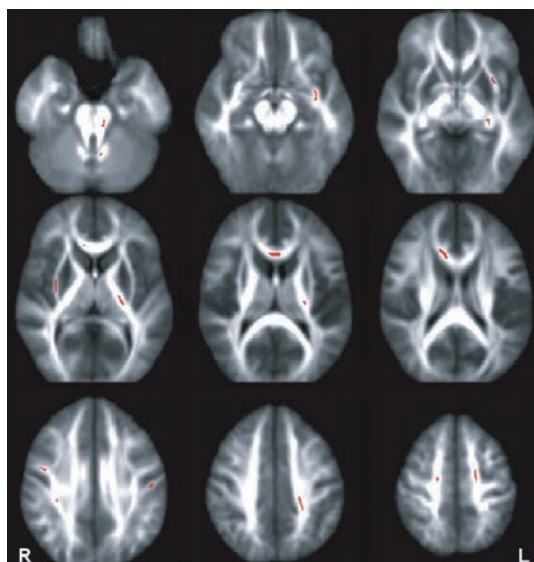
L'analisi della relazione tra uso di alcol e volumi della corteccia prefrontale ha evidenziato modelli morfometrici specifici in base al genere negli adolescenti con AUD. Tali evidenze dimostrano che il genere, maschile o femminile, influenza l'impatto dell'alcol sul neurosviluppo durante l'adolescenza. Le differenze di genere relative agli effetti dell'alcol sul cervello possono essere spiegate da una diversa tempistica nello sviluppo della corteccia prefrontale, da una differente espressione genica legata alla maggiore neurotossicità dell'alcol nelle femmine, da una maggiore concentrazione di alcol nel sangue nelle femmine a parità di unità alcoliche assunte, dai livelli di alcol deidrogenasi. Anche i disturbi di comorbidità che colpiscono maschi e femmine in modo diverso, possono interagire con l'uso di alcol e il neurosviluppo. Infatti, i maschi con AUD avevano una maggiore probabilità di manifestare un disturbo della condotta, mentre le femmine con AUD fumavano più sigarette. Per tali ragioni, le traiettorie del neurosviluppo nei maschi e nelle femmine adolescenti che praticano il binge drinking dovrebbero essere valutate separatamente in studi longitudinali (Medina K. et al., 2008).

L'uso cronico di alcol provoca una compromissione dell'integrità della materia bianca, ma non è chiaro quando tale anomalia si manifesti nel corso dell'esposizione all'alcol. Dato che la maturazione della materia bianca continua in tarda adolescenza, capire gli effetti del consumo episodico ed eccessivo di alcol sui processi di sviluppo neurologico è di grande rilevanza. McQueeney e colleghi (2009) hanno condotto un'analisi esplorativa sull'integrità dei fasci di fibre della materia bianca in un gruppo di binge drinker (senza disturbi psichiatrici), confrontati con coetanei senza episodi di binge drinking. I partecipanti, 28 adolescenti di età compresa tra i 16-19 anni classificati in binge drinker (n=14) e gruppo di controllo, sono stati reclutati da un ampio studio sulle funzioni cerebrali di giovani consumatori di sostanze (Tapert S. et al., 2007).

I ricercatori hanno impiegato tecniche di imaging con tensore di diffusione (DTI) per esaminare l'anisotropia frazionaria (FA), una misura di coerenza direzionale dei fasci di fibre della materia bianca. Subito prima della scansione tutti i partecipanti sono stati sottoposti a test tossicologico su urine e alcolometro per escludere un'intossicazione da sostanze, ripetuti a distanza di 28 giorni per documentare eventuali assunzioni recenti. Al fine di distinguere l'impatto sulla FA del binge drinking, i ricercatori hanno condotto un'analisi bivariata utilizzando dati relativi ai picchi di BAC (concentrazione alcolica nel sangue), ai periodi di astinenza dall'alcol, alla durata dell'uso di alcol.

I risultati dell'indagine hanno evidenziato negli adolescenti binge drinker, rispetto al gruppo di controllo, una minore FA in 18 aree della materia bianca compreso il corpo calloso, il fascicolo longitudinale superiore, la corona radiata, le capsule interne ed esterne, le fibre di proiezione corticali, commissurali, limbiche e tronco encefaliche (Figura 10).

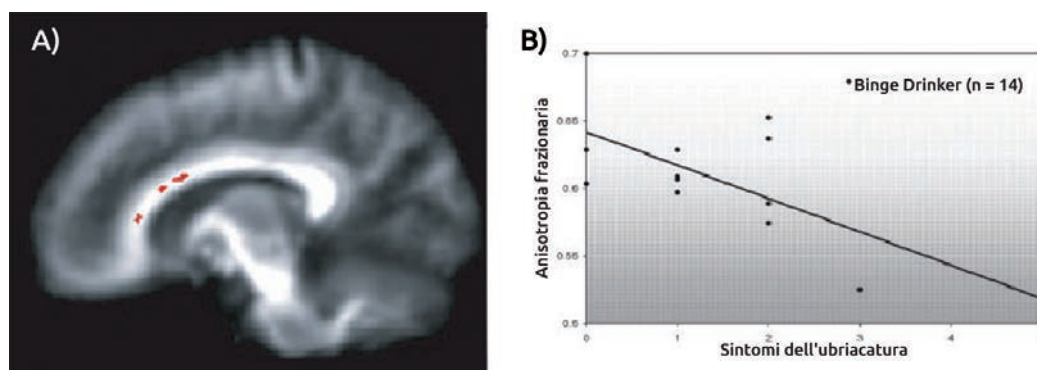
**Figura 10 - I cluster (aree scure) indicano le aree dove gli adolescenti binge drinker hanno una ridotta anisotropia frazionaria (FA) rispetto agli adolescenti di controllo (cluster  $\geq 27$  voxel contigui, ciascuno a  $p < 0,01$ ). In nessun cluster i binge drinker hanno una FA maggiore rispetto ai controlli. Fonte: McQueeney T. et al., 2009.**



Le anomalie della materia bianca risultano correlate all'uso di alcol in modo dose-dipendente. Infatti, la stima di alti tassi alcolemici corrispondeva ad una qualità ridotta dei fasci di fibre nel corpo calloso, nella capsula interna sinistra ed esterna destra, nella corona radiata posteriore sinistra. Inoltre, gli adolescenti che riferivano ripetuti sintomi post ubriacatura mostravano una maggiore compromissione della materia bianca nel corpo e nel ginocchio

del corpo calloso (Figura 11), nelle fibre di proiezione del lobo frontale (corona radiata anteriore) e nei tratti cerebellari (peduncolo inferiore).

Figura 11 - (A) I cluster (aree scure lungo le fibre del corpo calloso) e (B) il diagramma di dispersione indicano le aree dove l'anisotropia frazionaria è significativamente correlata ai sintomi post ubriacatura nel corpo e nel ginocchio del corpo calloso. Fonte: McQuenny T. et al., 2009.



L'indagine ha evidenziato, quindi, diffuse riduzioni della FA negli adolescenti binge drinker, suggerendo una compromissione dell'integrità della materia bianca nei principali fasci di connessione nelle regioni frontali, cerebellari, temporali e parietali, causata dalla modalità di assunzione di alcol specifica del binge drinking (McQuenny T. et al., 2009).

## Conclusioni

Gli studi di neuroimaging hanno contribuito significativamente alla identificazione delle aree cerebrali che vengono coinvolte e alterate dall'uso di alcol in adolescenza, permettendo una maggiore comprensione degli effetti sul cervello di questa sostanza. La maggior parte degli studi si è concentrata sulla pratica del binge drinking, caratterizzata dall'alternanza tra intossicazioni da alcol e periodi di astensione dall'uso. Questa modalità di assunzione, particolarmente diffusa tra i giovani, provocherebbe danni maggiori a livello cerebrale negli adolescenti rispetto agli adulti, così come dimostrato da studi animali condotti su ratti (Crews F. et al., 2006). L'uso precoce di alcol e la pratica del binge drinking espongono gli adolescenti al rischio di modulazioni neurobiologiche permanenti e al potenziale sviluppo di una alcoldipendenza. Dagli studi esaminati, infatti, è emerso che la pratica del binge drinking provochi danni precoci e marcati al cervello adolescente, alterando le capacità di attenzione, di decisione, di controllo del comportamento, della memoria di lavoro, e sviluppando una maggiore reattività agli stimoli legati all'alcol. Inoltre, l'impatto dell'alcol sul neurosviluppo durante l'adolescenza si differenzia anche in base al genere maschile e femminile, richiedendo una valutazione specifica e differenziata.

## Bibliografia

1. Spear LP. (2010) The behavioral neuroscience of adolescence. New York: WW Norton & Company.
2. Bava S, Tapert SF (2010), Adolescent Brain Development and the Risk for Alcohol and Other Drug Problems, *Neuropsychol Rev* 20:398–413.
3. Galvan A (2010). Adolescent development of the reward system. *Frontiers in Human Neuroscience*, 4, 6.
4. Geier CF, Terwilliger R, Teslovich T et al. (2010). Immaturities in reward processing and its influence on inhibitory control in adolescence. *Cerebral Cortex*, 20(7):1613–1629.
5. Van Leijenhorst L, Moor BG, Op de Macks ZA et al. (2010). Adolescent risky decision-making: neurocognitive development of reward and control regions. *Neuroimage*, 51(1):345–355.
6. Nixon K, McClain JA (2010), Adolescence as a critical window for developing an alcohol use disorder: Current findings in neuroscience, *Curr Opin Psychiatry* 23(3): 227–232.
7. Johnston, LD, O'Malley PM, Bachman JG, Schulenberg JE (2012). Monitoring the Future national survey results on drug use, 1975-2011. Volume I: Secondary school students. Ann Arbor: Institute for Social Research, The University of Michigan, 751 pp.
8. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA), 2004. National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism Council approves definition of binge drinking. NIAAA, Newsletter, 3 (12 giugno 2012) [http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/Newsletter/winter2004/Newsletter\\_Number3.pdf](http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/Newsletter/winter2004/Newsletter_Number3.pdf)
9. Spear LP, Varlinskaya EI (2005) Adolescence. Alcohol sensitivity, tolerance, and intake. *Recent Dev Alcohol*. 17:143–159.
10. White AM, Swartzwelder HS (2004), Hippocampal function during adolescence: a unique target of ethanol effects. *Ann N Y Acad Scie*. 1021:206-220.
11. Walker BM, Ehlers CL, Age-related differences in the blood alcohol levels of Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2009; 91:560–565.
12. Medina KL, McQueeney T, Bonnie J et al. (2008), Prefrontal cortex volumes in adolescents with alcohol use disorders: unique gender effects, *Alcohol Clin Exp Res*, 32(3):386-394.
13. Schweinsburg AD, McQueeney T, Nagel BJ et al. (2010), A preliminary study of functional magnetic resonance imaging response during verbal encoding among adolescent binge drinkers, *Alcohol*. 44(1):111–117.
14. Maurage P, Joassin F, Speth A et al. (2012), Cerebral effects of binge drinking: respective influences of global alcohol intake and consumption pattern, *Clin Neurophysiol* 123(5):892-901.
15. Campanella S, Philippot P. (2006). Insights from ERPs into emotional disorders: An affective neuroscience perspective. *Psychol Belg*;46:37–53.
16. López-Caneda E, Cadaveira F, Crego A et al. (2012), Hyperactivation of right inferior frontal cortex in young binge drinkers during response inhibition: a follow-up study. *Addiction*.
17. Chambers CD, Garavan H, Bellgrove MA (2009), Insights into the neural basis of response inhibition from cognitive and clinical neuroscience. *Neurosci Biobehav Rev*; 33:631–46.
18. Aron AR, Poldrack RA (2005), The cognitive neuroscience of response inhibition: relevance for genetic research in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry*; 57: 1285–92.
19. Konishi S, Nakajima K, Uchida I et al. (1998), No-go dominant brain activity in human inferior prefrontal cortex revealed by functional magnetic resonance imaging. *Eur J Neurosci*; 10: 1209–13.
20. Petit G, Kornreich C, Maurage P et al. (2012), Early attentional modulation by alcohol-related cues in young binge drinkers: an event-related potentials study, *Clin Neurophysiol*. 123(5):925-36.
21. Crews FT, Mdzinarishvili A, Kim D et al. (2006), Neurogenesis in adolescent brain is potently inhibited by ethanol. *Neuroscience* 137:437–445.
22. Crego A, Rodriguez-Holguin S, Parada M et al. (2010), Reduced anterior prefrontal cortex activation in young binge drinkers during a visual working memory task, *Drug and Alcohol Dependence*, 109:45–56.
23. Squeglia LM, Sorg SF, Schweinsburg AD et al. (2011 a), Binge drinking differentially affects adolescent male and female brain morphometry, *Psychopharmacology (Berl)*. 220(3):529-39.
24. Squeglia LM, Schweinsburg AD, Pulido C, Tapert SF (2011 b), Adolescent Binge Drinking Linked to Abnormal Spatial Working Memory Brain Activation: Differential Gender Effects, *Alcohol Clin Exp Res*, 35(10):1–11.
25. Kamarajan C, Porjesz B, Jones K et al. (2006), Event-related oscillations in offspring of alcoholics: neurocognitive disinhibition as a risk for alcoholism. *Biol Psychiatry*;59:625–634.
26. Kim MS, Kim JJ, Kwon JS (2001). Frontal P300 decrement and executive dysfunction in adolescents with conduct problems. *Child Psychiatry Hum Dev*;32:93–106.
27. Kruesi MJ, Casanova MF, Mannheim G, Johnson-Bilder A (2004). Reduced temporal lobe volume in early onset conduct disorder. *Psychiatry Res Neuroimaging*;132:1–11.
28. Meyerhoff DJ, Blumenfeld R, Truran D et al. (2004). Effects of heavy drinking, binge drinking, and family history of alcoholism on regional brain metabolites. *Alcohol Clin Exp Res*;28:650–661.
29. Tapert SF, Brown SA (2000). Substance dependence, family history of alcohol dependence, and neuropsychological functioning in adolescence. *Addiction*;95:1043–1053.
30. McQueeney T, Schweinsburg BC, Schweinsburg AD et al. (2009), Altered White Matter Integrity in Adolescent Binge Drinkers, *Alcohol Clin Exp Res* 33(7):1278–1285.
31. Tapert SF, Schweinsburg AD, Drummond SP et al. (2007) Functional MRI of inhibitory processing in abstinent adolescent marijuana users. *Psychopharmacology*;194:173–183.





## 2.6.3 Consumo di alcol negli adulti: le evidenze scientifiche dalle neuroimmagini sui danni cerebrali

Giuseppe Cuoghi<sup>1</sup>, Franco Alessandrini<sup>2</sup>, Giada Zoccatelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unità di Neuroscienze, Dipartimento delle Dipendenze, ULSS 20 Verona

<sup>2</sup> Servizio di Neuroradiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona

I primi studi che hanno indagato i danni provocati dall'alcol al cervello umano, utilizzando le neuroimmagini, risalgono alla fine degli anni '70. Le ricerche di quegli anni utilizzavano principalmente la tecnica della Tomografia Computerizzata (TC) effettuata al cranio di soggetti dipendenti da alcol. Già a partire da quegli anni sono state prodotte evidenze di un volume cerebrale marcatamente ridotto nei pazienti alcolisti (Carlen PL et al., 1978), differenze nel volume cerebellare rispetto ai soggetti sani (Haubek A & Lee K, 1979), assottigliamento del corpo calloso (Oishi M et al., 1999), allargamento dei ventricoli (Ishii T, 1983; Mutzell S, 1992), un aumentato volume del fluido cerebrospinale (CFS) in varie zone del cervello (Jernigan TZ et al., 1982). In particolare, l'ampiezza del terzo ventricolo (Kato A et al., 1991) ed una pronunciata atrofia prefrontale (Maes M et al., 2000) caratterizzano i pazienti alcolisti. Questa tecnica è ormai stata completamente sostituita dalle più moderne tecniche di neuroimmagine.

Le ricerche effettuate con la tecnica di risonanza magnetica strutturale hanno sostanzialmente confermato fin dall'inizio la riduzione di sostanza bianca e grigia negli alcolisti, l'allargamento ventricolare e un'ipertensione endocranica subaracnoidea. Altre aree del cervello che vengono particolarmente colpite nei soggetti con dipendenza da alcol sono i lobi frontali, che sono coinvolti nel ragionamento, nella presa di decisioni e nel problem solving. La sostanza grigia delle regioni frontali risulta inoltre particolarmente compromessa nei pazienti alcolodipendenti più anziani rispetto ai soggetti di controllo di pari età, segno questo di una maggiore vulnerabilità del cervello più vecchio agli effetti dell'alcol. Alterazioni strutturali appaiono anche in altre regioni coinvolte nei processi di memoria, quali l'ippocampo, i corpi mammillari, il talamo e la corteccia cerebellare (Pfefferbaum A et al., 1997).

Charnaud e colleghi hanno investigato, in uno studio con tecnica di risonanza magnetica "voxel-based morphometry", la relazione esistente tra le alterazioni regionali causate dall'alcol, le prestazioni a test per le funzioni esecutive e la storia individuale di uso di alcol in un gruppo di pazienti alcolisti in trattamento per disintossicazione ed in un gruppo di controlli sani. Il gruppo di pazienti alcolodipendenti secondo il DSM IV era formato da 31 soggetti ed erano astinenti almeno da 3 settimane, il gruppo di controlli sani era composto da 28 soggetti di età confrontabile. A tutti i soggetti è stata somministrata una batteria di test neuropsicologici sensibili alle disfunzioni frontali prima dell'analisi volumetrica alla risonanza magnetica (RM). Nei soggetti alcolisti sono state rilevate significative perdite bilaterali di sostanza grigia nella corteccia frontale dorsolaterale (fino al 20% in meno) e, anche se in grado minore, nella corteccia temporale, nell'insula, nel talamo e nel cervelletto.

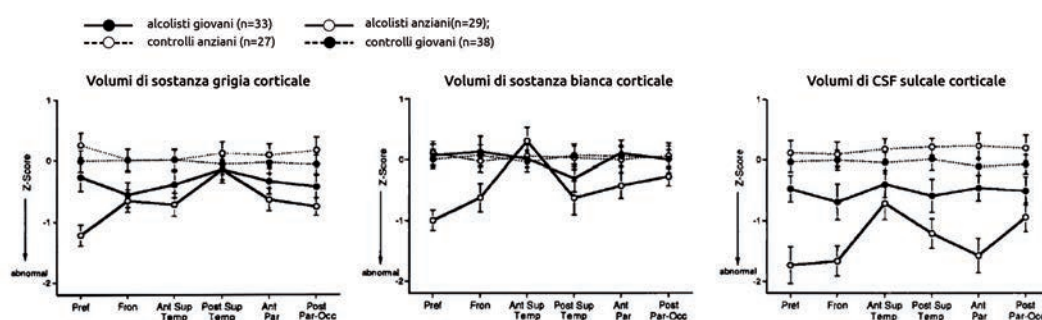
Introduzione

RM strutturale: le regioni cerebrali maggiormente colpite nell'alcolismo

Le alterazioni riscontrate nei volumi cerebrali di soggetti alcolisti presentano una significativa correlazione con la compromissione delle funzioni esecutive e con l'età d'inizio

La riduzione di volume nella sostanza bianca è risultata assai diffusa, con un picco del 10% nel corpo calloso. Le minori prestazioni ai test per le funzioni frontali correlavano con la perdita di volume di sostanza grigia nel lobo frontale, nell'insula, nell'ippocampo, nel talamo e nel cervelletto con la compromissione della sostanza bianca nel tronco dell'encefalo.

Figura 1 - Profilo volumetrico ottenuto con risonanza magnetica volumetrica della sostanza grigia corticale (sinistra), sostanza bianca corticale (centro) e liquor cerebrospinale sulcale (CSF) in un gruppo di controlli sani ed in un gruppo di pazienti alcolisti divisi in due fasce di età. Punteggi più bassi indicano maggiore alterazione. Soltanto i pazienti alcolisti più anziani presentavano compromissione della sostanza grigia prefrontale. Tutto il gruppo dei pazienti con dipendenza da alcol presenta deficit nella sostanza bianca prefrontale, frontale, temporale posteriore superiore e allargamento dei solchi soprattutto nelle regioni frontali. Fonte: Pfefferbaum A et al., 1997.



Un'età di inizio più precoce è risultata essere associata ad una maggiore diminuzione di sostanza grigia nel cervelletto, nel ponte e nelle regioni frontali. Le alterazioni riscontrate nei volumi cerebrali hanno mostrato un'associazione significativa con la compromissione delle funzioni esecutive (Charnaud S et al., 2007).

Figura 2 - (a) Il volume regionale di sostanza grigia nei soggetti alcol-dipendenti risulta inferiore ai controlli (b) Valori individuali e normalizzati tra i volume dei soggetti alcol-dipendenti (sinistra) e dei soggetti di controllo (destra) Fonte: Charnaud S et al., 2007.

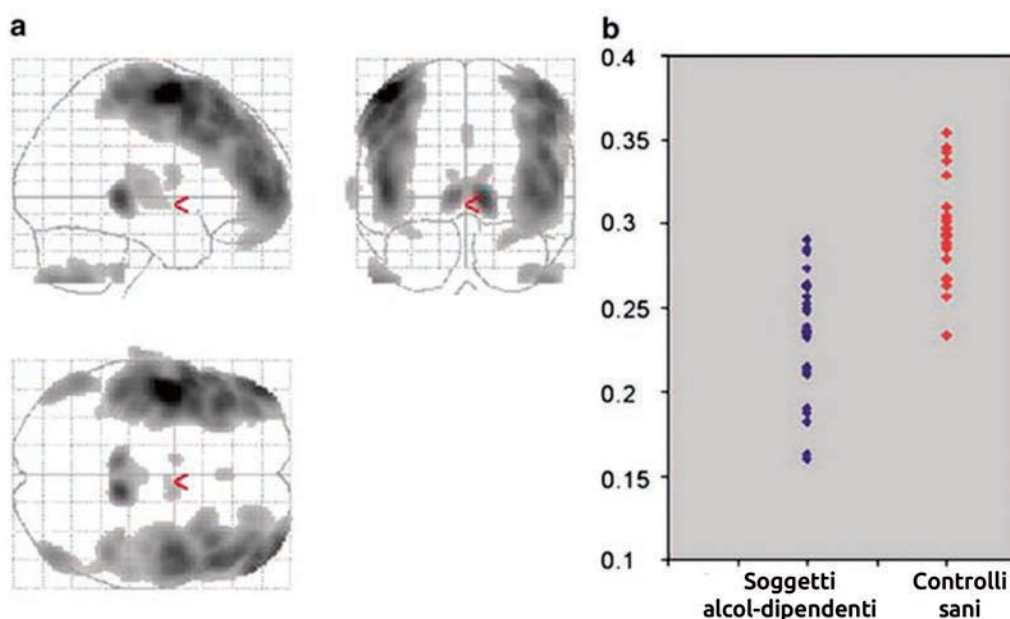
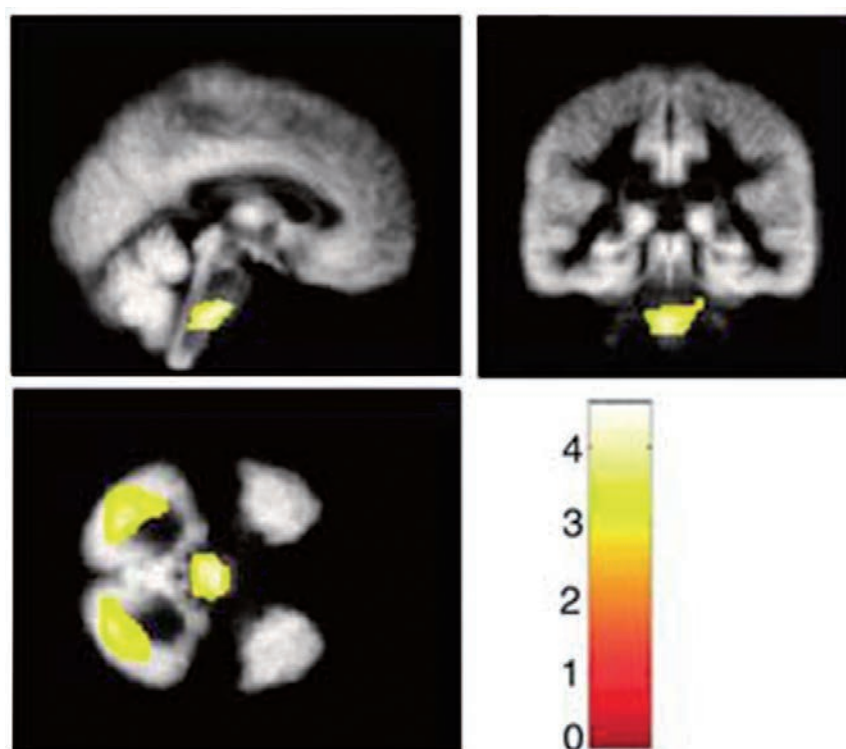


Figura 3 - Regioni cerebrali in cui è stata rilevata una correlazione positiva tra il volume della sostanza grigia e l'età d'inizio di assunzione di alcol nei pazienti alcolodipendenti. Fonte: Charnaud S et al., 2007.

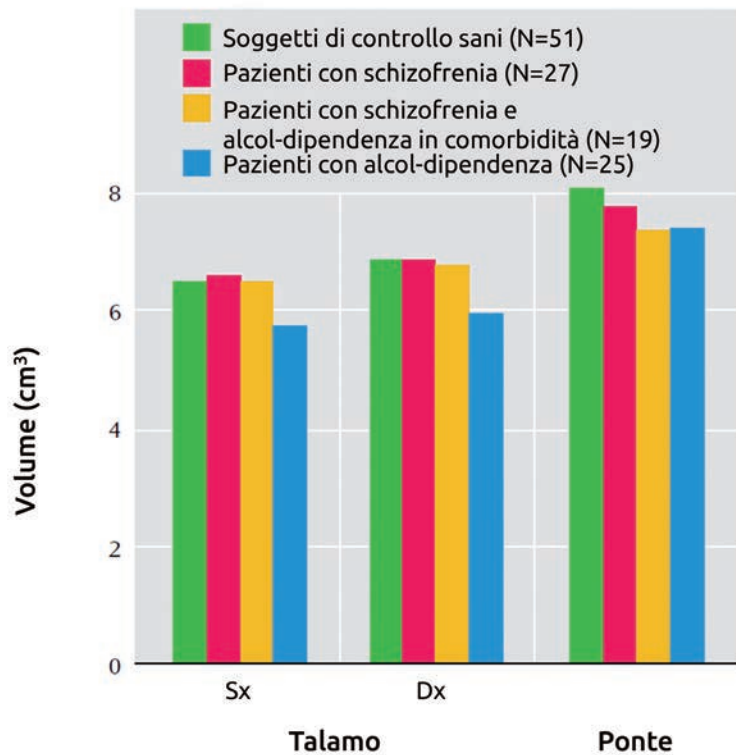


In uno studio di Sullivan e colleghi (Sullivan EV et al., 2003) con risonanza magnetica (RM) strutturale, è stata fatta l'analisi volumetrica delle regioni del talamo e del ponte in un gruppo di 25 soggetti maschi alcol-dipendenti (età  $49,4 \pm 10,9$ ). Vi erano due gruppi di controllo: il primo composto da 51 soggetti sani di pari età, il secondo era composto da 27 pazienti schizofrenici che non consumavano alcol e da 19 pazienti con schizofrenia e dipendenza alcolica in comorbidità. In molti studi post mortem e in vivo sono state infatti rilevate anomalie in queste regioni nei pazienti schizofrenici. Il ponte è una struttura del tronco dell'encefalo formata principalmente da fasci di sostanza bianca, che rappresenta un nodo critico per molti circuiti che collegano il cervelletto alle regioni corticali del cervello implicate nel processamento motorio e sensoriale, mentre il talamo è il punto centrale d'integrazione degli stimoli sensoriali e motori.

I pazienti alcolisti hanno mostrato i deficit più significativi al ponte ed al talamo rispetto a tutti gli altri soggetti, mostrando una riduzione delle strutture pontine e talamiche maggiore dei pazienti schizofrenici.

Nei soggetti alcolodipendenti vengono colpite le stesse regioni che sono compromesse nella schizofrenia ma in misura maggiore

Figura 4 - (Sinistra) Le regioni d'interesse (ROI): il talamo (rosso) ed il ponte (giallo) sono evidenziati in un soggetto alcoldipendente di 46 anni. (Destra) Misure volumetriche del ponte e del talamo in soggetti sani di controllo (verde), in pazienti con schizofrenia (rosso), in soggetti con schizofrenia e dipendenza alcolica (arancio) ed in pazienti con alcoldipendenza (blu) Fonte: Sullivan EV et al., 2003.



Danni strutturali  
causati dalle  
patologie  
neurologiche  
alcol-correlate

L'assunzione cronica di alcol può indurre alcune patologie neurologiche che possono essere ben visualizzate attraverso le sequenze di risonanza magnetica (es. malattia di Marchiafava-Bignami e mielinolisi pontina centrale). L'alcol (etanolo) favorisce i processi infiammatori, aumenta la probabilità di danno al DNA e produce stress ossidativo. Inoltre, causa uno scompenso nei livelli di tiamina che può portare all'encefalopatia di Wernicke. Le alterazioni indotte all'osmolarità plasmatica possono causare demielinizzazione acuta nei neuroni (Zuccoli G et al., 2010).

Figura 5 - Immagini di Risonanza Magnetica di uomo alcol dipendente di 61 anni con encefalopatia di Wernicke in fase acuta. A, Immagine assiale di RM pesata in T2 mostra edema asimmetrico dei corpi mammillari (freccie). B, Immagine multiplanare che mostra un'emorragia nel corpo mammillare sinistro (freccia). C, Coinvolgimento simmetrico del talamo mediale (freccie), da un'immagine pesata in T2. D, Aumento di segnale di contrasto (segno di lesione) nei corpi mammillari (freccie) in un'immagine pesata in T1. Fonte: Zuccoli G et al., 2010.

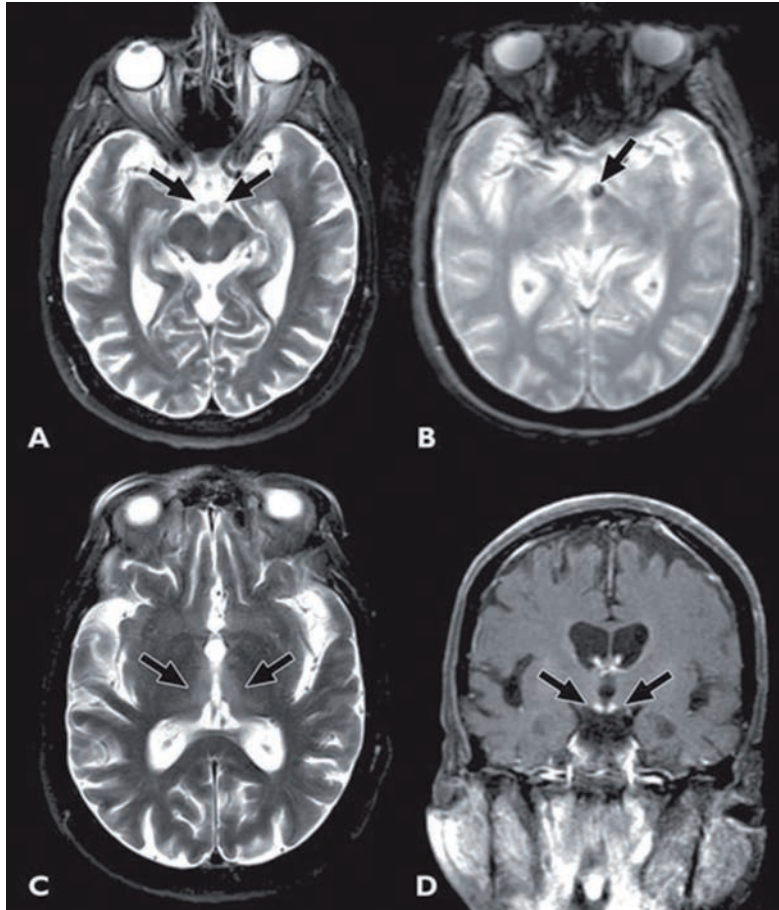


Figura 6 - Immagini di Risonanza Magnetica di donna alcol dipendente di 53 anni con la malattia di Marchiafava-Bignami in fase subacuta. A, Immagine sagittale FLAIR (Fluid Attenuated Inversion Recovery) mostra alterazioni nell'intensità di segnale che coinvolge il corpo calloso (freccie). B, Immagine assiale FLAIR che mostra due zone curvilinee di iperintensità nello splenio del corpo calloso (freccia). Fonte: Zuccoli G et al., 2010.

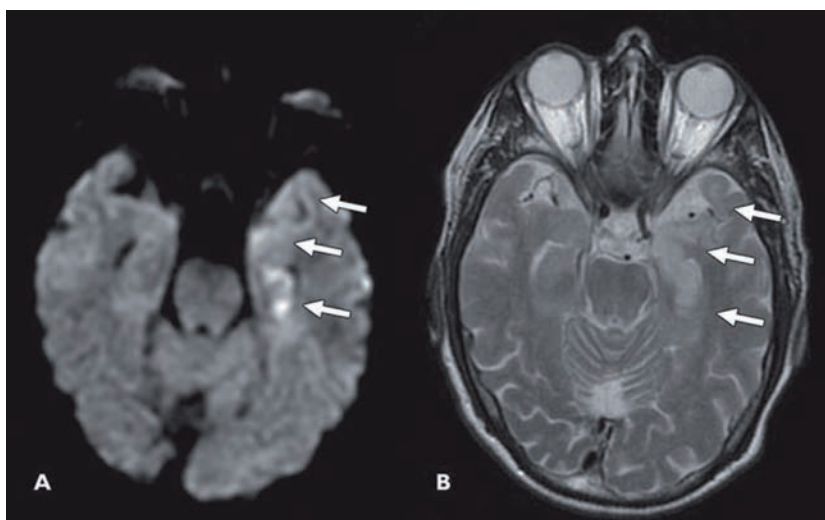
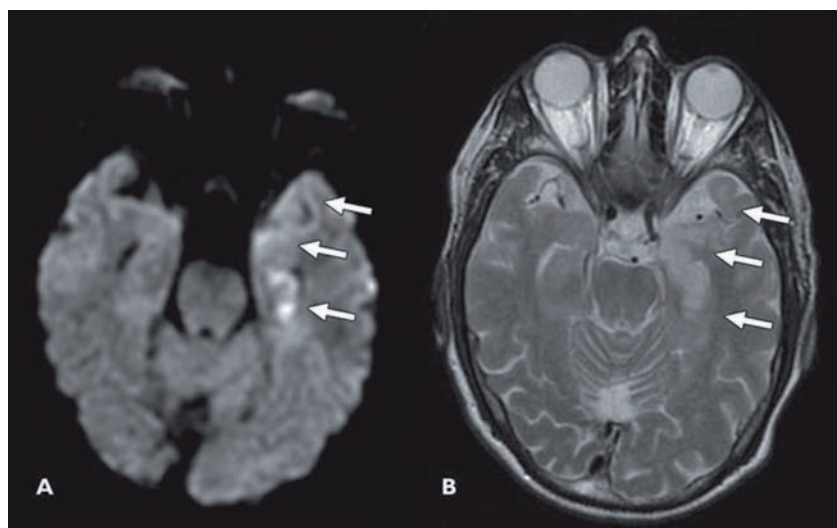




Figura 7 - Immagini di Risonanza Magnetica di uomo alcol dipendente di 38 anni con delirium tremens e relative lesioni cerebrali. Fonte: Zuccoli G et al., 2010.



Evidenziato  
l'ingrossamento  
dei ventricoli  
cerebrali in un  
gruppo di donne  
alcol dipendenti

Una ricerca di Rohlfing T. e colleghi si è concentrata sull'indagine morfometrica del cervello di 7 donne alcoliste (età media  $47.8 \pm 8.3$  anni). Dal momento che, secondo gli autori l'assunzione cronica di alcol deforma, nel corso del tempo, alcune strutture cerebrali, sarebbe importante effettuare in tutti gli studi un confronto longitudinale tra le immagini di risonanza appartenenti allo stesso individuo effettuate in tempi diversi, in aggiunta al confronto morfologico con i soggetti di controllo. In questo caso il gruppo di controllo era costituito da 16 donne di età media 51,2 anni ( $\pm 7,5$ ). Ad ogni soggetto sono state effettuate due scansioni di risonanza magnetica strutturale a distanza di circa due anni l'una dall'altra e sono state effettuate le analisi morfometriche inter-soggetto e intra-soggetto. I due tipi di analisi su dati sezionali (orizzontali) e su dati temporali (verticali) hanno fornito risultati a volte contrastanti: mentre le immagini intra-soggetto hanno mostrato un veloce aumento del volume ventricolare nelle donne alcoliste (+11% l'anno) rispetto ai controlli (+2% l'anno), l'analisi inter-soggetto ha indicato, in media, un minore volume ventricolare nei soggetti alcol dipendenti rispetto ai controlli (-33%). Altri risultati significativi sono stati la diminuzione della sostanza bianca (compreso il corpo calloso) e l'aumento del liquor cerebro-spinale (CSF) nelle donne alcoliste, in linea con i dati degli studi precedenti. Gli autori concludono sottolineando l'importanza dell'indagine morfometrica intra-soggetto, effettuata nello stesso individuo in periodi diversi, per poter apprezzare le alterazioni dinamiche causate dall'assunzione di alcol, prima di procedere al confronto con controlli sani (Rohlfing T et al., 2006).



Figura 8 - Confronto inter-gruppi tra le dimensioni dei ventricoli cerebrali di soggetti femmine di cui alcune non sono rimaste astinenti (a, n=3), alcune sono rimaste astinenti (b, n=4), altre hanno continuato a bere (c, n=7), e controlli sani (d, n=16). Le regioni in cui la media delle dimensioni ventricolari sono maggiori di una deviazione standard per il gruppo di alcolisti rispetto al gruppo di controllo sono evidenziate con il colore rosso, le regioni in cui la media per il gruppo di alcolisti è minore di una deviazione standard rispetto al gruppo di controllo sono evidenziate in blue. Fonte: Rohlfing T et al., 2006.

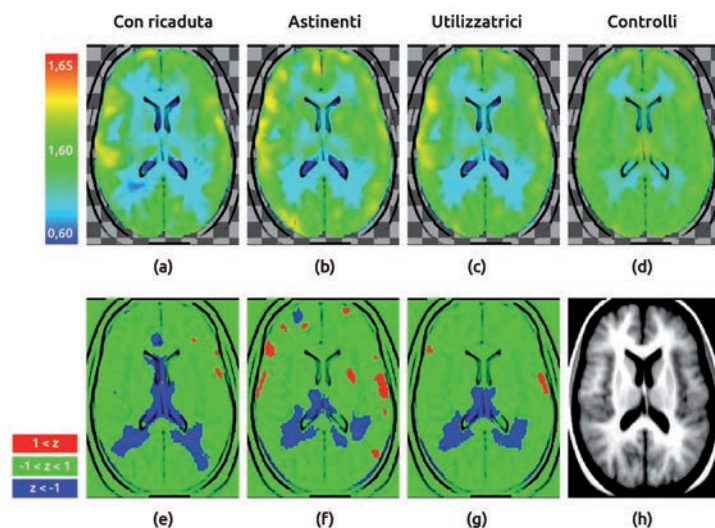
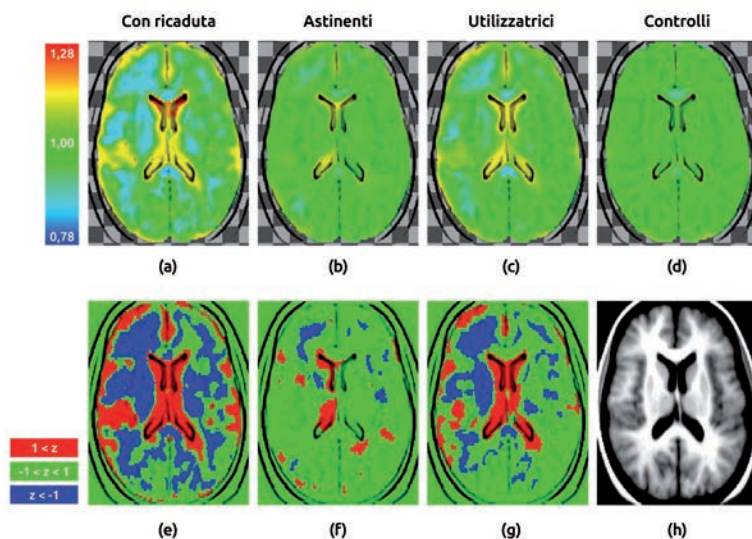


Figura 9 - Lo stesso confronto intra-gruppi. Le regioni in cui la media delle dimensioni ventricolari sono maggiori di una deviazione standard per il gruppo di alcolisti rispetto al gruppo di controllo sono evidenziate con il colore rosso, le regioni in cui la media per il gruppo di alcolisti è minore di una deviazione standard rispetto al gruppo di controllo sono evidenziate in blue. Fonte: Rohlfing T et al., 2006.



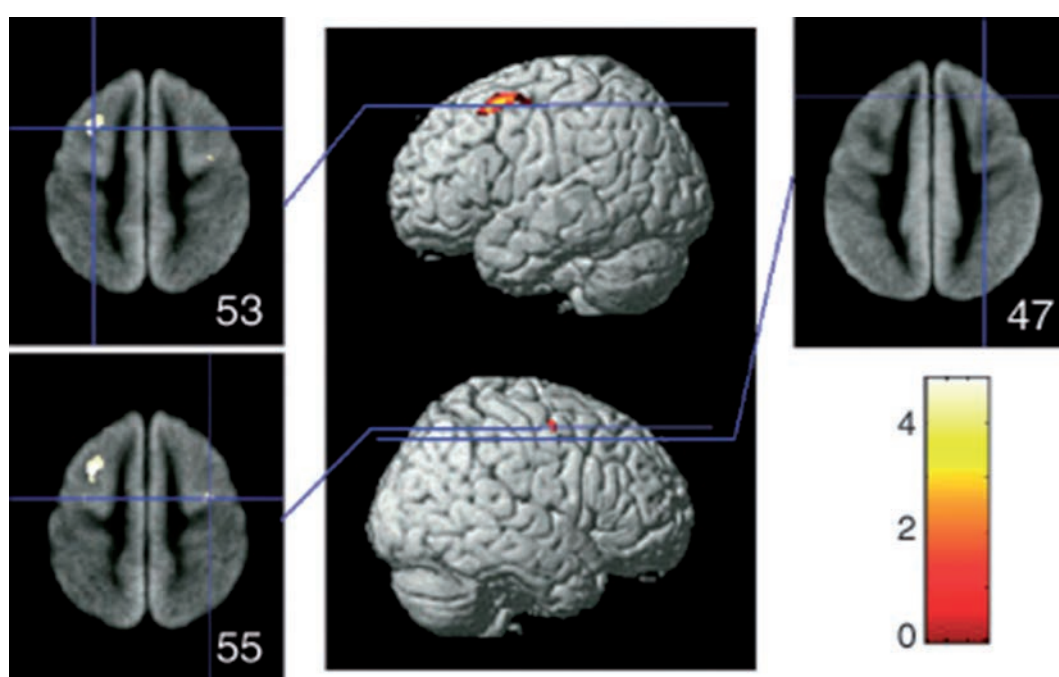
I pazienti alcol dipendenti mostrano una marcata atrofia cerebrale, come risulta da molti studi (Maes et al., 2000). Ma anche nei soggetti che non soddisfano le caratteristiche di dipendenza da alcol, pur essendo forti bevitori, viene evidenziata una significativa riduzione del volume della sostanza grigia. Sono questi i risultati di una ricerca effettuata in Giappone (Taki Y et al., 2006) su 405 soggetti maschi, forti assuntori di alcol, che però non soddisfacevano i criteri psichiatrici di alcol-dipendenza (DSM IV). A tutti i soggetti è stata

Alterazioni cerebrali anche nei soggetti che bevono alcol pur non essendo alcol dipendenti

effettuata una risonanza magnetica ad alto campo su cui è stata fatta l'analisi voxel-based morphometry (VBM) sui volumi di sostanza grigia intracranica. Attraverso l'analisi statistica a regressione multipla gli autori hanno messo in relazione i volumi di sostanza grigia con l'età e la quantità di alcol assunto nel corso della vita (lifetime), valutata attraverso un questionario auto-somministrato e un'intervista psichiatrica.

Sia il volume totale che il volume della sostanza grigia nel giro frontale bilaterale hanno mostrato una significativa correlazione negativa con la quantità di alcol assunto lifetime, sottolineando i danni che possono derivare dall'assunzione di alcol anche in dosi non eccessive.

**Figura 10 - La figura mostra le regioni cerebrali che hanno evidenziato una correlazione negativa significativa con la quantità di alcol assunto nel corso della vita. Le regioni in cui è stata trovata maggiore correlazione sono i volumi di sostanza grigia del giro frontale mediale bilaterale. Fonte: Taki Y et al., 2006.**

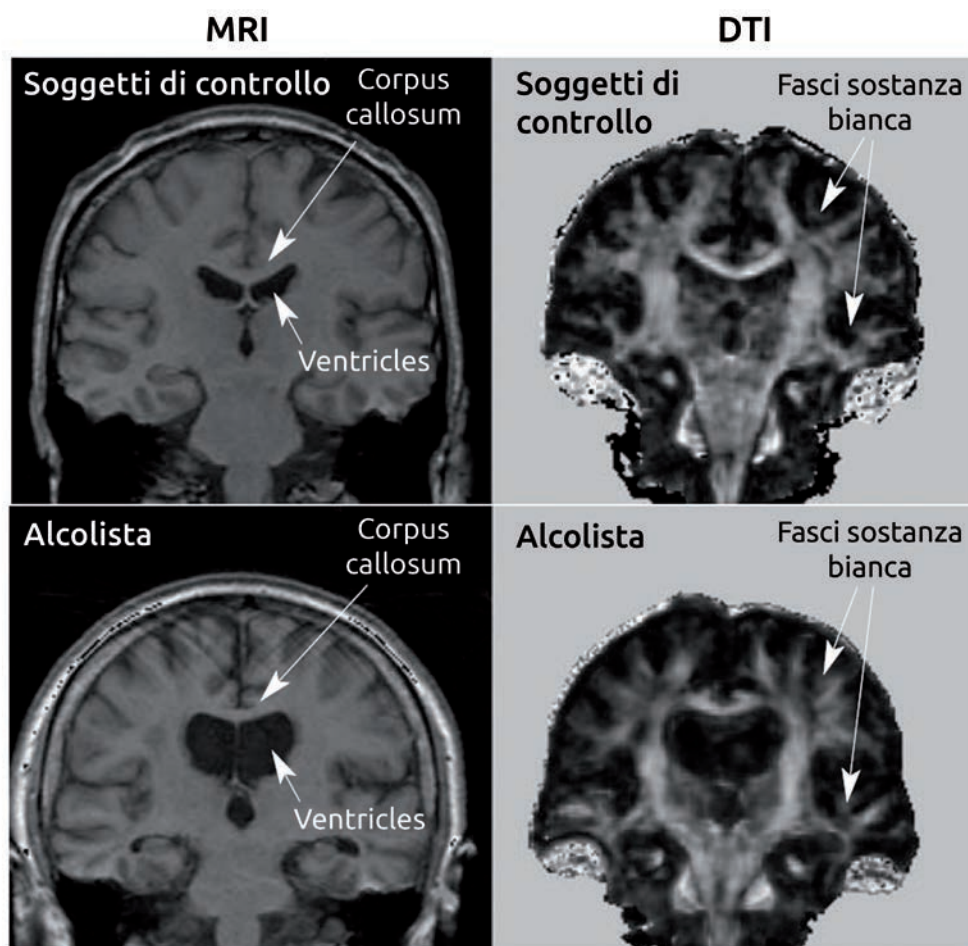


## 1. Imaging con tensore di diffusione (DTI)

L'imaging a tensore di diffusione (DTI) pur essendo una tecnica già ampiamente utilizzata per rilevare le anomalie nella sostanza bianca in molte condizioni neuropsichiatriche, ha iniziato solo di recente ad essere applicata per esaminare l'integrità microstrutturale nell'alcolismo. Reperti clinici e neuropatologici hanno ben evidenziato degenerazioni selettive associate all'assunzione di alcol (es. Harper and Kril, 1990). La tecnica DTI si sta rivelando uno strumento importante e non invasivo per tracciare le condizioni della microstruttura della sostanza bianca cerebrale nel decorso dell'alcolismo.

Negli studi effettuati è emersa una consistente generale degradazione dei tratti di fibra di sostanza bianca nei soggetti alcolisti, maggiormente pronunciata nei soggetti più anziani (Rosenbloom M et al., 2003).

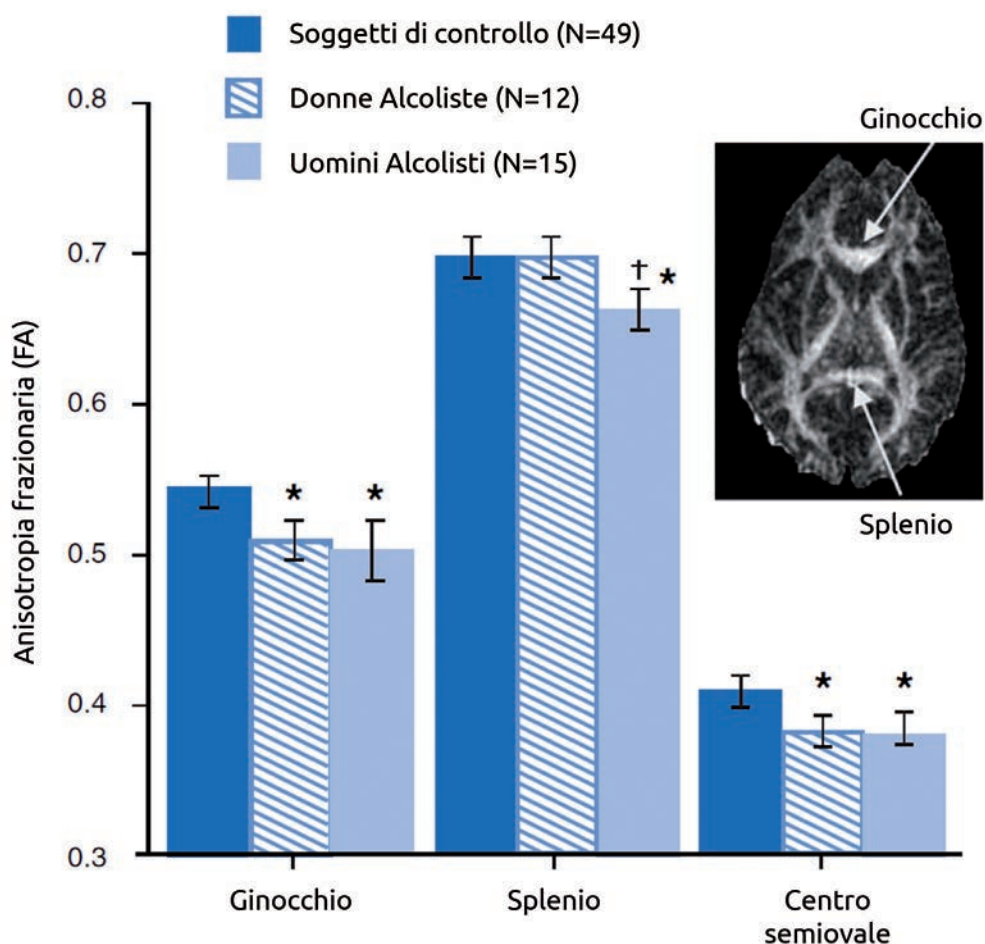
Figura 11 - Queste immagini mostrano la sezione coronale del cervello di un uomo sano di 61 anni (sopra) e di un soggetto alcolista di 60 anni (sotto). Le immagini a sinistra sono di Risonanza magnetica strutturale ed evidenziano l'assottigliamento del corpo calloso e l'allargamento dei ventricoli nell'uomo alcolodipendente. Le immagini a destra sono di DTI e mostrano fasci di sostanza bianca molto meno ben delineati nell'uomo alcolista rispetto al soggetto di controllo. Fonte: Rosenbloom M et al., 2003.



In uno studio di Pfefferbaum A. e colleghi è stata utilizzata la tecnica DTI per valutare l'integrità delle fibre di sostanza bianca, attraverso l'indice di Anisotropia Frazionaria (AF), in un campione di 15 pazienti alcolisti uomini ( $55,4 \pm 9,6$  anni) in disintossicazione, 12 pazienti alcoliste donne in disintossicazione e 49 soggetti di controllo non alcolisti ( $54,4 \pm 12,3$  anni) (Pfefferbaum et al., 2000). La sessione di risonanza magnetica è stata effettuata dopo che tutti i soggetti avevano sostenuto dei task neuropsicologici per indagare le funzioni di attenzione e di memoria di lavoro. Dai risultati è emerso che i pazienti alcolisti presentavano una minore Anisotropia Frazionaria, indice di danno alle fibre di sostanza bianca, nei tratti del ginocchio e dello splenio del corpo calloso e nei centri semiovali, e che la compromissione in queste regioni correlavano positivamente con le minori prestazioni ai compiti di memoria e di attenzione.

Alterazioni nei fasci di sostanza bianca correlano con peggiori prestazioni neuropsicologiche

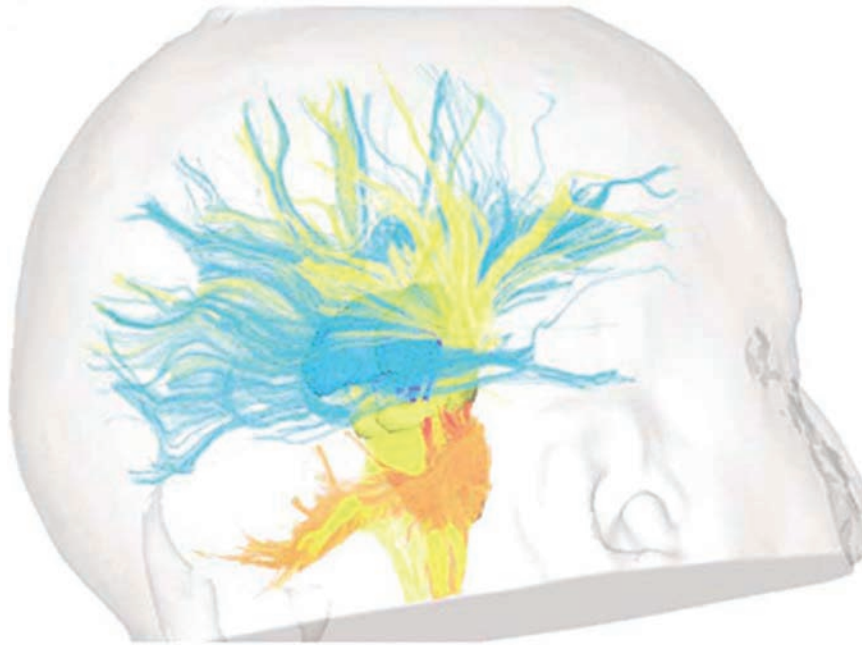
Figura 12 - Le barre colorate rappresentano le medie di anisotropia frazionale (FA) di 3 regioni di sostanza bianca (ginocchio del corpo calloso, splenio del corpo calloso e centro semiovale) in 15 uomini alcolisti, 12 donne alcoliste, e 49 controlli sani. Come si vede dagli asterischi sia gli uomini che le donne alcol-dipendenti presentavano un abbassamento nell'indice di FA nel ginocchio del corpo calloso e nel centro semiovale (la massa di sostanza bianca che costituisce la parte interna degli emisferi cerebrali). Solo gli uomini hanno mostrato minore FA nello splenio rispetto ai controlli. Fonte: Pfefferbaum A et al., 2000.



Uno studio DTI svolto in Francia ha mostrato che nei soggetti alcol-dipendenti c'è compromissione anche dei fasci di sostanza bianca che collegano il mesencefalo con il ponte. Chanraud e colleghi hanno effettuato risonanza magnetica strutturale (MRI) e tensore di diffusione (DTI) su 20 soggetti ex-alcol-dipendenti (criteri DSM IV) disintossicati, dai 25 ai 65 anni di età ( $49 \pm 7$ ) e su 25 soggetti di controllo di pari età. A tutti i partecipanti è stato inoltre effettuato un test di flessibilità cognitiva, Il Trail Making Test (TMT A+B), in cui i soggetti alcol-dipendenti hanno normalmente prestazioni mediamente peggiori rispetto ai soggetti sani. Gli autori hanno compreso inoltre che le prestazioni in compiti di flessibilità cognitiva correlano con il volume di sostanza bianca proprio nelle regioni mesencefaliche (Chanraud S et al., 2009). I fasci di fibra nelle zone d'interesse sono stati analizzati con un approccio di trattografia quantitativa (Figura 13).

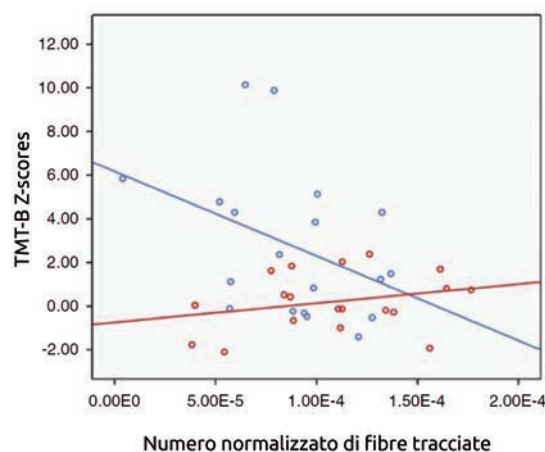


Figura 13 - Immagine in 3D di trattografia su un soggetto sano. (Arancione): Ponte e ricostruzione dei fasci di fibre che connettono il ponte al cervelletto. (Giallo): Mesencefalo e ricostruzione dei fasci di fibre che lo attraversano. (Blu chiaro): Talamo e ricostruzione dei fasci di fibre che lo attraversano. (Blu scuro): ricostruzione dei fasci di fibre che collegano il mesencefalo al talamo. (Rosso): Ricostruzione dei fasci di fibre che collegano il mesencefalo al ponte. Fonte: Chanraud S et al., 2009.



Nei soggetti alcol dipendenti è stato rilevato il 18% di fibre di sostanza bianca in meno per unità di volume, rispetto ai soggetti di controllo, nel tratto che va dal ponte al mesencefalo. Inoltre, il minor numero di queste fibre correlava positivamente con la peggiore performance al Trail Making Test rispetto ai controlli. Gli autori sottolineano che, nonostante questi soggetti fossero già disintossicati e neurologicamente apparentemente indenni, il loro precedente eccessivo uso di alcol sembra essere associato con una microstruttura alterata a livello della sostanza bianca mesencefalica, che potrebbe contribuire alla compromissione della loro flessibilità cognitiva.

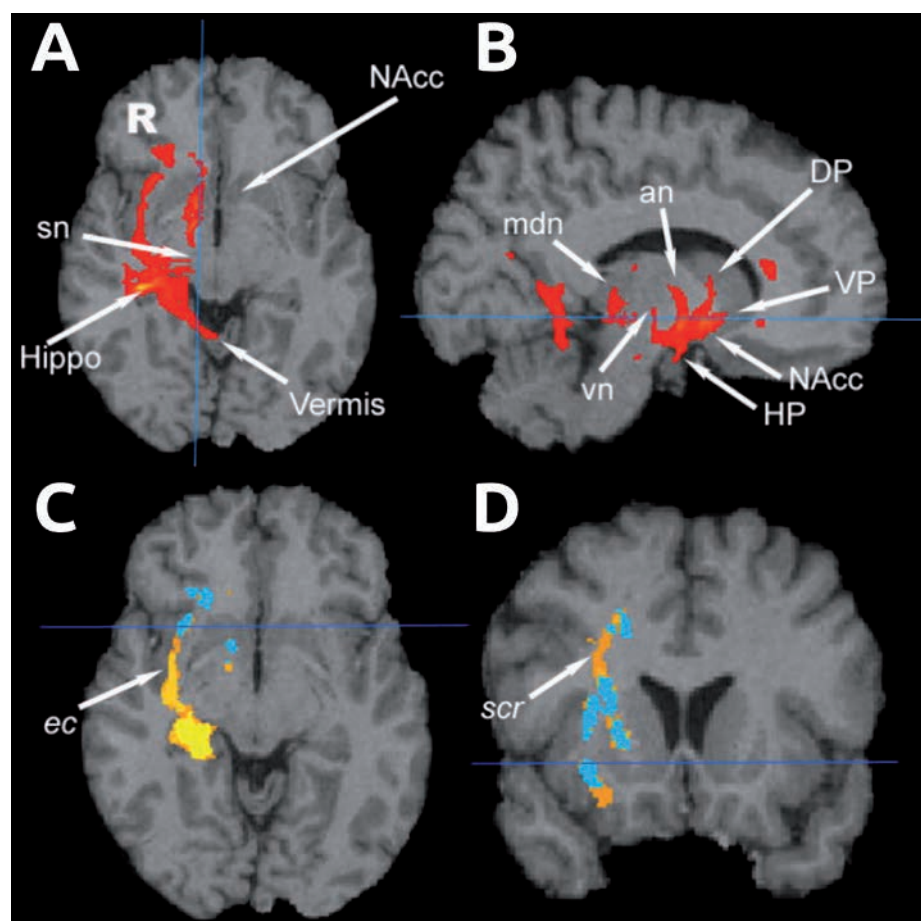
Figura 14 - Correlazione tra il numero normalizzato di fibre tracciate con trattografia nella zona compresa tra il ponte ed il mesencefalo e i punteggi ottenuti al Trail-Making Test parte B (in punteggi z) dai soggetti alcol-dipendenti (in blu) e dai controlli (in rosso). Fonte: Chanraud S et al., 2009.



Le regioni cerebrali preposte ai processi motivazionali vengono compromesse nella dipendenza alcolica

In uno studio di Yeh e colleghi (Yeh PH et al., 2009) sono state inoltre trovate alterazioni nei fasci di sostanza bianca frontale e limbica in soggetti alcolisti. Gli autori hanno utilizzato l'imaging con tensore di diffusione, la trattografia probabilistica e la tract-based spacial statistics (TBSS - che determina sostanzialmente una mappa dello scheletro dell'Anisotropia Frazionaria). Un gruppo di 11 alcolisti (criteri DSM-IV) ricoverati nella loro prima settimana di disintossicazione dall'alcol è stato confrontato con 10 controlli sani. A tutti i partecipanti allo studio è stato inoltre somministrato un test di memoria visuospatiale (Brief Visuospatial Memory Test-Revised; BVM-T-R) (Benedict, 2005). Le regioni in cui è stato riscontrato il più basso indice di Anisotropia Frazionaria e alte medie di diffusività delle molecole d'acqua comprendono le fibre cortico-striatali e quelle dei circuiti frontali e limbici. I dati più importanti di compromissione dei fasci di sostanza bianca, evidenziati da un basso indice di AF, sono stati rilevati nelle fibre frontali e limbiche, regioni principalmente coinvolte nei processi di motivazione, e correlavano con le basse performance di memoria visuospatiale. Questi risultati apportano importanti evidenze sulla compromissione dell'integrità del circuito motivazionale nella dipendenza alcolica, che potrebbe essere parzialmente responsabile delle scarse prestazioni nei compiti esecutivi, nella regolazione del comportamento e nel controllo degli impulsi che caratterizzano i soggetti alcolisti.

Figura 15 - (A e B) I fasci di fibre di un partecipante ottenuti con la tract-based spacial statistics (TBSS) attraverso la trattografia probabilistica. Il trattogramma è sovrapposto all'immagine di risonanza magnetica pesata in T1. An = gruppo di nuclei talamici anteriori, DP = pallido dorsale, HP = ipotalamo, Hippo = ippocampo, mdn = nuclei medio-dorsali del talamo, sn = sub stantia nigra, vn = gruppo nucleare talamico ventrale, NAcc = nucleo accumbens, VP = pallido ventrale. (C e D) Le fibre assionali "target" rilevate nel gruppo degli alcolisti (blu) e nei controlli (giallo-arancione). I fasci della capsula estrema (ec) e della regione superiore della corona radiata (scr), sono presenti solo nel gruppo di controllo ma non nel gruppo di soggetti alcol dipendenti. Fonte: Yeh PH et al., 2009.





## 2. Imaging funzionale

L'alcol non colpisce soltanto la struttura del cervello ma anche la sua funzionalità. Gli studi di risonanza magnetica funzionale (fMRI) si sono focalizzati sugli effetti prodotti da stimoli salienti associati all'alcol utilizzando il paradigma di reattività allo stimolo (cue-reactivity paradigm). In questi paradigmi l'attivazione cerebrale è misurata mentre vengono presentati al soggetto sia stimoli droga-correlati che stimoli neutri di controllo.

Un bell'esempio di questo paradigma nello studio dell'alcol-dipendenza viene dallo studio di Grüsser e colleghi (Grüsser SM et al., 2004). I ricercatori hanno reclutato 10 pazienti alcolisti in astinenza da almeno una settimana (5 maschi e 5 femmine di età media  $36 \pm 11$  anni) e 10 controlli sani confrontabili per età ( $41 \pm 8$ ). A tutti i soggetti sono state mostrate 15 immagini legate all'alcol che, da studi effettuati in precedenza, elicitarono craving nei soggetti alcolisti, intervallate a 30 stimoli neutri. Come stimoli neutri sono state mostrate 15 immagini scelte da un database internazionale di immagini apposite (international affective picture system), e 15 immagini ricavate modificando le immagini alcol-correlate fino a ricavarne immagini astratte con gli stessi colori e con la complessità dell'originale.

Attivazione cerebrale alterata in risposta a stimoli alcol-correlati in soggetti alcolisti

Figura 16 - Il paradigma sperimentale Fonte: Grüsser SM et al., 2004.

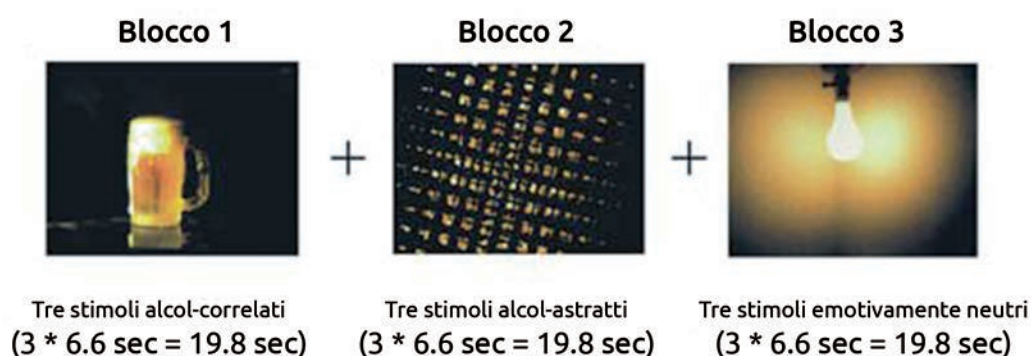
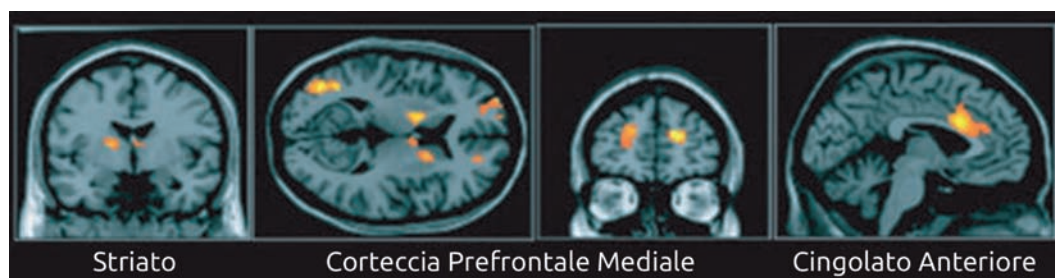


Figura 17 - Attivazione delle strutture mesocorticolimbiche elicitata dagli stimoli. Sono evidenziate le aree cerebrali che risultano significativamente più attivate nei pazienti alcol-dipendenti che nei controlli in risposta a stimoli alcol correlati rispetto a stimoli neutri. Fonte: Grüsser SM et al., 2004.

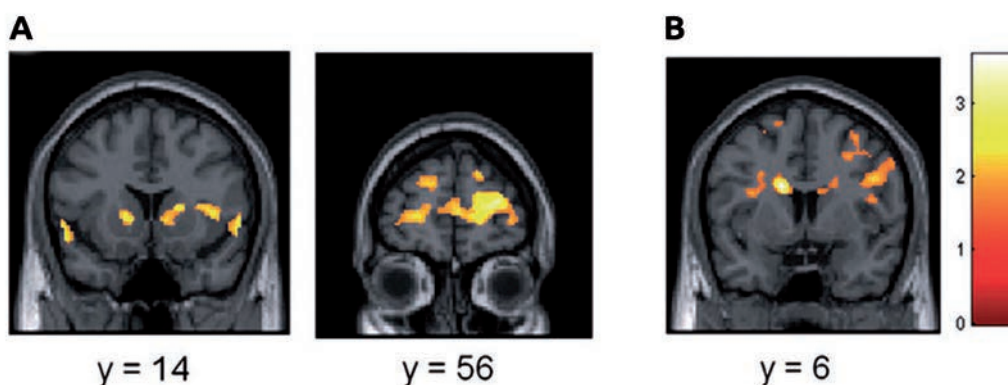


Questo paradigma assume che, durante lo sviluppo di una tossicodipendenza, gli stimoli neutri associati con l'assunzione di droga, diventino man mano stimoli condizionati, che possiedono la capacità di elicitare le stesse reazioni provocate dalle droghe. Questi studi indicano ad esempio che, in risposta a stimoli correlati all'alcol, i pazienti alcolodipendenti mostrano un aumento di attività nel sistema dopaminergico mesolimbico (area tegmentale ventrale e gangli della base, incluso lo striato e la corteccia prefrontale mediale e orbitofrontale), nel circuito attenzionale visuospatiale (regioni fronto-occipito-parietali) e nel lobo temporale.

Il ruolo dello striato ventrale e dorsale nel consumo di alcol: si rileva un'alta attivazione durante il craving

In uno studio recente Vollstädt-Klein e colleghi hanno voluto indagare i diversi pattern di attivazione tra forti bevitori e bevitori moderati. I ricercatori hanno presentato stimoli alcol-correlati e stimoli neutri a 21 soggetti che assumevano grandi quantità di alcol (5,0 unità alcoliche di media al giorno), 13 dei quali erano stati diagnosticati come alcol-dipendenti secondo i criteri del DSM IV, e a 10 bevitori moderati (0,4 unità alcoliche in media al giorno). Durante la presentazione, ai soggetti veniva effettuato uno scanning di risonanza magnetica funzionale atta a verificare le regioni cerebrali di maggiore attivazione durante il craving. Il risultato è stato che i forti bevitori hanno mostrato una maggiore attivazione nello striato dorsale, mentre l'attivazione dei bevitori moderati era significativamente maggiore nello striato ventrale e nelle regioni prefrontali. Gli autori suggeriscono che lo striato ventrale rappresenti il substrato anatomico della volizione ("voglio" la sostanza), mentre lo striato dorsale rappresenterebbe la base neurale del "devo" fare. Inoltre, nei bevitori moderati si è evidenziata una maggiore attivazione della corteccia prefrontale, il che starebbe ad indicare un maggiore controllo cognitivo in risposta a stimoli alcol-correlati, e questo potrebbe essere il motivo che ha impedito loro di sviluppare una dipendenza (Vollstädt-Klein S et al., 2011).

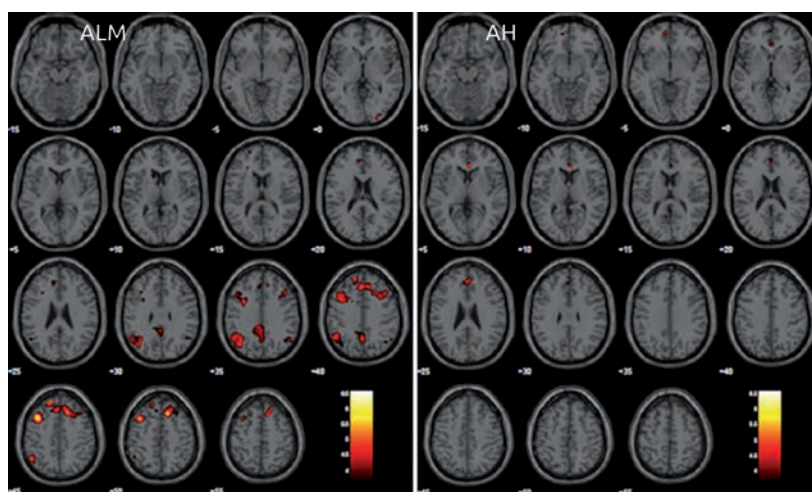
**Figura 18 - Attivazione cerebrale elicitata da stimoli alcol-correlati in bevitori moderati (n = 10) confrontati con forti bevitori (n = 21) (a) maggiore attivazione nello striato ventrale e nella corteccia prefrontale dei bevitori moderati. (b) I forti bevitori hanno mostrato aumentata attivazione nello striato dorsale**  
Fonte: Vollstädt-Klein S et al., 2011.



Anche nei soggetti adulti che non soddisfano i criteri di dipendenza pur bevendo forti quantità di alcol, sono state rilevate anomalie funzionali nel cervello. In uno studio sui processi neurali di risk-taking, Bednarski e colleghi (Bednarski SR et al., 2012) hanno confrontato le risposte fMRI di un gruppo di 20 forti bevitori con quelle di 21 bevitori moderati, durante un compito di risk-taking (stop signal task). I forti bevitori avevano un'età media di

23,8 anni ( $\pm 3,7$ ) e bevevano smodatamente quasi tutti i giorni, i bevitori moderati avevano un'età di  $25 \pm 3,8$  anni con una media di poco più di 4 drink mensili. Alla risonanza magnetica i forti bevitori hanno mostrato una attivazione minore rispetto agli altri soggetti nel giro frontale superiore destro e nel nucleo caudato sinistro quando cercavano di contrastare le risposte impulsive. Secondo gli autori questo è interessante dal momento che mostra come sia sufficiente bere forti quantità di alcol, pur senza arrivare alla dipendenza, per mostrare attivazioni alterate a livello della corteccia frontale superiore e del nucleo caudato, e non avere più il pieno controllo cognitivo sulle capacità inibitorie.

**Figura 19 - Attivazione cerebrale regionale durante il compito di risk taking nello stop signal task. (A)** Ad una soglia di significatività statistica  $p < 0,001$ , i soggetti risk-seeking mostravano alta attivazione nel giro frontale mediale, nella corteccia parietale inferiore, nella corteccia cingolata posteriore, nel giro temporale mediale, nella corteccia cingolata anteriore rostrale, nella testa del caudato nel gruppo di bevitori moderati. **(B)** Nel gruppo di forti bevitori chi si assumeva maggior rischio mostrava alta attivazione nella corteccia anteriore rostrale. I contrasti BOLD (Blood oxygen level-dependent) sono sovrapposti su un'immagine di risonanza strutturale pesata in T1, in sezioni assiali. Fonte: Bednarski SR et al., 2012.

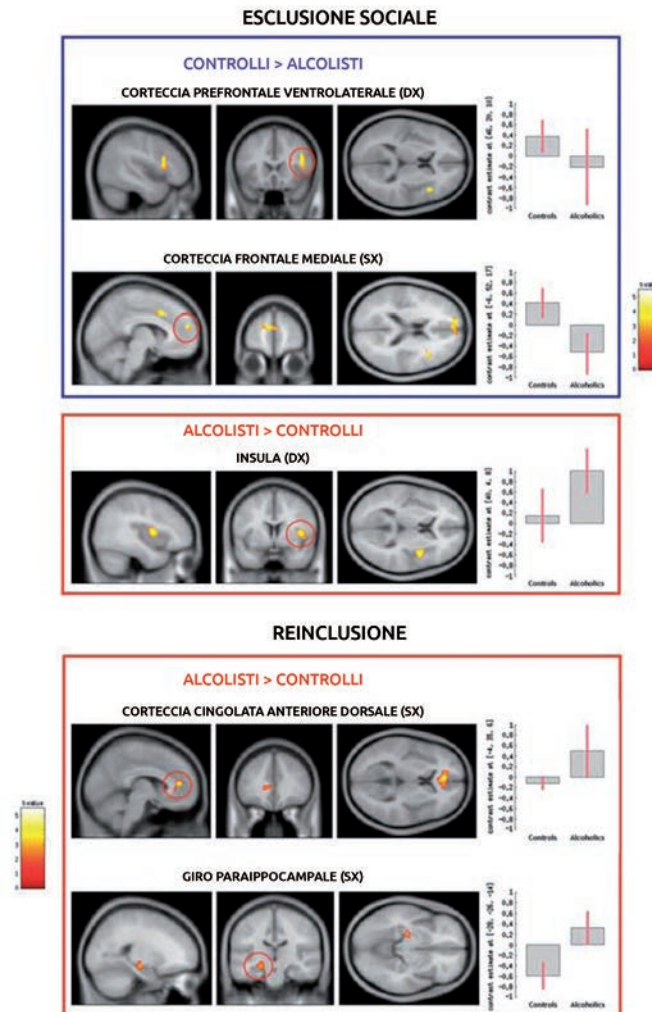


L'alcol-dipendenza è associata ad alterazioni cognitive e biologiche, ma anche a compromissione delle relazioni interpersonali. In un recente studio (Maurage P et al., 2012) gli autori hanno voluto indagare le alterazioni cerebrali funzionalmente coinvolte nei sentimenti di esclusione sociale. In questo esperimento i ricercatori hanno effettuato uno scanning di risonanza magnetica funzionale a 22 pazienti maschi con diagnosi di dipendenza da alcol (DSM IV), che partecipavano ad un trattamento di disintossicazione ed erano astinenti da almeno 14 giorni e a 22 controlli sani con le stesse caratteristiche di età e scolarità. Durante la risonanza magnetica i pazienti dovevano effettuare un gioco online in cui interagivano con altri due giocatori passando loro una palla virtuale. Attraverso questo paradigma è stato possibile escludere in vari modi i soggetti sperimentali dal gioco, inizialmente attraverso un'esclusione sociale implicita in cui veniva riferito al soggetto che la connessione intranet aveva dei problemi quindi lui poteva temporaneamente soltanto vedere il gioco degli altri due giocatori. In seguito il soggetto veniva escluso in modo esplicito: senza dirgli nulla gli altri giocatori smettevano di passargli la palla e giocavano tra di loro. I risultati hanno mostrato che, mentre in entrambi i gruppi si verifica un'attivazione della corteccia cingolata anteriore dorsale (dACC) durante l'esclusione sociale, solo nei soggetti alcolisti avviene un aumento dell'attivazione nell'insula ed una diminuzione nella corteccia prefrontale ventrolaterale. L'alcol-dipendenza sembra quindi associata ad una maggiore attivazione in zone

Alterazioni cerebrali nei processi sociali in soggetti alcolodipendenti

che elicitano sentimenti di esclusione sociale (dACC-insula), e ad una incapacità ad inibire questi sentimenti (indicata dalla ridotta attivazione frontale). Gli autori suggeriscono che l'alterata regolazione frontale sia implicata nei problemi di interazione sociale spesso evidenti negli alcolisti, aggravata dalla compromissione della connettività fronto-cingolata.

Figura 20 - Confronto di attivazione tra gruppi durante l'esclusione sociale (esplicita - implicita, a sinistra) e nella re-inclusione (prima - seconda re-inclusione, a destra), che mostra le aree cerebrali che presentano una significativa riduzione (blu) o innalzamento (rosso) dell'attivazione nel gruppo di alcolisti (n = 22), in confronto al gruppo di controllo (n = 22). Fonte: Maurage P et al., 2012.



### 3. Spettroscopia di risonanza magnetica

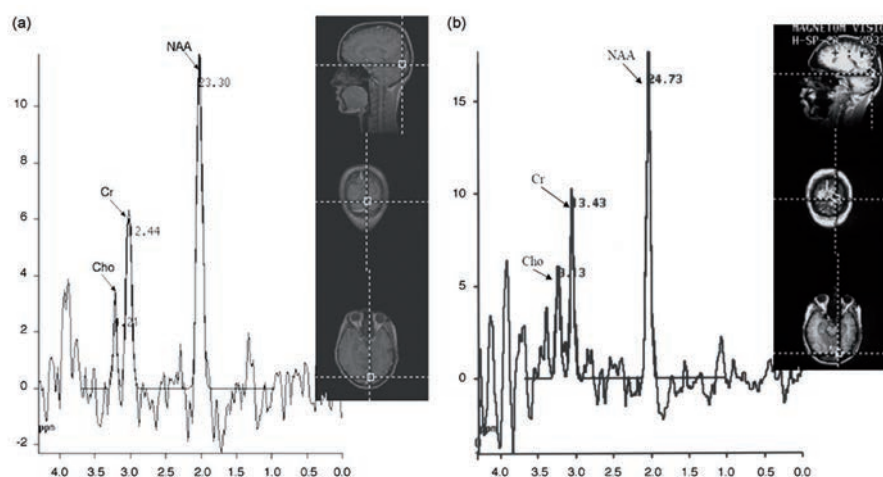
Alterazione delle informazioni sensoriali di base in soggetti alcol-dipendenti

Gli studi di spettroscopia di risonanza magnetica sui soggetti alcolisti hanno evidenziato alterazioni metaboliche in svariate strutture corticali e subcorticali (Fein G et al., 1994; Seitz HK et al., 2007).

Il danno indotto al cervello dall'alcol si manifesta in deficit cognitivi nell'attenzione, nella memoria a breve termine, nel ragionamento non-verbale, nella memoria di lavoro visiva, nella percezione motoria, nell'attenzione visiva condivisa e nel processing d'informazioni spaziali.

La dipendenza da alcol è caratterizzata, oltre che da deficit nelle funzioni cognitive superiori, anche da compromissioni nella capacità di processare le informazioni sensoriali di base. Modi e colleghi hanno effettuato recentemente uno studio in cui hanno indagato le variazioni metaboliche associate ai deficit nella funzione visiva, effettuando uno studio di spettroscopia di risonanza magnetica specificatamente sul lobo occipitale di pazienti alcolisti. Essi hanno rilevato la quantità di metaboliti in un gruppo di 9 soggetti maschi alcol-dipendenti secondo i criteri del DSM IV-TR, di età media  $41,33 \pm 8,44$  anni, ed in un gruppo di 13 soggetti di controllo sani di pari caratteristiche. Gli autori hanno trovato un aumento significativo nel rapporto tra colina/creatina (Cho/Cr) nel lobo occipitale dei soggetti alcolisti e suggeriscono che questo può significare un alterato metabolismo della membrana cellulare, che potrebbe essere associato alla compromissione delle funzioni visive (Modi S et al., 2011).

**Figura 21 - Immagini spettrali (picchi dei metaboliti) con spettroscopia di risonanza magnetica del protone nei controlli (a) e nei soggetti alcol dipendenti (b). Fonte: Modi S et al., 2011.**



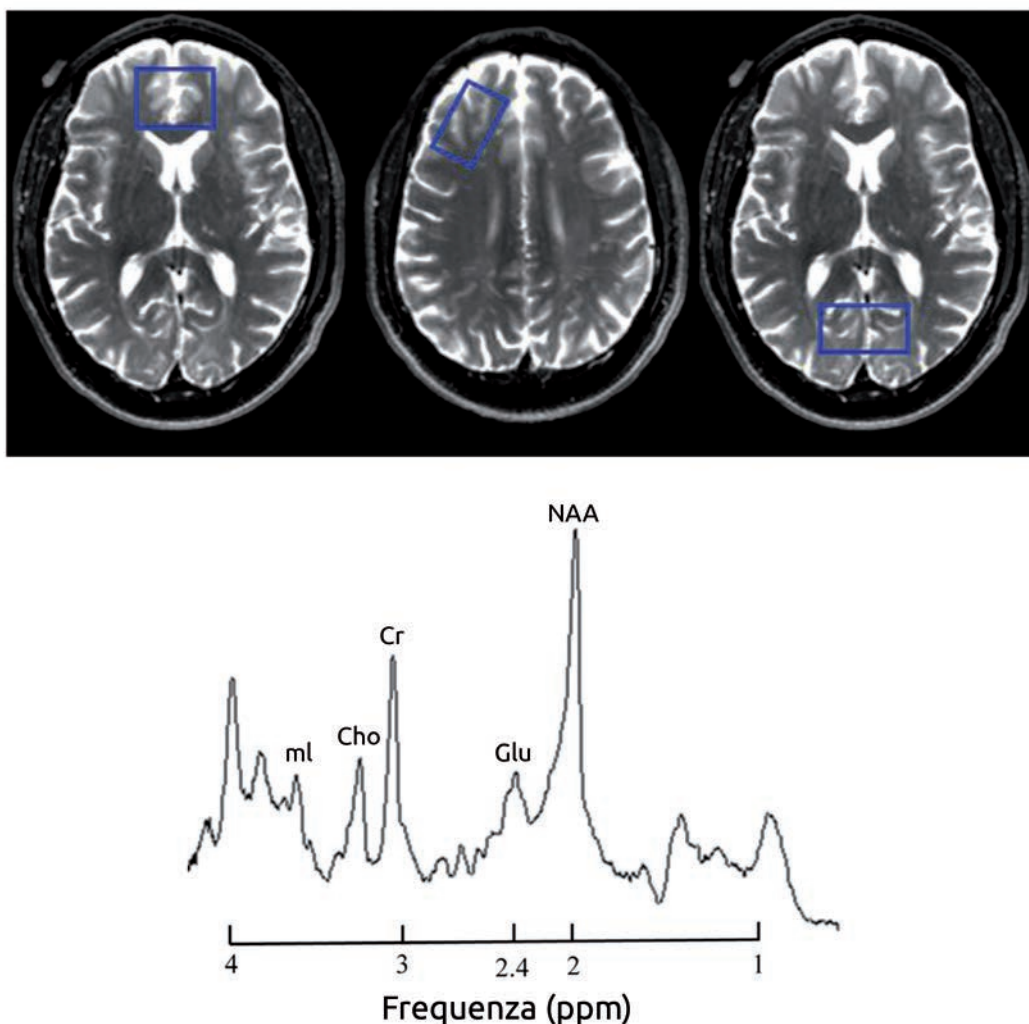
Altri studi meno recenti si erano concentrati nell'indagine di diversi metaboliti, trovando bassi rapporti di N-acetilaspato (NAA) e colina (Cho) rispetto al livello di creatina totale (Cr) nel lobo frontale, nel lobo temporale mediale, nel cervelletto e nel talamo (Bendszus M et al., 2001; Jagannathan NR et al., 1996). Questi rapporti più bassi rispetto ai controlli corrispondono ad una minore concentrazione di NAA e di Cho e suggeriscono una maggiore perdita neuronale e alterazioni nelle membrane lipidiche nei soggetti alcol-dipendenti.

Uno studio recentissimo (Mon A et al., 2012) ha indagato le concentrazioni di glutammato (Glu) e di acido gamma-amminobutirrico (GABA) nella corteccia cingolata anteriore (ACC), nella corteccia prefrontale-dorsolaterale (DLPFC) ed in quella occipito-parietale in 20 soggetti alcolisti (criteri DSM IV-TR) in astinenza da una settimana ed in 16 controlli sani. A tutti i partecipanti è stata effettuata una risonanza magnetica protonica a 4 Tesla per ricavare le concentrazioni assolute dei metaboliti. Gli alcolisti hanno mostrato una minore concentrazione di metaboliti contenenti Glu, NAA, Cho e Cr nella corteccia cingolata anteriore e livelli nella norma di GABA e mio-inositolo (mI), suggerendo, dopo una settimana di astinenza, una compromissione del metabolismo regionale causata dall'alcol.

Le alterazioni nei metaboliti cerebrali correlate all'alcol-dipendenza



Figura 22 - (sopra) Immagini pesate in T2 che mostrano le regioni d'interesse (ROI). Corteccia cingolata anteriore (ACC – sinistra), corteccia prefrontale dorsolaterale destra (al centro) e corteccia occipito-parietale (destra) (sotto) Sequenza spettrale STEAM (TR/TE/TM = 2000/12/20 ms) con i picchi di risonanza per NAA, Glu, Cr, Cho e ml. Fonte: Mon A et al., 2012.



#### 4. Tomografia ad Emissione di Positroni

Le alterazioni nei  
neurotrasmettitori  
indotte dall'alcol

Attraverso le tecniche di Tomografia ad Emissione di Positroni (PET), è stato possibile indagare il funzionamento del sistema neurotrasmettitoriale cerebrale, comprese le proprietà di legame recettoriale ed il funzionamento dei trasportatori dei neuromediatori.

In uno studio di Szabo e colleghi (Szabo Z et al., 2004) si è voluta esaminare l'integrità dei trasportatori per la serotonina (SERT) in 17 soggetti alcolisti (DSM IV), prevalentemente maschi, utilizzando la PET ed un radioligando specifico (C-11 McN5652). Il gruppo di controllo era formato da 15 soggetti non alcolisti con le stesse caratteristiche di età e status sociale. I ricercatori hanno esaminato le proprietà di legame dei trasportatori in 11 aree del cervello, trovando differenze sostanziali tra i 2 gruppi. Nei soggetti alcol-dipendenti la densità di distribuzione del radioligando per unità di volume (DV) è risultata minore in tutte le regioni di interesse, risultando significativamente minore nel mesencefalo, nel talamo, nell'amigdala, nel ponte, nel giro del cingolo, nella corteccia frontale e nel cervelletto.



Figura 23 - Immagini PET (sinistra) e di risonanza magnetica (destra) che mostrano alcuni dei volumi d'interesse (VOI) utilizzati per l'analisi dei dati. L'immagine coronale (in alto) evidenzia i VOI della corteccia frontale dorsolaterale e della corteccia orbitofrontale. La prospettiva sagittale (centro) mostra i VOI del giro cingolato anteriore e posteriore. L'immagine in basso mostra invece i VOI dell'amigdala e del mesencefalo. Fonte: Szabo Z et al., 2004.

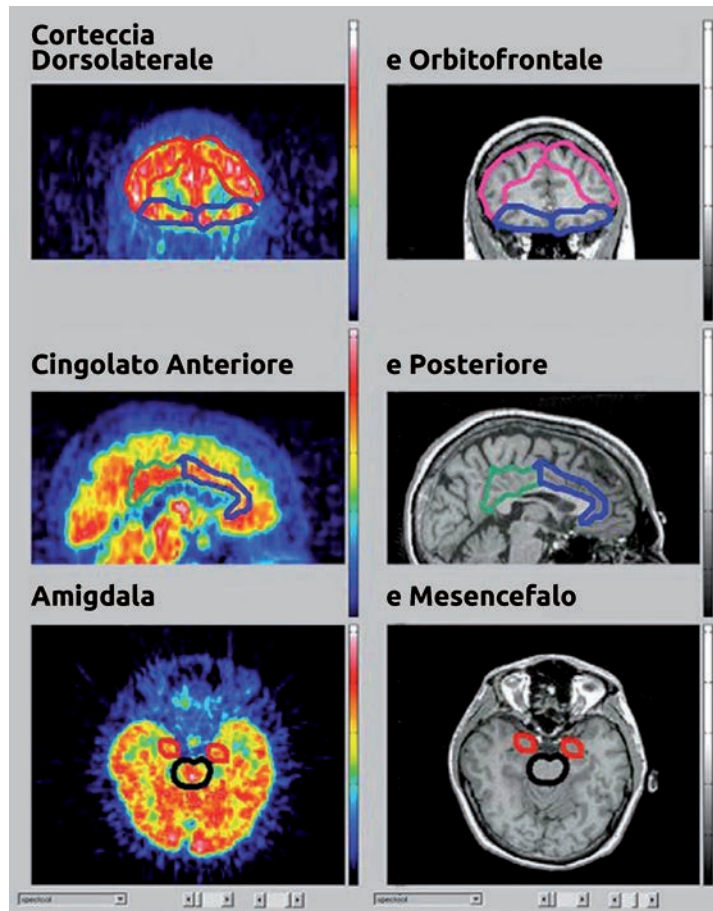
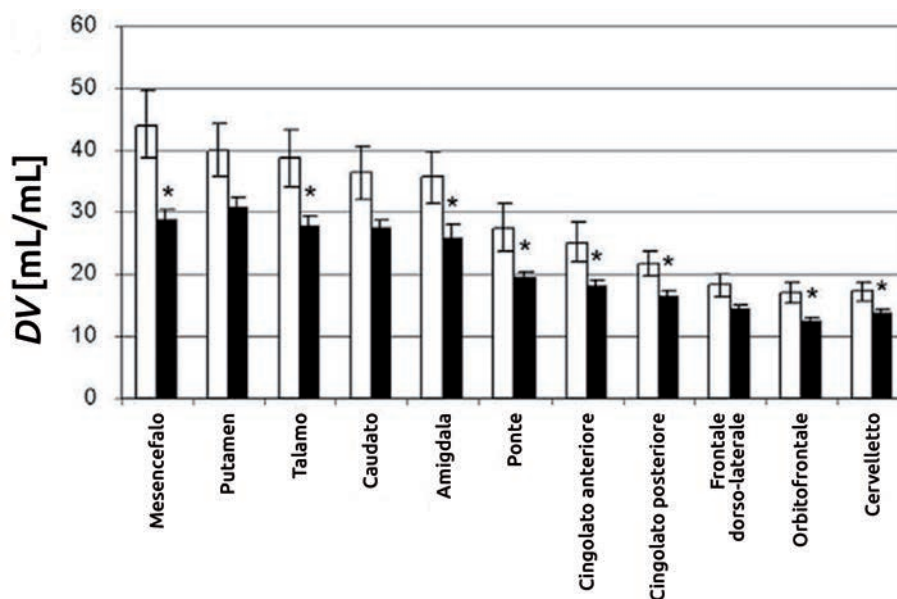


Figura 24 - Parametri di legame dei radioligandi su tutta la distribuzione di volume. L'asterisco (\*) indica differenze significative al test t di Student. Le colonne bianche rappresentano i soggetti di controllo, quelle nere i soggetti alcolisti in trattamento. Fonte: Szabo Z et al., 2004.



### Il sistema oppioide endogeno nell'alcol dipendenza

Anche il sistema oppioide endogeno appare molto importante nell'instaurarsi dell'alcol-dipendenza. In uno studio del 2011 Weerts e colleghi (Weerts EM et al., 2011) hanno investigato la disponibilità di recettori  $\mu$  (MOR) e di recettori  $\delta$  (DOR) oppioidi in 25 soggetti alcol-dipendenti tra i 21 ed i 60 anni di età, che soddisfacevano i criteri del DSM IV per la dipendenza da alcol, ed in 30 soggetti di controllo corrispondenti per età. I pazienti dipendenti da alcol hanno effettuato la tomografia dopo 5 giorni di astinenza. L'analisi dei risultati e della mappatura parametrica statistica hanno indicato che i soggetti alcol-dipendenti presentavano un potenziale di legame recettoriale al radioligando specifico per i recettori  $\mu$  oppioidi ( $[^{11}\text{C}]\text{CFN}$ ) significativamente maggiore rispetto al gruppo di controllo in molte regioni cerebrali, incluso lo striato ventrale. Questo risultato può avere, secondo gli autori, una duplice lettura: da un lato la maggior disponibilità di legame nei soggetti alcol-dipendenti può risultare da una sovra-regolazione dei recettori  $\mu$  oppioidi e da una riduzione degli oppioidi endogeni causati dal consumo cronico di alcol. In alternativa si potrebbe trattare di una caratteristica genetica pre-esistente all'instaurarsi della dipendenza e predisponente alla stessa.

Figura 25 - Proprietà di legame del radioligando  $[^{11}\text{C}]\text{CFN}$  in soggetti alcol dipendenti (AD) rispetto ai soggetti sani (HC). Le barre rappresentano le medie per il giro del gingolo (Cg), l'amigdala (Am), l'insula (In), lo striato ventrale (vS), il putamen (Pu), il nucleo caudato (CN), il globo pallido (GP), il talamo (Th). Gli asterischi (\*) rappresentano le differenze significative tra i due gruppi. Fonte: Weerts EM et al., 2011.

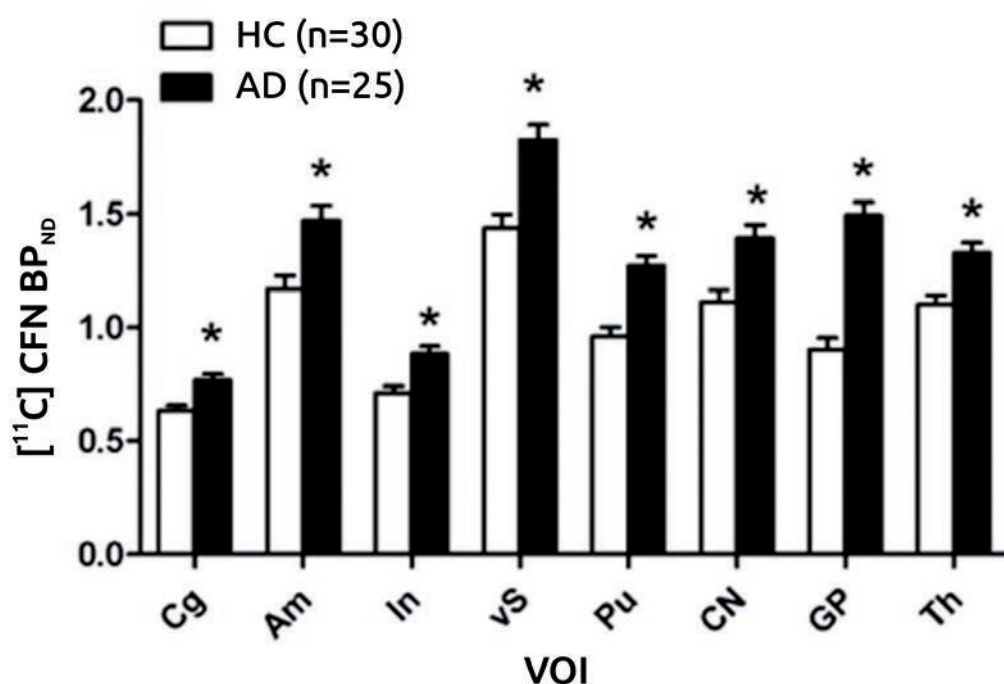
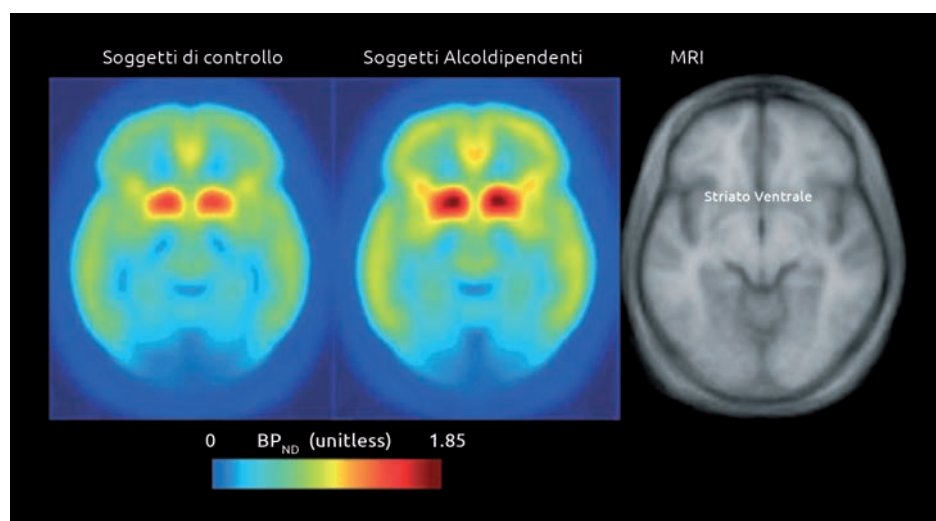


Figura 26 - Rappresentazione dei valori medi delle proprietà di legame del  $[^{11}\text{C}]\text{CFN}$  nei controlli (sx) e nei soggetti alcol-dipendenti (centro). Il potenziale di legame va da zero (blu) a 1,85 (rosso). A destra l'immagine di risonanza magnetica media di tutti i soggetti. Le immagini sono prese a livello dello striato ventrale. Fonte: Weerts EM et al., 2011.

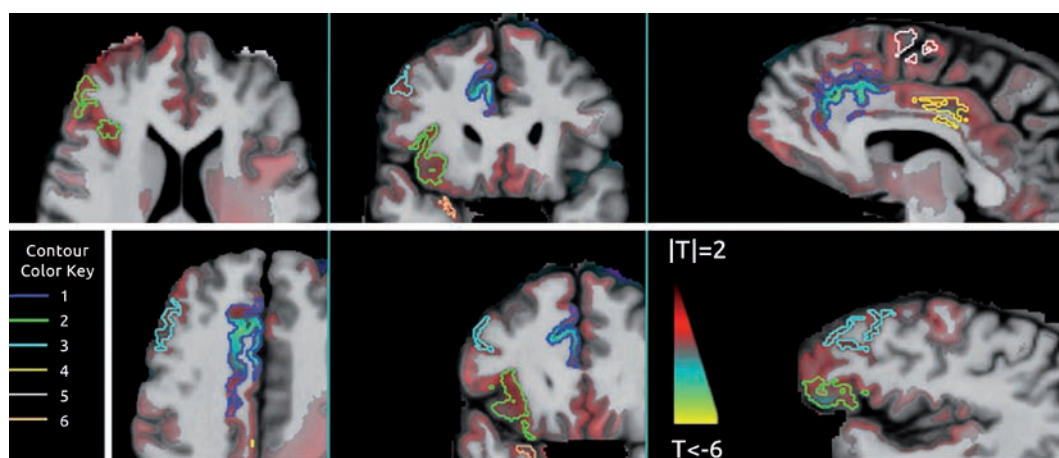


## 5. Studi sul recupero dopo astinenza

Le alterazioni cerebrali nei pazienti alcolisti sembrano parzialmente reversibili se i soggetti mantengono l'astinenza. L'abilità del cervello di recuperare dopo astinenza prolungata sembra interessare i meccanismi generali coinvolti nella maturazione e nella plasticità cerebrale quali la neurogenesi (Crews FT e Nixon K, 2009) ed è stata confermata negli anni da parecchi studi (Carlen PL et al. 1978, Artmann H et al., 1981; Mann K et al., 1989; Muuronen A et al., 1989; Schroth G et al., 1985).

In uno studio longitudinale, Cardenas e colleghi (Cardenas VA et al., 2007) hanno effettuato 2 scansioni con Risonanza Magnetica Strutturale (RMI) su 47 soggetti alcol dipendenti in trattamento per disintossicazione (età media  $45 \pm 8$ ) e su 18 soggetti di controllo di età media  $49 \text{ anni} \pm 14$ . La prima risonanza è stata fatta sui pazienti alcolisti dopo una settimana di trattamento ed il follow-up a distanza di 8 mesi; nei soggetti di controllo le due scansioni sono state effettuate a 1 anno di distanza. Nella baseline i soggetti alcol dipendenti hanno mostrato una marcata atrofia nei lobi frontale e temporale. Dopo 8 mesi di astinenza gli autori hanno assistito ad un significativo recupero di tessuto cerebrale nelle regioni più compromesse e questo li ha portati a concludere che l'astinenza prolungata può indurre un recupero nel circuito fronto-ponto-cerebellare, che risulta particolarmente danneggiato dall'alcol.

Figura 27 - Mappa statistica che mostra la relazione tra i cambiamenti nel tessuto cerebrale in 25 alcol-dipendenti in trattamento ed il volume di sostanza grigia ad una settimana di astinenza. Il colori rosso/giallo indicano i voxel dove i volumi di sostanza grigia hanno recuperato più velocemente. Fonte: Cardenas VA et al., 2007.



In un'interessante ricerca pubblicata nel 2007 Bartsch AJ e colleghi hanno utilizzato sia la risonanza magnetica strutturale che la spettroscopica ( $^1\text{H}$ -MRS) su 15 pazienti (età  $41 \pm 8$ , 10 maschi e 5 femmine) dipendenti da alcol secondo i criteri del DSM IV e dell'ICD 10, sottoponendosi alla prima indagine al loro ingresso nella struttura di recupero e la seconda dopo 6-7 settimane dalla loro dimissione. Il gruppo di controllo era costituito da 10 soggetti sani confrontabili per età e genere. Dopo qualche settimana di astinenza nei soggetti in disintossicazione sono stati rilevati significativi aumenti nei livelli di colina (Cho) a livello cerebellare e di N-acetilaspargato (NAA) nelle regioni frontomesiali (che è risultata correlare con le migliori performance ai test delle funzioni attentive). Inoltre, è stato misurato un aumento del volume cerebrale totale che ammontava in media a quasi il 2% rispetto alla prima misurazione. Nessuna variazione si è invece riscontrata nei soggetti di controllo. Gli autori suggeriscono che questi risultati enfatizzino le distinte capacità cerebrali di parziale recupero sia metabolico che morfologico, dagli insulti dell'alcolismo cronico (Bartsch AJ et al., 2007).

Figura 28 - Significativo aumento morfometrico nei bordi del cervello che indica una prima rigenerazione nel volume cerebrale dopo astinenza prolungata da alcol. Fonte: Bartsch AJ et al., 2007.

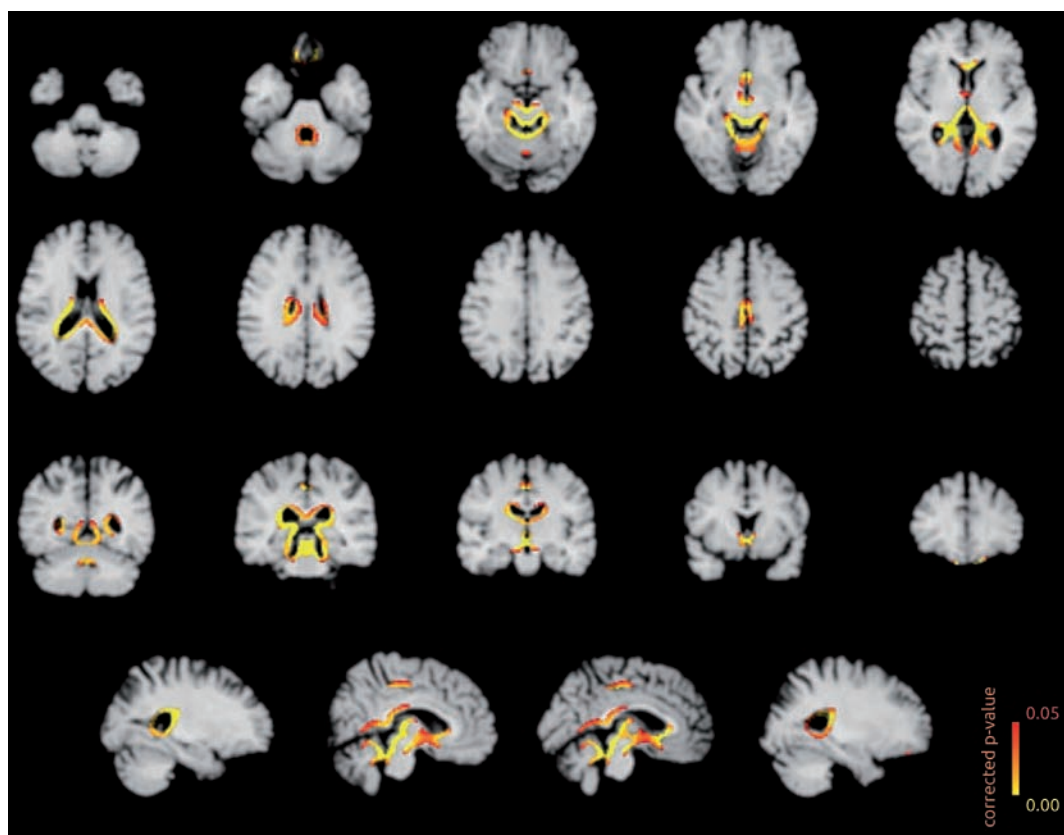
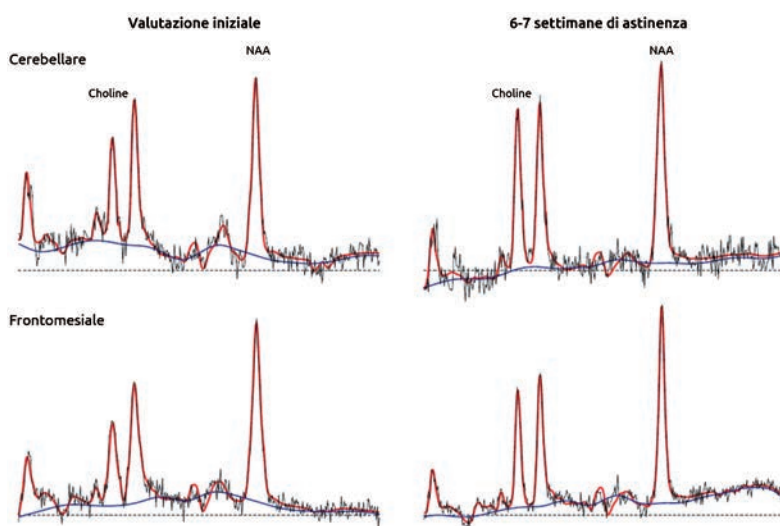


Figura 29 - Spettroscopia cerebellare e frontomesiale (TR = 1500 ms/TE = 135 ms, PRESS) di un paziente del gruppo sperimentale in cui si vede un recupero dei metaboliti dopo 6/7 settimane di astinenza, rispetto all'ingresso in trattamento. Fonte: Bartsch AJ et al., 2007.



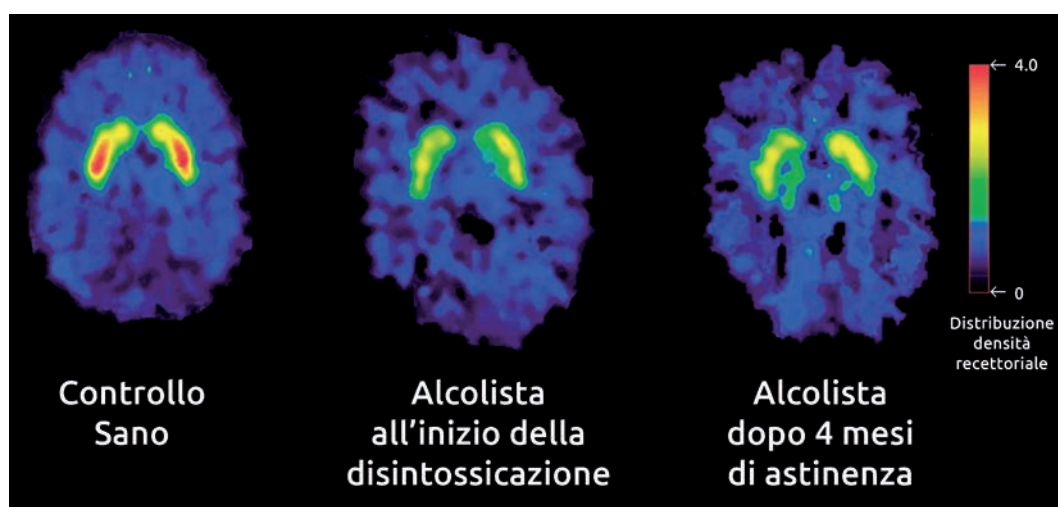
Vi sono però anche importanti studi che ottengono risultati in contrasto con quanto appena affermato. Gli studi su pazienti alcolisti rivelano una forte riduzione nella disponibilità di recettori per la dopamina (DA)D2 in molte regioni cerebrali rispetto ai controlli. Volkow e colleghi in uno studio PET hanno voluto indagare l'effetto dell'astinenza sulla densità cerebrale di questi recettori su 14 pazienti diagnosticati alcol-dipendenti secondo i criteri

Alcuni studi non mostrano un recupero dopo astinenza da alcol nei recettori per la dopamina



del DSM IV testati entro 6 settimane dalla disintossicazione e poi nuovamente dopo 4 mesi di astinenza (Volkow ND et al., 2002). Il gruppo di controllo comprendeva 11 soggetti sani confrontabili per età. Il confronto tra i risultati alle due scansioni non mostra variazioni significative nella densità striatale di recettori per la dopamina (DA)D2, che resta inferiore a quella dei controlli nel caudato e nel putamen anche dopo svariati mesi dalla disintossicazione. Questo potrebbe essere anche letto come un fattore di rischio genetico pre-esistente alla dipendenza alcolica.

**Figura 30 - Immagine PET in cui viene mostrata la densità dei recettori per la dopamina a livello dello striato in un soggetto di controllo (sinistra), in un soggetto alcol-dipendente testato all'inizio del trattamento per la disintossicazione e dopo 4 mesi di astinenza. Nel soggetto in disintossicazione non si assiste ad un recupero significativo di densità recettoriale. Fonte: Volkow ND et al., 2002.**

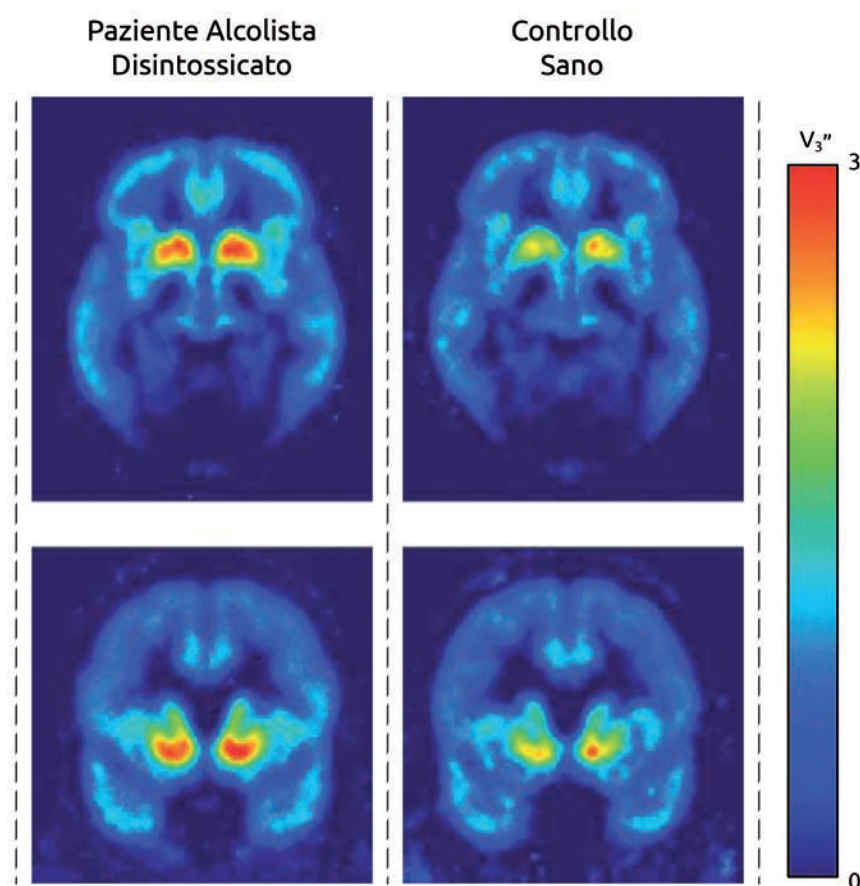


Mancato recupero  
nei recettori  
oppioidi endogeni  
dopo 5 settimane  
di astinenza

Anche Heinz e colleghi (Heinz A et al., 2005) hanno sottoposto a PET ripetuta 12 soggetti alcolodipendenti in trattamento per la disintossicazione, con l'intento d'indagare la disponibilità di recettori endogeni  $\mu$ -oppioidi dopo il mantenimento dell'astinenza, che risultano significativamente più alti nei soggetti alcolisti. I 12 soggetti dipendenti da alcol secondo i criteri del DSM IV, avevano un'età media di 41,5 anni  $\pm 6,9$ , mentre il gruppo di controllo era costituito da 10 soggetti sani di età media 42,5  $\pm 12,7$ . I pazienti hanno effettuato la prima tomografia appena finito il percorso di disintossicazione e di nuovo dopo 5 settimane. La densità di recettori  $\mu$  nei pazienti alla prima indagine è risultata significativamente più alta rispetto ai controlli nello striato ventrale, incluso il nucleo accumbens. Nemmeno dopo le 5 settimane di astinenza è stata trovata una diminuzione, e quindi un recupero, in queste regioni del cervello. Anche in quest'ultimo caso il risultato potrebbe essere letto come un correlato neurale genetico e predisponente alla dipendenza alcolica.



Figura 31 - Immagini PET che mostra la disponibilità centrale dei recettori  $\mu$  oppioidi. (Sinistra) Immagini voxelwise della densità recettoriale media nei pazienti disintossicati da 1 a 3 settimane confrontate con quelle di soggetti sani (Destra). Le differenze più significative di disponibilità recettoriale sono state rilevate a livello dello striato ventrale e dell'adiacente putamen. Fonte: Heinz A et al., 2005.



## Bibliografia

1. Artmann H, Gall MV, Hacker H, Herrlich J (1981) Reversible enlargement of cerebral spinal fluid spaces in chronic alcoholics. *AJNR Am J Neuroradiol* 2:23–27.
2. Bartsch AJ, Homola G, Biller A, Smith SM, Weijers HG, Wiesbeck GA, Jenkinson M, De Stefano N, Solymosi L, Bendszus M (2007) Manifestations of early brain recovery associated with abstinence from alcoholism. *Brain* 130:36–47.
3. Bednarski S. R., Erdman E., Luo X., Zhang S., Hu S., Li C. S. R. (2012). Neural processes of an indirect analogue of risk taking in young non-dependent adult alcohol drinkers: an fMRI study of the stop signal task. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*
4. Bendszus M, Weijers HG, Wiesbeck G, Warmuth-Metz M, Bartsch AJ, Engels S et al (2001). Sequential MR imaging and proton MR spectroscopy in patients who underwent recent detoxification for chronic alcoholism: correlation with clinical and neuropsychological data. *Am J Neuroradiol* 22: 1926–1932.
5. Cardenas VA, Studholme C, Gazdzinski S, Durazzo TC, Meyerhoff DJ (2007) Deformation-based morphometry of brain changes in alcohol dependence and abstinence. *Neuroimage* 34:879–887.
6. Carlen PL, Wortzman G, Holgate RC, Wilkinson DA, Rankin JG (1978) Reversible cerebral atrophy in recently abstinent chronic alcoholics measured by computed tomographic scans. *Science* 200:1076–1078.
7. Chanraud S, Reynaud M, Wessa M, Penttilä J, Kostogianni N, Cachia A, Artiges E, Delain F, Perrin M, Aubin HJ, Cointepas Y, Martelli C, Martinot JL (2009) Diffusion tensor tractography in mesencephalic bundles: relation to mental flexibility in detoxified alcohol-Dependent subjects. *Neuropsychopharmacology* 34:1223–1232.
8. Crews FT, Nixon K. Mechanisms of neurodegeneration and regeneration in alcoholism. *Alcohol Alcohol.* 2009 Mar-Apr;44(2):115-27.
9. Fein G, Meyerhoff D, DiSclafani V, Ezekiel F, Poole N, MacKay S, Dillon W, Constans J, Weiner M (1994) 1H magnetic resonance spectroscopic imaging separates neuronal from glial changes in alcohol related brain atrophy, in *NIAAA Research Monograph 27: Alcohol and Glial Cells* (Lancaster F ed) pp 227–242, NIH Pub. No 94-3742, Bethesda, MD.
10. Grusser SM, Wrase J, Klein S, Hermann D, Smolka MN, Ruf M, Weber-Fahr W, Flor H, Mann K, Braus DF, Heinz A (2004) Cue-induced activation of the striatum and medial prefrontal cortex is associated with subsequent

- relapse in abstinent alcoholics. *Psychopharmacology* (Berl) 175:296–302.
11. Harper, C. G., & Kril, J. J. (1990). Neuropathology of alcoholism. *Alcohol and Alcoholism*, 25, 207–216.
  12. Haubek A, Lee K (1979) Computed tomography in alcoholic cerebellar atrophy. *Neuroradiology* 18:77–79.
  13. Heinz A, Reimold M, Wrase J, Hermann D, Croissant B, Mundle G, Dohmen BM, Braus DF, Schumann G, Machulla HJ, Bares R, Mann K (2005). Correlation of stable elevations in striatal mu-opioid receptor availability in detoxified alcoholic patients with alcohol craving: a positron emission tomography study using carbon 11-labeled carfentanil. *Arch Gen Psychiatry* 62:57–64.
  14. Ishii T (1983) A comparison of cerebral atrophy in CT scan findings among alcoholic groups. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 309:1–30.
  15. Jagannathan NR, Desai NG, Raghunathan P (1996). Brain metabolite changes in alcoholism: an in vivo proton magnetic resonance spectroscopy (MRS) study. *Magn Reson Imaging* 14: 553–557.
  16. Jernigan TL, Zatz LM, Ahumada AJ Jr, Pfefferbaum A, Tinklenberg JR, Moses JA Jr (1982) CT measures of cerebrospinal fluid volume in alcoholics and normal volunteers. *Psychiatry Res* 7:9–17.
  17. Kato A, Tsuji M, Nakamura M, Nakajima T (1991) Computerized tomographic study on the brain of patients with alcohol dependence. *Jpn J Psychiatry Neurol* 45:27–35.
  18. Maes M, Vandoolaeghe E, Degroote J, Altamura C, Roels C, Hermans P (2000) Linear CT-scan measurements in alcohol-dependent patients with and without delirium tremens. *Alcohol* 20:117–123.
  19. Mann K, Opitz H, Petersen D, Schroth G, Heimann H (1989) Intracranial CSF volumetry in alcoholics: studies with MRI and CT. *Psychiatry Res* 29:277–279.
  20. Maurice P. et al. (2012) Disrupted Regulation of Social Exclusion in Alcohol-Dependence: An fMRI Study. *Neuropsychopharmacology* (2012), 1–9.
  21. Modi S. et al. (2011). Brain metabolite changes in alcoholism: Localized proton magnetic resonance spectroscopy study of the occipital lobe. *European Journal of Radiology* 79 (2011) 96–100.
  22. Mon A. et al., Glutamate, GABA, and other cortical metabolite concentrations during early abstinence from alcohol and their associations with neurocognitive changes. *Drug Alcohol Depend.* 2012.
  23. Mutzell S (1992) Computed tomography of the brain, hepatotoxic drugs and high alcohol consumption in male alcoholic patients and a random sample from the general male population. *Ups J Med Sci* 97:183–194.
  24. Muuronen A, Bergman H, Hindmarsh T, Telakivi T (1989) Influence of improved drinking habits on brain atrophy and cognitive performance in alcoholic patients: a 5-year follow-up study. *Alcohol Clin Exp Res* 13:137–141.
  25. Oishi M, Mochizuki Y, Shikata E (1999) Corpus callosum atrophy and cerebral blood flow in chronic alcoholics. *J Neurol Sci* 162:51–55.
  26. Pfefferbaum A, Sullivan EV, Hedehus M, Adalsteinsson E, Lim KO, Moseley M (2000) In vivo detection and functional correlates of white matter microstructural disruption in chronic alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 24:1214–1221.
  27. Pfefferbaum A, Sullivan EV, Mathalon DH, Lim KO (1997) Frontal lobe volume loss observed with magnetic resonance imaging in older chronic alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 21:521–529.
  28. regional gray matter volume negatively correlate with lifetime alcohol intake in non-alcohol-dependent Japanese men: a volumetric analysis and a voxel-based morphometry. *Alcohol Clin Exp Res* 30:1045–1050.
  29. Rohlfing T, Sullivan EV, Pfefferbaum A (2006) Deformation-based brain morphometry to track the course of alcoholism: differences between intrasubject and inter-subject analysis. *Psychiatry Res* 146:157–170.
  30. Rosenbloom M, Sullivan EV, Pfefferbaum A (2003) Using magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging to assess brain damage in alcoholics. *Alcohol Res Health* 27:146–152.
  31. Schroth G, Remmes U, Schupmann A (1985) Computed tomographic followup of brain volume fluctuations before and after alcohol withdrawal treatment. *Rofo* 142:363–369
  32. Seitz HK, Becker P (2007) Alcohol metabolism and risk of cancer. *Alcohol Res & Health* (Natl Inst on Alcoholism and Alcohol Abuse, NIAAA) 30: 38–41, 44–47.
  33. Sullivan EV, Marsh L (2003) Hippocampal volume deficits in alcoholic Korsakoff's syndrome. *Neurology* 61:1716–1719.
  34. Szabo, Z., Owonikoko, T., Peyrot, M. et al. (2004) Positron emission tomography imaging of the serotonin transporter in subjects with a history of alcoholism. *Biological Psychiatry* 55 (7), 766–771.
  35. Taki Y, Kinomura S, Sato K, Goto R, Inoue K, Okada K, Ono S, Kawashima R, Fukuda H. Both global gray matter volume and regional gray matter volume negatively correlate with lifetime alcohol intake in non-alcohol-dependent Japanese men: a volumetric analysis and a voxel-based morphometry. *Alcohol Clin Exp Res*. 2006 Jun;30(6):1045–50.
  36. Volkow ND, Wang GJ, Maynard L, Fowler JS, Jayne B, Telang F, Logan J, Ding YS, Gatley SJ, Hitzemann R, Wong C, Pappas N (2002) Effects of alcohol detoxification on dopamine D2 receptors in alcoholics: a preliminary study. *Psychiatry Res* 116:163–172.
  37. Vollstädt-Klein S, Löber S, Kirsch M, Bach P, Richter A, Bühler M, von der Goltz C, Herman D, Mann K, Kiefer F (2011) Effects of cue-exposure treatment on neural cue reactivity in alcohol dependence: a randomized trial. *Biol Psychiatry* Epub ahead of print.
  38. Yeh PH, Simpson K, Durazzo TC, Gazdzinski S, Meyerhoff DJ (2009) Tract-Based Spatial Statistics (TBSS) of diffusion tensor imaging data in alcohol dependence: abnormalities of the motivational neurocircuitry. *Psychiatry Res* 173:22–30.
  39. Weerts, E.M., Wand, G.S., Kuwabara, H., Munro, C.A., Dannals, R.F., Hilton, J., Frost, J.J., McCaul, M.E.; Positron emission tomography imaging of mu- and delta-opioid receptor binding in alcohol-dependent and healthy control subjects. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* (2011).
  40. Zuccoli et al., Neuroimaging findings in alcohol-related encephalopathies. (2010).

## 2.6.4 Legame tra i recettori oppioidi mu e delta in soggetti sani e alcolisti: studio di PET

Elise M. Weerts<sup>1</sup>, Gary S. Wand<sup>1,2</sup>, Hiroto Kuwabara<sup>3</sup>, Cynthia A. Munro<sup>1</sup>, Robert F. Dannals<sup>3</sup>, John Hilton<sup>3</sup>, J. James Frost<sup>3,4</sup>, Mary E. McCaul<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland

<sup>2</sup> Department of Medicine, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland

<sup>3</sup> Department of Radiology, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland

<sup>4</sup> Department of Neuroscience, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland

### Abstract

Il sistema oppioide endogeno svolge un ruolo di primo piano nella dipendenza da alcol. Lo studio si propone di analizzare mediante metodologia PET (tomografia a emissione di positroni) la disponibilità regionale del recettore Mu-oppioide (MOR) e Delta-oppioide (DOR) in soggetti alcolodipendenti di entrambi i sessi con recente astinenza, e in soggetti sani di controllo di entrambi i sessi e di età comparabile.

Metodi: I soggetti alcolodipendenti hanno completato un protocollo residenziale comprendente l'interruzione dell'assunzione di alcol sotto controllo medico e l'acquisizione di immagini PET al quinto giorno di astinenza. I soggetti di controllo sono stati sottoposti a PET a seguito di una notte di ricovero ospedaliero. Le scansioni, realizzate utilizzando un ligando selettivo MOR, [<sup>11</sup>C]carfentanil (CFN), sono state effettuate su 25 soggetti alcolodipendenti e 30 soggetti di controllo sani. La maggior parte degli stessi soggetti (20 soggetti alcolodipendenti e 18 controlli) sono stati sottoposti anche a scansioni PET con il ligando selettivo DOR [<sup>11</sup>C]metilnatriindolo (MeNTL).

I volumi di interesse e le mappe statistiche parametriche indicano che i soggetti alcolodipendenti presentano potenziali di legame (BPND) per [<sup>11</sup>C] carfentanil significativamente superiori rispetto ai soggetti di controllo, in diverse regioni cerebrali, tra cui lo striato ventrale, una volta effettuata la correzione per età, genere e status di fumatore. Una correlazione inversa è stata osservata tra [<sup>11</sup>C]CFN BPND e il craving per alcol in diverse aree cerebrali nei soggetti alcolodipendenti. I due gruppi di soggetti non differivano in merito al potenziale di legame per [<sup>11</sup>C]MeNTL, ma il livello di [<sup>11</sup>C]MeNTL BPND nel caudato è risultato correlato positivamente con il consumo recente di alcol nei soggetti alcolisti.

Le nostre osservazioni in merito al livello più elevato di [<sup>11</sup>C]CFN BPND nei soggetti alcolodipendenti possono rappresentare il risultato di una sovra-regolazione dei recettori MOR e/o di una riduzione dei peptidi oppioidi endogeni, conseguente a un consumo alcolico di lunga durata, alla dipendenza e/o all'astinenza. In alternativa, il livello più elevato di [<sup>11</sup>C]CFN BPND nei soggetti alcolodipendenti può costituire una differenza eziologica che predispone questi soggetti alla dipendenza da alcol, o potrebbe essersi sviluppata come conseguenza di una maggiore esposizione a fattori di rischio come infanzia difficile, stress e altri fattori ambientali noti per avere un effetto incrementale su MOR. Sebbene la direzione di queste differenze di gruppo nel livello di [<sup>11</sup>C]MeNTL BPND fosse simile in numerose aree cerebrali, tali differenze non assumevano significatività statistica, forse a causa delle dimensioni limitate del campione analizzato. Soltanto ulteriori studi potranno fare maggiore chiarezza su tali correlazioni. Il riscontro di un maggior livello di [<sup>11</sup>C]CFN BPND nei soggetti alcolodipendenti è coerente con l'ipotesi di un ruolo fondamentale del recettore MOR nella dipendenza da alcol.

## 1. Introduzione

E' opinione comune che il sistema limbico mesocorticale svolga un ruolo di mediatore nei confronti dell'effetto gratificante prodotto dall'uso di numerose sostanze, tra cui l'alcol (Herz 1998). All'interno di quest'area fondamentale del cervello, gli effetti di rinforzo prodotti dall'alcol vengono in parte modulati da un aumento della neurotrasmissione dei peptidi oppioidi e della dopamina (per un esame approfondito della questione, si rimanda a Oswald 2004). I peptidi oppioidi endogeni ( $\beta$ -endorfine, encefaline e dinorfine) si legano ai diversi sottotipi di recettori oppioidi (OR). Più specificamente, le  $\beta$ -endorfine si legano con pari affinità ai sottotipi del recettore oppioide Mu (MOR) e Delta (DOR). Anche le encefaline si legano ai sottotipi MOR e DOR, ma presentano un'affinità venti volte maggiore per il sottotipo DOR. I peptidi oppioidi delle  $\beta$ -endorfine e delle encefaline aumentano il livello di neurotrasmissione della dopamina all'interno del nucleo accumbens, tramite l'interazione con i MOR e i DOR (Koob 1998).

Esistono numerosi dati che confermano l'associazione tra il sistema oppioide endogeno, il consumo di alcol e il meccanismo di gratificazione nell'uomo e negli animali di laboratorio (Gianoulakis 2004). Negli animali di laboratorio, gli antagonisti dei recettori oppioidi diminuiscono il consumo di alcol (Franck 1998, Froehlich 1995; Froehlich 1991; June 1999; Krishnan-Sarin 1995a, 1995b, 1998) e bloccano l'attivazione del sistema dopaminergico indotta dall'alcol (Benjamin 1993; Job 2007). I topi geneticamente modificati per il MOR mostrano una minore tendenza ad autosomministrarsi alcol (Becker 2002; Halle 2001; Roberts 2000). In due studi di laboratorio sull'uomo collegati tra loro (McCaul 2001, 2002), il naltrexone ha attenuato in maniera significativa l'aumento alcol-indotto del livello di gradimento, del ritmo cardiaco, della pressione diastolica e delle risposte neuroendocrine. I medesimi risultati sono stati ottenuti da Peterson e colleghi (2006). Nel loro insieme, gli studi citati sottolineano l'importanza del sistema oppioide nel meccanismo di gratificazione legato al consumo di alcol, confermando così la validità dell'impiego degli OR-antagonisti per il trattamento dell'alcolismo. In realtà, le meta-analisi degli studi clinici randomizzati hanno dimostrato che, tra tali antagonisti, il naltrexone produce in linea generale effetti di entità modesta o moderata nel ridurre il consumo di alcol e le relative ricadute nei soggetti alcolodipendenti (Anton 2003; Srisurapanont 2005).

Alla luce delle numerose evidenze che confermano il ruolo funzionale del sistema delle endorfine e delle encefaline nell'alcolismo, è molto probabile che nei soggetti alcol-dipendenti il sistema oppioide sia alterato. La PET (tomografia a emissione di positroni) rappresenta l'unica metodologia diagnostica che consente di valutare le caratteristiche dei recettori cerebrali in soggetti umani viventi. I tre studi PET sin qui condotti hanno però fornito risultati contrastanti sui recettori oppioidi, in soggetti alcolisti. Nel primo di questi studi (Bencherif 2004) i recettori MOR risultavano meno numerosi nella corteccia prefrontale dorso-laterale destra, nella corteccia frontale anteriore destra e nella corteccia parietale destra, in 8 soggetti alcolodipendenti da poco disintossicati, confrontati a 8 soggetti sani. Il secondo studio (Heinz 2005) registrava, al contrario, un aumento dei MOR a livello dello striato ventrale in 25 soggetti alcolodipendenti in astinenza (1/3 settimane), comparati con 10 controlli sani. Un terzo studio PET (Williams 2009), ha invece esaminato i recettori oppioidi (OR) in 11 soggetti alcolodipendenti e in 13 soggetti sani mediante [ $^{11}\text{C}$ ]diprenorfina, che si lega in maniera non selettiva a tutti e tre i sottotipi di recettori oppioidi. Le scansioni tomografiche sono state effettuate nel corso di un trattamento di disintossicazione ambulatoriale con clorodiazepossido, dopo 2 o 4 settimane di astinenza autodichiarata. In questo studio, i volumi di distribuzione globale e regionale della [ $^{11}\text{C}$ ]diprenorfina risultavano

più elevati nei pazienti alcolodipendenti rispetto ai controlli, sebbene non si trattasse di un effetto statisticamente significativo.

Lo studio qui presentato ha consentito di valutare mediante PET le caratteristiche di legame dei MOR e dei DOR, impiegando un ligando dei recettori oppioidi Mu [ $^{11}\text{C}$ ]carfentanil (CFN) e un ligando dei recettori oppioidi Delta [ $^{11}\text{C}$ ]metilnaltrexone, in soggetti alcolodipendenti con recente astinenza e soggetti sani di controllo, di età confrontabile. I soggetti alcolodipendenti sono stati ricoverati in un'unità di ricerca clinica (CRU), dove hanno portato a termine un programma di astensione dall'alcol sotto monitoraggio medico, per essere poi sottoposti a PET una volta superati i sintomi astinenziali. I soggetti di controllo sono stati sottoposti a PET dopo una notte di ricovero in CRU. Sono stati effettuati due tipi di analisi, quella dei volumi di interesse (VOI) e quella della mappatura statistica parametrica (SPM).

## 2. Materiali e metodi

Soggetti con grave dipendenza da alcol e soggetti di controllo sani, di età compresa tra i 21 e i 60 anni, reclutati tramite inserzione e previo consenso informato su modulo autorizzato dall'Institutional Review Board. I soggetti sono stati intervistati da un assistente ricercatore di livello master, mediante una batteria di strumenti psico-diagnostici standardizzati. Per essere inclusi nello studio, i soggetti alcolodipendenti dovevano rispondere ai criteri del DSM-IV per la dipendenza da alcol, in base alla valutazione SSAGA (Semi-Structured Assessment of the Genetics of Alcoholism, Bucholz 1994) e essere classificati come consumatori attivi di alcol nei livelli di rischio definiti dal NNIAAA, al completamento di un questionario TLFB (Time Limit Follow Back) riferito ai 90 giorni precedenti (Sobell 1992). I soggetti sani utilizzati per il controllo non presentavano livelli di consumo di alcol eccedenti quelli previsti dalle linee guida NIAAA (<8 drink/settimana per le donne e <15 drink/settimana per gli uomini) e non avevano mai soddisfatto i criteri del DSM-IV per l'abuso o la dipendenza da alcol. I soggetti di controllo erano di età comparabile con quella dei soggetti alcolodipendenti. I soggetti di entrambi i gruppi venivano esclusi dallo studio qualora in possesso di anche uno solo dei seguenti requisiti: (i) presenza (attuale o cronica) di un altro disturbo di Asse I, in base ai criteri diagnostici DSM-IV, come ad esempio uso o dipendenza da altre sostanze (ad esclusione della nicotina); (ii) positività all'esame tossicologico delle urine, al momento dello screening o del ricovero in ospedale; (iii) presenza di altri problemi di salute, o (iv) se la madre aveva fatto consumo di alcol durante la gravidanza. I soggetti alcolodipendenti venivano esclusi dallo studio qualora riferissero di convulsioni legate al consumo di alcol o di avere avuto bisogno di assumere farmaci nel corso di precedenti periodi di disintossicazione. In seguito all'applicazione dei criteri di inclusione e di esclusione, il protocollo è stato portato a termine in totale da 25 soggetti alcolodipendenti e da 30 soggetti sani di controllo. Nella Tabella 1 sono riportate le caratteristiche demografiche di entrambi i gruppi.

Per valutare il livello di consumo alcolico e i problemi associati è stata somministrata la scala ADS (Alcohol Dependence Scale, Skinner 1982). Lo status di dipendenza dalla nicotina dei soggetti fumatori è stato valutato mediante test FNDT (Fagerstrom Nicotine Dependence Test). La Tabella 1 riporta i punteggi relativi a entrambe le valutazioni. Il numero di familiari di primo e secondo grado con sintomi di alcolismo o uso/dipendenza da altre sostanze è stato valutato mediante somministrazione del modulo Family History Assessment (Rice 1995). L'anamnesi familiare veniva classificata come positiva (FHP) se erano presenti almeno tre criteri diagnostici di alcolismo in uno dei genitori (padre o madre) oppure in 3 o

Soggetti analizzati

più dei familiari di primo o secondo grado. Se la madre aveva fatto consumo di alcol durante la gravidanza, veniva interrotta la partecipazione allo studio. L'anamnesi familiare veniva classificata negativa (FHN) se il soggetto riferiva: (i) assenza di congiunti di primo grado che soddisfacessero i criteri diagnostici per l'alcolismo e (ii) nessuno o un solo congiunto di secondo grado risultato positivo ai criteri diagnostici per l'alcolismo. L'anamnesi familiare veniva classificata come indeterminata (FHU) qualora mancassero i criteri per la positività o per la negatività ma fosse presente più di un congiunto con problemi di droga ma senza alcolismo, o qualora non fosse stato possibile ottenere informazioni sufficienti per valutare lo status familiare di alcolismo.

#### Procedure successive al ricovero in CRU

I soggetti di controllo sono stati valutati mediante PET dopo avere trascorso una notte in ospedale o dopo avere seguito un protocollo di ricovero. I soggetti alcolodipendenti hanno portato a termine lo studio in base a un protocollo che prevedeva il ricovero ospedaliero e l'astensione dal consumo di alcol sotto controllo medico, prima di eseguire le tomografie al quinto giorno di astinenza. I soggetti alcolisti rimanevano in CRU per il successivo trattamento con naltrexone (50 mg/dì) e relativa indagine PET, per verificare il blocco dei recettori  $\mu$  e  $\delta$  da parte del naltrexone. La metodologia e i risultati ottenuti per quanto concerne la determinazione del potenziale di legame (BPND) del [ $^{11}\text{C}$ ]CFN durante il trattamento con naltrexone su 21 dei 25 soggetti alcolodipendenti sono stati descritti in un altro articolo (Weerts 2008). L'analisi dei valori basali nei soggetti di controllo e il confronto con i corrispondenti dati dei soggetti alcolodipendenti è invece riportata esclusivamente nel presente articolo.

Dopo il ricovero in CRU, e ad intervalli regolari durante tutta la permanenza in ospedale, i soggetti di entrambi i gruppi hanno completato una seconda batteria di test per la valutazione psicologica, comprendenti la scala VAS (Visual Analog Scale) del craving per l'alcol, la Penn Craving Scale (Flannery 1999), l'OCDS (Obsessive Compulsive Drinking Scale) (Anton 1996), il BAI (Beck Anxiety Inventory) (Beck 1988) e il BSI (Brief Symptom Inventory) (Derogatis e Melisaratos, 1983).

Per il monitoraggio della gravità dei sintomi astinenziali, lo staff infermieristico della CRU ha compilato con i soggetti alcolodipendenti il CIWA-Ar (Clinical Institute Withdrawal Assessment-Alcohol Revised) (Sullivan 1989) tre volte al giorno per i primi cinque giorni. Il punteggio assegnato a ciascun item teneva conto del periodo trascorso dall'ultima misurazione. Nessuno dei soggetti ha necessitato di farmaci contro i sintomi dell'astinenza, in base al punteggio del CIWA, ai segni vitali, e all'esame obiettivo.

Il fumo era proibito durante la permanenza in ospedale e per tutta la durata delle procedure previste dallo studio. Ai fumatori risultati dipendenti dalla nicotina in base ad un valore FNDT pari o superiore a 3 veniva fornito un cerotto transdermico (21 mg nicotina) al momento del ricovero, al mattino di ciascun giorno di permanenza in CRU e 3 ore prima dell'esecuzione della PET. La scelta di questo tipo di gestione standardizzata dei soggetti fumatori era finalizzata a ridurre al minimo l'impatto dell'astinenza da nicotina nel giorno della PET. A tutti i soggetti è stata servita una prima colazione con contenuto calorico calibrato 3 ore prima della prima scansione.



Tabella 1 - Dati demografici dei soggetti alcol dipendenti (AD) e dei soggetti di controllo sani (HC).

	AD (N=25)	HC (N=30)
Età Media	43,8 (7,4)	43,5 (9,4)
Genere (n)		
Maschi	18	20
Femmine	7	10
Razza (n)		
Caucasici	15	16
Afroamericani	10	14
Anamnesi familiare di alcolismo (n)		
FHP	14	9
FHN	10	16
FHU	1	5
Status di fumatore (n)		
Non fumatori	5	21
Fumatori	20	9
Dipendenza da nicotina (DSM-IV)	13	5
Assenza di dipendenza da nicotina (DSM-IV)	7	4
Livello di tabagismo nei fumatori: valore medio (DS)		
Numero massimo di sigarette/giorno	17,7 (10,3)*	15,1 (5,5)
Anni di tabagismo	18,3 (11,3)	19,3 (9,0)
Indice di Fagerstrom	4,4 (2,5)	4,4 (2,3)
Età prima sigaretta	15,4 (5,6)	16,6 (9,2)
Consumo di alcol: valore medio (DS)		
Età alcol dipendenza	28,7 (7,1)	N/A
Anni di alcol dipendenza	15,3 (9,2)	N/A
ADS score	19,6 (6,7)*	0,3 (0,7)
Numero di drink consumati al giorno	12,4 (6,5)*	1,6 (1,6)
Numero di drink per giorno/settimana	5,5 (1,4)*	0,7 (1,3)
Picco Penn Alcohol Craving - VAS giorni1-5	20,1 (6,9)	N/A
Picco Craving da alcol	23,4 (7,9)	N/A
Picco CIWA giorni 1-5	5,0 (2,6)	N/A
Picco OCDS giorni 1-5	28,1 (10,1)	N/A
Penn Alcohol Craving Pre-PET	7,8 (7,3)*	0,2 (0,6)
Craving per alcol secondo VAS Pre-PET	9,2 (10,6)*	0,1 (0,4)
CIWA Pre-PET0	6 (1,5)	0,2 (0,7)
OCDS Pre-PET	15,6 (13,1)*	1,1 (2,0)
Valutazione psicologica al ricovero: valore medio (DS)		
BDI-II	12,8 (9,6)*	1,0 (1,4)
BAI	9,6 (8,1)*	1,1 (2,1)
BSI	0,5 (0,6)*	0,1 (0,1)

I dati indicati rappresentano i valori medi per il gruppo (DS) o il numero (n) di soggetti.

\* Confronto tra gruppi AD e HC - t-test significativo ( $p \leq 0.0001$ ).

AD, soggetti alcol dipendenti; HC, soggetti di controllo sani; FHP anamnesi familiare positiva; FHN, anamnesi familiare negativa; FHU, anamnesi familiare indeterminata; DSM, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders; ADS, Alcohol Dependence Scale; VAS, Visual Analog Scale; CIWA, Clinical Institute Withdrawal Assessment; OCDS, Obsessive Compulsive Drinking Scale; BDI-II, Beck Depression Inventory; BAI, Beck Anxiety Inventory; BSI, Brief Symptom Inventory.

Prima dell'esame PET e con cadenza randomizzata durante il ricovero, sono stati effettuati esami tossicologici delle urine e test etilometrici su tutti i soggetti, per verificarne l'astinenza da alcol e droghe.

#### Metodica PET

I soggetti sono stati sottoposti nella stessa giornata a 2 esami PET ad orari prestabiliti: le scansioni per il [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL, un antagonista specifico dei DOR (Lever 1992; Madar 1996) sono state eseguite alle 08.30, quelle per il [ $^{11}\text{C}$ ]CFN, un agonista specifico dei MOR (Frost 1985; Titeler 1989), alle 10.45. In totale, 25 soggetti alcolodipendenti e 24 soggetti sani hanno effettuato simultaneamente gli esami per il [ $^{11}\text{C}$ ]CFN, tra luglio 2001 e luglio 2008. Di essi, 20 soggetti alcolisti e 18 soggetti sani hanno effettuato anche l'esame per il [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL. Più precisamente, alcuni esami per il [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL sono falliti a causa di problemi relativi alle linee arteriose e al prelievo ematico ( $N = 4$  soggetti sani e  $N = 3$  soggetti alcolodipendenti) e in seguito alla mancata sintesi del radioligando ( $N = 2$  soggetti alcolisti e  $N = 2$  soggetti sani). Altri sei controlli sani, fumatori ma senza problemi di consumo di alcol, sono stati reclutati allo scopo specifico di verificare i possibili effetti del fumo sul potenziale di legame (BPND) del [ $^{11}\text{C}$ ]CFN e sono stati sottoposti a PET tra aprile 2009 e febbraio 2010. Anche questi soggetti non hanno portato a termine l'esame per il [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL. Il numero ridotto di soggetti sottoposti al [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL non ha modificato la distribuzione demografica presentata in Tabella 1. I soggetti alcolodipendenti avevano circa 44 anni, erano prevalentemente di sesso maschile ( $n=15$ ) e di razza caucasica ( $n=12$ ), e il 55% di essi ( $n=11$ ) aveva una anamnesi familiare positiva per l'alcolismo. I controlli (età media 44 anni) erano prevalentemente di sesso maschile ( $n=11$ ) e di razza caucasica ( $n=10$ ), e il 28% ( $n=5$ ) con un'anamnesi familiare di alcolismo.

Le immagini PET erano state acquisite in modalità 3D su tomografo PET Advance della GE (GE Medical System, Milwaukee, WI). A ciascun soggetto è stata fornita una maschera facciale termoplastica individuale per garantire la corretta posizione e l'immobilità durante l'esame. Sono state effettuate scansioni trasmissive di 10 minuti mediante barre rotanti di GE-68, prima di iniettare il radiotracciante. Dopo somministrazione di un bolo di radiotracciante per via endovenosa, è stata acquisita una serie di 25 immagini con periodo temporale variabile (6x30, 5x60, 5x120, 9x480 secondi) nel corso di 90 minuti per ciascun esame. La Tabella 2 indica la dose iniettata, l'attività specifica, e la massa per i soggetti alcolodipendenti e per i controlli. Durante le scansioni per il [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL, sono stati prelevati piccoli quantitativi di sangue, inizialmente ogni 5 secondi e successivamente a intervalli crescenti (es. 1, 2, 5, 10 e 15 minuti), per la conta della radioattività. Alcuni campioni ematici sono stati poi sottoposti a esame cromatografico HPLC (High Performance Liquid Chromatography) per la ricerca dei metaboliti (Hilton 2000). Le immagini PET sono state ricostruite mediante algoritmo di retroproiezione filtrata, utilizzando il software fornito dal produttore per la correzione dell'attenuazione, della radiazione diffusa e dei tempi morti (Kinahan 1989). La radioattività è stata corretta in base al decadimento fisico rispetto al tempo di iniezione. Ogni frame era composto da una matrice  $128 \times 128 \times 35$  con dimensioni del voxel  $2 \times 2 \times 4,25 \text{ mm}$ , in risoluzione spaziale FWHM 5,5 e 6,1 mm in senso radiale e tangenziale, rispettivamente, a 10 cm di raggio dal centro del campo visivo (Lewellen 1996). Circa una settimana prima del ricovero in CRU, i soggetti sono stati sottoposti a risonanza magnetica per determinare la localizzazione anatomica e l'allineamento dei piani delle immagini PET individuali (Meltzer 1990).

Tabella 2 - Valori medi e deviazioni standard (SD) per sostanza, Attività Specifica (Injected Specific Activity), Peso corporeo (BW), e Massa di (a) [ $^{11}\text{C}$ ]CFN e (b) [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL in gruppi di soggetti alcol dipendenti (AD) e soggetti sani di controllo (HC).

(a) [ $^{11}\text{C}$ ]CFN	AD (N = 25)		HC (N = 30)	
	Media	DS	Media	DS
lg CFN	0.82	0.70	0,63	0.47
Inj. Activity (mCi)	19,30	2,23	19,99	3,09
mCi/mole	18.444,1	14.248,0	24.955,5	24.467,2
BW (kg)	74,7	13,4	79,3	13,8
Dose (lg/kg)	0,011	0,009	0,008	0,006
(b) [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL	AD (N = 20)		HC (N = 18)	
	Media	DS	Media	DS
lg MeNTL	2,48	1,29	2,40	1,76
Inj. Activity (mCi)	18,87	3,07	17,52	2,19
mCi/mole	4.719,6	3.054,8	5.050,4	3.981,3
BW (kg)	73,9	13,4	76,3	13,1
Dose (lg/kg)	0,033	0,030	0,035	0,019

La comparazione al t-Test tra gruppi AD e HC non ha rilevato differenze significative (per tutti  $p > 0,15$ ).

In questo studio i volumi di interesse (VOI) riguardavano lo striato ventrale, la corteccia cingolata, il nucleo caudato, il putamen, l'insula, il globo pallido, il talamo e l'amigdala. I VOI erano stati definiti manualmente con sequenze tridimensionali MRI spoiled gradient-recalled echo per il putamen, il nucleo caudato e il talamo, mediante strumento di definizione sviluppato in loco. Lo striato ventrale è stato definito con le modalità già descritte (Baumann 1999; Martinez 2003; Oswald 2005). Per i restanti VOI, è stato effettuato un trasferimento spaziale di un template VOI standard (Hammers 2003; Mazziotta 1995; disponibile su <http://www.loni.ucla.edu>), sulle immagini MRI dei singoli soggetti, mediante parametri di normalizzazione spaziale da MRI-to-MRI, ottenuti con il modulo di normalizzazione spaziale (SPM) (Ashburner 2004), modificato per adattarlo ai profili delle strutture ricavati dalla MRI. I VOI sono stati poi trasferiti sullo spazio PET in base ai parametri di coregistrazione MRI-PET ottenuti con il modulo di coregistrazione SPM2 e applicati ai singoli frame PET per ottenere le curve tempo-radioattività dei VOI.

Analisi dei Volumi di Interesse (VOI)

La variabile di interesse che costituiva l'outcome primario per i recettori MOR e DOR era il potenziale di legame BPND (Innis 2007) di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN e di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL, rispettivamente. Per [ $^{11}\text{C}$ ]CFN è stato utilizzato il metodo Reference Tissue Graphical Analysis (RTGA, Logan 1996), con il lobo occipitale come regione di riferimento e ponendo a 0,104/minuto la costante del tasso di clearance cervello-sangue della regione di riferimento ( $k_2R$ ) (Endres 2003; Forst 1990). Le stime dei valori BPND mediante RTGA erano fortemente correlati con quelli ottenuti dal modello cinetico basato su funzioni di input arterioso (Endres 2003). L'analisi per il [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL differiva da quella utilizzata per [ $^{11}\text{C}$ ]CFN. In primo luogo, abbiamo analizzato i dati servendoci di un modello bi-compartimentale tissutale (TTCM). È stato così stabilito che, malgrado il buon adattamento dei dati ottenuti con il TTCM, erano presenti valori anomali occasionali (<10% delle regioni). A questo punto abbiamo esaminato i

Modellazione farmacocinetica

dati mediante PRGA (Plasma Reference Graphical Analysis, Logan 1990) per ottenere i volumi distributivi (VT); il BPND[<sup>11</sup>C]MeNTL è stato ottenuto come coefficiente di riferimento VT meno 1. I valori regionali del BPND[<sup>11</sup>C]MeNTL della PRGA si correlano bene con quelli del TCM (TCM = 0,94 PRGA + 0,15; R<sup>2</sup> = 0,601) senza produrre anomalie apparenti. Per questo motivo si è deciso di utilizzare la metodica PRGA per il BPND[<sup>11</sup>C]MeNTL. Le curve di Logan per il [<sup>11</sup>C]CFN si avvicinavano alla linearità, a partire dai 10 minuti successivi all'iniezione, come descritto in precedenza (Zubieta 2001). Le curve di Logan plasmatiche per il [<sup>11</sup>C]MeNTL si avvicinavano alla linearità in tutte le regioni esaminate, nel giro di 20 minuti, in tutti i soggetti t\* è stato posto a 20 minuti per entrambi i ligandi.

#### Analisi Statistica dei Volumi di Interesse

Tutte le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando la versione SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC). Le possibili differenze nei legami regionali di [<sup>11</sup>C]MeNTL e di [<sup>11</sup>C]CFN tra i due gruppi di soggetti (alcolodipendenti e controlli) sono state individuate mediante analisi indipendenti di covarianza (ANCOVA) per ciascuno degli 8 volumi cerebrali. Nel modello sono state incluse come covariate l'età e il genere, in quanto è risultato che entrambi influenzavano BPND[<sup>11</sup>C]MeNTL (Zubieta 1999). Lo status di fumatore è stato aggiunto come covariata solo in un'analisi secondaria, in base ai risultati descritti nel paragrafo successivo. Analisi indipendenti di covarianza sono state eseguite per ciascun volume cerebrale su un modello comprendente i VOI come variabile indipendente, a causa della varianza non omogenea tra i VOI. Per la correzione dei confronti multipli è stata adottata la tecnica adattativa step-down di Bonferroni (Hochberg e Benjamin, 1990) che si basa sul metodo Bonferroni-Holm (Holm, 1979). Vengono riportati i valori p non corretti e quelli corretti (indicati con Q). L'associazione tra il legame regionale di [<sup>11</sup>C]CFN e quello di [<sup>11</sup>C]MeNTL e l'anamnesi familiare di alcolismo, i problemi psicologici (punteggi BDI, BAI, BSI), il craving (punteggi OCDS, VAS e Penn Craving Scale), il consumo recente di alcol (numero di drink per ciascun episodio, numero di episodi per settimana, numero totale di drink) e la gravità dei sintomi astinenziali (punteggio CIWA) è stata analizzata caso per caso come covarianze indipendenti. Per la correzione dei confronti multipli per tutti e 8 i VOI è stato applicato il metodo Bonferroni (Hochberg e Benjamin, 1990) e sono stati riportati i valori di p corretti (indicati come Q).

#### Analisi della Mappatura Statistica Parametrica

Le SPM sono state effettuate al fine di confermare i risultati relativi ai VOI, e determinare se gli incrementi regionali di (BPND) [<sup>11</sup>C]CFN nei soggetti alcolodipendenti erano più generalizzati ed estesi ad altre regioni non prese in esame. I volumi funzionali (mappe voxel per voxel) del (BPND) sono stati normalizzati in riferimento ad un cervello standard mediante normalizzazione spaziale MRI-to-MRI e parametri di coregistrazione PET-to-MRI utilizzando moduli SPM5, applicando poi un filtro di smoothing gaussiano di 12mm FWHM. Per ciascun voxel sono stati assunti modelli statistici parametrici, utilizzando il modello lineare generale. Ulteriori analisi sono state effettuate per il controllo dello status di fumatore come variabile di disturbo. Per ridurre l'eventualità di falsi positivi, il volume di ricerca è stato limitato ai voxel della sostanza grigia, per eliminare i cluster di sostanza bianca. Test statistici voxel-wise sono stati effettuati per valutare le differenze di potenziale di legame BPND tra i soggetti alcolodipendenti e i controlli. Per le differenze di gruppo (t>4,6) è stato adottato un livello di significatività di p<0,05, corretto per errore family-wise.

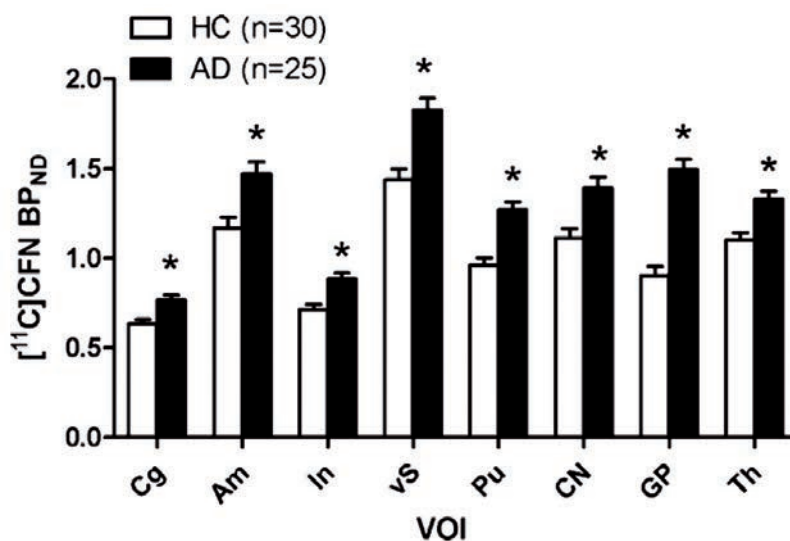
### 3. Risultati

Al controllo per età e per sesso, i soggetti alcolodipendenti presentavano un valore più elevato di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  rispetto ai controlli sani, per tutti i VOI. L'effetto risultava altamente significativo in tutte le regioni esaminate: amigdala ( $p$  e  $Q=0,002$ ), insula, striato ventrale, caudato, globo pallido, putamen e talamo (tutti  $p$  e  $Q=0,001$ ). Viceversa, il valore di  $[^{11}\text{C}]\text{MeNTL BP}_{\text{ND}}$  non differiva tra i due gruppi di soggetti, in nessuna delle regioni esaminate. Il valore medio ( $\pm$  SD) VT del cervelletto non differiva tra i soggetti alcolodipendenti ( $7,75 \pm 1,57$  ml/ml) e i controlli ( $8,0 \pm 1,53$  ml/ml;  $t=0,47$ ;  $df=36$ ;  $p=0,638$ ).

Anche l'analisi di covarianza (ANCOVA) confermava l'effetto complessivo su  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$ . Rispetto agli uomini, le donne presentavano un valore mediamente inferiore di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  nella corteccia cingolata ( $0,74 \pm 0,02$  contro  $0,65 \pm 0,3$ ,  $p$  e  $Q=0,01$ ) e nello striato ventrale ( $1,76 \pm 0,06$  contro  $1,47 \pm 0,08$ ,  $p$  e  $Q=0,005$ ). Le donne evidenziavano anche una tendenza a registrare valori più elevati per  $[^{11}\text{C}]\text{MeNTL BP}_{\text{ND}}$  nell'amigdala, rispetto agli uomini ( $0,91 \pm 0,08$  contro  $0,64 \pm 0,06$ ,  $p=0,009$ ,  $Q=0,07$ ).

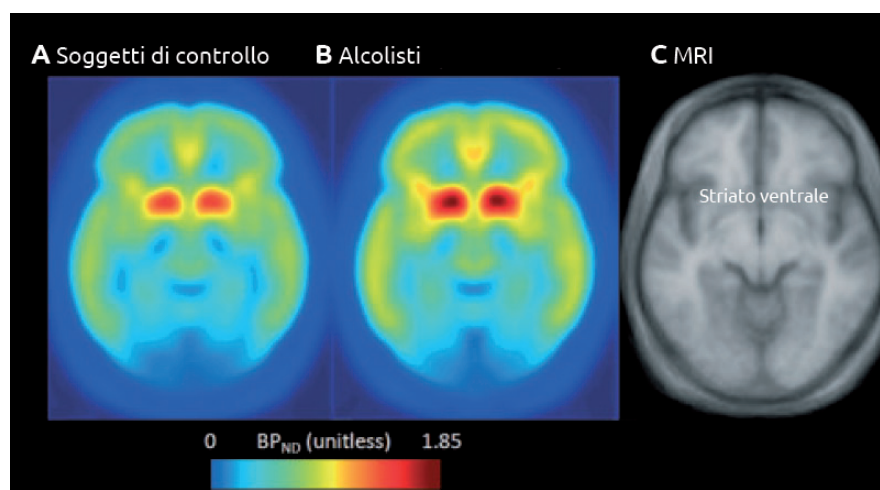
Analisi di  
Covarianza dei  
Volumi di Interesse  
di soggetti  
alcolodipendenti e  
controlli

Figura 1 - Livello di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  in soggetti alcolodipendenti (AD) vs soggetti sani di controllo (HC). Le barre rappresentano il valore medio  $\pm$  SEM di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  corretto per età, sesso e status di fumatore per il cingolo, (Cg), l'amigdala (Am), l'insula (In), lo striato ventrale (vS), il putamen (Pu), il nucleo caudato (CN), il globus pallidus (GP), e il talamo (Th). L'asterisco al di sopra dei Volumi di Interesse (VOI) indica la differenza nel livello di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  tra soggetti AD e HC risultata significativa in base ai test post-hoc di Bonferroni-Holm (per tutti i VOI indicati,  $p \leq 0,004$ ).



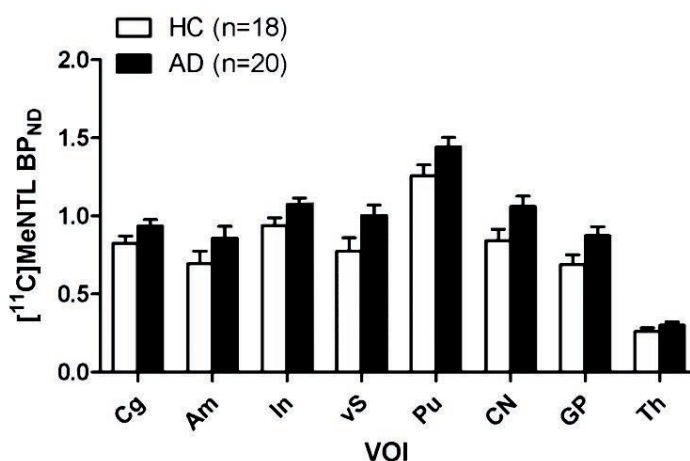
Aggiungendo il fumo come covariata non si modificavano gli incrementi di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  nei soggetti alcolodipendenti rispetto ai controlli. I primi presentavano, infatti, valori significativamente più elevati di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  nell'amigdala ( $p$  e  $Q = 0,002$ ), nella corteccia cingolata, nell'insula, nello striato ventrale, nel caudato, nel globo pallido, nel putamen e nel talamo (in tutti  $p$  e  $Q < 0,001$ ). La Figura 1 indica i valori medi di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  corretti per età, genere e status di fumatore. Come si evince dalla figura, la differenza media tra i gruppi risulta più accentuata nel globo pallido e nello striato ventrale. Il valore più elevato di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  nei soggetti alcolodipendenti rispetto ai controlli è evidente nelle immagini relative allo striato ventrale della Figura 2.

Figura 2 - Immagini dei valori medi di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BPND nei soggetti di controllo (a) e nei soggetti alcol-dipendenti (b). La legenda cromatica rappresenta i livelli di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BPND da 0 (celeste) a 1,85 (rosso). Viene riportata anche l'immagine media alla risonanza magnetica di tutti i soggetti (c). Le immagini sono state acquisite a livello dello striato ventrale.



Come evidenziato nella successiva Figura 3, per quanto la direzione degli effetti registrati in diverse regioni cerebrali fosse simile a quella osservata per [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub>, il [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> non risultava significativamente diverso nei soggetti alcolisti rispetto ai controlli, una volta corretto per età, genere e status di fumatore. Una volta corretto per età, genere e gruppo di appartenenza (alcol-dipendenti o controlli), il [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> non presentava differenze tra i fumatori (n=29) e i non fumatori (n=26), se non per il fatto che i fumatori presentavano un valore di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> inferiore nel globo pallido (Tabella 3). Dopo la correzione per età e genere, [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> non mostrava differenze tra i fumatori (n=18) e i non fumatori (n=20) in nessuno dei VOI (dati non riportati). Le Tabelle 4a e 4b indicano, rispettivamente, il valore medio di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> e di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> negli 8 VOI, nei soggetti alcol-dipendenti e nei controlli, dopo la correzione per età, genere e status di fumatore.

Figura 3 - [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> nei soggetti alcol-dipendenti (AD) versus i controlli sani (HC). Le barre rappresentano il valore medio  $\pm$  SEM di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> corretto per età, sesso e status di fumatore per il cingolo (Cg), l'amigdala (Am), l'insula (In), lo striato ventrale (vS), il putamen (Pu), il nucleo caudato (CN), il globus pallidus (GP), e il talamo (Th). Non sono state evidenziate differenze significative nei livelli di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> tra soggetti AD e soggetti HC in nessuno dei volumi di interesse (VOI) raffigurati.





La mappatura statistica parametrica di  $[^{11}\text{C}]\text{CNF BP}_{\text{ND}}$  nei soggetti alcolisti e nei soggetti di controllo ha confermato che i primi presentavano livelli superiori. Lo status di fumatore, aggiunto come variabile di disturbo nell'analisi di contrasto dei due gruppi, non modificava il risultato. Più precisamente, le differenze di gruppo venivano identificate sotto forma di due ampi volumi simmetrici di 218 ml (a sinistra) e 222 ml (a destra), con il picco in corrispondenza del talamo (Figura 4). Le coordinate x, y, z erano 20, -12, 4 (Picco T=7,5) e -22, 12, 6 (Picco T=7,49) rispettivamente per il volume sinistro e per il volume destro (Figura 4). Non si osservavano differenze per  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  tra i soggetti alcolodipendenti e i controlli nelle aree parasagittali. Viceversa, coerentemente con l'analisi dei VOI, la mappatura parametrica di  $\text{BP}_{\text{ND}}$  non rivelava alcuna differenza significativa nel livello di  $[^{11}\text{C}]\text{MeNTL}$  tra i due gruppi di soggetti.

Analisi SPM:  
confronto  
tra soggetti  
alcolodipendenti e  
controlli sani

**Tabella 3 - Effetti dello status di fumatore sul valore medio di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$ .** I dati indicati sono valori medi di gruppo e SEM con p-values per i soggetti fumatori e non fumatori, corretti per età, sesso e gruppo di appartenenza (alcolodipendenti vs controlli) per ciascun volume di interesse (VOI). I valori di Q indicano i valori di p corretti secondo metodica step-down di Bonferroni-Holm (Hochberg and Benjamini, 1990) per la correzioni dei confronti multipli. I volumi di interesse significativi con il valore di p corretto sono stati evidenziati in blu.

VOI	Fumatori		Non fumatori		p	Q(Holm)
	Media	SEM	Media	SEM		
Cingolo	0,670	0,025	0,732	0,025	0,099	0,099
Amigdala	1,261	0,063	1,382	0,064	0,204	0,204
Insula	0,781	0,030	0,817	0,031	0,432	0,432
Striato ventrale	1,590	0,065	1,673	0,066	0,396	0,396
Putamen	1,066	0,042	1,169	0,043	0,107	0,107
Caudato	1,206	0,055	1,302	0,056	0,243	0,243
Globus pallidus	<b>1,016</b>	<b>0,056</b>	<b>1,380</b>	<b>0,058</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
Talamo	1,189	0,043	1,243	0,044	0,400	0,400

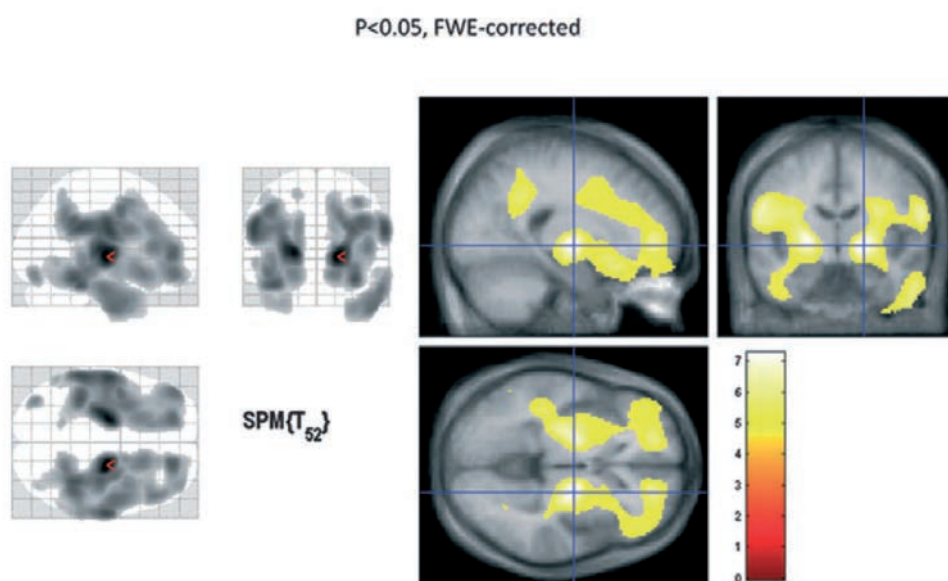
Come indicato in Tabella 1, i soggetti alcolodipendenti hanno ottenuto punteggi significativamente superiori relativamente al livello di dipendenza dall'alcol (ADS) e al recente consumo di alcol, registrato mediante TLFB (consumo di bevande alcoliche giornaliero, settimanale, complessivo negli ultimi 90 giorni; per tutti  $p < 0,0001$ , t-test). Si è osservata un'associazione positiva significativa tra il consumo alcolico recente e  $[^{11}\text{C}]\text{MeNTL BP}_{\text{ND}}$  nel caudato (consumo medio di bevande alcoliche giornaliero, coefficiente 20,4,  $p=0,001$ ,  $Q=0,003$ ), settimanale (coefficiente 15,5,  $p=0,002$ ,  $Q=0,01$ ), e consumo totale (coefficiente 15,8,  $p=0,001$ ,  $Q=0,01$ ). Al contrario, non sono state rilevate associazioni tra il consumo alcolico registrato dal TLFB nei 90 giorni precedenti il livello di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  in nessuno dei VOI.  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  e  $[^{11}\text{C}]\text{MeNTL BP}_{\text{ND}}$  non presentavano neanche alcuna associazione significativa con la scala ADSI, l'età di insorgenza della dipendenza, o gli anni di consumo pesante di alcol nei soggetti alcolodipendenti.

Nell'ambito del protocollo di ricovero, era stata osservata una modesta sintomatologia astinenziale, evidenziata dai picchi delle misure CIWA-AR durante tutto il periodo, dal giorno 1 fino al giorno 5 di degenza (picco medio =  $5 \pm 2,6$  SD). I sintomi astinenziali regredivano in quinta giornata (punteggio medio CIWA al giorno 5 =  $0,44 \pm 1,1$  SD), giorno in cui venivano eseguite le tomografie PET. Il CIWA registrato nel giorno della PET non eviden-

L'impatto del grado  
di dipendenza  
da alcol e  
dell'anamnesi  
alcolica: analisi  
secondarie

ziava differenze tra gli alcolisti e il gruppo di controllo (Tabella 1). Alla verifica dello status di fumatore, dell'età e del genere, nessuno dei due punteggi CIWA (valori medi per tutto il periodo di degenza e valori registrati prima della PET) risultava predittivo ai fini dei valori di  $[^1C]CFN BP_{ND}$  o di  $[^1C]MeNTL BP_{ND}$ .

Figura 4 - Immagini cerebrali di  $[^1C]CFN BP_{ND}$  mostrate sotto forma di cluster biemisferici di SPM (Mappatura Statistica Parametrica) in vista laterale, frontale e superiore. L'intersezione delle linee azzurre individua il picco talamico. Lo status di fumatore è stato aggiunto come variabile di disturbo nell'analisi di contrasto dei soggetti alcolisti e controlli. La legenda cromatica raffigura i valori di picco di t, nell'intervallo tra 0 (rosso) e 7,5 (giallo/bianco). Le differenze significative tra i due gruppi di soggetti sono evidenziate in giallo (t-values  $>4,6$ ,  $p < 0,05$  family-wise error [FWE]).



Tenuto conto che l'anamnesi familiare costituisce un noto fattore di rischio per l'alcolismo, ne è stato valutato il valore predittivo, correggendo in fase di analisi per età, sesso, status di fumatore e gruppo di appartenenza. I soggetti con anamnesi familiare positiva per l'alcolismo (FHP,  $n=23$ ) non presentavano livelli differenti di  $[^1C]CFN BP_{ND}$  ( $p > 0,09$ ,  $Q > 0,8$ ) rispetto ai soggetti con anamnesi familiare negativa (FHN) ( $n=26$ ) in nessuno dei VOI. Stratificando per gruppi, i soggetti FHP alcolodipendenti ( $n=14$ ) non differivano dai soggetti FHN ( $n=10$ ) relativamente a  $[^1C]CFN BP_{ND}$  in nessuno dei VOI (tutti  $p > 0,1$   $Q > 0,2$ ). Analogamente, i controlli con anamnesi familiare positiva per alcolismo ( $n=9$ ) non differivano dai soggetti con anamnesi negativa ( $n=16$ ) relativamente al livello di  $[^1C]CFN BP_{ND}$  in nessuno dei VOI ( $p > 0,2$ ,  $Q = 1,0$ ). Confrontati con i soggetti FHN ( $n=19$ ), i soggetti FHP ( $n=16$ ) evidenziavano una tendenza a registrare un valore medio più basso di  $[^1C]MeNTL BP_{ND}$  nell'insula (FHN:  $0,95 \pm 0,04$  contro FHP:  $1,07 \pm 0,04$ ,  $p = 0,04$ ,  $Q = 0,073$ ). Alla luce dei valori medi e delle deviazioni standard osservate per i due gruppi, è stata effettuata un'analisi delle dimensioni del campione per individuare un effetto con forza 0,90%. È stata così stimata una dimensione del campione pari a 70 (ovvero 35 per ciascun gruppo) per  $p = 0,05$  nell'insula. Dopo la stratificazione per gruppi, i soggetti alcolodipendenti e con anamnesi familiare positiva ( $n=11$ ) non differivano dai soggetti con anamnesi negativa ( $n=8$ ) in nessuno dei VOI ( $p > 0,1$ ,  $Q = 1,0$ ), e i soggetti sani con anamnesi familiare positiva ( $n=5$ ) non differivano da quelli con anamnesi familiare negativa ( $n=11$ ) in nessuno dei VOI ( $p > 0,08$ ,  $Q > 0,3$ ).

Come indicato in Tabella 1, i soggetti alcolodipendenti riferivano con maggiore frequenza sintomi di ansia (BAI), depressione (BDI), e problemi di natura psicologica (BSI) rispetto ai controlli sani (tutti  $p < 0,0001$ , t-test). L'ANCOVA per questi dati evidenziava l'assenza di una relazione diretta tra ansia, depressione e misure globali dei problemi psicologici ottenute con i metodi BAI, BDI-II e BSI, e i livelli di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> o [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub>.

I soggetti alcolodipendenti registravano un livello superiore di craving alla Penn Craving Scale, VAS, e OCDS, rispetto ai controlli (Tabella 1, tutti  $p < 0,0001$ , t-test). È emersa una correlazione negativa tra i punteggi massimi di craving registrati alla VAS nel periodo successivo al ricovero e il livello di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub>, nell'amigdala ( $F=5,0$  p e  $Q=0,04$ ), nello striato ventrale ( $F=10,6$  p e  $Q=0,004$ ) e nel talamo ( $F=4,5$  p e  $Q=0,055$ ). Non si evidenziava invece alcuna relazione tra i punteggi ottenuti con gli altri strumenti di misurazione del craving (OCDS o Penn Craving Scale) per il livello di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> o di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> nei soggetti alcolodipendenti.

## 4. Discussione

Dallo studio presentato sono emersi 5 risultati principali. In primo luogo, i soggetti (uomini e donne) alcolodipendenti che si erano astenuti per cinque giorni dal consumo di bevande alcoliche presentavano livelli di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> più elevati rispetto ai controlli di entrambi i sessi, in corrispondenza di alcune regioni cerebrali e più precisamente dello striato ventrale, dell'amigdala, del caudato, del pallidus, dell'insula, del putamen e del talamo. L'osservazione è stata confermata anche dopo la correzione per età, genere e status di fumatore. L'analisi statistica parametrica (SPM) ha suffragato tali risultati, evidenziando che l'effetto dell'alcol risulta ancora più globale di quanto suggeriscano le analisi dei VOI. In secondo luogo, malgrado la direzione degli effetti in diverse aree cerebrali fosse simile a quella osservata per [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub>, i volumi di interesse e le mappe SPM non hanno evidenziato differenze significative nei livelli di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> tra i soggetti alcolodipendenti e i controlli sani. In terzo luogo, il livello di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> nel caudato si correlava positivamente con il consumo recente di alcol nei soggetti con dipendenza. In quarto luogo, è stata individuata una correlazione negativa significativa tra il livello di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> e il picco massimo di craving alla VAS, in diversi VOI. Infine, le altre misure di dipendenza da alcol e di gravità della sindrome astinenziale, dell'umore, e degli altri sintomi psicologici, sono risultate non associate ai livelli di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> o di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub>. Ciascuno di questi risultati viene analizzato in dettaglio nei paragrafi seguenti.

I risultati da noi ottenuti in merito alla comparazione tra livelli di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> in 25 soggetti alcolodipendenti e 30 soggetti di controllo, sono in linea con i livelli più elevati di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> nello striato ventrale riscontrati in 25 soggetti alcolodipendenti di sesso maschile rispetto a 10 controlli sani nello studio di Heinz e colleghi (2005). Oltre a ciò, i soggetti alcolodipendenti presentavano livelli superiori di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> in corrispondenza di amigdala, caudato, pallidus, insula, putamen e talamo. La conclusione cui è giunto il nostro studio in merito alla possibile maggiore pervasività dell'aumento di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> è in linea con la registrazione di una tendenza all'incremento dei volumi di distribuzione di [ $^{11}\text{C}$ ]diprenorfina a livello regionale e globale, nei soggetti alcolodipendenti ( $n=11$ ) rispetto ai controlli ( $n=13$ ), sebbene non si tratti di un effetto statisticamente significativo (Williams 2009). Gli autori fanno notare che lo studio potrebbe essere sottodimensionato sotto il profilo del potere statistico e che si è registrato un notevole livello di variabilità, forse dovuto al legame tra

[<sup>11</sup>C]diprenorfina e tutte e 3 le sotto unità ( $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$ ) del recettore oppioide.

Tabella 4 - (a) Valore medio di [<sup>11</sup>C]CFN BP<sub>ND</sub> e (b) Valore medio di [<sup>11</sup>C]MeNTL BP<sub>ND</sub> nei soggetti alcol-dipendenti (AD) e nei controlli sani (HC). I dati indicati rappresentano valori medi di gruppo e valori SEM, F p corretti per età, sesso e status di fumatore per ciascun volume di interesse (VOI). I valori Q(Holm) indicano i valori di p corretti con il metodo step-down Bonferroni-Holm (Hochberge Benjamini, 1990) per la correzione dei confronti multipli. I VOI significativi con valore di p corretto p < 0,05 sono evidenziati in grassetto.

(a) [ <sup>11</sup> C]CFN BP <sub>ND</sub>		AD (N = 25)		HC (N = 30)		F	p	Q(Holm)
VOI		Media	SEM	Media	SEM			
Cingolo		0,768	0,026	0,634	0,023	13,787	0,001	0,001
Amigdala		1,472	0,066	1,170	0,060	10,897	0,002	0,002
Insula		0,885	0,032	0,713	0,029	15,379	<0,001	<0,001
Striato ventrale		1,826	0,068	1,438	0,061	17,106	<0,001	<0,001
Putamen		1,272	0,044	0,962	0,040	25,716	<0,001	<0,001
Caudato		1,395	0,057	1,113	0,052	12,677	0,001	0,001
Globus pallidus		1,494	0,059	0,902	0,053	52,052	<0,001	<0,001
Talamo		1,329	0,045	1,102	0,041	13,201	0,001	0,001
(b) [ <sup>11</sup> C]MeNTL BP <sub>ND</sub>		AD (N = 25)		HC (N = 30)		F	p	Q(Holm)
VOI		Media	SEM	Media	SEM			
Cingolo		0,935	0,042	0,826	0,046	2,389	0,132	0,132
Amigdala		0,859	0,075	0,694	0,082	1,738	0,196	0,196
Insula		1,070	0,045	0,939	0,050	3,038	0,091	0,091
Striato ventrale		0,993	0,078	0,776	0,085	2,835	0,102	0,102
Putamen		1,442	0,063	1,258	0,069	3,103	0,087	0,087
Caudato		1,061	0,067	0,843	0,073	3,846	0,058	0,058
Globus pallidus		0,874	0,059	0,687	0,065	3,677	0,064	0,064
Talamo		0,300	0,022	0,261	0,024	1,108	0,300	0,300

La metodologia adottata per questo studio differisce da quella adottata dagli studi precedenti per numerosi aspetti di rilievo. In primo luogo, nello studio sono stati arruolati soggetti alcol-dipendenti di entrambi i sessi e soggetti sani di pari età, utilizzando procedure di psicodiagnostica rigorose per escludere il consumo di droga in corso, o altri disturbi legati al consumo di droga, e altri disturbi psichiatrici di Asse 1 in corso. Età, genere, consumo di sostanze e problemi psichiatrici costituiscono tutti fattori confondenti di rilievo che notoriamente influiscono sul sistema oppioide endogeno. In secondo luogo, tutti i soggetti sono stati ospitati nella medesima unità di ricerca residenziale, dove il controllo sull'alimentazione, il divieto di fumo e i test tossicologici sulle urine avevano lo scopo di escludere l'utilizzo di altre sostanze prima dell'acquisizione delle immagini PET. Per i soggetti alcol-dipendenti, tutte le scansioni sono state effettuate nell'ambito di un protocollo di disintossicazione che prevedeva l'astensione da alcolici sotto monitoraggio medico, e con tempistica prefissata per l'acquisizione delle immagini e per l'inizio del periodo di astinenza. I soggetti alcol-dipendenti sono stati arruolati nello studio con un consumo alcolico ancora attivo, interrompendo l'assunzione di alcol all'atto del ricovero. In terzo luogo, i recettori MOR e DOR sono stati esaminati con PET eseguita con [<sup>11</sup>C]CFN, un radioligando selettivo per i MOR, e con [<sup>11</sup>C]MeNTL, un radioligando selettivo per i DOR, in condizioni validate di astinenza dal consumo di alcol e tutti nel medesimo giorno del periodo di astinenza (giorno 5). L'interruzione nell'assunzione di alcolici induce un processo di modifica dinamica del

sistema oppioide endogeno, ed è probabile che tale processo risulti più accentuato nel corso dei primi giorni di astinenza. In tal modo, programmando l'acquisizione delle immagini PET in uno dei primi giorni di astinenza si riesce a ridurre al minimo la varianza dei dati, tipicamente ottenuta quando la tempistica delle scansioni può oscillare di giorni o persino di intere settimane. In quarto luogo, durante il periodo di astinenza non sono stati utilizzati quei farmaci (come le benzodiazepine) che potrebbero alterare la funzione recettoriale (Cox 2001). In quinto luogo, sono stati esaminati 8 VOI cerebrali, localizzati nelle aree mesolimbiche ricche di recettori oppioidi, come lo striato ventrale e l'amigdala, associate al potenziamento degli effetti dell'alcol, alla dipendenza e al craving. Infine, dato che molti dei soggetti alcolodipendenti erano anche fumatori, si è deciso di reclutare soggetti sani con un elevato consumo di tabacco ma non di alcol e senza problemi legati all'alcol, al fine di compensare e controllare anche il ruolo del tabagismo. Quest'ultimo punto è di particolare rilievo, in quanto circa l'80% dei soggetti alcolodipendenti si definisce anche un consumatore regolare di tabacco (Batel 1995; DiFranza 1990) dichiarando di fumarne notevoli quantità (Dawson, 2000), in confronto a chi ne fa solo un uso ricreativo. Nessuno dei precedenti studi alla PET prevedeva il confronto con soggetti fumatori senza problemi di alcol. Il design dello studio qui presentato ha al contrario consentito di controllare in maniera rigorosa anche l'uso di altre sostanze, la presenza di disturbi psichiatrici, la durata del periodo di astinenza e il consumo di sigarette. E' probabile che il livello di significatività sia stato raggiunto grazie alle maggiori dimensioni del campione analizzato e al controllo rigoroso di questi potenziali fattori confondenti.

Precedenti studi su volontari sani hanno indicato, utilizzando le immagini PET per [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL, che le aree ricche di recettori DOR comprendono le regioni neocorticali (insulare, parietale, frontale, cingolata e occipitale), il nucleo caudato, il putamen e l'amigdala (Madar 1996). Inoltre le immagini PET di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL sono state utilizzate con successo anche per esaminare le differenze di gruppo per altre patologie, come l'epilessia (Madar 1997) e il carcinoma (Madar 2007). Il nostro è il primo studio che confronta la disponibilità dei DOR in soggetti alcolodipendenti in astinenza recente e in controlli sani. I dati raccolti suggeriscono che il recettore delta possa essere sensibile al comportamento alcolico più recente, e testimoniano del ruolo svolto da recettori nell'alcolodipendenza, in modo particolare se esaminati nel quadro del nostro precedente studio, in cui si indicava che la dose clinica di naltrexone (50 mg) non produceva che una inibizione parziale (21%), per di più caratterizzata da un'elevata variabilità intersoggettiva, del legame [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL, nei soggetti con dipendenza da alcol (Weerts 2008). Considerato che la stessa dose di naltrexone produce una inibizione quasi completa (95%) del legame [ $^{11}\text{C}$ ]CFN, è lecito supporre che l'utilizzo del naltrexone per bloccare i recettori DOR potrebbe contribuire alla variabilità degli esiti del trattamento, e potrebbe essere influenzato dai diversi livelli di disponibilità del recettore DOR presenti prima dell'inizio del trattamento. Dal presente studio non sono emerse significative differenze nei livelli di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> tra i due gruppi di soggetti partecipanti. Queste conclusioni sono in contrasto con gli studi preclinici effettuati su ceppi di roditori con e senza predilizione per l'alcol, che indicavano incrementi e decrementi della densità dei DOR nelle regioni mesolimbiche (de Waele 1995; Marinelli 2000; McBride 1998; Soini 1998). Considerato che le variazioni intersoggettive (misurate sotto forma di coefficiente di variazione) risultavano simili tra [ $^{11}\text{C}$ ]CFN e [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL per le regioni esaminate, l'assenza di differenze di gruppo per il [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL non può essere attribuita alla maggiore variabilità del legame. Una possibile obiezione è che le stime regionali di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub> erano più basse rispetto alle stime di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub>. Di conseguenza, si potrebbe sostenere che il valore inferiore del segnale-rumore (SNR), ovvero il legame specific - to-non speci-

fic di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL, potrebbe mascherare le potenziali differenze di gruppo. In alternativa, il mancato riscontro di differenze tra i due gruppi potrebbe essere collegato alle minori dimensioni del campione utilizzato per la scansione di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL. E' ipotizzabile che campioni di dimensioni maggiori potrebbero rivelare aumenti significativi di [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BP<sub>ND</sub>. Il valore più elevato di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> nei soggetti alcolodipendenti può avere diverse spiegazioni. Potrebbe essere dovuto a una maggiore disponibilità di MOR, causata dal minore tasso di occupazione dei recettori da parte degli oppioidi endogeni. In alternativa, l'incremento potrebbe essere l'effetto di una maggiore densità dei MOR (ad esempio a causa di una sovra-regolazione del recettore Mu). Tale elevazione del livello di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> nei soggetti alcolodipendenti, in confronto ai controlli, potrebbe essere una conseguenza (i) dell'astinenza; (ii) di una dipendenza o di un consumo rischioso di alcol di lungo periodo; (iii) di differenze ereditarie nel funzionamento del sistema oppioide; e/o (iv) di differenze acquisite a causa di fattori ambientali (infanzia difficile, stress cronico) che potrebbero alterare il livello di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub>. Alcune di queste ipotesi non mancano di fondamento. Gli studi sui roditori hanno indicato la presenza di un maggiore livello di legame dei MOR in alcune aree limbiche, tra cui il nucleo accumbens, in corrispondenza di un consumo prolungato di alcol (5 settimane, Cowen 1998, 1999; Djouma 2002) e nel corso di un periodo di astinenza (da 1 a 10 giorni, Djouma 2002). Alcuni studi sulle variazioni genetiche dell'attività degli oppioidi hanno anche indicato una maggiore densità dei MOR nelle strutture limbiche, come l'accumbens e l'amigdala, nelle linee di roditori con preferenza per l'alcol, rispetto alle linee senza preferenza (de Waele 1995; Marinelli 2000; McBride 1998), sebbene non tutti gli studi concordino con tale indicazione (Fadda 1999). Per quanto il nostro studio non abbia trovato alcuna correlazione diretta tra [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> e misure dell'ansia, della depressione e dei problemi psicologici, i soggetti con dipendenza da alcol riferivano sintomi significativamente più gravi per tutte queste misure, anche dopo l'esclusione dei soggetti con anamnesi di altri disturbi di Asse I.

Nello studio qui presentato, è stata raccolta un'anamnesi familiare dettagliata per tutti i partecipanti, classificando i soggetti in base alla presenza di alcolismo tra i membri della famiglia. L'aumento di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> non appare direttamente correlato con l'anamnesi familiare di alcolismo. I soggetti con anamnesi familiare positiva non presentavano differenze di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> rispetto ai soggetti con anamnesi negativa, in nessuno dei VOI. Anche Heinz e colleghi (2005) non hanno riscontrato alcun effetto dell'alcolismo familiare su [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub>. Analogamente, gli autori del presente studio hanno già riferito in precedenza dell'assenza di differenze significative nella produzione di dopamina mesolimbica indotta dall'anfetamina, nelle risposte soggettive, o nelle misure dell'ormone dello stress, in funzione di un'anamnesi familiare di alcolismo (Munro 2006). Sembra dunque poco plausibile che l'osservato aumento di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> possa essere attribuito unicamente ad astinenza acuta, né è stata da noi rilevata la presenza di correlazioni tra BPND e la gravità della crisi astinenziale, misurata in base alla scala CIWA-Ar nel corso del nostro studio. La decisione di fare partecipare allo studio solo i soggetti alcolodipendenti con sintomi di astinenza relativamente lievi potrebbe tuttavia avere diminuito la probabilità di osservare un tale effetto. Nello studio condotto da Heinz e colleghi (2005), è stata osservata una maggiore disponibilità di MOR nello striato ventrale dopo 1-3 settimane di astinenza dall'alcol, e i valori sono rimasti elevati e stabili per le 5 settimane successive, quando venivano ripetute le scansioni PET per [ $^{11}\text{C}$ ]CFN in un sottogruppo di soggetti alcolodipendenti. Analogamente, i volumi di distribuzione della [ $^{11}\text{C}$ ]diprenorfina si rivelavano stabili se esaminati a 2 settimane, e successivamente a 2 mesi di distanza dal periodo di astinenza (Williams 2009). Né il nostro studio né quello di Heinz e colleghi (2005) indicavano alcuna correlazione tra



la disponibilità di MOR e l'anamnesi alcolica o il grado di alcolodipendenza. Anche Williams e colleghi (2009) non riscontravano correlazioni tra l'abitudine al consumo di alcol o la gravità dell'alcolodipendenza e i volumi distributivi del tracciante non selettivo [ $^{11}\text{C}$ ]diprenorfina. Una correlazione positiva, al contrario, veniva da noi osservata tra consumo recente di alcol e [ $^{11}\text{C}$ ]MeNTL BPND nel nucleo caudato. Va tuttavia sottolineato che la capacità di osservare una relazione tra misure del consumo alcolico e [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> nei soggetti alcolodipendenti può essere compromessa dall'omogeneità e dalla cronicità del campione, ovvero tutti i soggetti erano forti bevitori di lungo periodo. Il maggior livello di binding dei MOR veniva osservato dopo solo 5 settimane di assunzione di alcol. Se il consumo cronico produce una sovra-regolazione dei MOR, è probabile che ciò avvenga in un fase precedente alla progressione da consumo regolare a stato di dipendenza, e che non sia rilevabile all'interno del nostro campione relativamente omogeneo di soggetti alcolodipendenti da lungo tempo.

Una correlazione inversa è stata da noi riscontrata tra le misure del craving alla VAS e [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> in diverse regioni del cervello, tra cui lo striato ventrale, il talamo, e il cingolo. E' da sottolineare che i soggetti alcolodipendenti mostrano una maggiore attivazione di queste aree cerebrali in risposta allo stimolo alcolico (un sorso di alcol e immagini di bevande alcoliche) rispetto agli stimoli di controllo utilizzati negli studi di MRI funzionale (George 2001; Myrick 2004). L'attivazione dell'accumbens risultava correlata con un aumento del craving negli alcolisti e non nei consumatori sociali di alcol (Myrick 2004). La correlazione inversa con il craving individuata dal nostro studio è stata un risultato inatteso, in quanto i soggetti alcolodipendenti avevano riportato un craving superiore e livelli più elevati di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> rispetto ai controlli. Inoltre, i nostri dati contrastano con le correlazioni positive tra craving autoriferito e la disponibilità recettoriale per [ $^{11}\text{C}$ ]CFN [ $^{11}\text{C}$ ]diprenorfina indicata in precedenza (Heinz 2005; Williams 2009). I punteggi OCD ottenuti il giorno della PET nel nostro studio erano comparabili a quelli riportati da Heinz e colleghi nello studio del 2005. Una correlazione inversa è stata riportata tra craving e il ligando per i recettori dopaminergici D2 [ $^{18}\text{F}$ ]desmethoxyfallypride BP<sub>ND</sub> nello striato ventrale nei soggetti alcolodipendenti (Heinz 2004). Sebbene sembra che i recettori D2 e MOR si comportino in maniera opposta nell'alcolodipendenza, potrebbe verificarsi un'analoga correlazione inversa. Ad esempio, nell'ipotesi che i peptidi oppioidi vengano ridotti da un consumo cronico di alcol che induca una sovra-regolazione dei MOR, un effetto analogo ma ancora più accentuato potrebbe portare ad una maggiore trasmissione degli oppioidi e a una diminuzione del craving rispetto ai soggetti con un minore livello di sovra-regolazione. Qualora il consumo di alcol inducesse un minor rilascio di oppioidi endogeni, la sovra-regolazione dei recettori dovrebbe risultare proporzionalmente maggiore della riduzione degli oppioidi affinché si possa avere un aumento netto della neurotrasmissione degli oppioidi. Ciò renderebbe il livello di craving più prossimo a quello dei soggetti normali, ma non lo normalizzerebbe del tutto. Si tratta con tutta evidenza di un'ipotesi puramente speculativa, la cui fondatezza dovrà essere confermata da ulteriori indagini.

Lo studio sin qui descritto presenta alcuni limiti che riducono la possibilità di generalizzarne i risultati. I soggetti da noi selezionati erano alcolodipendenti senza una storia precedente di grave sintomatologia astinenziale e dallo studio sono stati esclusi i soggetti che avevano in precedenza necessitato di trattamento con benzodiazepine per crisi di astinenza. Di conseguenza sono stati esclusi dalla partecipazione allo studio quei soggetti che avevano sofferto di crisi gravi di astinenza da alcol. Eppure, a dispetto di queste modalità conservative di selezione dei partecipanti, in base alle quali sono stati reclutati soltanto i soggetti con sintomi astinenziali modesti, le differenze riscontrate nei livelli di [ $^{11}\text{C}$ ]CFN BP<sub>ND</sub> tra i

soggetti alcolodipendenti e i controlli sono risultate altamente significative per numerosi volumi cerebrali. Un'ulteriore considerazione va fatta a proposito del carattere di lunga durata che caratterizzava i soggetti alcolodipendenti partecipanti al nostro studio (in media 15 anni di consumo dipendente). Per questo campione omogeneo, un'esposizione all'alcol di così lunga durata potrebbe avere limitato la capacità di evidenziare correlazioni tra  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  e comportamento/misure cliniche. Si rendono pertanto necessari ulteriori studi su soggetti che presentino livelli di consumo alcolico più variati, con e senza diagnosi di disturbi da consumo di alcol, per comprendere meglio le fasi di transizione del sistema oppioide, durante la progressione da consumo sociale a consumo intenso e infine a dipendenza da alcol.

In sintesi, le nostre osservazioni riguardo all'associazione esistente tra  $[^{11}\text{C}]\text{MeNTL BP}_{\text{ND}}$  e consumo recente di alcol, unitamente al riscontro di una medesima direzione tra le differenze di gruppo per  $[^{11}\text{C}]\text{MeNTL BP}_{\text{ND}}$  e per  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  indicano un possibile ruolo dei DOR nell'alcolodipendenza, meritevole di ulteriori approfondimenti. Analizzati congiuntamente con i dati dello studio pubblicato in precedenza, secondo cui una dose clinica di naltrexone (50 mg) otteneva un blocco soltanto parziale del legame con  $[^{11}\text{C}]\text{MeNTL}$ , i nostri dati suggeriscono un probabile contributo dei DOR nel causare la variabilità dei risultati ottenuti dal trattamento con naltrexone, così come della dipendenza da alcol. Il livello più elevato di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  nei soggetti alcolodipendenti potrebbe rappresentare un fattore predisponente per l'instaurarsi della dipendenza o potrebbe essere il risultato di un consumo di alcol di lunga durata, dell'alcolodipendenza stessa, o dell'astinenza. Il riscontro di un livello più elevato di  $[^{11}\text{C}]\text{CFN BP}_{\text{ND}}$  negli alcolisti costituisce un'evidenza di un ruolo fondamentale dei MOR nella dipendenza da alcol.

Tradotto e riprodotto ad opera della redazione dall'originale versione in inglese pubblicata in *Alcohol Clin Exp Res*. 2011 Dec;35(12):2162-73, con il permesso dell'Editore. Titolo originale: Positron emission tomography imaging of mu- and delta-opioid receptor binding in alcohol-dependent and healthy control subjects.

## Bibliografia

1. Anton RF, Moak DH, Latham PK (1996) The obsessive compulsive drinking scale: a new method of assessing outcome in alcoholism treatment studies [published erratum appears in *Arch Gen Psychiatry* 1996 Jul;53(7):576]. *Arch Gen Psychiatry* 53:225-231.
2. Anton RF, Swift RM (2003) Current pharmacotherapies of alcoholism: a U.S. perspective. *Am J Addict* 12(Suppl 1):S53-S68.
3. Ashburner JT, Friston KJ (2004) High-dimensional image warping, in *Human Brain Function*, 2nd ed (Frackowiak RSJ, Friston KJ, Frith CD, Dolan RJ, Price CJ, Zeki S, Ashburner JT, Penny WD eds), pp 673-694. Academic Press, San Diego, CA.
4. Batel P, Pessione F, Maitre C, Rueff B (1995) Relationship between alcohol and tobacco dependencies among alcoholics who smoke. *Addiction* 90:977-980.
5. Baumann B, Danos P, Krell D, Diekmann S, Leschinger A, Stauch R, Wurthmann C, Bernstein HG, Bogerts B (1999) Reduced volume of limbic system-affiliated basal ganglia in mood disorders: preliminary data from a postmortem study. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 11:71-78.
6. Beck AT, Epstein N, Brown G, Steer RA (1988) An inventory for measuring clinical anxiety: psychometric properties. *J Consult Clin Psychol* 56:893-897.
7. Beck AT, Steer RA, Brown GK (1996) *Manual for the Beck Depression Inventory-II*. Psychological Corporation, San Antonio, TX.
8. Becker A, Grecksch G, Kraus J, Loh HH, Schroeder H, Holtt V (2002) Rewarding effects of ethanol and cocaine in mu opioid receptor-deficient mice. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 365:296-302.
9. Bencherif B, Wand GS, McCaul ME, Kim YK, Ilgin N, Dannals RF, Frost JJ (2004) Mu-opioid receptor binding measured by  $[^{11}\text{C}]\text{carfentanil}$  positron emission tomography is related to craving and mood in alcohol dependence. *Biol Psychiatry* 55:255-262.
10. Benjamin D, Grant ER, Pohorecky LA (1993) Naltrexone reverses ethanol induced dopamine release in the nucleus accumbens in awake, freely moving rats. *Brain Res* 621:137-140.
11. Bucholz KK, Cadoret R, Cloninger CR, Dinwiddie SH, Hesselbrock VM, Nurnberger JI Jr, Reich T, Schmidt I, Schuckit MA (1994) A new, semistructured psychiatric interview for use in genetic linkage studies: a report on the reliability of the SSAGA. *J Stud Alcohol* 55:149-158.
12. Cowen MS, Rezvani A, Jarrott B, Lawrence AJ (1998) Distribution of opioid peptide gene expression in the

- limbic system of Fawn-Hooded (alcoholpreferring) and Wistar-Kyoto (alcohol-non-preferring) rats. *Brain Res* 796:323–326.
13. Cowen MS, Rezvani AH, Jarrott B, Lawrence AJ (1999) Ethanol consumption by Fawn-Hooded rats following abstinence: effect of naltrexone and changes in  $\mu$ -opioid receptor density. *Alcohol Clin Exp Res* 23:1008–1014.
  14. Cox RF, Collins MA (2001) The effects of benzodiazepines on human opioid receptor binding and function. *Anesth Analg* 93:354–358.
  15. Djouma E, Lawrence AJ (2002) The effect of chronic ethanol consumption and withdrawal on  $\mu$ -opioid and dopamine D(1) and D(2) receptor density in Fawn-Hooded rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 302:551–559.
  16. Endres CJ, Bencherif B, Hilton J, Madar I, Frost JJ (2003) Quantification of brain  $\mu$ -opioid receptors with [ $^{11}\text{C}$ ]carfentanil: reference-tissue methods. *Nucl Med Biol* 30:177–186.
  17. Fadda P, Tronci S, Colombo G, Fratta W (1999) Differences in the opioid system in selected brain regions of alcohol-preferring and alcohol non preferring rats. *Alcohol Clin Exp Res* 23:1296–1305.
  18. Flannery BA, Volpicelli JR, Pettinati HM (1999) Psychometric properties of the Penn Alcohol Craving Scale [In Process Citation]. *Alcohol Clin Exp Res* 23:1289–1295.
  19. Franck J, Lindholm S, Raaschou P (1998) Modulation of volitional ethanol intake in the rat by central delta-opioid receptors. *Alcohol Clin Exp Res* 22:1185–1189.
  20. Froehlich JC (1995) Genetic factors in alcohol self-administration. *J Clin Psychiatry* 56(Suppl 7):15–23.
  21. Froehlich JC, Zweifel M, Harts J, Lumeng L, Li TK (1991) Importance of delta opioid receptors in maintaining high alcohol drinking. *Psychopharmacology* 103:467–472.
  22. Frost JJ, Mayberg HS, Sadzot B, Dannals RF, Lever JR, Ravert HT, Wilson AA, Wagner HN Jr, Links JM (1990) Comparison of [ $^{11}\text{C}$ ]diprenorphine and [ $^{11}\text{C}$ ]carfentanil binding to opiate receptors in humans by positron emission tomography. *J Cereb Blood Flow Metab* 10:484–492.
  23. Frost JJ, Wagner HN Jr, Dannals RF, Ravert HT, Links JM, Wilson AA, Burns HD, Wong DF, McPherson RW, Rosenbaum AE, Kuhar MJ, Snyder SH (1985) Imaging opiate receptors in the human brain by positron tomography. *J Comput Assist Tomogr* 9:231–236.
  24. George MS, Anton RF, Bloomer C, Teneback C, Drobes DJ, Lorberbaum JP, Nahas Z, Vincent DJ (2001) Activation of prefrontal cortex and anterior thalamus in alcoholic subjects on exposure to alcohol-specific cues. *Arch Gen Psychiatry* 58:345–352.
  25. Gianoulakis C (2004) Endogenous opioids and addiction to alcohol and other drugs of abuse. *Curr Top Med Chem* 4:39–50.
  26. Hall FS, Sora I, Uhl GR (2001) Ethanol consumption and reward are decreased in  $\mu$ -opiate receptor knockout mice. *Psychopharmacology (Berl)* 154:43–49.
  27. Hammers A, Allom R, Koeppe MJ, Free SL, Myers R, Lemieux L, Mitchell TN, Brooks DJ, Duncan JS (2003) Three-dimensional maximum probability atlas of the human brain, with particular reference to the temporal lobe. *Hum Brain Mapp* 19:224–247.
  28. Heinz A, Reimold M, Wrase J, Hermann D, Croissant B, Mundle G, Dohmen BM, Braus DF, Schumann G, Machulla HJ, Bares R, Mann K (2005) Correlation of stable elevations in striatal  $\mu$ -opioid receptor availability in detoxified alcoholic patients with alcohol craving: a positron emission tomography study using carbon 11-labeled carfentanil. *Arch Gen Psychiatry* 62:57–64.
  29. Heinz A, Siessmeier T, Wrase J, Hermann D, Klein S, Grusser SM, Flor H, Braus DF, Buchholz HG, Grunder G, Schreckenberger M, Smolka MN, Rosch F, Mann K, Bartenstein P (2004) Correlation between dopamine D(2) receptors in the ventral striatum and central processing of alcohol cues and craving. *Am J Psychiatry* 161:1783–1789.
  30. Herz A (1998) Opioid reward mechanisms: a key role in drug abuse? *Can J Physiol Pharmacol* 76:252–258.
  31. Hilton J, Yokoi F, Dannals RF, Ravert HT, Szabo Z, Wong DF (2000) Column-switching HPLC for the analysis of plasma in PET imaging studies. *Nucl Med Biol* 27:627–630.
  32. Hochberg Y, Benjamini Y (1990) More powerful procedures for multiple significance testing. *Stat Med* 9:811–818.
  33. Holm S (1979) A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scand J Statist* 6:65–70.
  34. Innis RB, Cunningham VJ, Delforge J, Fujita M, Gjedde A, Gunn RN, Holden J, Houle S, Huang SC, Ichise M, Iida H, Ito H, Kimura Y, Koeppe RA, Knudsen GM, Knuuti J, Lammertsma AA, Laruelle M, Logan J, Maguire RP, Mintun MA, Morris ED, Parsey R, Price JC, Slifstein M, Sossi V, Suhara T, Votaw JR, Wong DF, Carson RE (2007) Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. *J Cereb Blood Flow Metab* 27:1533–1539.
  35. Job MO, Tang A, Hall FS, Sora I, Uhl GR, Bergeson SE, Gonzales RA (2007)  $\mu$  ( $\mu$ ) opioid receptor regulation of ethanol-induced dopamine response in the ventral striatum: evidence of genotype specific sexual dimorphic epistasis. *Biol Psychiatry* 62:627–634.
  36. June HL, McCane SR, Zink RW, Portoghese PS, Li TK, Froehlich JC (1999) The delta 2-opioid receptor antagonist naltriben reduces motivated responding for ethanol. *Psychopharmacology (Berl)* 147:81–89.
  37. Kinahan PE, Rogers JG (1989) Analytic 3D image reconstruction using all detected events. *IEEE Trans Nucl Sci* 36:964–968.
  38. Koob GF, Roberts AJ, Schulteis G, Parsons LH, Heyser CJ, Hyytia P, Merlo-Pich E, Weiss F (1998) Neurocircuitry targets in ethanol reward and dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 22:3–9.
  39. Krishnan-Sarin S, Jing SL, Kurtz DL, Zweifel M, Portoghese PS, Li TK, Froehlich JC (1995a) The delta opioid receptor antagonist naltriben attenuates both alcohol and saccharin intake in rats selectively bred for alcohol preference. *Psychopharmacology (Berl)* 120:177–185.
  40. Krishnan-Sarin S, Portoghese PS, Li TK, Froehlich JC (1995b) The delta 2- opioid receptor antagonist naltriben selectively attenuates alcohol intake in rats bred for alcohol preference. *Pharmacol Biochem Behav* 52:153–159.
  41. Krishnan-Sarin S, Wand GS, Li XW, Portoghese PS, Froehlich JC (1998) Effect of  $\mu$  opioid receptor blockade on alcohol intake in rats bred for high alcohol drinking. *Pharmacol Biochem Behav* 59:627–635.
  42. Lever JR, Scheffel U, Kinter CM, Ravert HT, Dannals RF, Wagner HN Jr, Frost JJ (1992) In vivo binding of N1  $\beta$ -[ $^{11}\text{C}$ ]methyl)naltriben to deltaopioid receptors in mouse brain. *Eur J Pharmacol* 216:459–460.



43. Lewellen TK, Kohlmyer SG, Miyaoka RS, Kaplan MS, Stearns CW, Schubert SF (1996) Investigation of the performance of the General Electric ADVANCE positron emission tomograph in 3D mode. *IEEE Trans Nucl Sci* 43:2199–2206.
44. Logan J, Fowler JS, Volkow ND, Wang GJ, Ding YS, Alexoff DL (1996) Distribution volume ratios without blood sampling from graphical analysis of PET data. *J Cereb Blood Flow Metab* 16:834–840.
45. Logan J, Fowler JS, Volkow ND, Wolf AP, Dewey SL, Schlyer DJ, MacGregor RR, Hitzemann R, Bendriem B, Gatley SJ, Christman DR (1990) Graphical analysis of reversible radioligand binding from timeactivity measurements applied to [N-11C-methyl]-(-)-cocaine PET studies in human subjects. *J Cereb Blood Flow Metab* 10:740–747.
46. Madar I, Bencherif B, Lever J, Heitmiller RF, Yang SC, Brock M, Brahmer J, Ravert H, Dannals R, Frost JJ (2007) Imaging delta- and mu-opioid receptors by PET in lung carcinoma patients. *J Nucl Med* 48(2):207–213.
47. Madar I, Lesser RP, Krauss G, Zubieta JK, Lever JR, Kinter CM, Ravert HT, Musachio JL, Mathews WB, Dannals RF, Frost JJ (1997) Imaging of delta- and mu-opioid receptors in temporal lobe epilepsy by positron emission tomography. *Ann Neurol* 41(3):358–367.
48. Madar I, Lever JR, Kinter CM, Scheffel U, Ravert HT, Musachio JL, Mathews WB, Dannals RF, Frost JJ (1996) Imaging of delta opioid receptors in human brain by N11-([11C]methyl)naltrexone and PET. *Synapse* 24:19–28.
49. Marinelli PW, Kiianmaa K, Gianoulakis C (2000) Opioid propeptide mRNA content and receptor density in the brains of AA and ANA rats. *Life Sci* 66:1915–1927.
50. Martinez D, Slifstein M, Broft A, Mawlawi O, Hwang DR, Huang Y, Cooper T, Kegeles L, Zarahn E, Abi-Dargham A, Haber SN, Laruelle M (2003) Imaging human mesolimbic dopamine transmission with positron emission tomography. Part II: amphetamine-induced dopamine release in the functional subdivisions of the striatum. *J Cereb Blood Flow Metab* 23:285–300.
51. Mazziotta JC, Toga AW, Evans A, Fox P, Lancaster J (1995) A probabilistic atlas of the human brain: theory and rationale for its development. The International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *Neuroimage* 2:89–101.
52. McBride WJ, Chernet E, McKinzie DL, Lumeng L, Li TK (1998) Quantitative autoradiography of mu-opioid receptors in the CNS of alcohol-naïve alcohol-preferring P and -nonpreferring NP rats. *Alcohol* 16:317–323.
53. McCaul ME, Wand GS, Eissenberg T, Rohde CA, Cheskin LJ (2000) Naltrexone alters subjective and psychomotor responses to alcohol in heavy drinking subjects. *Neuropsychopharmacology* 22:480–492.
54. McCaul ME, Wand GS, Stauffer R, Lee SM, Rohde CA (2001) Naltrexone dampens ethanol-induced cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation. *Neuropsychopharmacology* 25:537–547.
55. Meltzer CC, Bryan RN, Holcomb HH, Kimball AW, Mayberg HS, Sadzot B, Leal JP, Wagner HN Jr, Frost JJ (1990) Anatomical localization for PET using MR imaging. *J Comput Assist Tomogr* 14:418–426.
56. Munro CA, McCaul ME, Oswald LM, Wong DF, Zhou Y, Brasic J, Kuwabara H, Kumar A, Alexander M, Ye W, Wand GS (2006) Striatal dopamine release and family history of alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 30:1143–1151.
57. Myrick H, Anton RF, Li X, Henderson S, Drobos D, Voronin K, George MS (2004) Differential brain activity in alcoholics and social drinkers to alcohol cues: relationship to craving. *Neuropsychopharmacology* 29:393–402.
58. Oswald LM, Wand GS (2004) Opioids and alcoholism. *Physiol Behav* 81:339–358.
59. Oswald LM, Wong DF, McCaul M, Zhou Y, Kuwabara H, Choi L, Brasic J, Wand GS (2005) Relationships among ventral striatal dopamine release, cortisol secretion, and subjective responses to amphetamine. *Neuropsychopharmacology* 30:821–832.
60. Peterson JB, Conrod P, Vassileva J, Gianoulakis C, Pihl RO (2006) Differential effects of naltrexone on cardiac, subjective and behavioural reactions to acute ethanol intoxication. *J Psychiatry Neurosci* 31:386–393.
61. Rice JP, Reich T, Bucholz KK, Neuman RJ, Fishman R, Rochberg N, Hesselbrock VM, Nurnberger JI Jr, Schuckit MA, Begleiter H (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 19:1018–1023.
62. Roberts AJ, McDonald JS, Heyser CJ, Kieffer BL, Matthes HW, Koob GF, Gold LH (2000) mu-Opioid receptor knockout mice do not self-administer alcohol. *J Pharmacol Exp Ther* 293:1002–1008.
63. Skinner HA, Allen BA (1982) Alcohol dependence syndrome: measurement and validation. *J Abnorm Psychol* 91:199–209.
64. Sobell LC, Sobell MB (1992) Timeline followback: a technique for assessing self-reported alcohol consumption, in *Measuring Alcohol Consumption: Psychosocial and Biological Methods* (Litten RZ, Allen J eds), pp 41–72. Humana Press, Totowa, NJ. Soini SL, Ovaska T, Honkanen A, Hyytia P, Korpi ER (1998) Brain opioid receptor binding of [3H]CTOP and [3H]naltrexone in alcohol-preferring AA and alcohol-avoiding ANA rats. *Alcohol* 15:227–232.
65. Srisurapanont M, Jarusuraisin N (2005) Naltrexone for the treatment of alcoholism: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Neuropsychopharmacol* 8:267–280.
66. Sullivan JT, Sykora K, Schneiderman J, Naranjo CA, Sellers EM (1989) Assessment of alcohol withdrawal: the revised clinical institute withdrawal assessment for alcohol scale (CIWA-Ar). *Br J Addict* 84:1353–1357.
67. Titeler M, Lyon RA, Kuhar MJ, Frost JF, Dannals RF, Leonhardt S, Bullock A, Rydelek LT, Price DL, Struble RG (1989) Mu opiate receptors are selectively labelled by [3H]carfentanil in human and rat brain. *Eur J Pharmacol* 167:221–228.
68. Weerts EM, Kim YK, Wand GS, Dannals RF, Lee JS, Frost JJ, McCaul ME (2008) Differences in delta- and mu-opioid receptor blockade measured by positron emission tomography in naltrexone-treated recently abstinent alcohol-dependent subjects. *Neuropsychopharmacology* 33:653–665.
69. Williams TM, Davies SJ, Taylor LG, Daglish MR, Hammers A, Brooks DJ, Nutt DJ, Lingford-Hughes A (2009) Brain opioid receptor binding in early abstinence from alcohol dependence and relationship to craving: an [11C]diprenorphine PET study. *Eur Neuropsychopharmacol* 19:740–748.
70. Zubieta JK, Dannals RF, Frost JJ (1999) Gender and age influences on human brain mu-opioid receptor binding measured by PET. *Am J Psychiatry* 156:842–848.
71. Zubieta JK, Smith YR, Bueller JA, Xu Y, Kilbourn MR, Jewett DM, Meyer CR, Koeppe RA, Stohler CS (2001) Regional mu opioid receptor regulation of sensory and affective dimensions of pain. *Science* 293:311–315.